

**ORGANOSİLİKON KAPİLER MONOLİTLERİN SENTEZİ VE
NANO-SIVI KROMATOĞRAFİSİ UYGULAMALARINDA
SABİT FAZ OLARAK KULLANIMI**

**SYNTHESIS OF ORGANOSILICON BASED CAPILLARY
MONOLITHS AND THEIR USAGE IN NANO-LIQUID
CHROMATOGRAPHY APPLICATIONS AS STATIONARY
MEDIA**

MUSTAFA CİHAN DEMİR

PROF. DR. S. ALİ TUNCEL

Tez Danışmanı

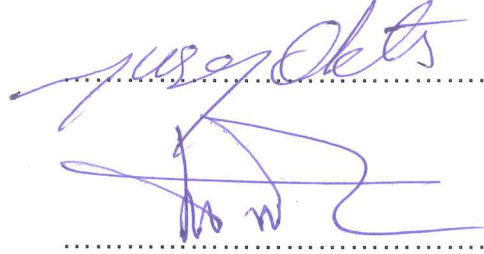
Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2017

MUSTAFA CİHAN DEMİR'in hazırladığı “**Organosilikon Kapiler Monolitlerin Sentezi ve Nano-Sıvı Kromatografisi Uygulamalarında Sabit Faz Olarak Kullanımı**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nuray OKTAR

Başkan



Prof. Dr. S. Ali TUNCEL

Danışman



Prof. Dr. Yeşim Sağ AÇIKEL

Üye



Doç. Dr. Eylem GÜVEN

Üye



Yrd. Doç. Dr. Eda Çelik AKDUR

Üye



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

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

- Tezimin/Raporumun 04/07/2020 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi

04 / 07 / 2017

(İmza)

Öğrencinin Adı Soyadı

MUSTAFA CİHAN DEMİR

En değerli varlığım canım aileme ve bilimin g¼c¼ne inanan t¼m insanlara...

ETİK

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

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

beyan ederim.

07/06/2017

MUSTAFA CİHAN DEMİR

ÖZET

ORGANOSİLİKON KAPILER MONOLİTLERİN SENTEZİ VE NANO-SIVI KROMATOĞRAFİSİ UYGULAMALARINDA SABİT FAZ OLARAK KULLANIMI

Mustafa Cihan DEMİR

Yüksek Lisans, Kimya Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. S. Ali TUNCEL

Haziran 2017, 161 sayfa

Tezde, yeni organosilikon hibrid sabit fazların sentezlenmesi ve morfolojik özellikleri ile kromatografik performanslarının incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla serbest radikal polimerizasyonu ve tiyol-en kimyasının birlikte kullanılmasıyla tek basamakta hidrofilik ve hidrofobik formda polihedral oligomerik silseskuioksan –metakrilat (POSS-MA) bazlı monolitlerin sentezi hem termal hem de foto başlatıcı kullanılarak yapılmıştır. Serbest radikal polimerizasyonu ana monolitik yapının oluşturulması, tiyol-en kimyası da istenilen özelliğe sahip ligandın yapıya bağlanmasını sağlamıştır. Hidrofobik ligand olarak 1-oktadekantiyol (ODT), 1-oktantiyol (OT), 1-bütantiyol (BT) ve 2-feniletantiyol (PET), hidrofilik ligand olarak merkaptosüksinik asit (MSA) ile glutasyon (GT) kullanılmış, farklı koşullarla sentezlenen monolitlerin gözenek dağılımları, özgül yüzey alanı değerleri, çapraz bağ yoğunlukları, taramalı elektron mikroskopu görüntüleri ve tiyol içeriği belirlenmiştir. Hidrofobik özellikteki kolonlar ile ters faz kromatografisi çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda alkilbenzen, fenol türevleri ve çok halkalı aromatik hidrokarbonların kromatografik ayrımı gerçekleştirilmiştir. Hidrofilik özellikteki kolonlar ile de hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda nükleosit, nükleotit ve organik asit türevlerinin ayrımı sağlanmıştır. Tüm ayrımlarda elde edilen kromatogramlar ve bu kromatogramlardan yola çıkılarak hesaplanan, pik çözünürlüğü, alıkonma faktörü, kademe yüksekliği gibi kromatografik verimlilik parametreleri değerlendirilerek sentezlenen kolonların performansı tanımlanmıştır. Sonuçta alıkonma süresinden bağımsız yüksek

kromatografik performansa sahip, mekanik ve kimyasal dayanımı yüksek, uzun ömürlü yeni sabit fazlar literatüre kazandırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Nano-sıvı kromatografisi, ters faz kromatografisi, hidrofilik etkileşim kromatografisi, organosilikon, tiyol-en kimyası, hibrid monolit

ABSTRACT

SYNTHESIS OF ORGANOSILICON BASED CAPILLARY MONOLITHS AND THEIR USAGE IN NANO-LIQUID CHROMATOGRAPHY APPLICATIONS AS STATIONARY MEDIA

Mustafa Cihan DEMİR

Master of Science, Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. S. Ali TUNCEL

June 2017, 161 pages

In this thesis, it is aimed to synthesize new organosilicone hybrid stationary phases and to investigate their morphology and chromatographic performance. For this purpose, the synthesis of POSS-MA monoliths with hydrophobic or hydrophilic properties, depending upon the thiol group carrying ligand was first performed in a one-pot protocol by combining free radical polymerization and thiol-ene chemistry together. Thermal or photo initiator is used for polymerization. Then the capillary monolith was obtained via free radical polymerization. Thiol-ene chemistry was evaluated for the covalent attachment of chromatographic ligands onto the monolithic structure. 1-octadecanethiol, 1-octanethiol, 1-butanethiol and 2-phenylethanethiol were used as the hydrophobic ligand and glutathione and mercaptosuccinic acid were selected as the hydrophilic ligands. Pore-size distribution, specific surface area, crosslinking density, morphology and thiol content of monoliths synthesized under different conditions have been determined by appropriate methods. Reversed phase chromatography applications were carried out by using monoliths with hydrophobic character. In this mode, chromatographic separation of alkylbenzenes, phenols and polycyclic aromatic hydrocarbons were performed. On the other hand, the chromatographic separation of nucleosides,

nucleotides and organic acids in hydrophilic interaction chromatography mode was achieved by using monoliths with hydrophilic character. The chromatograms obtained with organosilicone hybrid monoliths and the chromatographic efficiency parameters such as peak solubility, retention factor, plate height calculated from these chromatograms. The results indicated that the proposed organosilicone hybrid stationary phase was obtained with higher mechanical strength, chemical resistance, durability, chromatographic performance and retention factor independent separation efficiency could be obtained comparing to current polymer and silica monoliths.

Keywords: Nano-liquid chromatography, reversed phase chromatography, hydrophilic interaction chromatography, organosilicon, thiol-ene chemistry, hybrid monolith,

TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının gerçekleşmesi için laboratuvarının kapılarını açan, yıllarca edindiği her türlü kıymetli bilgi ve tecrübeyi biz öğrencileri ile paylaşan, çalışmaları ve hayat görüşü ile örnek olan saygıdeğer danışman hocam **Prof. Dr. Süleyman Ali TUNCEL'e**

Yüksek lisans eğitimim boyunca 115Z250 kodlu ve “Organosilikon Kapiler Monolitlerin TiyoI-En Kimyası İle Sentezi ve Nano-Sıvı Kromatografisinde Sabit Faz Olarak Kullanımı” başlıklı 1001 projesi kapsamında yüksek lisans bursu ile maddi olarak destek olan **TÜBİTAK'a,**

Tez çalışması boyunca, büyük desteğini hissettiğim, bitmek bilmez bir çalışma azmiyle türlü zorluğun üstesinden gelme gücünden feyiz aldığım **Arş. Gör. Dr. Fatoş Çiğdem KİP'e,**

İki yıllık süre boyunca aynı laboratuvarda farklı zaman dilimlerinde de olsa çalışma şansına eriştiğim çok sevgili çalışma arkadaşlarım **Arş.Gör. Anıl KUBAN'a, Fatma ÇAMBAY'a, Gjulten NEDJIP'e, Merve DURMAZ'a, Kourosch SALİMİ'ye, Arş. Gör. Duygu Deniz USTA'ya, Ebru SAĞ'a, Tuğra BALCI'ya, Ege EDİZ'e, Ecem HATİPOĞLU'na Arş. Gör. Dr. Özlem HAMALOĞLU'na, Gülçin GÜNAL'a, Eda ÖĞÜT'e, Merve GÜNDOĞAN'a, Özlem İPEK'e, Buket ÇELİKKAYA'ya Arş. Gör. Hasan İLHAN'a, Aykut BİLİR'e** ve aynı laboratuvarda çalışmamış olsak da manevi desteğini her zaman hissettiğim arkadaşım **Gökçe ERDEM'e,**

Hayatım boyunca her an yanımda olduğu gibi bu tez çalışması dönemi boyunca da her türlü stresli, sıkıntılı anımda bile sevgileri ile bana desteklerini esirgemeyen, başarılı ve mutlu olmam için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, elleri öpülesi çok sevgili annem **Jale DEMİR** ve babam **Ayhan DEMİR'e,**

EN İÇTEN ŞEKİLDE TEŞEKKÜRÜ BİR BORÇ BİLİRİM...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xxviii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1. Sıvı Kromatografisi	4
2.1.1. Tarihsel Gelişimi ve Özellikleri	4
2.1.2. HPLC Ve Nano- LC Çalışma Prensipleri ve Özellikleri	6
2.2. Kolon Teknolojisi.....	7
2.2.1. Tarihçesi	7
2.2.2. Monolitik Kolonlar	8
2.2.3. Hibrid Monolitler	10
2.2.4. POSS Bazlı Hibrid Monolitler	13
2.3. Hibrid Monolitik Yapının Polimerizasyonu.....	15
2.3.1. Serbest Radikal Polimerizasyonu	15
2.3.2. Tiyol-en Kimyası	16
2.4. Ters Faz Kromatografisi (RPC).....	18
2.5. Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi (HILIC).....	19
2.6. Kromatografik Verimlilik Parametreleri	24
2.6.1 Alıkonma	24
2.6.2. Alıkonma Faktörü (k).....	25
2.6.3. Teorik Kademe Sayısı (N) ve Teorik Kademe Yüksekliği (h)	25
2.6.4. Pik Çözünürlüğü (R)	26
2.6.5. Tekrarlanabilirlik	26
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	28
3.1. Materyal.....	30
3.2. Termal Polimerizasyon ile Monolit Sentezi	31

3.2.1. Termal Polimerizasyon İle Sentezlenen Monolitik Kolonlar İçin Silanizasyon	31
3.2.2. Ters Faz Kromatografisi (RPC) Modunda Kullanılmak Üzere Termal Polimerizasyon ile Monolit Sentezi	33
3.2.3. Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi (HILIC) Modunda Kullanılmak Üzere Termal Polimerizasyon ile Monolit Sentezi	35
3.3. Fotopolimerizasyon İle Monolit Sentezi	36
3.3.1. Fotopolimerizasyon İle Sentezlenen Monolitik Kolonlar İçin Silanizasyon.....	37
3.3.2. Ters Faz Kromatografisi (RPC) Modunda Kullanılmak Üzere Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Monolit Sentezi	38
3.3.3. Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi (HILIC) Modunda Kullanılmak Üzere Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Bağlanması ile Monolit Sentezi	42
3.4. Organosilikon Hidrid Monolitlerin Karakterizasyonu	45
3.4.1. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ile Görüntüleme	45
3.4.2. Brunauer, Emmett ve Teller (BET) Cihazı ile Özgül Yüzey Alanı Tayini	46
3.4.3. Çapraz Bağ Yoğunluğu Tayini	47
3.4.4. Gözenek Boy Dağılımı Tayini	49
3.4.5. Ligand İçeriği Tayini	50
3.5. Nano-Sıvı Kromatografisi Sistemi ile Gerçekleştirilen Monolitlerin Akış Davranışı ve Kromatografik Performansı Deneyleri	51
3.5.1. Nano Sıvı Kromatografisi Sisteminde Geri Basınç Deneyleri	52
3.5.2. Nano Sıvı Kromatografisi Sisteminde Ters Faz Kromatografisi Deneyleri.....	53
3.5.3. Nano Sıvı Kromatografisi Sisteminde Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi Deneyleri.....	54
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	56
4.1. Termal Polimerizasyon ile Monolit Sentezi ve Karakterizasyonu	56
4.1.1. Poli(POSS-MA-Co-EDMA) Monolitlerinin Termal Polimerizasyon ile Sentezi Ve Karakterizasyonu.....	56
4.1.2. ODT Bağlı poli(POSS-MA-Co-EDMA) Monolitlerinin Termal Polimerizasyon Ve Tiyol-En Katılması İle Sentezi Ve Karakterizasyonu.....	61

4.1.3. MSA Bağlı poli(POSS-MA-Co-EDMA) Monolitlerinin Termal Polimerizasyonu ve Tiyol-En Katılması ile Sentezi ve Karakterizasyonu	64
4.2. Fotopolimerizasyon ile Monolit Sentezi ve Karakterizasyonu	66
4.2.1. Ters Faz Kromatografisi (RPC) Modunda Kullanılmak Üzere Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Bağlanması ile Monolit Sentezi ve Karakterizasyonu	67
4.2.2. Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi (HILIC) Modunda Kullanılmak Üzere Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Bağlanması ile Monolit Sentezi ve Karakterizasyonu	79
4.3. Termal Polimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Sentezlenen POSS-MA Bazlı Monolitler ile Ters Faz Kromatografisi Çalışmaları	84
4.4. Termal Polimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Sentezlenen Monolitler ile Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi Çalışmaları	87
4.5. Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Sentezlenen POSS-MA Bazlı Monolitler ile Ters Faz Kromatografisi Çalışmaları	87
4.5.1. Farklı Monomer/Gözenek Yapıcı Oranlarına Sahip ODT Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Alkilbenzenlerin Kromatografik Ayrımı	87
4.5.2. Farklı ODT Derişimlerine Sahip ODT Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Alkilbenzenlerin Kromatografik Ayrımı	98
4.5.3. Farklı Alkantiyol Ligand Türleri (BT, OT, ODT) Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Alkil Benzenlerin Kromatografik Ayrımı	105
4.5.4. ODT Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Fenollerin Kromatografik Ayrımı	117
4.5.5. ODT Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Çok Halkalı Aromatik Bileşiklerin Kromatografik Ayrımı	122
4.6. Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Sentezlenen Monolitler ile Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi Çalışmaları	127
4.6.1. MSA Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Nükleositlerin Kromatografik Ayrımı	127
4.6.2. MSA Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Nükleotitlerin Kromatografik Ayrımı	131
4.6.3. MSA Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Organik Asitlerin Kromatografik Ayrımı	134

4.6.4. GT Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Nükleositlerin Kromatografik Ayrımı	137
4.7. Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Sentezlenen POSS-MA Bazlı Monolitlerin Tekrarlanabilirlik Sonuçları	144
4.7.1. ODT Bağlı-Poli(POSS-MA) Monolit İçin Tekrarlanabilirlik Sonuçları	144
4.7.2. MSA Bağlı-Poli(POSS-MA) Monolit İçin Tekrarlanabilirlik Sonuçları	145
4.7.3. GT Bağlı-Poli(POSS-MA) Monolit İçin Tekrarlanabilirlik Sonuçları..	146
5. SONUÇLAR	147
KAYNAKLAR.....	150
ÖZGEÇMİŞ	159

TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1. Farklı porojen sistemi (n-PrOH/1,4-BD/PEG 2000) bileşimleri kullanılarak termal polimerizasyonla hazırlanan poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon sıcaklığı: 60°C, Polimerizasyon süresi: 20-24 saat).....	34
Tablo 3.2. Farklı ODT derişimi ve farklı monomer/çapraz bağlayıcı (POSS-MA/EDMA) oranı kullanılarak termal polimerizasyonla hazırlanan ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon sıcaklığı: 60°C, Polimerizasyon süresi: 20-24 saat).....	35
Tablo 3.3. Farklı MSA derişimi kullanılarak termal polimerizasyonla hazırlanan MSA bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon sıcaklığı: 60°C, Polimerizasyon süresi: 20-24 saat).....	36
Tablo 3.4. Değişen ODT derişiminde, farklı ana monomer miktarında, değişen mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranında ve farklı karbon zinciri uzunluğuna sahip hidrofobik ligandların varlığında fotopolimerizasyonla hazırlanan ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon süresi: 7 dakika).....	41
Tablo 3.5. Değişen PET derişiminde, fotopolimerizasyonla hazırlanan PET bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon süresi: 7 dakika) ..	42
Tablo 3.6. Değişen mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranlarında, fotopolimerizasyonla hazırlanan MSA bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon süresi: 7 dakika).....	44
Tablo 3.7. Değişen mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranlarında, fotopolimerizasyonla hazırlanan GT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon süresi: 7 dakika).....	45
Tablo 4.1. Farklı gözenek yapıcı /monomer oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri	57
Tablo 4.2. Farklı mikrogözenek yapıcı/makro gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri	59

Tablo 4.3. Farklı polimerik gözenek yapıcı (PEG-2000) derişimleri ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri	61
Tablo 4.4. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri.....	63
Tablo 4.5. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri	64
Tablo 4.6. Farklı MSA derişimleri ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri.....	66
Tablo 4.7. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağı poli(POSS-MA) monolitlerinin karakterizasyon parametre değerleri	70
Tablo 4.8. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağı poli(POSS-MA) monolitlerin karakterizasyon parametre değerleri	72
Tablo 4.9. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak sentezlenen ODT bağı poli(POSS-MA) monolitlerinin karakterizasyon parametre değerleri	74
Tablo 4.10. Farklı alkantiyoller kullanılarak sentezlenen alkantiyol bağı-POSS-MA bazlı monolitlerin karakterizasyon parametre değerleri	77
Tablo 4.11. Farklı PET derişimleri kullanılarak sentezlenen PET bağı poli(POSS-MA) monolitlerinin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri	79
Tablo 4.12. Farklı mikrogözenek / makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak sentezlenen MSA bağı poli(POSS-MA) monolitlerin karakterizasyon parametre değerleri	82
Tablo 4.13. Farklı mikrogözenek / makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak sentezlenen GT bağı poli(POSS-MA) monolitlerinin karakterizasyon özellikleri. ...	84
Tablo 4.14. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağı poli(POSS-MA) monolitler için hareketli fazda farklı ACN/su oranları ile elde edilen pik çözünürlük değerleri..	90

Tablo 4.15. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolitler için farklı hareketli faz akış hızları ile elde edilen pik çözünürlük değerleri	96
Tablo 4.16. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitler için pik çözünürlüğünün hareketli fazdaki ACN/su oranı ile değişimi. 100	
Tablo 4.17. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolitler için pik çözünürlüğünün akış hızı ile değişimi..	104
Tablo 4.18. Farklı hidrofobik ligandlar bağlı poli(POSS-MA) monolitler için pik çözünürlüğünün hareketli fazdaki ACN/Su oranı ile değişimi	108
Tablo 4.19. Farklı hidrofobik ligandlar bağlı-poli(POSS-MA) monolitler için hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar ile hesaplanan çözünürlük değerleri.	114
Tablo 4.20. Fenollerin kromatografik ayırımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için pik çözünürlüğünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi.....	119
Tablo 4.21.Fenollerin kromatografik ayırımında ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolit için farklı hareketli faz akış hızları ile elde edilen pik çözünürlüğü değerleri.....	121
Tablo 4.22. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayırımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için pik çözünürlüğünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi.	123
Tablo 4.23. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayırımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için pik çözünürlüğünün akış hızı ile değişimi.	125
Tablo 4.24. Nükleositlerin kromatografik ayırımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün tampon derişimi ile değişimi.....	128
Tablo 4.25. Nükleositlerin kromatografik ayırımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün hareketli faz pH değeri ile değişimi	129
Tablo 4.26. Nükleositlerin kromatografik ayırımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün ACN/amonyum asetat oranı ile değişimi.	130
Tablo 4.27. Nükleositlerin kromatografik ayırımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün hareketli faz akış hızı ile değişimi.	131

Tablo 4.28. Nükleotitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün farklı ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranları ile değişimi	132
Tablo 4.29. Nükleotitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün hareketli faz akış hızı ile değişimi	134
Tablo 4.30. Organik asitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün ACN/amonyum asetat oranı ile değişimi.	135
Tablo 4.31. Organik asitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün hareketli faz akış hızı ile değişimi.	136
Tablo 4.32. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün ACN derişimi ile değişimi.	140
Tablo 4.33. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün akış hızı ile değişimi.....	142
Tablo 4.34. Alkilbenzenlerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monoliti için “analizden analize” ve “günden güne” tekrarlanabilirlik değerleri.....	145
Tablo 4.35. Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için “analizden analize” ve “günden güne” tekrarlanabilirlik değerleri	145
Tablo 4.36. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için “analizden analize” ve “günden güne” tekrarlanabilirlik değerleri	146

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Temel kromatografik teknikler.....	4
Şekil 2.2. Nano sıvı kromatografisi bileşenleri ve genel çalışma şeması.....	7
Şekil 2.3. Sıvı kromatografisi sisteminde farklı dolgu yapısına sahip kolon türleri (A) Partikül dolgulu kolonlar, (B) Açık tübüler kolonlar, (C) Monolitik kolonlar	8
Şekil 2.4. Silika ve polimer bazlı monolitlerin temel avantaj ve dezavantajları ile organosilikon bazlı monolitlerin avantajları	11
Şekil 2.5. POSS molekülünün genel yapısı ve özellikleri	14
Şekil 2.6. Serbest radikal polimerizasyonu mekanizması	16
Şekil 2.7. Tiyol-en reaksiyonu mekanizması	18
Şekil 2.8. Tanımlandığı yıldan itibaren günümüze uluslararası hakemli dergilerde hidrofilik etkileşim kromatografisi ile ilgili basılan yayın sayıları	20
Şekil 2.9. HILIC kromatografisi modunda 5 farklı sabit faz türü kullanılarak yapılan analizler ile alınan kromatogramlar. [101] Çıkış sırası : 1. fenol, 2. 2-naftalin sülfonik asit, 3. p-ksilensülfonik asit 4. kafein, 5. nortriptilin, 6. difenhidramin, 7. benzilamin, 8. prokainamid. Akış hızı: 1 mL/dak, ACN/su oranı:85/15 mL/mL + 5 mM amonyum format, pH: 3.0, izleme: DAD 215 nm	21
Şekil 2.10. Hidrofilik etkileşim kromatografisi mekanizması	22
Şekil 2.11. Suda çözülen vitaminlerin kromatografik ayrımında hareketli fazda kullanılan farklı organik çözeltiler ile alınan kromatogramlar. Organik çözücü/su : 90/10 mL/mL + 10 mM CH ₃ COONH ₄ , pH : 5.0, Akış hızı : 0.6 mL/dak, DAD : 272 nm	23
Şekil 2.12. Analitlerin monolitik kolon içerisindeki alıkonma mekanizması	24
Şekil 2.13 Birbiri ardına gelen piklerde kromatografik verimlilik parametrelerinin hesaplanması için gerekli alıkonma süreleri ve pik boyutlarının gösterimi	25
Şekil 3.1. Ters faz kromatografisi (RPC) modunda kullanılan hidrofobik özellikteki ligandların moleküler yapıları (A) Bütantiyol – BT, (B) Oktantiyol – OT, (C) Oktadekantiyol – ODT, (D) 2-feniletantiyol – PET	29

Şekil 3.2. Hidrofilik etkileşim kromatografisi (HILIC) modunda kullanılan hidrofilik özellikteki ligandların moleküler yapıları (A) Mercaptosüksinik asit (B) Glutasyon	29
Şekil 3.3. Kapiler kolonun iç yüzeyinde yüzeye metakrilat gruplarının bağlanması amacıyla hidroksil grupları ile trimetoksisilil grupları arasında gerçekleşen reaksiyon	32
Şekil 3.4. Silanizasyon işlemi için kurulan sistemin fotoğrafı (A) poliimid tabakası ile kaplı termal kolon, (B) UV geçirgen kolon	33
Şekil 3.5. Poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin termal polimerizasyon ile sentezi. (A) monolit çözeltisi bileşenlerinin homojen hale getirilmesi. (B) hazırlanan çözeltinin şırınga yardımıyla kolona basılması. (C,D) iki ucu septum ile kapatılan kolonun su banyosuna yerleştirilmesi. (E) kolon içerisine basılmadan arta kalan monolit çözeltisinin polimerleşmenin gerçekleşip gerçekleşmediğinin anlaşılması amacıyla kullanılması	34
Şekil 3.6. Fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile monolit sentezi için tasarlanan polimerizasyon düzeneği	37
Şekil 3.7. (A) Monomer ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan POSS-MA, tiyol gruplu hidrofilik ligandlar molekül yapıları: (B) oktadekandiyol (ODT), (C) oktantiyol (OT), (D) bütantiyol (BT) ve (E) 2-feniletantiyol . (F) Ligandların organosilikon polimerik zincire bağlanması.	40
Şekil 3.8. (A) Monomer ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan POSS-MA, (B) Tiyol gruplu hidrofilik ligand olarak kullanılan MSA'nın moleküler yapıları, (C) MSA'nın organosilikon polimerik zincire bağlanması.	43
Şekil 3.9. (A) Monomer ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan POSS-MA, (B) Tiyol gruplu hidrofilik ligand olarak kullanılan GT'nin moleküler yapıları, (C) GT'nin organosilikon polimerik zincire bağlanması	45
Şekil 3.10. Kapiler monolit kolonların morfolojilerinin görüntülenmesi için (A) hazırlanan örnekler, (B) Quanta 200 FEG marka taramalı elektron mikroskopu (SEM)	46
Şekil 3.11. Monolitlerin özgül yüzey alanı tayinini gerçekleştiren Quantachrome Nova 2200 model BET cihazı.	47

Şekil 3.12. Monolitlerin çapraz bağ yoğunluğunun belirlenmesi için yapılan mekanik testlerde kullanılan Zwick Z010 model malzeme test cihazı	48
Şekil 3.13 Civa porozimetresi yöntemi ile gözenek boy dağılım tayininin ve gözenek boy dağılım değerinin ölçüldüğü Quantachrome Corporation, Poremaster 60 model cihaz	50
Şekil 3.14. Monolitik yapıya bağlanan ligand içeriğinin tayini için kullanılan Thermo Scientific, Flash 2000 model elementel analiz cihazı	51
Şekil 3.15. Sentezlenen monolitlerin akış davranışı ve kromatografik performansı için kullanılan Ultimex 3000 marka nano sıvı kromatografisi cihazı	52
Şekil 3.16. Ters faz kromatografisi modunda ayrımı yapılan analit grupları (A) alkilbenzenler, (B) çok halkalı aromatik hidrokarbonlar, (C) fenol türevleri	53
Şekil 3.17 Hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda ayrımı yapılan analit grupları (A) nükleositler, (B) nükleotitler, (C) organik asit türevleri	54
Şekil 4.1. Farklı gözenek yapıcı solvent/monomer oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n PrOH/BD/PEG-2000. Gözenek yapıcı solvent/monomer oranı (mg/mg): (A) 2.64, (B) 2.89, (C) 3.13, Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.	56
Şekil 4.2. Farklı gözenek yapıcı solvent/monomer oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin geri basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/BD/PEG-2000. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 μ m, Mobil faz: 50/50 mL/mL ACN/su.....	57
Şekil 4.3. Farklı mikrogözenek yapıcı/makro gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/BD/PEG-2000. mikrogözenek yapıcı/makro gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 3.92, (B) 5.49, (C) 7.06. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.....	58
Şekil 4.4. Farklı mikrogözenek yapıcı/makro gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin geri basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/BD/PEG-2000. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 μ m, Mobil faz: 50/50 mL/mL ACN/su.....	59
Şekil 4.5. Farklı polimerik gözenek yapıcı (PEG-2000) derişimleri ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n-	

PrOH/BD/PEG-2000. Polimerik gözenek yapıcı (PEG-2000) derişimi (mg/mL gözenek yapıcı): (A) 0, (B) 18.6, (C) 36.6. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.....60

Şekil 4.6. Farklı polimerik gözenek yapıcı (PEG-2000) derişimleri ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin geri basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/BD/PEG-2000.Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 µm, Mobil faz: Mobil faz: 50/50 mL/mL ACN/su60

Şekil 4.7. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. ODT derişimi (mg/mL monomer): (A) 0, (B) 183.2, (C) 274.7. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X62

Şekil 4.8. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin geri basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 µm, Mobil faz: 50/50 mL/mL ACN/su.62

Şekil 4.9. Farklı monomer /gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. Monomer /gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 0,12, (B) 0,15, (C) 0,18. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X63

Şekil 4.10. Farklı monomer faz/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 µm, Mobil faz: 50/50 mL/mL ACN/su.....64

Şekil 4.11. Farklı MSA derişimleri ile sentezlenen MSA bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. MSA derişimi (mg/mL monomer): (A) 183.1, (B) 274.7, (C) 366.3. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.....65

Şekil 4.12. Farklı MSA derişimleri ile sentezlenen MSA bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 µm, Mobil faz: 95/5 ACN/su (mL/mL).....66

Şekil 4.13. Farklı ODT derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı-POSS-MA bazlı monolitlerin SEM fotoğrafları.

ODT derişimi (mg/mL monomer): (A) 0, (B) 203.3, (C)406.5, (D) 609.8. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X	68
Şekil 4.14. Farklı ODT derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin genel gözenek boyut dağılımları.....	68
Şekil 4.15. Farklı ODT derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli (POSS-MA) monolitlerin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap, Mobil faz: 75/25 ACN/su (mL/mL)...	69
Şekil 4.16. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin SEM fotoğrafları. ODT derişimi: 50/600 mL ODT/mL gözenek yapıcı. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.....	70
Şekil 4.17. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin gözenek boyut dağılımları. ODT derişimi: 50/600 mL (ODT/mL gözenek yapıcı)..	71
Şekil 4.18. Farklı monomer derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 75/25 ACN/su (mL/mL).	72
Şekil 4.19. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı (POSS-MA) monolitlerinin SEM fotoğrafları. ODT derişimi: 50/600 mL ODT/mL gözenek yapıcı. N-butanol/etilen glikol derişimi (mg/mg): (A) 3.04, (B) 4.35, (C) 7.10. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X	73
Şekil 4.20. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin gözenek boyut dağılımları. ODT derişimi: 50/600 mL ODT/mL gözenek yapıcı.	73
Şekil 4.21. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 75/25 ACN/su (mL/mL).....	74

Şekil 4.22. Farklı alkantiyol ligandları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin SEM fotoğrafları. Alkantiyol derişimi: 50 mg/mL monomer. Alkantiyol türü: (A) 1-bütantiyol (BT), (B) 1-oktantiyol (OT), (C) 1-oktadekantiyol (ODT). Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.	75
Şekil 4.23. Farklı alkantiyol ligandları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin gözenek boyut dağılımı. Alkantiyol derişimi: 50 mg/mL monomer.	76
Şekil 4.24. Farklı alkantiyoller kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 75/25 ACN/su (mL/mL).	76
Şekil 4.25. Farklı PET derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen PET bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin SEM fotoğrafları. PET derişimi (mg/mL monomer): (A) 0, (B) 406.5, (C) 609.8. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.	78
Şekil 4.26. Farklı PET derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen PET bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 75/25 ACN/su (mL/mL).	78
Şekil 4.27. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen MSA bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin SEM fotoğrafları. MSA derişimi: 50 mg MSA/600 mL gözenek yapıcı, Mikrogözenek yapıcı solvent/ Makrogözenek yapıcı solvent (mg/mg): (A) 1.6 , (B) 2.5. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.	80
Şekil 4.28. Farklı mikrogözenek yapıcı /makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen MSA bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin SEM fotoğrafları. MSA derişimi: 50 mg MSA/600 µL gözenek yapıcı.....	81
Şekil 4.29. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen MSA bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 92/8 pH 8 ACN/ 100 mM asetat tamponu (mL/mL).....	81

- Şekil 4.30. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen GT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin SEM fotoğrafları. GT derişimi: 0.028 mg/mL gözenek yapıcı solvent, N-butanol/etilen glikol derişimi (mg/mg): (A) 1.86 (B) 2.87. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.83
- Şekil 4.31. Farklı mikrogözenek yapıcı / makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen GT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin gözenek boyut dağılımları. GT derişimi: 25 mg/890 µL gözenek yapıcı solvent83
- Şekil 4.32. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen GT bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 92/8 pH 8 ACN/ 100 mM asetat tamponu (mL/mL).....84
- Şekil 4.33. Termal etki ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monoliti kullanılarak, ters faz kromatografisi modunda, farklı mobil faz bileşimleri ile alkilbenzenlerin ayrımı için elde edilen örnek kromatogramlar. Deney kodu: A8. Asetonitril/su: (A) 50/50, (B) 60/40, (C) 80/20, Akış hızı:0,5 µL/dak, UV-dedektör, 214 nm. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap.85
- Şekil 4.34. Termal etki ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monoliti kullanılarak, ters faz kromatografisi modunda farklı akış hızları ile alkilbenzenlerin ayrımı için elde edilen örnek kromatogramlar. Deney Kodu: A8. Asetonitril/su: 60/40%, Akış hızları : (A) 0.25 µL/dak, (B) 0.50 µL/dak, (C) 0.75 µL/dak UV-dedektör, 254 nm. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap86
- Şekil 4.35. ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitinin kullanılarak, ters faz kromatografisi modunda alkilbenzen türevlerinin ayrımı için elde edilen örnek kromatogram. Deney kodu : B2, Asetonitril/su: 60/40 (mL/mL), Akış hızı:0.8 µL/dak, UV-dedektör, 214 nm. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Çıkış sırası: (1) benzen, (2) toluen, (3) etilbenzen, (4) propilbenzen, (5) bütilbenzen.86
- Şekil 4.36. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolitler için hareketli faz ACN derişiminin değişimi ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi: 406.5 mg/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış

hızı: 0.5 µL/dak, Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütilbenzen.89

Şekil 4.37. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerde alikonma faktörünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. Monomer/gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35. .92

Şekil 4.38. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerde kademe yüksekliğinin ACN derişimi ile değişimi. Monomer/gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35.93

Şekil 4.39. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitler için hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, Hareketli fazda ACN/su hacimsel oranı (mL/mL): A) 70/30, B) 75/25, C) 65/35. Akış hızları (µL/dak) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütilbenzen.....95

Şekil 4.40. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerde kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35.....98

Şekil 4.41. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitler için hareketli fazdaki ACN derişiminin değişimi ile alınan kromatogramlar. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. ODT derişimi (mg ODT/mL monomer): (A) 0, (B) 203.3, (C) 406.5. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı: 0.5 µL/dak. Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütilbenzen.100

Şekil 4.42. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerde alikonma faktörünün ACN derişimi ile değişimi. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi: 0.29 mg/mg. ODT derişimi (mg/mL monomer): (A) 203.3, (B) 406.5.101

Şekil 4.43. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerde kademe yüksekliğinin ACN derişimi ile değişimi. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. ODT derişimi (mg ODT/mL monomer): (A) 203.3, (B) 406.5.102

Şekil 4.44. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitler için hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi (mg ODT/mL monomer): (A) 203.3, (B) 406.5. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Hareketli faz ACN/su: oranı: 70/30 mL/mL, Hareketli faz: ACN/Su + % 0.05 AAc, Akış hızları kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütilbenzen.103

Şekil 4.45. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolitlerde kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. ODT derişimi (mg/mL monomer): (A) 203.3, (B) 406.5.105

Şekil 4.46. Farklı hidrofobik ligand türleri ile sentezlenen alkantiyol ligand bağlı poli(POSS-MA) monolitler kullanılarak farklı ACN/Su oranları ile alınan kromatogramlar. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg, Ligand derişimi: 406.5 mg ligand/mL monomer. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı: 0.5 µL/dak. Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, Hidrofobik ligand türü: (A) ODT, (B) OT, (C) BT, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütilbenzen.107

Şekil 4.47. Farklı hidrofobik ligand türleri ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) monolitler için alıkonma faktörünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. Tiyol gruplu hidrofobik ligand: (A) ODT (B) OT (C) BT.1110

Şekil 4.48. Farklı hidrofobik ligand türleri ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) monolitler için kademe yüksekliğinin hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. Tiyol gruplu hidrofobik ligand: (A) ODT, (B) OT, (C) BT111

Şekil 4.49. Farklı hidrofobik ligandlar bağlı poli(POSS-MA) monolitler için hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Hareketli faz ACN/Su oranı (mL/mL): (A) 70/30, (A) 55/45, (C) 65/35. Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, Akış hızları kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir. Tiyol

gruplu hidrofobik ligand: (A) ODT (B) OT (C) BT. UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütilbenzen.	113
Şekil 4.50. Farklı hidrofobik ligand türleri ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) monolitler için kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. Tiyol gruplu hidrofobik ligand: (A) ODT (B) OT (C) BT.	116
Şekil 4.51. Farklı hidrofobik ligand türleri ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) monolitler için kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimi. Tiyol gruplu hidrofobik ligand: (A) ODT (B) OT (C) BT.....	117
Şekil 4.52. Fenollerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için ACN derişiminin değişimi ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı: 0.5 µL/dak, Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. Katekol, 2. 4-metoksifenol, 3. fenol, 4. 4-nitrofenol, 5. 3-nitrofenol.....	118
Şekil 4.53. Fenollerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için alıkonma faktörünün ACN derişimi ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.	119
Şekil 4.54. Fenollerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için kademe yüksekliğinin ACN derişimi ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.	120
Şekil 4.55. Fenollerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için farklı hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Hareketli faz ACN/Su oranı: 35/65 mL/mL, Hareketli faz: ACN/su + % 0.05 AAC, Akış hızları kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir. UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. Katekol, 2. 4-metoksifenol, 3. fenol, 4. 4-nitrofenol, 5. 3-nitrofenol.....	120
Şekil 4.56. Fenollerin kromatografik ayrımında ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolit için kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.	121
Şekil 4.57. Fenollerin kromatografik ayrımında, ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolit için kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg	

ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. Katekol, 2. 4-metoksifenol, 3. fenol, 4. 4-nitrofenol, 5. 3-nitrofenol.122

Şekil 4.58. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için hareketli fazdaki ACN derişiminin değişimi ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı (µL/dak): 0.5, Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. tiyoüre, 2. toluen, 3. naftalin, 4. floren, 5. fenantren, 6. florenten, 7. piren.123

Şekil 4.59. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için alıkonma faktörünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg/mL. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.124

Şekil 4.60. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için kademe yüksekliğinin hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.124

Şekil 4.61. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için farklı hareketli faz akış hızları ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Hareketli faz ACN/Su oranı 85/15 mL/mL, Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, Akış hızları kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir. UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası, Kolondan çıkış sırası: 1. tiyoüre, 2. toluen, 3. naftalin, 4. floren, 5. fenantren, 6. florenten, 7. piren.....125

Şekil 4.62. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitinin kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.126

Şekil 4.63. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayrımında, ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.

Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. tiyoüre, 2. toluen, 3. naftalin, 4. floren, 5. fenantren, 6. florenten, 7. piren.....126

Şekil 4.64. A) Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için farklı amonyum asetat tampon derişimleri ile alınan kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitidin, 5. guanozin. B) Kademe yüksekliğinin amonyum asetat tampon derişimi ile değişimi. Analit: timidin. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm uzunluk, Hareketli faz: 90/10 mL/mL ACN/amonyum asetat tamponu, pH: 8.0, Akış hızı: 1 µL/dak, izleme: DAD, 254 nm.127

Şekil 4.65. (A) Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monolitinin farklı hareketli faz pH değerleri ile alınan kromatogramlar, Çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitidin, 5. guanozin, (B) Kademe yüksekliğinin hareketli faz pH değeri ile değişimi, Analit: timidin. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm uzunluk, Hareketli faz: pH 8, 90/10 mL/mL ACN/amonyum asetat tamponu, Akış hızı: 1 µL/min, izleme: DAD, 254 nm.128

Şekil 4.66. A) Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranları ile alınan kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitidin, 5. guanozin. (B) Alıkonma faktörünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm uzunluk, ACN/ 100 mM amonyum asetat tampon oranı: değişken, pH: 8.0, Akış hızı: 1 µL/dak, izleme: DAD 254 nm.129

Şekil 4.67. A) Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için değişen hareketli faz akış hızları ile alınan kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitidin, 5. guanozin. (B) Kademe yüksekliğinin akış hızı ile değişimi. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm uzunluk, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranı: 90/10 mL/mL, pH: 8.0, izleme: DAD 254 nm.131

Şekil 4.68. A) Nükleotitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için farklı ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranları ile alınan kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. timin, 2. adenin, 3. sitozin, 4. guanin. (B) Alıkonma faktörünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. Kromatografik koşullar:

Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranı: değişken, pH: 7.0, Akış hızı: 1 µL/dak, izleme: DAD 254 nm.132

Şekil 4.69. A) Nükleotitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için farklı hareketli faz akış hızları ile alınan kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. timin, 2. adenin, 3. sitozin, 4. guanin. (B) Kademe yüksekliğinin akış hızı ile değişimi. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm uzunluk, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranı: 90/10 mL/mL, pH: 7.0, izleme: DAD 254 nm...133

Şekil 4.70. (A) Organik asitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için hareketli fazdaki farklı ACN derişimleri ile alınan kromatogramlar. (B) kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. Çıkış sırası: 1. p-toluik asit, 2) benzoik asit, 3) 4-hidroksibenzoik asit, 4) 4-klorobenzoik asit, 5) 4-iyodobenzoik asit. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm uzunluk, Hareketli faz: ACN/ amonyum asetat tamponu, pH: 7.0, Akış hızı: 1 µL/dak, izleme: DAD 254 nm ...135

Şekil 4.71. A) Organik asitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için farklı hareketli faz akış hızları ile elde edilen kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. p-toluik asit, 2) benzoik asit, 3) 4-hidroksibenzoik asit, 4) 4-klorobenzoik asit, 5) 4-iyodobenzoik asit. (B) Kademe yüksekliğinin akış hızı ile değişimi. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm uzunluk ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranı: 98/2 v/v, pH: 8.0, izleme: DAD 214 nm.136

Şekil 4.72. MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti ile hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda farklı hirofilik moleküllerin izokratik ayrımında kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimi. Analit grupları: (A) Nükleosidler, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu: 90/10 v/v, pH 8.0, (B) Nükleotidler, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu: 90/10 v/v, pH 7.0, (C) Organik asitler, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu: 98/2 v/v, pH 7.0.137

Şekil 4.73. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için hareketli fazın pH değişimi ile alınan kromatogramlar. Glutatyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12 Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı (µL/dak): 1.0, Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, Hareketli fazda ACN/su hacimsel oranı (mL/mL): 94/6. pH değerleri kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 254 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitozin, 5. guanozin.138

Şekil 4.74. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için kademe yüksekliğinin pH ile değişimi. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12 Analit: timidin.

.....139

Şekil 4.75. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için ACN derişiminin değişimi ile alınan kromatogramlar. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12 Kolon: 300 mm x 100 μ m iç çap. Akış hızı (μ L/dak): 1.0, Hareketli faz: pH 8, ACN+Su + % 0.05 AAc, pH 8, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 254 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitozin, 5. guanozin.139

Şekil 4.76. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için alıkonma faktörünün ACN derişimi ile değişimi. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12140

Şekil 4.77. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için kademe yüksekliğinin ACN derişimi ile değişimi. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12141

Şekil 4.78. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12 Kolon: 300 mm x 100 μ m iç çap. Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, Hareketli fazda ACN/su hacimsel oranı (mL/mL): 94/6. Akış hızları (μ L/dak) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 254 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitozin, 5. guanozin.....142

Şekil 4.79. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12 .143

Şekil 4.80. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimi. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12. 143

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Å	Angström
h	Teorik kademe yüksekliği
G	Elastiklik modülü
k	Alıkonma faktörü
L	Kolon uzunluğu
N	Teorik kademe sayısı
R	Pik çözünürlüğü
N _i	Tekrarlanan analiz sayısı
RT _n	Ortalama alıkonma süresi
SD	Standart sapma
t	Alıkonma süresi
ϑ _e	Çapraz bağ yoğunluğu

Kısaltmalar

ACN	Asetonitril
AIBN	2,2'-azobis(2-metilpropiyonitril)
BD	1,4 bütandiol
BMAB	1,4-bis(merkaptasetoksi)bütan
BSS	Bağıl Standart Sapma
BT	1-bütantiyol
CEC	Kapiler Elektrokromatografi
DAD	Diode Array Dedektör
DMPA	2,2-dimetoksi-2-fenilasetofenon
Dec-OH	n-dekanol
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDMA	Etilen dimetakrilat
EtOH	Etanol
GT	Glutasyon
HCl	Hidroklorik asit

HILIC	Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
Me-OH	Metanol
MS	Kütle Spektrometresi
MSA	Mercaptosuccinic acid
Nano-LC	Nano Sıvı Kromatografisi
NaOH	Sodyum hidroksit
NPC	Normal Faz Kromatografisi
n-PrOH	n- propanol
ODT	1-oktadekantiyol
OT	1-oktantiyol
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
PEG	Polietilenglikol
PET	2-feniletantiyol
PETKMP	Pentaeritritol tetrakis(3-merkaptopropiyonat)
POSS-MA	Methacryl Polyhedral Oligomeric Silsesquioane
RNA	Ribonükleik asit
RPC	Ters Faz Kromatografisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu
UV	Ultraviyole
TMSPM	3-trimetoksisililpropil metakrilat
TMTVS	2,4,6,8-tetrametil-2,4,6,8-tetravinilsiklotetrasiloksan

1. GİRİŞ

Nano-sıvı kromatografisi, geleneksel yüksek performanslı sıvı kromatografisine (HPLC) alternatif olarak geliştirilen, mikrolitre mertebesinde örnek ve hareketli faz hacmi kullanılarak, kısa analiz süresi ve yüksek ayırma verimi ile nitel ve nicel analize olanak tanıyan, temel olarak pompa, örnekleyici, sabit faz, dedektör ve veri kaydedici bileşenlerinden oluşan sıvı kromatografisi sistemidir. HPLC’de olduğu gibi nano-sıvı kromatografisinde de uygun bir çözücüdeki bileşenlerin (analitlerin), sistemden devamlı suretle akan hareketli faz çözeltisi yardımıyla bir kolon içerisinde bulunan sabit faz ile farklı sürelerde (alınma süresi) etkileşimlere girerek farklı zamanlarda kolonu terk ederek birbirlerinden ayrılması temeline dayanır. Sabit faz olarak, genellikle 75-300 mikron aralığında çap değerine sahip gözenekli ve çapraz bağ yapılı kapiler monolitik kolonlar ile hareketli faz olarak da 50-500 nL/dak akış hızı aralığında içerikleri yapılacak uygulamaya göre değişen çözeltiler kullanılmaktadır.

Nishang ve arkadaşları tarafından yapılan nano sıvı kromatografisi çalışmalarında sabit faz için sentezlenen monolit türlerinden biri olan polimerik bazlı monolitlerde, çapraz bağ yoğunluğu yönünden bir heterojenitenin varlığı ve çapraz bağ yoğunluğunun düşük olduğu kısımlarda hareketli faz ile etkileşim sonucunda, jel formunda bölgelerin oluştuğu kanıtlanmıştır [1,2]. Jel türü mikrogözenek yapısına sahip bu bölgelerde, kütle transfer direnci artmakta ve analit-monolit etkileşimini zayıflatan durgun bölgeler (stagnant mass transfer zone) oluşmaktadır [1,2]. Özellikle polaritesi sabit faza yakın ve molekül ağırlığı düşük olan analitlerin nano-sıvı kromatografisi sistemi kullanılarak gerçekleştirilen analizlerde uzun süre alınmaları, kolondan çıkışlarını dolayısıyla dedektöre ulaşmalarını güçleştirmekte, analiz süresi uzamakta ve dedektörün piklerin bant genişlikleri artmaktadır. Bu durum ise uzun analiz süreleri sonucunda birbirinden iyi ayrılmayan pikleri içeren kromatogramların eldesine neden olmaktadır. Böylece kolonun performansı için en önemli parametrelerden biri olan, hem alınma süresi, hem de bant genişliği dikkate alınarak hesaplanan ve teorik kademe sayısı azalmaktadır [1,2]. Artan alınma faktörü ile kademe yüksekliğinin artışı şeklinde ortaya çıkan bu davranış ilk kez ters faz sıvı kromatografisi modu (reversed phase chromatography-RPC) için Nishang tarafından tanımlanmıştır [1,2]. Ayrıca laboratuvarımızda daha önce yapılan bir çalışmada da kütle transfer analizleri ile

aynı davranışın, ters faz kromatografisinden farklı bir mekanizmaya sahip hidrofilik etkileşim kromatografisi (hydrophilic interaction chromatography – HILIC) modu için de geçerli olduğu literatürde ilk kez gösterilmiştir [3].

Çalışmada, bahsi geçen problemin ortadan kaldırılmasına yönelik olarak, tiyol-en kimyasının kullanılmasıyla, kromatografik ligand bağlı formda, alıkonma süresinden bağımsız ayırma performansına sahip, polimer ve silika bazlı monolitlerin her ikisinin de özelliklerini barındıran organosilikon hibrid monolitlerin kafes örgü yapılı polihedral oligomerik silseskuioksan-metakrilat (POSS-MA) monomeri ile birlikte tek basamaklı bir proses ile eldesi sağlanmaktadır. Sentezde jel türü mikrogözenek yapıların oluşumunu engelleyecek yüksek çapraz bağ yoğunluğuna çapraz bağlayıcı ve aynı zamanda kromatografik ligand olarak kullanılan hidrofilik veya hidrofobik özellikteki tiyol gruplu bileşiklerin POSS-MA üzerinde bulunan çoklu metakrilat grupları ile tiyol-en etkileşimi sonucunda ulaşılmaktadır. Mikrogözenekli formda jel oluşumuna izin vermeyen bu tür çapraz bağ yoğunluğuna sadece serbest radikal polimerizasyonu yöntemi ile ulaşılması mümkün değildir.

Son yıllarda yüksek ayırım verimine sahip, kimyasal ve mekanik olarak dayanıklı, tekrarlanabilirliği yüksek, birçok farklı analitin farklı kromatografik modlarda ayırımına yönelik olarak POSS-MA ve benzer monomerlerin kullanıldığı hibrid monolitlere ait çalışmalar hız kazanmıştır.

POSS-MA 'nın ana monomer olarak kullanıldığı, tiyol-en kimyası ile organosilikon monolit sentezi literatüre ilk olarak 2013 yılında "Chemistry A European Journal"de yayınlanan makale ile girmiştir [4]. Bu çalışma ağırlıklı olarak sentez yöntemi ile monolitlerin kimyasal ve morfolojik özellikleri üzerine odaklanmıştır. Alifatik formda bir çapraz bağlayıcı olan "pentaeritritol tetrakis(3-merkaptopropiyonat) (PETKMP)" ile elde edilen monolit için hidrofilik ve hidrofobik formdaki monomerler (akrilik asit ve butil metakrilat) ile yapılan türevlendirme sonucunda monolitler için analit alıkonma davranışında oluşan farklılık gösterilmiştir [4].

2014 yılında "Chemical Communications"ta yayınlanan bir başka çalışmada POSS-MA'ya benzer bir yapı olarak tanımlanabilecek "2,4,6,8-tetrametil-2,4,6,8-tetравinilsiklotetrasiloksan (TMTVS)" ana monomer olarak kullanılmış ve çapraz bağlayıcı olarak yine "pentaeritritol tetrakis(3-merkaptopropiyonat) (PETKMP)"

kullanımıyla organosilikon monolit sentezi yapılmıştır ve ters faz kromatografisi modunda alkil benzenlerin kromatografik ayırımında başarıyla kullanılmıştır [5].

2015 yılında "Analyst"te yayınlanan ve POSS-MA içeren bir başka çalışmada çift tiyol gruplu, "1,4-bis(merkaptasetoksi)bütan (BMAB)" hem çapraz bağlayıcı hem de hidrofobik kromatografik ligand olarak kullanılmış, alkilbenzen, fenol, çoklu aromatik halkaya sahip hidrokarbon ve anilinlerin ters faz kromatografisi modunda, ayırımı gerçekleştirilmiştir [6].

Tez çalışmasını, yapılan deneyler bazında temel olarak iki bölümde değerlendirmek mümkündür. İlk bölümde, hidrofilik ve hidrofobik özellikte 100 mikron iç çapa sahip organosilikon kapiler monolitlerin serbest radikal polimerizasyonu ve tiyol-en kimyasının birlikte kullanımıyla tek basamakta sentezi gerçekleştirilmiştir. İkinci bölümde ise, sentezlenen monolitlerin karakterizasyonu ile hidrofilik özellikteolanların hidrofilik etkileşim kromatografisi (HILIC), hidrofobik özelliktekilerin ise ters faz kromatografisi (RPC) modlarında sabit faz olarak kullanımıyla kromatografik ayırım çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Sıvı Kromatografisi

2.1.1. Tarihsel Gelişimi ve Özellikleri

Kromatografi, bir homojen karışımın içerdiği farklı kimyasal veya fiziksel özelliklere sahip bileşenleri, sabit faz ve hareketli faz olarak adlandırılan, birbiri ile karışmayan iki fazlı bir sistemde ayrılması ve saflaştırılması prosesine verilen genel addir. Hareketli faz türüne (sıvı veya gaz), sabit faz türüne (katı veya sıvı), ayırma mekanizmasına (partisyon, adsorpsiyon, iyon değişirme veya büyüklükçe ayırma) ve fiziksel ayırma ortamına göre (kolon veya düzlemsel) laboratuvar veya endüstriyel boyutunda farklı kromatografik teknikler bulunmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Temel kromatografik teknikler

Kromatografi kavramı, bilim literatürüne ilk kez Rus botanikçi Mikhail Tsweet 'in 1903 yılında Varşova Doğa Bilimleri Cemiyeti'nde yayınladığı makale ile girmiştir [7]. Tsweet bu yöntemi bitki pigmentlerinin renkli bileşenlerini kalsiyum karbonatlı cam kolonlar kullanarak ayırmak için geliştirmiş ve yeni bir adsorpsiyon tekniği olarak nitelendirmiştir. Kullandığı kolonda pigmentlerden kaynaklanan renkli bantlar olduğundan bu ayırma yöntemine latince renk "chroma" ve yazmak "graphein"

kelimelerinin birleşmesiyle oluşan “kromatografi” adını vermiştir [7,8]. Bu çalışma günümüzde en çok kullanılan kromatografi tekniklerinden biri olan sıvı kromatografisinin de miladı olarak kabul edilmektedir [7,8].

Sıvı kromatografisi, sıvı fazdaki analitlerin, sıvı veya katı sabit fazında nicel ve nitel olarak analiz edilebilmesi açısından literatürdeki en popüler kromatografik yöntemdir. Ayrıca tekrarlanabilirlik, kolay modifiye edilebilme, yüksek saflaştırma yeteneği ile uçucu olmayan ve sıcaklığa duyarlı bileşiklerin de ayrımının yapılabilmesi gibi avantajlara sahiptir. Analitlerin hareketli ve sabit fazlardaki çözünürlükleri, farklı polarite özellikleri sabit faz-analit etkileşim (alikonma) süresini etkilemekte, dolayısıyla sabit fazı farklı zamanlarda terk ederek bileşenler birbirinden ayrılmaktadır [9].

1950’li yıllara gelindiğinde geleneksel sıvı kromatografisi, günümüzdeki sıvı kromatografisi tekniklerine göre çok daha basit olmasına karşın, analizi yapan kişinin maharetine bağlı sonuç verdiği için tekrarlanabilirliği konusunda sorunlar yaşanmaktaydı. Ayrıca yapılan çalışmalarda hareketli fazın difüzyon hızının düşük olması, araştırmacıları daha küçük ve eşboyutlu partiküllerle oluşturulmuş sabit fazları geliştirmeye yöneltti. Bu konuda 1940’lı yılların başında Martin ve Syngge çalışmalarıyla kromatografik tekniklere partiyon kromatografisi vb. yeni yaklaşımlar getirmişler, [10,11] 1952 yılında Nobel Ödülü’nü kazanarak yeni tekniklerin geliştirilmesi ve sıvı kromatografisinin farklı disiplinlerdeki uygulamalarının önünü açmışlardır [12]. Bu da halen modern kromatografinin miladı olarak kabul görmektedir.

Yeni uygulama alanlarında kullanılabilme potansiyelinin fark edilmesi, kromatografiye olan ilginin artmasına, gelişen teknoloji ile birlikte de hızlı ve daha doğru analiz yapabilen kromatografik cihazların yapılmasına aracı olmuştur. Bunun öncüsü olan ilk modern kromatografi cihazı Yale üniversitesi’nde Csaba Horvath tarafından tasarlandı. Horvath, 1966 yılında bugün de evrensel olarak en popüler kromatografi sistemi olan “Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)” cihazını bilim dünyasına duyurdu [13,14]. Bu sistemin tasarlanmasının ardından sabit faz olarak kullanılan kolonların bu tasarımla birlikte geliştirilmesi ve artan potansiyelinin farkedilmesinden kaynaklanan cazibesi sonucu sisteme artan talep doğrultusunda HPLC 1968 yılında ticarileşti [15]. Günümüze kadar da farklı

kromatografik sistemler ile birleştirilerek hibrid olarak ifade edilebilecek prosesler geliştirildi. Bu tür sistemlerin en önemli örneklerinden biri 1990 yılında HPLC ile elektrokromatografi sisteminin çalışma prensiplerinin harmanlanmasıyla geliştirilen ve metalik proteinlerin, polimerlerin ve peptitlerin ayrımında başarıyla kullanılan kapiler elektrokromatografi sistemidir [16].

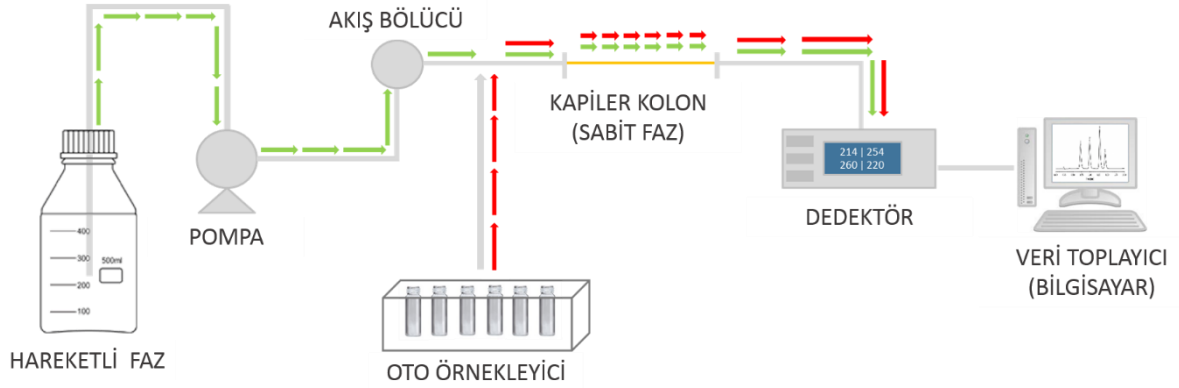
2.1.2 HPLC Ve Nano- LC Çalışma Prensibi ve Özellikleri

Horvarth'ın tasarımından günümüze kadar sürekli gelişen HPLC, kolay ve hızlı tekniği nedeniyle birçok organik maddenin analizi, seperasyonu ve saflaştırılmasında başarıyla kullanılmış öncü bir sistemdir [8,17].

Modern HPLC cihazı, görüldüğü gibi pompa, enjeksiyon sistemi, sabit faz, dedektör ve veri kaydedici olmak üzere 5 bölümden oluşmaktadır. Pompa tarafından çekilen hareketli faz, enjeksiyon sistemi ile otomatik veya manuel olarak enjekte edilen analitleri sabit faza (kolona) sürükler. Yüksek akış hızı ve kolonun gözenekli yapısından kaynaklanan yüksek basınç altında, sabit fazla olan etkileşimleri sebebiyle analitler, kolon içerisinde farklı hızlarda ilerlerleyerek birbirlerinden ayrılmış olur. Ayrılan analitler uygun detektörde sinyallere dönüştürülür ve her bir analitin sinyali veri kaydedicide pik olarak görüntülenir. Bir analiz süresince elde edilen tüm bu piklerin oluşturduğu veriye "kromatogram" adı verilmektedir. Hareketli fazın içeriği, sabit fazın türü ve gözenek yapısı, verilen akış hızına göre ayrılma miktarı ve ayrılma süresi dolayısıyla elde edilen kromatogramlar farklılık göstermektedir.

1980'li yıllara gelindiğinde HPLC teknolojisi geliştikçe ve yaygınlaştıkça farklı teorik ve uygulama çalışmalarına hız verildi [18-21]. Vücutta kalp, böbrek, karaciğer gibi hayati organlarda çok düşük konsantrasyonlarda (nano ve piko mertebesinde) biriken ve çeşitli hastalıklara yol açan toksik maddeler ve çeşitli olumsuz etkilere sebep olabilen ilaç kalıntılarının tespiti, yine vücutta düşük konsantrasyonda bulunan hormonların, antikörlerin, RNA, DNA veya bazı proteinlerin kan örneğinden ayrıştırılması, gıda endüstrisinde kalite kontrol işlemleri sırasında mikroorganizmaların tespiti gibi biyolojik ve çevresel analitlerin ayrımı da önem arz etmeye başladı [22,23]. Ayrıca ilaç geliştirilmesi, proteomik ve genomik çalışmalar gibi düşük analit hacminin varlığında analize ihtiyaç duyulan durumlar için de yeni

arayışlara girildi [38]. Bu bakış açısıyla yola çıkan Karlsson ve Novotny 1988'de Nano-sıvı kromatografisi tekniğini geliştirmişleridir [24].



Şekil 2.2. Nano sıvı kromatografisi bileşenleri ve genel çalışma şeması

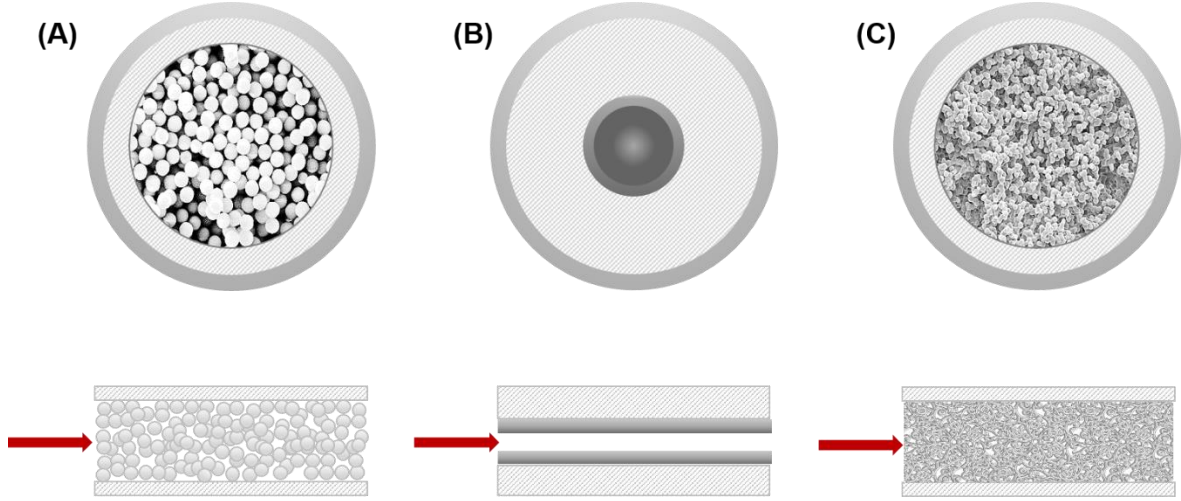
Nano-LC sistemi, temel çalışma prensibi olarak geleneksel HPLC sistemiyle çok büyük benzerlikler gösterse de daha küçük iç çaplı sabit fazın kullanılmasından kaynaklanan daha kısa süreli etkin analiz, daha yüksek ayırma kapasitesi, elde edilen piklerin genişliğinin az olması, daha az hareketli faz ve analit tüketiminin bir sonucu olarak geleneksel sistemlere göre daha ucuz ve yapılan analizler sonucu daha az kimyasal atığın ortaya çıkması dolayısıyla çevreye verilen zararın asgariye indirilmiş olması gibi belirgin avantajları sahiptir [23,25]. Ayrıca HPLC'ye göre daha düşük akış hızlarında çalışması, Nano-LC'nin kütle spektrometresi ile olan bağlantısını daha kolay hale getirerek, ayrımı yapılan analitin bileşenlerinin daha duyarlı tayini sağlanabilmektedir [24].

2.2. Kolon Teknolojisi

2.2.1 Tarihçesi

HPLC sisteminin geliştirildiği 1960'lı yılların sonlarından bugüne kadar, yüksek verimli ayrımlar gerçekleştirilebilmesi amacıyla sabit faz olarak kullanılan kolon teknolojisine ağırlık verilmiştir. İlk olarak, ayrımı yapılacak analit özelliklerine göre modifiye edilen çoğunlukla silika ve alümina bazlı dolgu materyalinin, bir pompa yardımıyla içinden sıvı geçirilmesi suretiyle basınca maruz bırakılarak sıkıştırılmasıyla hazırlanan partikül dolgulu kolon teknolojisi kullanılmıştır. Bu çalışmaların başlarında 5-10 mm çaplı kolonlara yer verilmiş, daha sonra boyutun kolunun ayırma performansı üzerinde önemli bir parametre olduğunun tespit

edilmesinin ardından elde edilen sonuçlara göre ϕ ap deęeri daha dūřūrūlerek 1.5-2 mm ϕ aplı kolonlar kullanılmıřtır [26,27].



Şekil 2.3. Sıvı kromatografisi sisteminde farklı dolgu yapısına sahip kolon türleri (A) Partikül dolgulu kolonlar, (B) Açık tūbūler kolonlar, (C) Monolitik kolonlar

Partikül dolgulu kolonlardan çok daha önce gaz kromatografisi için sabit faz olarak geliřtirilen, dūřūk ϕ aplı kapiler kolonların i ϕ yūzeylerinde silika durgun fazın oluřturulması esasına dayanan a ϕ ık tūbūler kolonlar ise ancak 1978 yılında sıvı kromatografisi uygulamalarında kendine yer edinebilmiř [28], devamındaki ϕ alıřmalarda da a ϕ ık tūbūler kolonların uygulama alanına yōnelik olarak en uygun boyut, basıncı deęeri ve analiz sūresinin belirlendięi teoriler ortaya konmuřtur [29]. A ϕ ık tūbūler kolonlar, ayırma performansı temel alındıęında, geleneksel partikül dolgulu kolonlara gōre ge ϕ irgenlięinin daha yūksək olmasından dolayı 3-4 kat daha hızlı sonu ϕ vermekte, daha kısa kolon kullanımına imkan tanımakta ve mobil fazın ge ϕ iři sırasında ϕ ok daha az basıncı dūřūřūnūn yařanmasını saęlamaktadır [30]. Fakat dūřūk örnek kapasitesi ve dedektōrūn algılama hassasiyetinin daha az olması a ϕ ık tūbūler kolonun belirgin dezavantajlarıdır [31].

2.2.2 Monolitik Kolonlar

Mikrokūreler ile doldurulan ve HPLC uygulamalarında sık ϕ a kullanılan sabit fazların dūřūk kūtle transferi ve iřlevsiz bořlukların fazlalıęı, bu tip kolonların verimlerinin uzunca bir sūre dūřūk kalmasına neden olmuř, bu da yeni bir sabit faz tūrūne olan

arayışı hızlandırmıştır [32]. Monolitik kolonlar bu arayışa son vererek partikül dolgulu kolonlara en iyi alternatifi oluşturmuştur [33].

Monolitik kolonun ön çalışmaları 1950'li yıllarda Robert Syngge Kubin ve arkadaşları tarafından ilkel monolitik yapının geliştirilmesi ile başlamış [34], yapılan çalışmaların ışığında yine Kubin, ilk kez 1967 yılında, şişmiş poli(2-hidroksietil metakrilat) bazlı düşük geçirgenlikli bir yapı ile büyüklükçe ayırma kromatografisi yardımıyla proteinleri ayırmayı başarmıştır [35]. Ross da açık gözenekli monolitik poliüretan bazlı tek basamakta sentezlediği yapıyı HPLC ve gaz kromatografisi uygulamalarında kullanmıştır [36]. 1990 yılların başlarında Svec ve Frechet, metakrilat monomerleri kullanarak, makrogözenekli polimer bazlı yeni bir monolit türünü çok basit bir kalıplama (molding) işlemi ile ürettiklerini duyurmuş [37], 2000'li yılların başına kadar da ürettikleri polimer bazlı monolitleri HPLC ve CEC uygulamalarında başarıyla kullanmışlardır [38-41]. 90'lı yılların sonuna doğru da inorganik silika bazlı inorganik monolitler literatürdeki yerini almıştır [42,43].

Üretilen polimer ve silika bazlı bu monolitler kritik özellikleri nedeniyle çok geniş bir kullanım alanına hitap etmiş ve zaman içinde gelişerek sürekli sistemler için üretilen sabit faz ailesinin önemli bir üyesi haline gelmiştir. Mikro ve nano sıvı kromatografisinin de geliştirilmesinin ardından bu sistemler ile entegre olarak ayırma prosesini minyatürize ettikleri için mikroakış cihazları kullanılarak gerçekleştirilen çeşitli biyoanalitik uygulamalarda kısa sürede kalitatif ve kantitatif analiz ile düşük hacimli analit kullanılabilme imkanı ile daha da ilgi çekmişlerdir [1]. Merck firmasının da 1999 yılında monolitik yapıları ticarileştirmesiyle bu konuda yeni bir pazar açılmıştır [44]. Devamlılık arz eden gözenekli yapı, kolay hazırlanma yöntemi, küçük iskelet yapısına kıyasla yüksek gözenek büyüklüğü, değişken pH'lara karşı kararlılık, yüksek ve hızlı kütle transferi kinetiği, düşük geri basınç, yüksek geçirgenlik ve verimlilik ile ayırımı yapılacak moleküle uygun bir şekilde çok yönlü yüzey modifikasyonuna tabii tutulabilmesi gibi önemli avantajlara sahip olması geleneksel partikül dolgulu ve açık tübüler kolonlara göre monolitik kolonları çok daha cazip bir hale getirmiştir [6,32,33,45,46]. Ayrıca partikül dolgulu kolonlardaki doldurma işleminin zahmetli olması, partikül ve geçiş boşluklarının kontrolündeki zorluk ile nispeten düşük kütle transferinin neden olduğu bant genişlemesi ortadan kaldırılarak, kolonlardaki geçirgenlik büyük ölçüde kontrol altına alınmıştır [33,43]. Bunun yanısıra partikül dolgulu kolonların iki ucuna mobil fazın geçişi sırasında

partikülün kolon içerisinden çıkmasını engellemek için frit denilen ara parçalar yerleştirilmektedir. Bu da analiz sırasında baloncuk oluşumuna sebebiyet vererek kolonun ayırma performansını kötü yönde etkileyebilmektedir [47]. Monolitik kolonların geliştirilmesi ile frit kullanımına gerek kalmamış, dolayısıyla da bu risk de ortadan kaldırılmıştır.

Monolitik kolonlar bu kritik avantajları nedeniyle gelişen teknolojinin de etkisiyle günümüzde ters faz kromatografisi, hidrofilik etkileşim kromatografisi, iyon değiştirme kromatografisi, büyüklükçe ayırma kromatografisi, afinite kromatografisi gibi farklı kromatografik modlar temel alınarak, nükleositler, nükleotitler, peptitler, metabolitler, proteinler vb. birçok mikro ve biyomakromolekülün ayırımının yanısıra moleküler baskılama, elektroforez, biyosensör ve “yonga üzerinde analiz” (*lab on a chip*) uygulamalarında da başarıyla kullanılabilir [30,48].

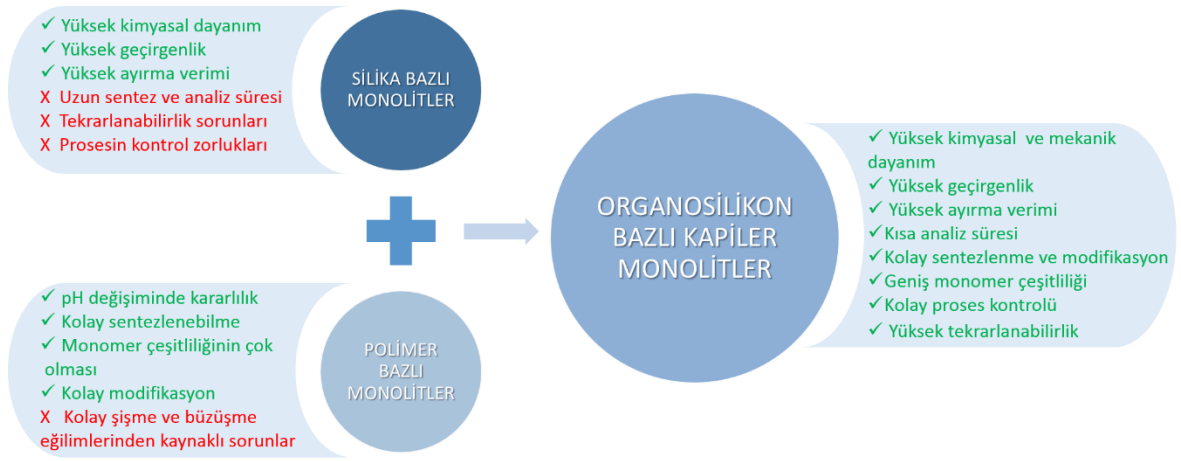
2.2.3 Hibrid Monolitler

Hibrid organik-inorganik materyaller, organik ve inorganik özellikteki komponentlerin moleküler veya nanometre seviyesinde biraraya gelmesiyle oluşan, esneklik, uzun ömürlülük, yüksek biyoyumluluk ve iyi mekanik özelliklerine sahip yapılardır [49]. Hibrid materyaller, kolay işlenebilir ve moleküler düzeyde tasarıma uygun olmasından ötürü mekanik, sensör, enerji, optik, elektronik vb. fizik uygulamasının yanısıra birçok kimyasal uygulamada da kullanılmaktadır [49,50]. Bu kullanım alanlarından en önemlilerinden birisi de bir hibrid materyali olan organosilikon monolitlerin sabit faz olarak rol aldığı kromatografik uygulamalardır.

Matriks özelliklerine göre mevcut literatürde monolitik kolonları en temelde organik polimer bazlı monolitler, silika bazlı monolitler ve organik-silika hibrid monolitler olarak üç kategoriye ayırmak mümkündür [48]. Organik ve silika bazlı monolitler kullanım potansiyeli, kararlılık ve kolay hazırlanma gibi özellikleriyle hibrid monolitlerin ortaya çıkışına kadar kadarki süreçte en geniş kapsamlı monolit türleriydi [51].

Yaygın kullanım sırasına göre metakrilat, stiren ve akrilamid bazlı ve serbest radikal polimerizasyonu (termal veya foto etki ile) sentezlenen organik monolitik kolonlar, pH değişikliklerinde iyi kararlılık gösterme, farklı kromatografik modlarda kullanılabilme, geniş monomer çeşitliliği ve kolay sentezlenebilme özelliklerine sahiptir [47,48,51]. Gözenek özelliklerinin, monomer çözeltisinin içerisindeki

gözenek yapıcı bileşenlerin, monomerlerin, çapraz bağ yapıcı ajanların kompozisyonu ayarlanarak kolaylıkla istenilen hale getirilebilmesi de bu tip monolitlerin en önemli özelliklerindedir fakat bazı çözücülerdeki şişme ve büzüşme eğilimleri, kolonun mekanik kararlılığını azaltmakta, dolayısıyla tekrarlanabilirliğini kötü yönde etkileyerek kolonun aktif olarak kullanım ömrünü kısaltmakta ve monolit gözeneklerinde değişmelere sebep olarak geçirgenliğinin azalmasına neden olabilmektedir [31]. Dahası küçük moleküller için elde edilecek pik simetrisini bozarak sağlıklı kromatogramlar alınmasını engellemektedir. Ayrıca alıkonma süresine bağlı kromatografik ayırma veriminin gözlenmesi bu polimer bazlı kolonların kritik dezavantajlarıdır [31,47].



Şekil 2.4. Silika ve polimer bazlı monolitlerin temel avantaj ve dezavantajları ile organosilikon bazlı monolitlerin avantajları

Polimerik bazlı monolitler, bu dezavantajlarının yanısıra, tatmin edici bir kromatografik ayırmanın gerçekleştirilmesi için ön şart olan özgül yüzey alanının yüksek olmasını sağlayacak uygun bir gözenek yapısı ile elde edilememektedir. Sahip olduğu fonksiyonel gruplar nedeniyle monolit kromatografik ayırımı yapılacak analitle kontrolsüz biçimde etkileşebilmektedir. Bu etkileşimler sonucunda analitin dedektöre ulaşma süresi uzamakta ve elde edilen kromatogramlarda piklerin iyi bir biçimde birbirinden ayrılmamasıyla sonuçlanabilmektedir. Bu da alıkonma süresinin kolon performansına bağlı olmasının (retention dependent column efficiency) bir sonucudur [1-3].

İnorganik silika bazlı monolitik kolonlar ise sol-jel prosesi ile sentezlenmektedir. Bu proses ile silika matriks üzerinde oluşturulan ağ yapısı, farklı çözücülerde büzülme ve şişmeye karşı iyi bir direnç ve mekanik kararlılık göstermekte ve büyük gözenek çapı/iskelet boyutu oranına sahip olması nedeniyle birim basınç düşüşü başına yüksek geçirgenlik ve yüksek teorik kademe sayısı sağlamaktadır. Bu da yüksek kolon verimi ile kromatografik ayrımların yapılabilmesi demektir [31,52]. Bu avantajlı özellikleri nedeniyle HPLC sistemlerinde kompleks karışımların ayrılmasında kullanılabilir [53]. Buna ek olarak silika bazlı monolitler, sahip oldukları özgül yüzey alanları ve hidrofilik özellikleri nedeniyle polimer bazlı monolitlerde görülen kontrolsüz etkileşimlerin minimum olması, alıkonma süresinin kolon performansına bağlı olmasının sonucu olarak bant genişlemesi ve düşük ayrılma verimi sorununun üstesinden gelmiştir [54].

Yine de tek tek silika matriks oluşturulması ve daha sonra da kimyasal bağlama ile modifikasyonundan oluşan geleneksel silika monolitik kolonların hazırlanması yöntemi, sadece uzun zaman almakla kalmayarak aynı zamanda sürecin kontrolünü zorlaştırmakta, elde edilen kolonların tekrarlanabilirliklerini de olumsuz bir biçimde etkilemektedir [33,52].

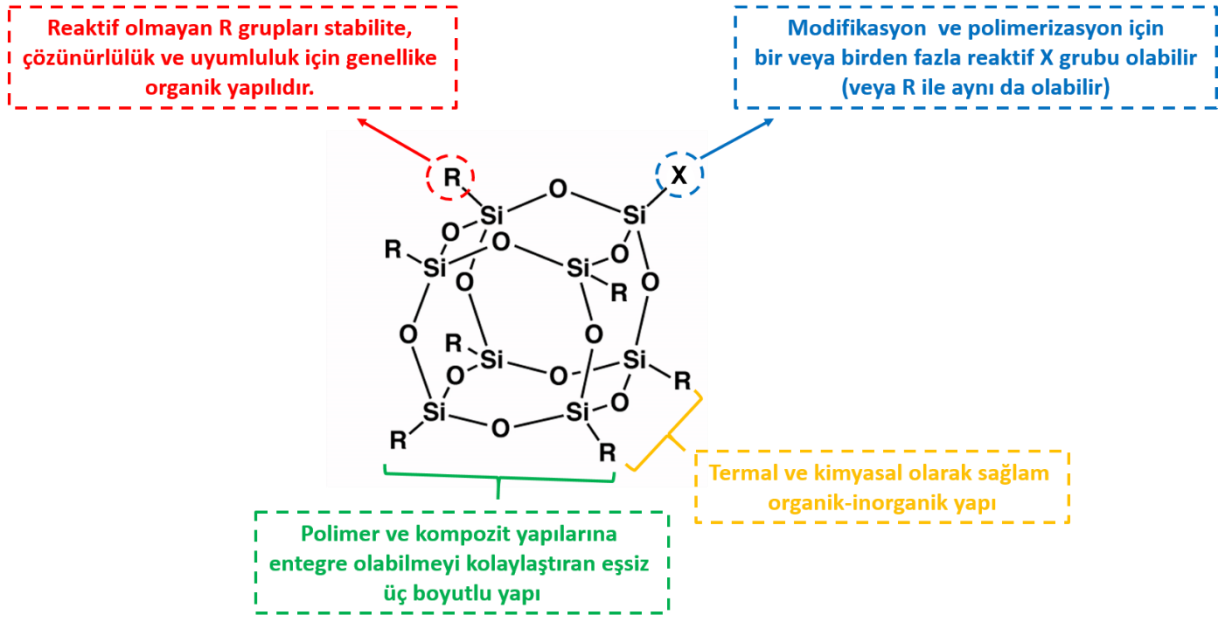
Organik polimer bazlı ve silika bazlı monolitlerin en temel farklılıkları da gözenek boy dağılımıdır. Organik bazlı monolitler, daha büyük gözenekliliğe sahip olmasından dolayı protein gibi makromoleküllerin ayrımında etkiliyken silika bazlı monolitler daha küçük moleküllerin kromatografik ayrımında daha üstün özelliklere sahiptir [54].

Organik polimer bazlı ve silika bazlı monolitlere alternatif olarak geliştirilen hibrid (organosilikon) monolitik kolonlar, ilk olarak 2004 yılında ortaya çıkmıştır [17]. Bu monolitler, polimer (organik) ve silika (inorganik) monolitlerin kolay hazırlanabilme, yüksek geçirgenliğe sahip olma, çeşitli organik solventlere karşı yüksek direnç, pH toleransının yüksek olması ve iyi mekanik dayanım vb. faydalı özelliklerini bir araya getirerek her iki türdeki monolitlerin mevcut dezavantajlarını ortadan kaldırmayı başarmış, ideal bir monolitik yapının oluşması bu hibrid yapıyla sağlanmıştır [48,55,56]. Ayrıca esneklik, düşük yoğunluk, uzun kullanım ömrü gibi özellikleri diğer monolitik materyallere göre üstün yanlarıdır [49]. Hibrid monolitlerin sentezi ile küçük moleküller ile biyomakromoleküllerin yüksek verimli farklı kromatografik modlardaki

uygulamalarında özellikle son 5 yıl içerisinde yapılan çalışmalarda önemli bir ivme kaydedilmiştir [57-60]. Üretilen farklı bileşimlerdeki sayısız organosilikon monolit ile ters faz kromatografisi modunda hidrofobik ve düşük polariteye sahip analitler ile hidrofilik etkileşim kromatografisini kullanarak yüksek polariteye sahip analitlerin etkili bir biçimde seperasyonunu yapmak mümkündür [61]. Bunun dışında hibrid monolitlerin farklı kromatografik uygulamalar için de büyük bir potansiyel barındırdığını ifade etmek doğru olur.

2.2.4 POSS Bazlı Hibrid Monolitler

Mümkün olan en küçük silika partikülü olarak ifade edilebilen, $R_n(\text{SiO}_{1.5})_n$ ($n = 6, 8, 10, \dots$) genel moleküler formülüne sahip 1-3 nm boyutlarındaki polihedral oligomerik silseskuioksan (POSS) ilk olarak Scott tarafından 1946 yılında literatüre kazandırıldı [62]. Silikon ve oksijenden oluşan eşsiz üç boyutlu kübik yapısı nedeniyle hem inorganik hem de organik bir molekül olarak nitelendirilmesi, ticari olarak çok yönlü kullanım alanına sahip olma potansiyelini arttırmıştır [55,63]. Yüzlerce POSS türü olduğu bilinmektedir ve doğal olarak bu türlerin her biri, üzerine eklenen yapılardan ileri gelen kendine has özelliklere sahiptir [63]. Ayrıca kolay polimerize olma, geniş pH aralığında çalışabilme imkânı, yüksek sıcaklığa ve oksidasyona karşı direnç, yüksek mekanik kararlılık, iyi geçirgenlik, bir silika çekirdek gibi davranarak çeşitli kimyasal yapılara bağlanmak suretiyle kolaylıkla modifiye edilebilmesi, birçok çözücüde çözünebilirliğinin yüksek olması, kolay temin edilebilir ve ucuz olması gibi özelliklere sahip olması onu benzer moleküllere göre üstün kılmıştır [57,63]. Mevcut kritik özellikleri nedeniyle POSS, nanoyapıların geliştirilmesinde, kataliz desteklerinde, biyomedikal uygulamalarda, ilaç geliştirme ve taşınması prosesi ile çeşitli görüntülenme sistemlerinde önemli vaatler göstermiştir [50,64,65].



Şekil 2.5. POSS molekülünün genel yapısı ve özellikleri

POSS türevi bileşiklerin organosilikon hibrid monolit yapımında ana monomer veya çapraz bağlayıcı olarak kullanılarak nano-sıvı kromatografisinde kullanılmaları, Zou ve arkadaşları tarafından 2010 yılında literatüre sokulmuştur [66].

Bu tez çalışmasında da hem ana monomer hem de çapraz bağlayıcı rolü üstlenen çoklu vinil yapısına sahip metakril POSS'un (POSS-MA) yine aynı grup tarafından sentezlenen ilk monolitik kapiler kolonda POSS-MA, çapraz bağlayıcı (cross-linking agent) olarak yer almış, hidrofilik bir monomerin varlığında serbest radikal polimerizasyonu ile hazırlanmış ve hidrofilik etkileşim kromatografisi modu kullanılarak analiz edilmiştir [66]. Son 5 yıl içerisinde aynı grup tarafından POSS-MA [67-70] ve benzer kimyasal yapılara sahip oktaglisidildimetilsilil POSS (POSS-epoksi) [50,56,71,72] bazlı monolitlerle hem nano-LC hem de CEC uygulamalarına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bundan başka, elektronötral formda silika-bazlı hibrid monolitler hidrofilik etkileşim elektrokromatografisi için yine POSS-MA serbest radikal polimerizasyonu ile elde edilmiştir [73]. POSS-MA ve florlu fonksiyonel monomerlerin serbest radikal kopolimerizasyonu ile hazırlanan kapiler monolit formunda sabit fazlar, ters faz sıvı kromatografisinde başarıyla kullanılmıştır [74].

POSS bazlı hibrid monolitler sahip olduğu kolay polimerize olma, yüksek sıcaklığa ve oksidayona olan direnci, yüksek pH toleransı, iyi rijitliğe sahip olması ve içerdiği fazla fonksiyonel grup sebebiyle modifikasyonunun kolay yapılması gibi öne çıkan özelliklerinin yanısıra yüksek ayırma verimi ve tekrarlanabilirlik gibi avantajlara da

sahiptir [61]. Bütün bu özelliklerinin yanısıra POSS bazlı monolitler, gözenekli genel ağ yapısının oluşmasını sağlayan geleneksel polimerizasyon yöntemi olan serbest radikal polimerizasyonun yanısıra yapının tek ya da çoklu tiyol gruplarına sahip hidrofilik veya hidrofobik ligandlarla tek basamaklı bir prostele fonksiyonlandırılmasını sağlayan ve literatürde yeni bir yaklaşım olan tiyol-en kimyası ile uyumludur.

Deneysel çalışma sırasında, foto polimerizasyon ve tiyol-en katılmasıyla sentezlenen hidrofilik ve hidrofobik özellikteki monolitlerde POSS-MA hem monomer hem de çapraz bağlayıcı olarak kullanılmaktadır. POSS-MA'nın sahip olduğu polimerleşebilir 10 ayrı metakrilat grubu sayısı, vinil ve metakrilat bazlı geleneksel çapraz bağlayıcı ajanların sahip olduğu grup sayısının yaklaşık 5 katıdır. Her bir polimerleşebilir grup monolit yapısındaki çapraz bağı arttırarak polimer bazlı monolitlerde yaşandığı gibi kütle transfer özelliği düşük jel formunda bölgelerin oluşumunun önüne geçmektedir.

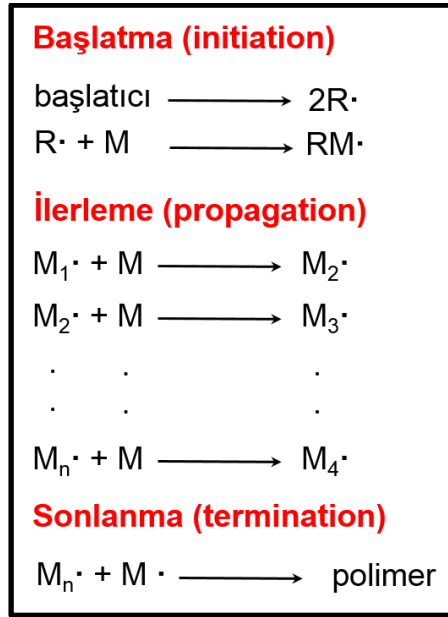
2.3. Hibrid Monolitik Yapının Polimerizasyonu

2.3.1. Serbest Radikal Polimerizasyonu

Serbest radikal polimerizasyonu reaksiyonu, akrilat/metakrilat bazlı monomerlerin gözenek yapıcı çözeltiler içerisinde ısı veya ultraviyole ışık etkisiyle ve bu etkiye uygun başlatıcı ile çözelti ortamında serbest radikal oluşturarak bu radikallerin polimer zincirlerinin oluşmasına ve büyümesine sebep olarak sonuçta gözenekli adsorbent yapısının ortaya çıkması esasına dayanan ve diğer polimerizasyon yöntemlerine göre daha kolay uygulanabilen polimerizasyon metodudur [1].

Serbest radikal polimerizasyonu mekanizması şekil 2.6'da görüldüğü gibi başlama (initiation), ilerleme (propagation) ve sonlanma (termination) adında üç basamaktan oluşur. Başlama basamağında monomer molekülleri kimyasal veya ışık etkisiyle aktif hale getirilerek veya radikal haline dönüştürülür. Aktif hale getirme çoğunlukla bir başlatıcının varlığında gerçekleştirilmektedir. İkinci aşamada, oluşan radikale monomerlerin bağlanmasıyla uzayan bir zincir yapısı oluşur. İlerleme reaksiyonu bazen yüzler bazen de binlerce monomer birimi ile oluşturulabilir. Büyüyen polimer

zincirlerinin uzaması bir noktada durur ve aktif uç gruplar pasif hale geçerek yapıyı kararlı hale getirirler buna da sonlanma basamağı adı verilmektedir.



Şekil 2.6. Serbest radikal polimerizasyonu mekanizması

2.3.2. Tiyol-en Kimyası

Tiyol-en reaksiyonu, ilk olarak 1900'lü yılların başında Posner tarafından karbon karbon çift bağına tiyol gruplu moleküllerin radikal olarak eklenmesi olarak ifade edilmiştir [70]. Tiyol-en serbest radikal katılma reaksiyonunun genel kabul gören mekanizması da, Kharasch ve arkadaşları tarafından 1938'de önerildi [75]. Tiyol-en kimyası, Sharpless tarafından 2001 yılında literatüre kazandırılan [76] molekülleri hızlı ve yüksek verimle bir araya getirmek için etkin bir kimyasal yöntemler bütünü olarak ifade edilebilecek kolay bağlanma kimyasının, (Click chemistry) polimerlerin [77-80] ve yüzeylerin modifikasyonu [81,82] ile dendrimerlerin [83] ve disakkaritlerin [84] sentezinde başarıyla kullanılan bir türü olarak kabul edildi.

Son 10 yılda kolay bağlanma kimyası, uygulama kolaylığı, sıvı ortam ile uyumluluğu, yüksek reaksiyon verimi açısından kromatografik materyallerin hazırlanmasında oldukça ilgi görmüştür [83]. kolay bağlanma kimyasının yaygın bir türü olan Bakır(I) katalizli alkin-azid halka eklenmesi (CuAAC) reaksiyonu, HPLC için gerekli materyallerin hazırlanmasındaki pH duyarsızlığı, üstün kimyasal seçiciliği, ağır olmayan reaksiyon koşulları gibi faydalarının aksine ağır metal iyonlarının sabit fazda kalması sonucu gideriminin zor olması, ağır metal iyonu kullanımının çevreye

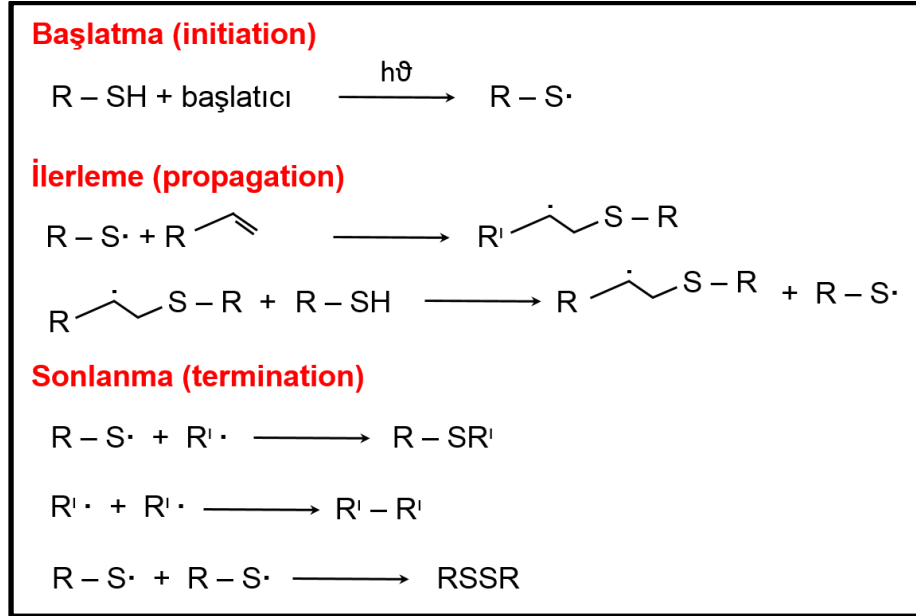
verdiği toksik etki ve kullanılan azidlerin patlayıcı özelliği bu reaksiyonun dezavantajlarını oluşturmuştur [6,86].

Tiyol-en reaksiyonu, metal iyonu içermemesi açısından kolay bağlanma kimyası için CuAAC reaksiyonun ideal alternatifi durumuna gelmekle gelmiş olup, bu reaksiyon ile oluşan tiyoleter bağı güçlü ve sabit bir kovalent bağ olup sert koşullara karşı dayanıklıdır [87]. Klasik polimerizasyon metodları ile birlikte uygulandığında hem istenilen boyutlara sahip gözenekli monolitik yapının oluşması, hem de ayrımı yapılacak analitlere göre uygulanacak kromatografik moda uygun hidrofilik veya hidrofobik özellikteki ligandın vinil veya metakrialt grupları ile etkileşerek yapıya kovalent olarak bağlanması bu yöntemi ile tek basamakta gerçekleştirilebilmektedir [6,55]. Tek basamaklı bu yöntemde gözenek yapıcı sistem bileşenleri (makro gözenek yapıcı ve mikro gözenek yapıcı) içerisinde ana monomer, uygulanacak kromatografik moda uygun olarak hidrofilik veya hidrofobik özellikteki tiyol gruplu ligand ve başlatıcı çözülerek elde edilen bu monolit çözeltisi kapiler kolonun içerisine doldurularak ısı veya ışık etkisi altında polimerleştirilebilmektedir.

Tez çalışmasının odak noktasını oluşturan organosilikon hibrid monolitler, çoklu metakrilat gruplarının, tiyol (merkaptan) grubu içeren ajanlar ile tiyol-en reaksiyonu sonucunda oluşan çapraz bağlanma ile elde edilmektedir. Mikrogözenekli formda istenmeyen jel oluşumuna izin vermeyen bu tür bir çapraz bağ yoğunluğuna sadece klasik monomer ve çapraz bağlayıcıların kullanıldığı “serbest radikal polimerizasyonu” ile ulaşılması mümkün değildir. POSS-MA varlığında tiyol-en kimyasının kullanımı yüksek çapraz bağ yoğunluğuna sahip ve kromatografik ligand bağlı organosilikon monolitlerin tek basamakta eldesini sağlamaktadır. İlk kez Zou ve arkadaşları tarafından tiyol-en reaksiyonu ve UV başlatıcı etkisi kullanılarak hızlı hazırlanan makrogözenekli organosilikon hibrid monolitlerin sentezi ve sıvı kromatografisindeki uygulaması başarıyla gerçekleştirilmiştir [5].

Tipik olarak tiyol-en reaksiyonu, en yaygın olarak fotokimyasal yöntemle radikal oluşturulması ile yürütülmektedir. Şekil 2.7’de de görüldüğü gibi serbest radikal polimerizasyonuna benzer şekilde Reaksiyon başlatma (initiation), ilerleme (propagation) ve sonlanma (termination) basamaklarından oluşmaktadır [88]. Başlatma işlemi, tiyol grubunun fotobaşlatıcı ile etkileşimi ve ışığa maruz bırakılması sonucu tiyol radikalinin oluşumunu, ilerleme işlemi, oluşan bu radikalın karbon-

karbon çift bağına direkt olarak bağlanarak karbon merkezli bir radikal oluşması, ardından, tiyol-en ekleme ürünü vermek üzere ikinci bir tiyol molekülüne zincir transferi yapılması ve eş zamanlı olarak yeni bir radikalın oluşmasını, sonlanma işlemi de radikal- radikal birleşme sürecini ifade etmektedir [88].



Şekil 2.7. Tiyol-en reaksiyonu mekanizması [89].

2.4. Ters Faz Kromatografisi (RPC)

Ters faz kromatografisi HPLC ve nano-LC sistemlerinde en çok kullanılan kromatografik moddur ve günümüzde sıvı kromatografisi ile yayınların ters faz kromatografisi üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir [33]. Öyle ki, literatürdeki HPLC sistemi ile gerçekleştirilen kromatografik ayrımlarının %70'inde ters faz kromatografisi modu kullanılmıştır [90]. RPC'nin geniş uygulanabilme kabiliyeti, çok yönlülüğünden yeni sabit fazların ve sistemin sürekli gelişmesinden kaynaklanmaktadır. Ters faz kromatografisinin en önemli dezavantajı, kritik polar analitlerin ayrımında yaşanan yetersiz alıkonma ve bunun yarattığı düşük ayırma verimi sorunları nedeniyle elde edilen kusurlu şekillere sahip kromatogramlardır [90].

Ters faz kromatografisi terimi 1950'li yıllarda Howard ve Martin tarafından literatüre kazandırılmıştır [91]. İki bilim insanı, uzun zincirli yağ asitlerinin kromatografik ayrımına uğraşırken o dönem geçerli olan normal faz kromatografisinin hidrofobik

yapılı analitlerin ayrılmasında çalışmadığını fark ettiler ve sabit fazı bir destek maddesiyle kaplayarak yapıya hidrofobik özellik kazandırmayı başardılar [91].

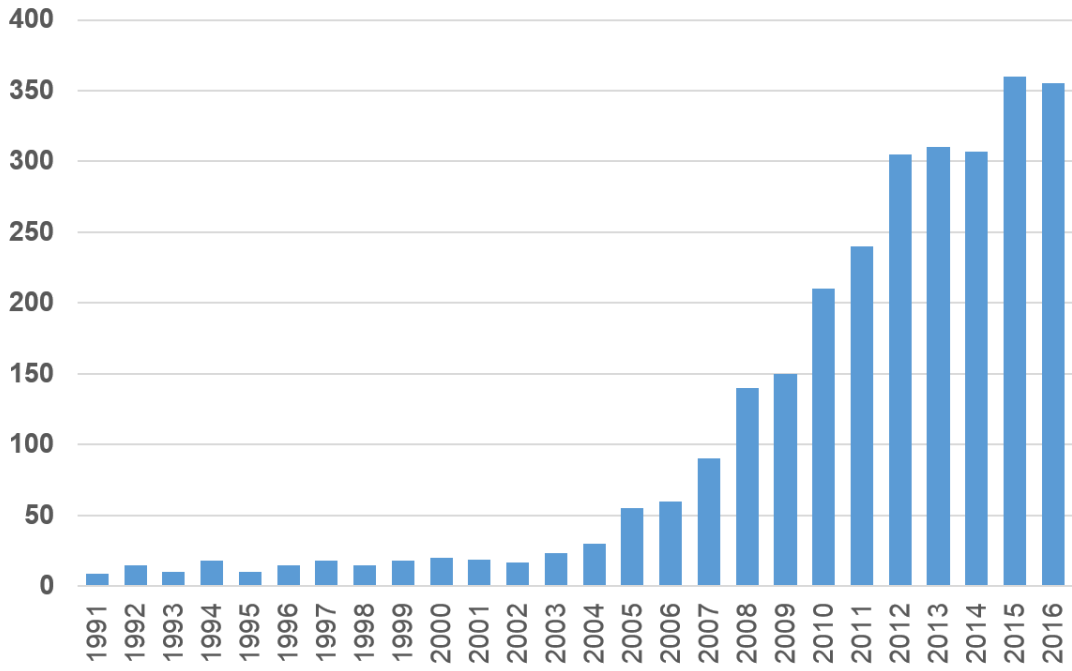
Tanımlandığı günden itibaren ters faz kromatografisinin tekniğinin popüleritesinin bir anda gelişmesi, hızlı kütle transferi, yüksek tekrarlanabilirliğe sahip olması ve kimyasal olarak kararlı olması gibi özelliklerinden ileri gelmektedir. Bu modda sabit genellikle faz alkil-silika tipi bağlı apolar bir yapı iken, hareketli faz, organik solventlerin bir veya birkaçının su veya bir tampon çözelti ile karışımından oluşan polar özellikli bir sıvıdır [92]. Polar hareketli faz varlığında ayrımı yapılacak olan hidrofobik analitlerin, sabit faza adsorbe olarak burada farklı sürelerde alıkonmaları bu sayede farklı zamanlarda detektöre ulaşarak birbirinden ayrı kromatografik piklerin alınması bu modun temel prensibini oluşturmaktadır.

2.5. Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi (HILIC)

Suya olan afiniteyi ifade eden “hidrofilik” teriminden yola çıkılarak isimlendirilen Hidrofilik etkileşim kromatografisi (Hydrophilic Interaction Chromatography - HILIC) Andrew Alpert tarafından 1990 yılında polar analitlerin kromatografik ayrımı için tanımlanmış ve zamanla polar yapılı analitlerin ayrılmasında en yaygın mod olan ters faz kromatografisine bir alternatif olarak literatürde yer edinmiştir [93].

Aslında HILIC için ön çalışmalar 1950’li yıllara, Gregor ve arkadaşlarının hidrofilik özellikteki bir sabit fazda su tabakasının oluştuğunu kanıtlamasına kadar dayanmaktadır [94]. 1975 yılında da ilk kez HILIC metodu kullanılarak Linden ve Lawhead tarafından aminosilika bir sabit faz ile asetonyril-su hareketli faz varlığında sakkaritlerin ayrımı gerçekleştirilmiştir [95]. Hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda kullanılmak için sentezlenen ilk monolitik yapılı kolon ile de Hjerten tarafından 1991’de protein ayrımı yapılmıştır [96].

Şekil 2.8’de de görülebileceği üzere, Alpert’in HILIC kavramını ortaya koymasından bugüne yıllar içerisinde bu kromatografik mod oldukça ilgi çekmiş, kromatografi çalışmalarında sağlam bir yer edinmiştir.



Şekil 2.8. Tanımlandığı yıldan itibaren günümüze uluslararası hakemli dergilerde hidrofilik etkileşim kromatografisi ile ilgili basılan yayın sayıları [97]

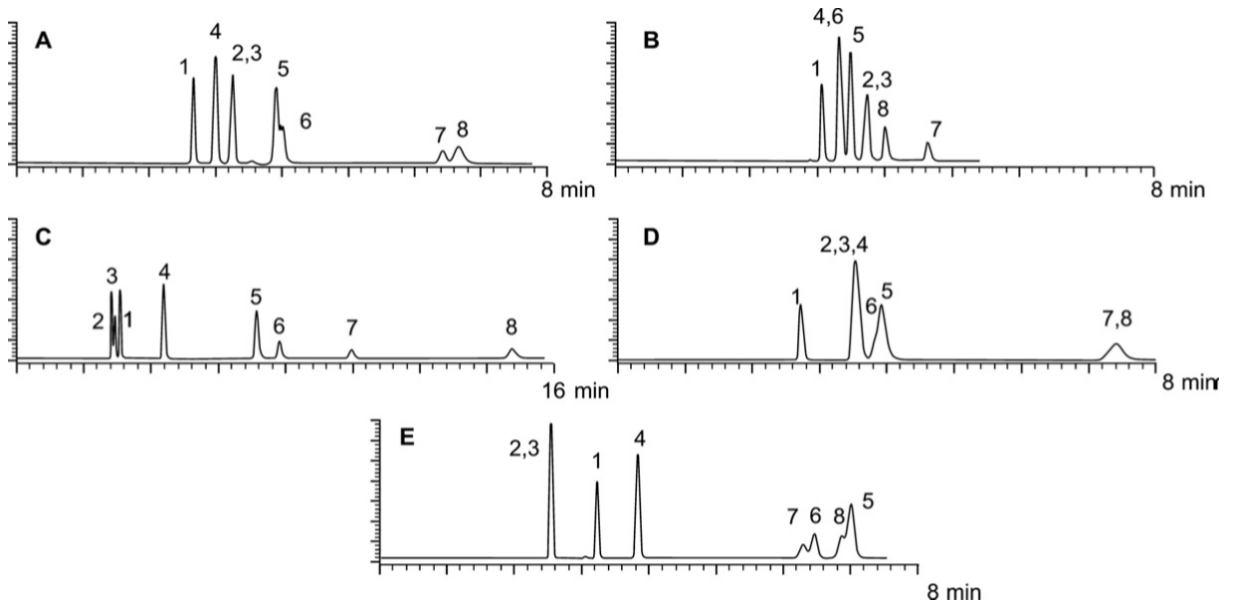
HILIC, temelde en eski kromatografik mod olan normal faz kromatografisinin (NPC) bir türüdür. Bunun nedeni iki modun da polar sabit faz ve apolar hareketli faz varlığında polar yapıların ayrımının adsorpsiyon bazlı bir mekanizma ile gerçekleştirilmesi esasına dayanıyor olmasıdır. Fakat NPC'de tetrahidrofur, hekzan, kloroform gibi su içermeyen organik mobil fazın kullanılması, su varlığında çözünebilen nükleositler, nükleotitler, karbonhidratlar ve peptitler gibi biyokimyasal örneklerin ayrımında düşük verimli ayrımlar ve asimetric pikler elde edilmesi gibi zorluklar çıkarmaktadır. Bunun yerine HILIC'de asetonitril, metanol, etanol, izopropanol gibi sulu fazda da kullanılabilen mobil fazların kullanılması bu sorunun üstesinden gelmektedir [22,90].

En yaygın kullanım alanına sahip kromatografik mod olan ters faz sıvı kromatografisi modu için, peptitler, glikopeptitler, oligonükleositler, şekerler, sakkaritler, suda çözünen vitaminler, nükleositler, nükleotitler, nörotransmitter bileşikler, karboksilli asitler, aminoasitler, proteinler, bazı doğal ürünler ve biyolojik örnekler vb. polar bileşiklerin ayrılmasında, sabit faz ile analit arasındaki polarlık farkından kaynaklanan zayıf tutulma, düşük alıkonma faktörü sonucuyla karşımıza çıkmaktadır ki bu da piklerin birbirinden ayrılmasında önemli bir dezavantaja doğurmaktadır. Bu polar bileşikler genomik, proteomik, farmakoloji, ziraat kimyası

gibi alanlarda büyük önem arz eden kimyasal yapılardır [86]. HILIC, ters faz kromatografisinin bu dezavantajını ortadan kaldırmak için en iyi adaylardan birisidir. Ayrıca HILIC, kütle spektrometresiyle uyumlu çalışabilmektedir ve HILIC – MS sistemi karmaşık polar örneklerin analizinde günümüzde en popüler teknik haline gelmektedir [98].

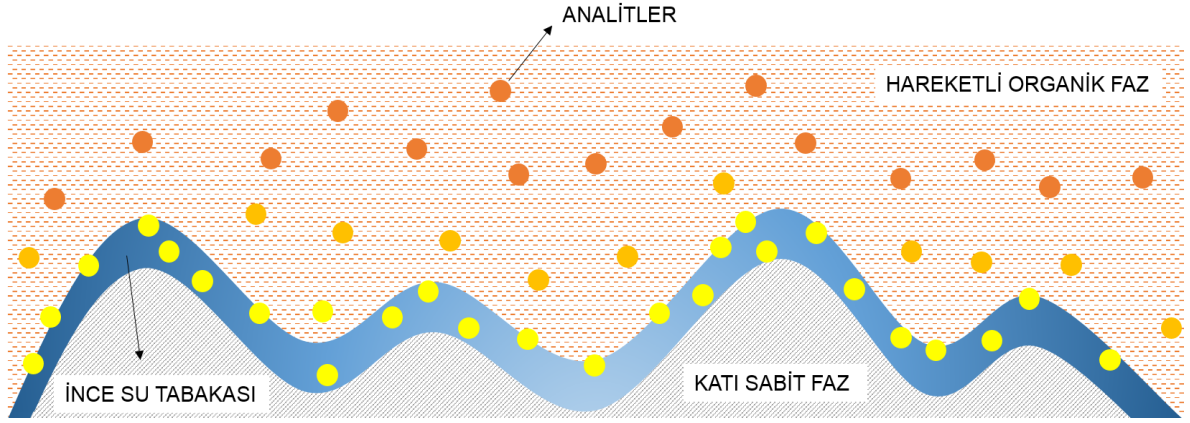
HILIC modunda kullanılan kolonlar, günümüzde özellikle tıbbi biyokimyasal araştırma ve uygulamalar, ilaç geliştirme, gıda analizleri vb. birçok alanda çok çeşitli analizlerin yapılabilmesi için ticari olarak üretilmektedir [99].

HILIC modunda kullanılan sabit fazın hidrofilik özelliğe sahip olması gerekmektedir. Bu da ancak yapıya eklenerek monolite hidrofiliklik kazandıracak bir ligand varlığında ulaşmak mümkündür [100]. HILIC modunda kullanılmak üzere bir çok farklı orijinde ve özellikte sabit faz sentezlenmiştir. McCalley, bu sabit fazlardan silika, amid, diol, zwitteriyonik ve çoklu mod (mixed-mode) bazlı olanlarını polar analitleri kullanarak şekil 2.9'da görüldüğü gibi aynı hareketli faz şartlarında analize tabii tutmuş ve alıkonma faktörü, kademe yüksekliği gibi alıkonmaya bağlı özelliklerinin sabit fazların yapılarına bağlı olarak değiştiğini gözlemlemiştir [101].



Şekil 2.9. HILIC kromatografisi modunda 5 farklı sabit faz türü kullanılarak yapılan analizler ile alınan kromatogramlar. [101] Çıkış sırası : 1. fenol, 2. 2-naftalin sülfonik asit, 3. p-ksilensülfonik asit 4. kafein, 5. nortriptilin, 6. difenhidramin, 7.benzilamin, 8. prokainamid. Akış hızı: 1 mL/dak, ACN/su oranı:85/15 mL/mL + 5 mM amonyum format, pH: 3.0, izleme: DAD 215 nm

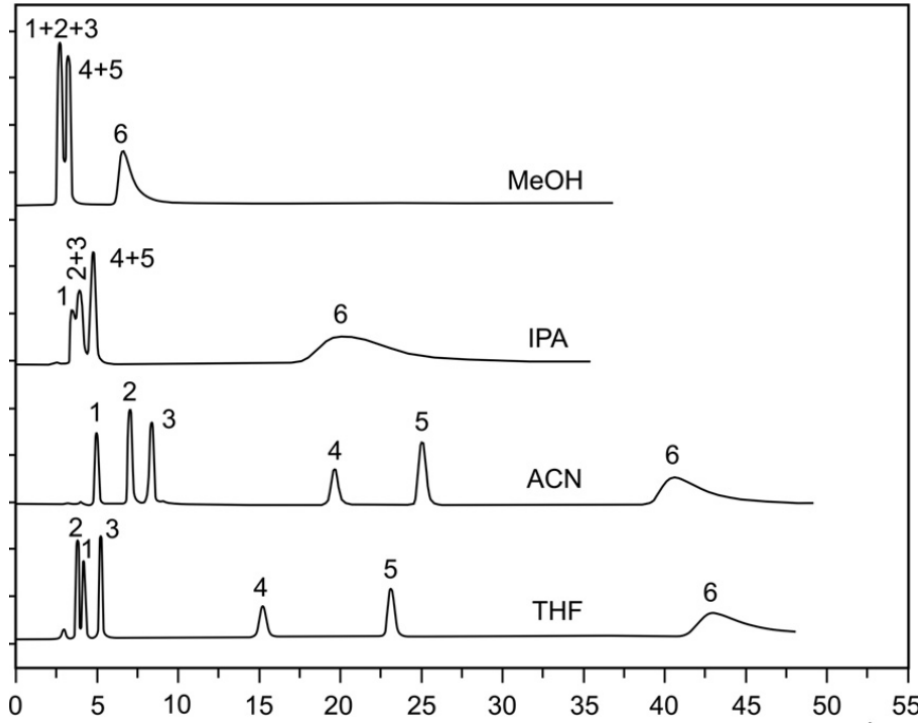
Sabit faz yapısındaki polar gruplar hidrofilik (suyu seven) özelliğinden dolayı düşük su içeriğine sahip (%5-40) hareketli fazdaki su moleküllerini kendi bünyelerine çekmekte ve bu moleküllerin monolit yüzeyinde ince bir su tabakası oluşturması ile, bu tabaka polar (hidrofilik) analitler ile daha güçlü bir etkileşime girmektedir. Bu etkileşim sonucunda daha polar olan analit bileşenleri kolonda daha uzun süre alıkonmakta, daha apolar yapıdaki bileşenler de kolondan çıkarak daha önce dedektöre ulaşmakta ve pik oluşturmaktadır [102,103]. Bu mekanizma şekil 2.10'da görsel olarak ifade edilmiştir. HILIC için alıkonma mekanizmasının, analitin kimyasal yapısına, hareketli fazın kompozisyonuna, pH'ına ve içerik özelliklerine göre değiştirilebileceği ise Hao ve arkadaşları tarafından detaylı olarak irdelenmiştir [95].



Şekil 2.10. Hidrofilik etkileşim kromatografisi mekanizması

HILIC'te diğer polar çözücülere kıyasla (metanol, izopropanol vb.) düşük basınçta düşük vizkosite, etkili ayırma ve daha keskin pikler elde edildiği için düşük derişimde suyun yanında yüksek derişimde asetonitrilden oluşan hareketli faz olarak kullanılmaktadır [90]. Hareketli fazdaki bu yüksek asetonitril derişimi (genel olarak %60-95), yüksek organik faz anlamına gelmektedir ve bu sebeple kolonun içerisinden hareketli fazın geçişi sırasında ortaya çıkan geri basınç daha düşüktür. Dolayısıyla analiz sırasında daha yüksek akış hızlarına çıkılabilmekte, daha kısa sürede sağlıklı kromatografik ayırma ulaşılabilmektedir [100].

Karatapanis ve arkadaşları farklı organik solvent tiplerinin hidrofilik özellikteki 6 vitaminin ayrılmasındaki etkilerini ölçmek için aynı şartlarda yaptıkları çalışmada şekil 2.11'de de görülebileceği gibi en iyi ayırım gücüne asetonitril-su hareketli faz bileşimi kullanıldığında ulaşılabildiğini gösterdiler [104].



Şekil 2.11. Suda çözülen vitaminlerin kromatografik ayrımında hareketli fazda kullanılan farklı organik çözeltiler ile alınan kromatogramlar [104] Organik çözücü/su : 90/10 mL/mL + 10 mM CH₃COONH₄, pH : 5.0, Akış hızı : 0.6 mL/dak, DAD : 272 nm

Hemström ve Irgum'ın yaptığı çalışmada da [102], hareketli fazın su içeriği arttıkça sulu tabakası ile daha benzer hale geldiği, bu durumun mobil fazdaki çözünen maddenin kalma süresinin uzamasına ve bunun sonucunda alıkonma gücünde azalmaya yol açtığı, dolayısıyla, alıkonma oranının çözünen maddenin polaritesi ile doğru orantılı, hareketli fazın polaritesi ile ters orantılı olduğu ve HILIC ayırma modunda düşük su muhtevasına sahip hareketli fazların daha az kutuplu olduğu ifade edilmiştir.

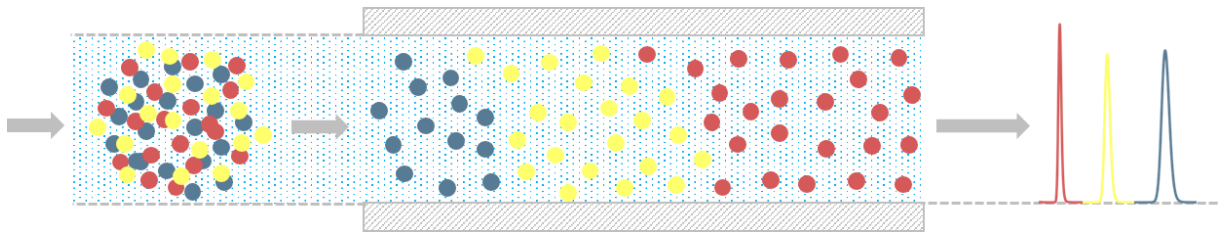
Bölüm 2.2.2'de ifade edildiği üzere, monolitik kolonlar, partikül dolgulu kolonlara göre çok daha avantajlı bir konumdadır. Bu durum hidrofilik etkileşim kromatografisi uygulamaları için de için de geçerlidir. Horie ve arkadaşları tarafından, HILIC modu ile, partikül dolgulu ve monolitik kolonların sabit faz olarak kullanıldığı analizler sonucu her iki kolon tipinin kademe yüksekliklerini karşılaştırılmış, monolitik yapıların, daha yüksek verime ulaştığı gözlemlenmiştir [106].

2.6. Kromatografik Verimlilik Parametreleri

Sentezlenen kapiler monolitik kolonların sıvı kromatografisinde sabit faz olarak kullanıldığı analizler sonucu elde edilen kromatogramlardan, monolitik kolonun veriminin ve performansının belirlenmesi ve farklı içeriklerle hazırlanan kolonlarla kıyaslanması için gerekli olan alıkonma faktörü, teorik kademe sayısı, teorik kademe yüksekliği, pik çözünürlüğü gibi boyutlu ve boyutsuz parametreler kullanılmaktadır.

2.6.1 Alıkonma

Alıkonma, sıvı kromatografisi sisteminde hareketli fazın, cihaza belirli miktarda enjekte edilen analit bileşimini sabit faza sürüklemesi sonrası sabit faz ile analitin kimyasal özelliklerinden ileri gelen etkileşimler dolayısıyla olarak belirli sürelerde tutulması olarak ifade edilebilir. Analitin kolondan geçiş hızı, sadece sabit fazla olan etkileşimine değil, sabit fazın hareketli fazla olan dengesine de bağlı olarak değişiklik göstermektedir [98].



Şekil 2.12. Analitlerin monolitik kolon içerisindeki alıkonma mekanizması

Şekil 2.12’de görülebileceği üzere bir analit karışımında sabit faz ile etkileşimi daha fazla olan analit kolonda daha fazla alıkonulmakta, etkileşimi nispeten daha az olan analit ise kolonu öncelikle terk edererek daha önce pik vermektedir.

Her bir analit türünün kolon içerisinde tutulduğu süre alıkonma süresi (retention time, t_R) olarak ifade edilmiştir. Bu süre yüzeyin hidrofilik veya hidrofobik özelliğinden kaynaklı sabit faz – analit arası moleküler etkileşimlere ve hareketli fazın içeriğine bağlı olarak değişiklik göstermektedir [100].

2.6.2. Alıkonma Faktörü (k)

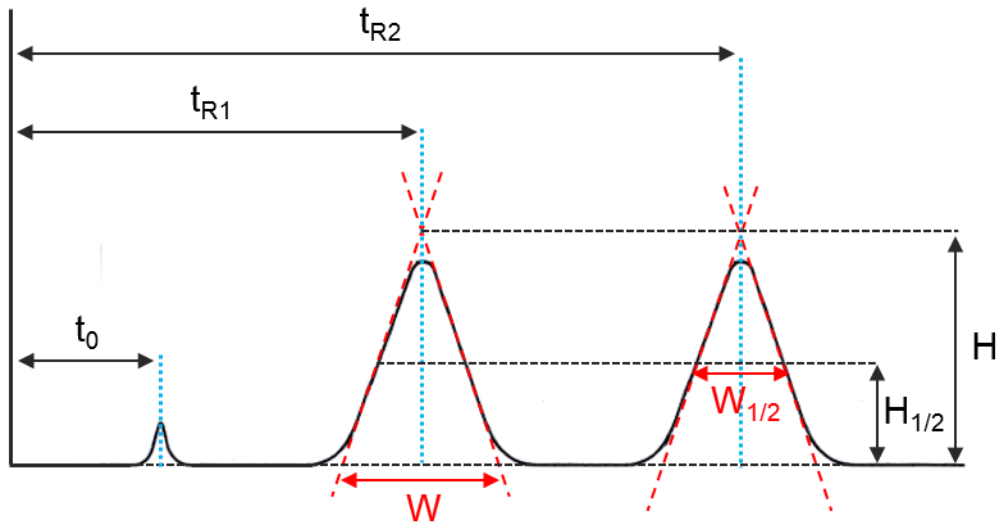
Alıkonma faktörü (k), sabit fazdan geçen bir analitin tutulma oranını ifade etmek için ortaya konulmuş boyusuz bir parametredir. Alıkonulma faktörü eşitlik 2.1 ile hesaplanır.

$$k = (t_R - t_0)/t_0 \quad (2.1)$$

Burada t_R , sisteme enjekte edilen analitin, enjeksiyondan dedektöre ulaşınca kadar olan süreyi ifade eder. t_0 ise, sabit faz ile etkileşime girmeyen bir analitin (toluen, tiyoüre vb.) kolonda geçirdiği referans süresi olarak tanımlanır.

2.6.3. Teorik Kademe Sayısı (N) ve Teorik Kademe Yüksekliği (h)

Teorik kademe sayısı ve teorik kademe yüksekliği, sentezlenen sabit faz ve ona uygun hareketli faz varlığında kurulan sistem ile belirlenen analitlerin kromatografik olarak ayrılma performanslarının ve sabit fazın veriminin ortaya konması için iki önemli parametredir [100]. Bu parametreleri hesaplayabilmek için, şekil 2.13'de gösterildiği gibi analiz sonucu elde edilen piklerden bazı değerlere ulaşmak gerekmektedir.



Şekil 2.13 Birbiri ardına gelen piklerde kromatografik verimlilik parametrelerinin hesaplanması için gerekli alıkonma süreleri ve pik boyutlarının gösterimi

En basit ifade ile teorik kademe sayısı, analitin sabit faz içerisindeki etkileştiği noktaların tümünü ifade etmektedir ve kolon verimi, eşitlik 2.2 ile elde edilen bu sayı ile doğru orantılıdır [100].

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2 \quad (2.2)$$

Burada $W_{1/2}$, analite ait elde edilen pikin yarı yüksekliğindeki genişliği olarak tanımlanmaktadır.

Ayrıca kolonun uzunluğunun artmasıyla da teorik kademe artış göstermektedir. Kolon uzunluğuyla (L), N değerinin ilişkisi de eşitlik 2.3'de ifade edilen teorik kademe yüksekliği isminde yeni bir parametrenin ortaya çıkmasına neden olmuştur.

$$h = (L/N) \quad (2.3)$$

2.6.4. Pik Çözünürlüğü (R)

Pik çözünürlüğü (R), birbiri ardı sıra pik veren iki analitin birbirinden ne kadar iyi ayrıldığıнын bir ölçüsüdür ve eşitlik 2.4 ile hesaplanır.

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2} \quad (2.4)$$

Bu eşitliğe göre t_{R1} ve t_{R2} sırasıyla ardışık pik veren iki analitin alıkonma sürelerini, W_1 ve W_2 de bu piklerin taban genişliklerini sembolize etmektedirler. Elde edilen R değerlerine göre bu piklerin ayırım özelliklerini belirlemek mümkündür. Buna göre eğer R değeri 1,5'tan büyük ise ardışık bu iki pik birbirinden tam anlamıyla ayrılmıştır denilebilir. Pik çözünürlüğü değerinin artırılması için kolon boyu büyütülebileceği gibi, eğer partikül dolgulu bir sabit fazla çalışılıyorsa partikül boyutunu küçültmek, monolitik bir yapıda çalışılıyorsa da yapının gözenek çapını küçültmek gerekir [109].

2.6.5. Tekrarlanabilirlik

Kromatografik çalışmalarda sentezlenen sabit faz ile aynı analiz koşullarında, arka arkaya veya farklı zaman dilimlerinde alınmış kromatogramlardaki değişim olarak ifade edilmektedir. Özellikle ticari olarak sentezlenen sabit fazların tekrarlanabilirliğinin yüksek olması beklenmektedir. Tekrarlanabilirlik yüzde bağıl standart sapma (%BSS) adı verilen bir parametreye göre değerlendirilmektedir. %4'altında bir değerde olması istenen bu parametreye ulaşılabilmesi de aşağıda verilen eşitlik 2.5, 2.6 ve 2.7 ile mümkün olmaktadır [89].

$$RT_n = \frac{\sum N_i RT_i}{\sum N_i} \quad (2.5)$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum N_i (RT_i - RT_n)^2}{\sum N_i - 1}} \quad (2.6)$$

$$\%BSS = \frac{SD}{RT_n} \quad (2.7)$$

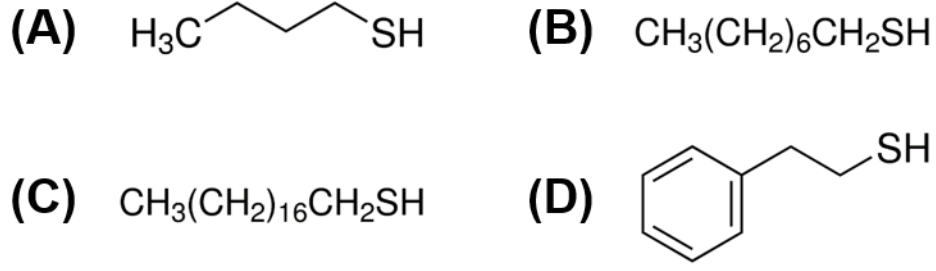
Bu eşitliklere göre, RT_n bir analit için tekrarlanan analizlere göre ortalama alıkonma süresini, RT_i , i no'lu analitin alıkonma süresini, N_i , tekrarlanan analiz sayısını, SD , standart sapmayı ifade etmektedir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Giriş bölümünde de ifade edildiği üzere, tez iki kısımda değerlendirilebilir. İlk kısımda nano-sıvı kromatografisi sisteminde, hidrofilik ve hidrofobik formdaki analitlerin kromatografik ayrımı amacıyla kullanılabilir organik-silika (organosilikon) bazlı kapiler monolitlerin yüksek bağ yoğunluğuna ve analit alıkonma süresinden bağımsız ayırma performansına sahip olacak biçimde sentezi yapılmıştır. İkinci olarak da her bir kolonunun belirli bir analit karışımının ayrılmasında gösterdiği kromatografik performans izokratik modda izlenmiştir. Bu çalışma hangi kolonun, hangi tür analit karışımının kromatografik ayrımında daha iyi bir performans gösterdiğini tanımlamaktadır.

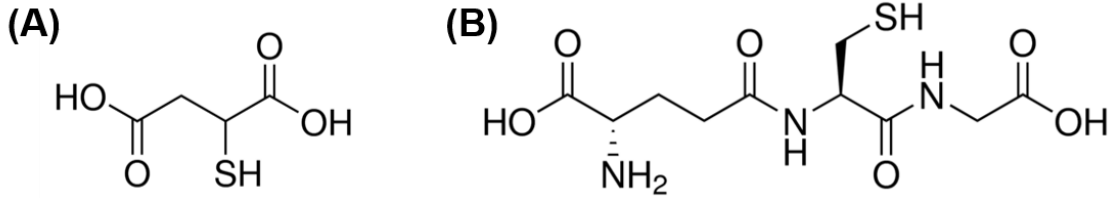
Çapraz bağ görevi de gören POSS-MA ana monomeri ile hidrofilik ve hidrofobik formdaki tiyol gruplu kromatografik ligand ve çapraz bağlayıcıların varlığında tiyol-en reaksiyonu ile, hidrofilik etkileşim kromatografisi ve ters faz kromatografisi için kullanılacak hidrofilik ve hidrofobik özellikte hibrid monolitlerin sentezi tek basamakta gerçekleştirilmiştir. Çalışmada hem termal etki hem de fotoetki ile monolitik kolonların sentezi yapılmış, bu kolonların da karakterizasyonu ve analit ayırma performansları incelenmiştir.

Ters faz kromatografisi modunda kullanılmak üzere hidrofobik özellikteki organosilikon monolitlerin sentezi için monolit yapısının tiyol gruplarıyla fonksiyonlandırılması amacıyla, molekül yapıları şekil 3.1'de verilen farklı karbon zincir uzunluklarına sahip 1-oktadekantiyol (ODT), 1-oktantiyol (OT) ve 1-bütantiyol (BT) alifatik ligandları ile 2-feniletantiyol (PET) aromatik ligandı kullanılmış, böylelikle hem zincir uzunluğunun hem de aromatik-alifatik ligand değişiminin ayırma performansına etkisi incelenmiştir. Ters faz kromatografisi modunda alkil benzenlerin, polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) ve fenol türevlerinin ayrımı gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Ters faz kromatografisi (RPC) modunda kullanılan hidrofobik özellikteki ligandların moleküler yapıları (A) Bütantiyol – BT, (B) Oktantiyol – OT, (C) Oktadekantiyol – ODT, (D) 2-feniletantiyol – PET

Hidrofilik etkileşim kromatografisi için de şekil 3.2’de molekül yapıları verilen merkaptosüksinik asit (MSA) ve glutatyon (GT) ligandları ile polar yapılı analitlerin (nükleositler, nükleotitler, organik asitler) ayrımı denenmiştir.



Şekil 3.2. Hidrofilik etkileşim kromatografisi (HILIC) modunda kullanılan hidrofilik özellikteki ligandların moleküler yapıları (A) Mercaptosüksinik asit (B) Glutatyon

Monolit çözeltisinin kompozisyonu, istenilen yüzey alanına, kromatografik ayırma uygun geri basınç değerlerine uygun gözenekli kolon yapısını oluşturmak açısından çok kritiktir. Bu yüzden sentezlerde mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı ve monomer/gözenek yapıcı oranları ile yapıya tiyol-en katılmasıyla bağlanan hidrofilik veya hidrofobik özellikteki ligandların derişim değerleri değiştirilmiştir.

Her bir kolon için, belirli analit karışımı kullanılarak, hareketli fazdaki asetonitril oranı ve hareketli faz akış hızının değiştirilmesi ile kromatografik performans incelemesi yapılmıştır. Bu inceleme her iki kromatografik mod ile farklı analit karışımları için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kromatogramlar kullanılarak her bir kromatografik analiz için pik çözünürlüğü ve alıkonma faktörü değerleri hesaplanmıştır. Ayrıca her iki kromatografik mod için kromatografik performans, her bir kolon için kademe yüksekliği cinsinden tanımlanmıştır. Her bir kolon için, kademe yüksekliğinin hareketli faz çizgisel akış hızı ile değişimini gösteren Van-deemter grafiği elde edilmiştir.

Buna ilave olarak her bir monolit için farklı hareketli faz asetonitril oranı ve farklı akış hızları ile elde edilen kademe yüksekliği değerleri-alıkonma faktörüne karşı grafiğe alınarak, üretilen monolitin kütle transfer özellikleri tanımlanmış ve kütle transfer kısıtlamalarına neden olarak kromatografik verimi azaltan jel formunda geçici mikrogözenekliliğe sahip bölgelerin varlığı araştırılmıştır. Her bir monolitin alıkonma faktörüne bağlı ayırma verimi davranışı gösterip/göstermediği oluşturulan grafiklerin analizi ile belirlenmiştir. Böylece üretilen moleküler kafes yapısına sahip organosilikon tipi hidrofobik ve hidrofilik monolitlerin klasik polimer ve silika bazlı monolitlerden farkı ortaya konmuştur.

Sentezlenen monolitlerin karakterizasyonuna yönelik olarak da taramalı elektron mikroskopu ile (SEM) görüntülenmiş, nano-sıvı kromatografisi sisteminde akış hızı-geri basınç değeri ilişkisi ortaya konmuş, Elementel analiz ile S gruplu ligand içeriği belirlenmiş, monolitik yapının gözenek boy dağılımı tayin edilmiş ve çapraz bağlanma miktarı değerleri bulunmuştur.

3.1 Materyal

Monolit sentezinde hem ana monomer hem de çapraz bağlayıcı olarak kullanılan POSS metakrilat (POSS-MA) Hybrid Plastics, ABD'den, termal etki ile polimerleştirilen kolonlarda çapraz bağlayıcı olarak kullanılan etilen dimetakrilat (EDMA) ve silanlama ajanı olarak kullanılan 3-trimetoksisililpropil metakrilat (TMSPM) Sigma-Aldrich Co. LLC. A.B.D.'den temin edilmiştir. Monolitin gözenekli yapısını oluşturan bileşenler n-propanol (n-PrOH) (BDH Chemicals Ltd., İngiltere), 1,4-bütandiol (1,4 BD) (VWR International, Avustralya), n-dekanol (Dec-OH) (Merck AG, Almanya), polietilenglikol 2000 (PEG 2000) (Sigma Chemical Co. A.B.D.'den), polietilenglikol 400 (PEG 400) (Hopkin & Williams Limited, İngiltere), n-butanol, etilen glikol ve amonyum hidroksit (Sigma-Aldrich Co. LLC. A.B.D.) istenilen özellikteki monolit türüne uygun olarak kullanılmıştır. Silanizasyon işlemi kolon içerisinden geçirilen sodyum hidroksit (NaOH) Riedel de Haen, Almanya'dan, metanol (Me-OH), toluen ve hidroklorik asit (HCl) ise Sigma-Aldrich Co. LLC. A.B.D.'den temin edilmiştir. Monolitlerin sentezlendikten sonra yıkanması ve analize hazır hale getirilmesi için mutlak etanol (EtOH) (Merck AG, Almanya'dan) ve kromatografik çalışmalarda hareketli faz olarak (HPLC grade) asetonitril (ACN) ile asetik asit (Sigma-Aldrich Co. LLC.'den) alındığı şekilde kullanılmıştır. İç çap değeri

100 mikron olan ultraviyole (UV) geçirgen kolonlar ile etrafı poliimid tabakası ile kaplı termal kapiler kolonlar Polymicrotechnologies, A.B.D.'den alınmıştır. Hidrofobik özellikteki, tiyol gruplu ligandlardan 1-oktadekantiyol (ODT), 1-oktantiyol (OT), 1-bütantiyol (BT) ve 2-feniletantiyol (PET) Sigma-Aldrich Co. LLC. A.B.D.'den sağlanmış, hidrofilik özellikteki ligandlardan ise merkaptosüksinik asit (MSA) Aldrich Chem. Co. WI,'den glutatyon (GT) ise yine Sigma-Aldrich Co. LLC. A.B.D.'den satın alınmıştır. Termal polimerizasyon için başlatıcı olarak kullanılan 2,2'-azobis(2-metilpropiyonitril) (AIBN) Glentham LSL. İngiltere, fotopolimerizasyon için başlatıcı olan 2,2-dimetoksi-2-fenilasetofenon (DMPA) ise Aldrich Chem. Co. WI'den alınmıştır. Ayırımı yapılacak analitlerden benzen, toluen, tiyoüre, floren, fenantren, floranten, piren, katekol, 4-metoksifenol, 4-nitrofenol, 3-nitrofenol, p-toluik asit, benzoik asit, 4-hidroksibenzoik asit, 4-klorobenzoik asit, 4-iyodobenzoik asit, guanin, adenin, sitozin, timin, guanozin, sitidin, inosin, üridin ve timidin Sigma-Aldrich Co. firmasından, etilbenzen, propilbenzen ve bütilbenzen ise Merck AG, Almanya'dan ithal edilmiştir. Bunun yanında tüm işlemlerde distile-deiyonize su kullanılmıştır.

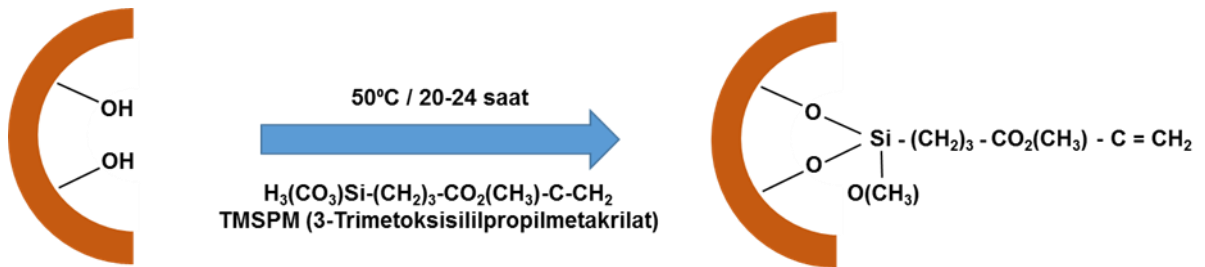
3.2. Termal Polimerizasyon ile Monolit Sentezi

Termal başlatıcı ve ısı etkisiyle polimerizasyona tabii tutularak sentezlenen monolitik kolonlar ana monomerin POSS-MA ve çapraz bağlayıcı olarak da EDMA'nın kullanıldığı yapılardır. Gözenek yapıcı sistem bileşenlerinin varlığında, POSS-MA'nın üzerindeki metakrilat gruplarının hem kendi aralarında hem de EDMA'nın sahip olduğu metakrilat yapılarıyla etkileşime girmesiyle çapraz bağlı monolitik yapı oluşmakta, tiyol-en reaksiyonu ile de istenilen özellikteki ligandın yapıya bağlanması tek basamaklı basit bir proses ile gerçekleştirilebilmektedir.

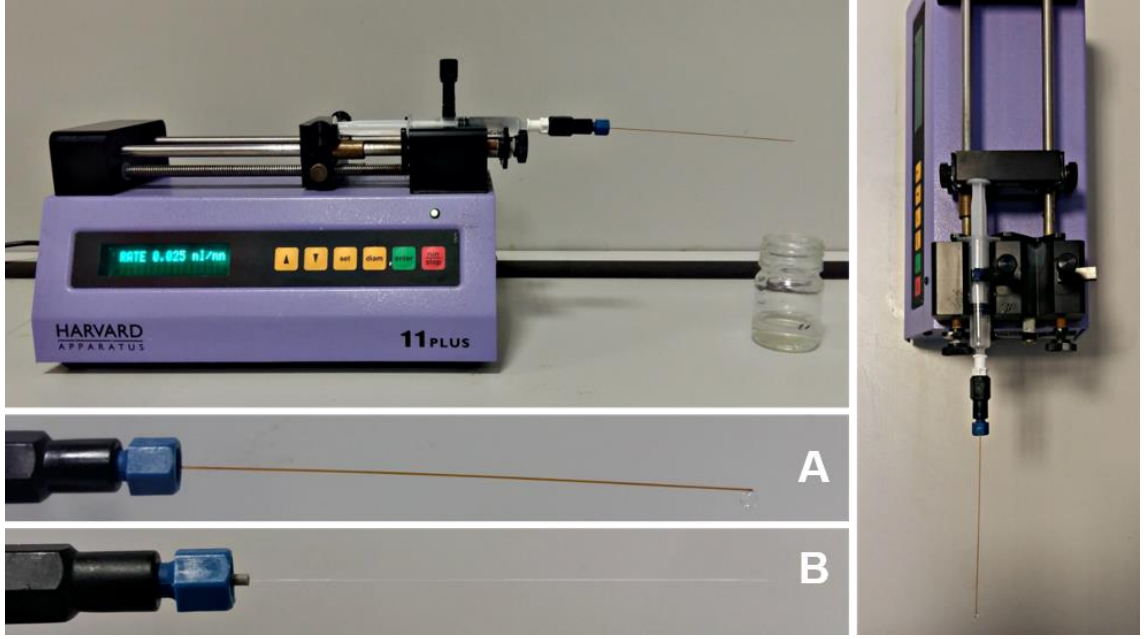
3.2.1. Termal Polimerizasyon İle Sentezlenen Monolitik Kolonlar İçin Silanizasyon

Monolitik kapiler kolonun başarılı bir biçimde sentezlenmesi ve kromatografik analizde sorunsuz bir biçimde kullanılabilmesi için ilk aşamada monolitik yapının kolon iç çeperlerine iyi bir biçimde tutunması şarttır. Kolonun sentezi öncesinde bu tutunmayı sağlamak amacıyla yapılan ön işleme silanizasyon adı verilmektedir. Silanizasyon için ilk olarak, kullanılacak uzunluktaki kapiler kolon kesilmekte ve kolon bağlantı elemanları yardımıyla, şırınga pompasına bağlanmakta ve içerisine

0.2 M NaOH doldurulmuş olan şırınga yardımıyla 0,025 µL/dak akış hızında 90 dakika yıkanmakta böylelikle, kolon iç yüzeyinde hidroksil (-OH) gruplarının oluşumu sağlanmaktadır. Ardından, kalan sodyumun giderilmesi amacıyla, distiledeiyonize su ile yine aynı akış hızında 30 dakika yıkanmaktadır. Devamında, suyun giderimi için kapiler kolon azot tüpüne bağlanarak 30 dak süre ile azot gazına maruz bırakılmaktadır. Kolon iç yüzeyinde metakrilat gruplarının oluşarak, polimerizasyon esnasında bu metakrilat grupları üzerinden monolit yapısına kovalent bir bağlanma sağlanması için (şekil 3.3.) hacimce %50 TMSPM ve % 50 metanolden oluşan çözelti kolon içerisinden 30 dak süre ile geçirilmektedir. Geçirilen çözelti içerisinde kalacak şekilde iki ucu septum ile tıkanan kolon, 20-24 saat süresince 50°C sıcaklığındaki su banyosunda bekletilmektedir. Gerçekleşen reaksiyon sonrası, reaksiyondan arta kalan maddelerin giderilmesi için kolon 30 dak süresiyle metanol ile yıkanmakta yine aynı süre de azot gazı geçirilerek kolonun kuruması sağlanmaktadır. Böylelikle kolon, monolit sentezi için hazır duruma gelmektedir. Silanizasyon işlemi için kurulan sistemin fotoğrafı şekil 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.3. Kapiler kolonun iç yüzeyinde yüzeye metakrilat gruplarının bağlanması amacıyla hidroksil grupları ile trimetoksisilil grupları arasında gerçekleşen reaksiyon



Şekil 3.4. Silanizasyon işlemi için kurulan sistemin fotoğrafı (A) poliimid tabakası ile kaplı termal kolon, (B) UV geçirgen kolon

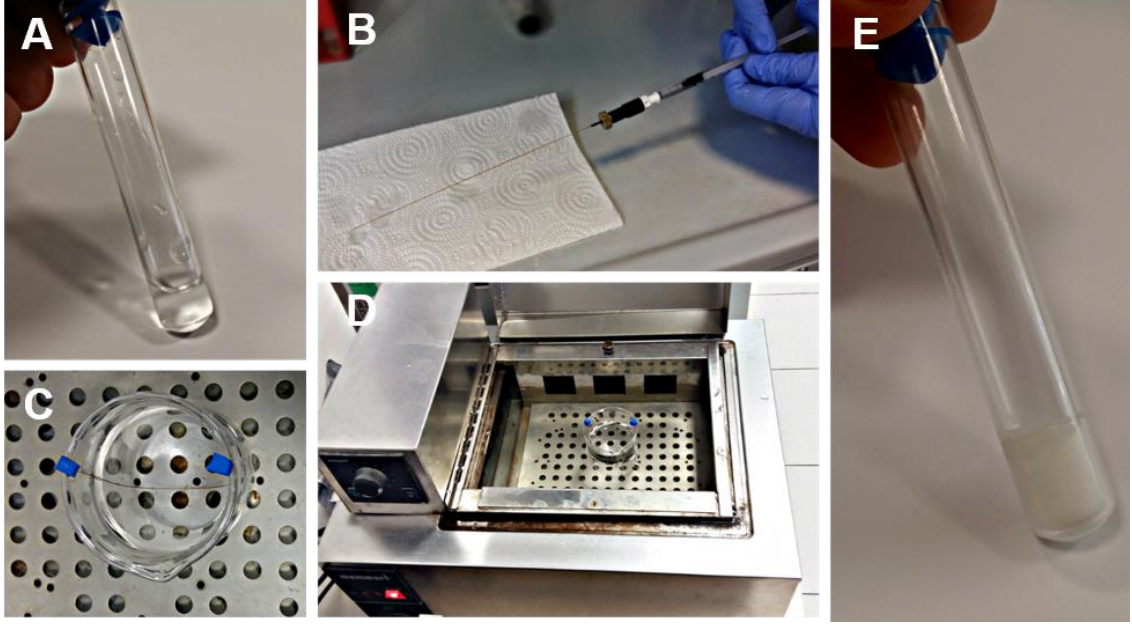
3.2.2. Ters Faz Kromatografisi (RPC) Modunda Kullanılmak Üzere Termal Polimerizasyon ile Monolit Sentezi

Ters faz kromatografisi modunda sabit faz apolar bir yapı iken, hareketli faz, organik solventlerin bir veya birkaçının su veya bir tampon çözelti ile karışımından oluşan polar bir sıvıdır [92]. Hidrofobik özellikteki ligandın tiyol-en kimyasının kullanılmasıyla çapraz bağlı gözenekli yapı, ana monomer, çapraz bağlayıcı ve gözenek yapıcı sistem bileşenlerinin varlığında bu kromatografik modda kullanılabilir hibrid monolitik yapı sentezlenmektedir.

3.2.2.1. Poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerinin termal polimerizasyon ile sentezi

Tiyol-en katılması ve hidrofobik ligand kullanılmaksızın, sadece serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenecek Poli(POSS-MA-co-EDMA) monoliti için, Şekil 3.5'te de görüleceği üzere 4 mL'lik cam bir deney tüpünün içerisine öncelikle gözenek yapıcı sistem bileşenleri (n-PrOH/1,4- bütandiol/PEG 2000) eklenmiş ve ultrasonik banyo yardımıyla homojenize edilmiştir. Ardından sırasıyla ana monomer (POSS-MA), çapraz bağlayıcı ajan (EDMA) ve termal polimerizasyon başlatıcısı (AIBN) yine aynı tüpe eklenerek bir kez daha sonikasyona tabii tutulmuştur. Homojen hale gelen monolit çözeltisi, kolon içerinden 5 dakika süre ile geçirilerek,

bölüm 3.2.1.'de anlatılan silanizasyon işleminde olduğu gibi çözelti kolon içerisinde kalacak şekilde uçları septum ile kapatılmış ve 60°C'lik su banyosunda 20 ila 24 saat arası bir sürede polimerleştirilmiştir. Bu grupta yapılan deneylerin koşulları Tablo 3.1'de verilmektedir.



Şekil 3.5. Poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin termal polimerizasyon ile sentezi. (A) monolit çözeltisi bileşenlerinin homojen hale getirilmesi. (B) hazırlanan çözeltinin şırınga yardımıyla kolona basılması. (C,D) iki ucu septum ile kapatılan kolonun su banyosuna yerleştirilmesi. (E) kolon içerisine basılmadan arta kalan monolit çözeltisinin polimerleşmenin gerçekleşip gerçekleşmediğinin anlaşılması amacıyla kullanılması

Tablo 3.1. Farklı porojen sistemi (n-PrOH/1,4-BD/PEG 2000) bileşimleri kullanılarak termal polimerizasyonla hazırlanan poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon sıcaklığı: 60°C, Polimerizasyon süresi: 20-24 saat).

DENEY KODU	POSS MA (µL)	EDMA (µL)	n-PrOH (µL)	1,4 BD (µL)	PEG 2000 (mg)	AIBN (mg)
A1	200	200	1000	200	80	5
A2	200	200	1100	220	80	5
A3	200	200	1200	240	80	5
A4	200	200	1080	120	80	5
A5	200	200	1050	150	80	5
A1	200	200	1000	200	80	5
A6	200	200	663	397	40	5
A7	200	200	663	397	20	5
A8	200	200	663	397	0	5

3.2.2.2. ODT bağı Poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerinin termal polimerizasyonu ve tiyol-en katılması ile sentezi

ODT bağı Poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin sentezi için öncelikle 4 mL'lik cam deney tüpü içerisine sırasıyla gözenek yapıcı sistem bileşenlerinden, mikro gözenek yapıcı (n-PrOH), makrogözenek yapıcı (Dec-OH) ve polimerik gözenek yapıcı (PEG 400) konularak çözelti homojen hale gelinceye kadar sonikasyona tabii tutulur. Hidrofobik özellikte ODT ligandı çözeltiye eklenerek sıcaklık etkisi ile sonikasyon uygulanır. Isınan çözeltinin oda sıcaklığına geri dönmesi için 10 dakika soğutulur ve üzerine ana monomer (POSS-MA) ve çapraz bağlayıcı ajan (EDMA) eklenerek 5 dakika süre ile soniklenir. Son olarak termal başlatıcı da eklenen çözelti homojenize oluncaya kadar bir kez daha sonikasyona tabii tutulur ve hazırlanan monolit çözeltisi bir şırınga yardımıyla kapiler kolon içerisine basılarak iki uctan septum yardımıyla kapatılır. Hazırlanan kolon 60°C sıcaklığında su banyosunda 20-24 saat arası polimerizasyona bırakılır. Monolitik çözelti bileşenlerinin koşulları tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Farklı ODT derişimi ve farklı monomer/çapraz bağlayıcı (POSS-MA/EDMA) oranı kullanılarak termal polimerizasyonla hazırlanan ODT bağı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon sıcaklığı: 60°C, Polimerizasyon süresi: 20-24 saat).

DENEY KODU	POSS - MA (µL)	EDMA (µL)	n-PrOH (µL)	1,4 BD (µL)	PEG 400 (mg)	ODT (mg)	AIBN (mg)
B1	150	150	600	1400	80	0	5
B2	150	150	600	1400	80	50	5
B3	150	150	600	1400	80	75	5
B4	100	150	600	1400	80	50	5
B5	125	125	600	1400	80	50	5
B2	150	100	600	1400	80	50	5

3.2.3. Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi (HILIC) Modunda Kullanılmak Üzere Termal Polimerizasyon ile Monolit Sentezi

Hidrofilik Etkileşim kromatografisi modu için kullanılacak monolitlerin sentezi, ters faz kromatografisi için kullanılan yöntem ile benzerlik göstermektedir. Buradaki farklılık HILIC modunda kullanılacak monolitler için hidrofilik özellikteki ligandlarının kullanılmış olmasıdır.

3.2.3.1. MSA bağı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerinin termal polimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezi

Sentez koşulları tablo 3.3'te verilen ODT bağı Poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin sentezi için öncelikle 4 mL'lik cam deney tüpü içerisine sırasıyla gözenek yapıcı sistem bileşenlerinden, mikrogözenek yapıcı (n-PrOH), makrogözenek yapıcı (Dec-OH) ve polimerik gözenek yapıcı (PEG 400) konularak çözelti homojen hale gelinceye kadar sonikasyona tabii tutulur. Ana monomer (POSS-MA) ve çapraz bağlayıcı ajanın da eklenmesinden sonra çözelti homojenize edilerek üzerine termal başlatıcı (AIBN) de ilave edilir ve tekrar soniklenir. Son olarak hidrofilik özellikli merkaptosüksinik asit (MSA) ligandının da eklendiği çözelti, kolon içerisine doldurularak, kolonun uçları septum yardımıyla kapatılmış ve 60°C sıcaklığındaki su banyosunda 20-24 saat arasında polimerize edilmiştir. Deney setinde tüm şartlar sabit tutularak MSA'nın 3 farklı derişimi için inceleme yapılmıştır.

Tablo 3.3. Farklı MSA derişimi kullanılarak termal polimerizasyonla hazırlanan MSA bağı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon sıcaklığı: 60°C, Polimerizasyon süresi: 20-24 saat).

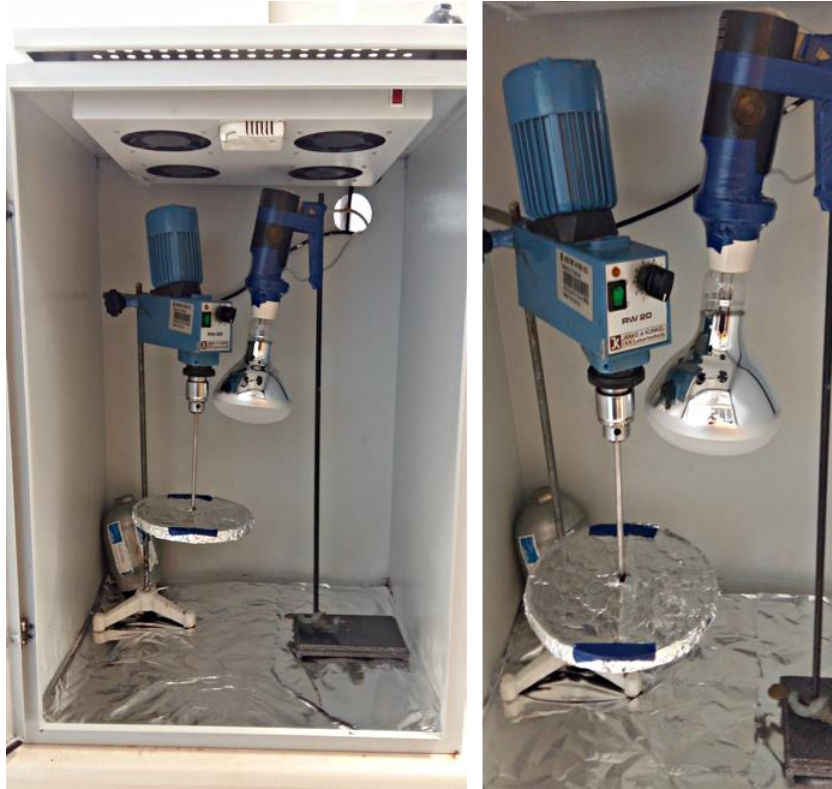
DENEY KODU	POSS - MA (μ L)	EDMA (μ L)	n-PrOH (μ L)	Dec-OH (μ L)	PEG 400 (mg)	MSA (mg)	AIBN (mg)
C1	150	150	1000	1000	80	100	5
C2	150	150	1000	1000	80	75	5
C3	150	150	1000	1000	80	50	5

3.3. Fotopolimerizasyon İle Monolit Sentezi

Bu tür monolitik kolonlar, bir fotobaşlatıcı yardımıyla (DMPA) sentezlenmiştir. Fotopolimerizasyon ile sentezlenen monolitlerde POSS-MA sahip olduğu kafes örgü yapısı sebebiyle hem ana monomer hem de çapraz bağlayıcı olarak görev yapmaktadır.

Bu yöntemde başlatıcının aktif hale geçmesi, polimerizasyon ortamının UV-ışık veren 300 W gücünde bir lambaya (Osram, Almanya) maruz bırakılması ile sağlanmıştır. UV etkisi ile silika kapiler içerisinde polimerizasyon ise UV geçirgen özellikteki kapiler kolonların kullanılmasıyla mümkün olmuştur. Sentez sırasında, kapilerin UV ışığa maruz bırakılması amacıyla şekil 3.6'da verilen sistem

tasarlanmıştır. UV ışık geçirmez bir kabinin içerisine yerleştirilen bu sistemde, içerisinde monolit çözeltisi bulunan UV geçirgen kapiler kolon, bir döner tabla üzerine sabitlenmiş, lamba, kolonun UV ışığın tamamından yararlanması göz önünde bulundurularak uygun açı ve uzaklığa göre konumlandırılmıştır. Polimerizasyonun başlamasından hemen önce döner bir mekanizmaya bağlı olan tabla sabit bir hızla döndürülmeye başlanmakta, kabinin kapısının kapatılmasının ardından da UV lamba yakılarak, bu tabla üzerindeki kapilerin her yönden eşit bir miktarda ışığı alması ve polimerleşmesi sağlanmaktadır. Polimerizasyon süresine bağlı olarak lambanın fazla ısınmasına önlem olarak, sıcaklık ölçüm cihazı, devre kesici ve 4 fandan oluşan sıcaklık kontrol sistemi sisteme dahil edilmiştir.



Şekil 3.6. Fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile monolit sentezi için tasarlanan polimerizasyon düzeneği

3.3.1. Fotopolimerizasyon İle Sentezlenen Monolitik Kolonlar İçin Silanizasyon

Monolitik kolonun sentezlenmesi ve kromatografik analizde sorunsuz bir biçimde kullanılabilmesi için monolitik yapının kolon iç çeperlerine iyi bir biçimde tutunmasının elzem olduğu bölüm 3.2.1.'de ifade edilmişti. Fakat UV etkisi ile serbest radikal polimerizasyonu ve tiyol-en katılmasının bir arada kullanıldığı sentez sonrası kolon iç çeperine bağlanmanın yetersiz kaldığı, dolayısıyla hareketli fazın

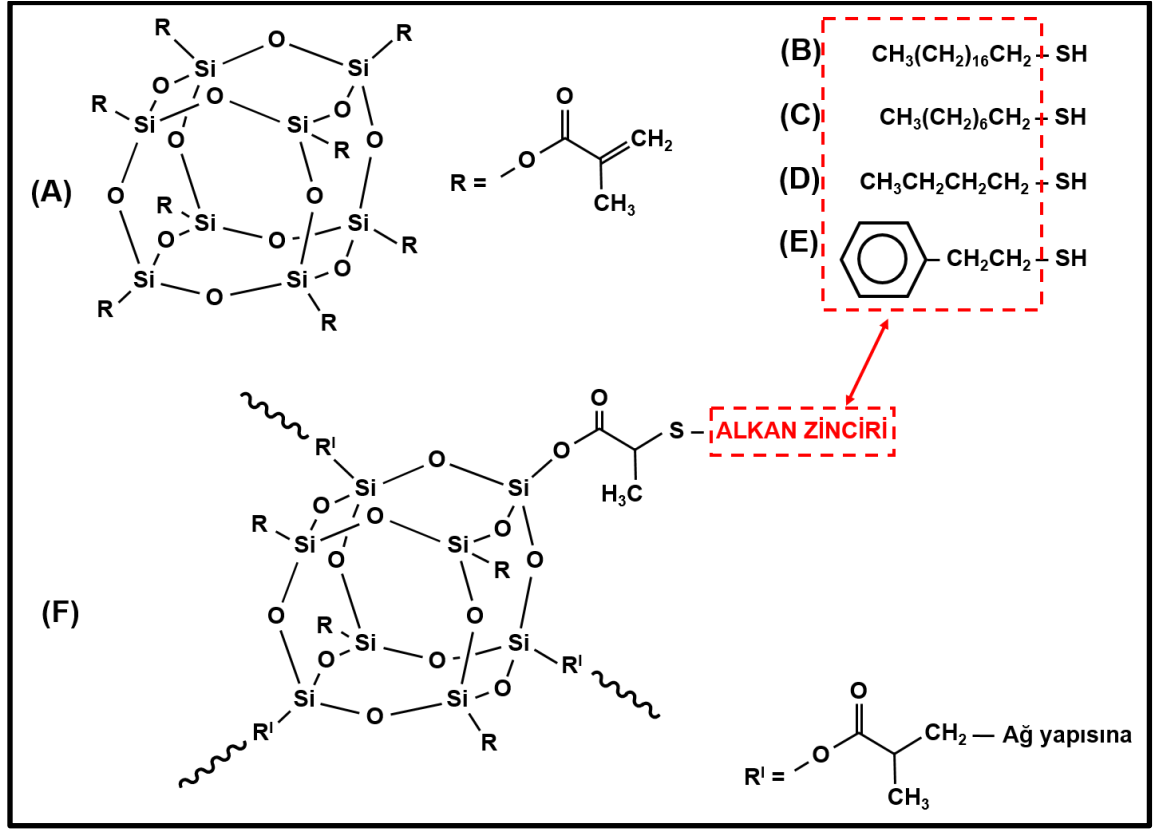
akışı esnasında monolitik yapının çeperlerden kurtularak kolon içerisinde çıktığı gözlenmiştir. Bu yüzden monolitik yapının kolon iç çeperine daha güçlü bağlanması için yeni bir silanizasyon işlemi uygulanmıştır. Bu silanizasyon işlemine göre, ilk olarak istenilen uzunlukta UV geçirgen özellikteki kapiler kolon içerisinde şırınga pompası yardımıyla 2 saat süresince 25 µL/dak hızında 1 M NaOH çözeltisi geçirilmiştir. Ardından NaOH çözeltisi kolon içerisinde kalacak şekilde kolon iki ucundan septum yardımıyla kapatılıp 1 saat bu şekilde bekletilmiştir. Ardından septumlar kolonun ucundan çıkartılarak, kolon distile-deiyonize su ile 30 dakika boyunca yıkanmış ve yine aynı süre boyunca içinden azot geçirilerek kurutulmuştur. Bu aşamada, OH⁻ gruplarının kolon iç yüzeyinde iyi bir şekilde olduğundan emin olmak adına silanizasyon işleminin bu kısma kadarki tüm işlemleri tekrar edilmiştir. Takiben akış hızı sabit kalmak şartıyla kolondan sırasıyla 30 dakika 1 M HCl, 20 dakika azot gazı ve 10 dakika toluen geçirilmiştir. Son olarak, tıpkı bölüm 3.2.1'de anlatılan termal polimerizasyon için silanizasyon işleminde olduğu gibi kolon iç çeperinde metakrilat gruplarının oluşturulması ve polimerizasyon esnasında bu metakrilat grupları üzerinden monolit yapısına kovalent bir bağlanma sağlanması için bu kez hacimce %40 TMSPM ve %60 toluenden oluşan çözelti 10 dakika boyunca kolondan geçirilmiş ve çözelti kolon içerisinde kalacak şekilde iki ucundan septumla kapatılıp 20-24 saat tutulacağı su banyosuna yerleştirilmiştir. Reaksiyon sonrası, kolonun monolit sentezinde kullanılmak üzere hazır hale gelmesi için reaksiyondan arta kalan maddelerin giderilmesi gereklidir. Bu amaçla kolon 10 dakika süreyle toluen ile yıkanmakta yine aynı süre de azot gazı geçirilerek kolonun kuruması sağlanmaktadır.

3.3.2. Ters Faz Kromatografisi (RPC) Modunda Kullanılmak Üzere Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Monolit Sentezi

Bu bölümde hem çapraz bağlayıcı hem de ana monomer olarak kullanılan POSS-MA, ikili gözenek yapısı sistem bileşenleri (n-bütanol/etilen glikol) ve fotobaşlatıcı DMPA'nın varlığında, farklı zincir uzunluğuna sahip alkantiyol formundaki hidrofobik ligandların (BT, OT, ODT) bağlı olduğu monolitik yapıların sentezi yapılmıştır.

3.3.2.1. Hidrofobik ligand (BT,OT,ODT,PET) bağlı POSS-MA bazlı monolitlerin foto polimerzasyon ve tiyol-en katılması ile sentezi

Ters faz kromatografisi için hidrofobik özellikteki POSS-MA bazlı monolitler aynı işlem basamaklarıyla sentezlenmiştir. İlk olarak 10x75 mm boyularına sahip iki cam deney tüpü alınarak 1 ve 2 olarak numaralandırılır. 1. tüpe sırasıyla mikrogözenek yapıcı bileşen (n-bütanol) ve makrogözenek yapıcı (etilen glikol) konularak vorteks yardımıyla 5 dakika karıştırılır. Bu karışım içerisinde yaklaşık olarak 100 µL çekilerek 2. tüpe aktarılır ve 1. tüpteki kalan çözeltinin içerisine monolitik yapıya bağlanması istenen hidrofobik ligand eklenir ve sıcak ortamda sonikasyona tabii tutulur. Ortamın homojenize olduğuna emin olunduktan sonra çözeltinin oda sıcaklığına geri dönmesi için 10 dakika süre ile soğumaya bırakılır. Ardından monolitin çapraz bağlı ağ yapısını oluşturacak olan POSS-MA eklenerek çözelti homojen hale gelinceye kadar tekrar vortekslenir. 2. tüpte beklettiğimiz çözeltinin üzerine ise foto başlatıcı olan DMPA eklenerek ışık almayan ortamda çözünmesi sağlanır. Son olarak yine ışıksız ortamda, gözenek yapıcı sistem bileşenleri, hidrofobik ligand ve monomer içeren 1. tüpteki çözelti 2. tüpe eklenir ve vorteks kullanılarak tekrar homojenize edilir. Elde edilen monolit çözeltisi 100 mikron iç çap değerine sahip 30 santimetre boyutundaki UV geçirgen kapiler kolon çözeltisi içerisinde şırınga yardımıyla geçirilir ve çözelti kapiler kolonun içerisinde kalacak şekilde uçları kapatılarak şekil 3.6'daki sistemde döner tabla üzerine dairesel biçimde yerleştirilir. 60 devir/dakika hıza sahip döner sistem üzerine UV ışık 7 dakika süre ile verilerek, ışığın kolonun her bir noktasına ulaşması sağlanır. Böylelikle kolon içerisindeki monolitik yapının daha homojen olmasına çalışılmış olur. Sentez koşulları tablo 3.4'de ayrıntılı olarak verilmiş, söz konusu ligandların POSS yapısına bağlanma şeması da şekil 3.7.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. (A) Monomer ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan POSS-MA, tiyol gruplu hidrofilik ligandlar molekül yapıları: (B) oktadekandiyol (ODT), (C) oktantiyol (OT), (D) bütantiyol (BT) ve (E) 2-feniletantiyol . (F) Ligandların organosilikon polimerik zincire bağlanması.

Tablo 3.4. Değişen ODT derişiminde, farklı ana monomer miktarında, değişen mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranında ve farklı karbon zinciri uzunluğuna sahip hidrofobik ligandların varlığında fotopolimerizasyonla hazırlanan ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon süresi: 7 dakika).

DENEY KODU	POSS - MA (µL)	n-But-OH (µL)	Etilen Glikol (µL)	Ligand (mg)	DMPA (mg)
D1	150	514	86	0 (ODT)	7.5
D10	150	514	86	25 (ODT)	7.5
D2	150	514	86	50 (ODT)	7.5
D3	150	514	86	75 (ODT)	7.5
D2	150	514	86	50 (ODT)	7.5
D4	165	514	86	50 (ODT)	7.5
D5	180	514	86	50 (ODT)	7.5
D6	150	484	116	50 (ODT)	7.5
D2	150	514	86	50 (ODT)	7.5
D7	150	544	56	50 (ODT)	7.5
D8	150	514	86	50 (BT)	7.5
D9	150	514	86	50 (OT)	7.5
D2	150	514	86	50 (ODT)	7.5

Yukarıdaki alifatik yapıdaki 3 tür hidrofobik ligandın yanında, aromatik formdaki PET'in tiyol-en kimyası yardımıyla monolitik yapıya bağlandığı kolonlar sentezlenmiştir. Sentez koşulları tablo 3.5'te gösterilmiştir.

Tablo 3.5. Değişen PET derişiminde, fotopolimerizasyonla hazırlanan PET bağı poli(POSS-MA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon süresi: 7 dakika).

DENEY KODU	POSS - MA (μL)	n-But-OH (μL)	Etilen Glikol (μL)	PET (μL)	DMPA (mg)
D1	150	514	86	0	7.5
D10	150	514	86	25	7.5
D2	150	514	86	50	7.5

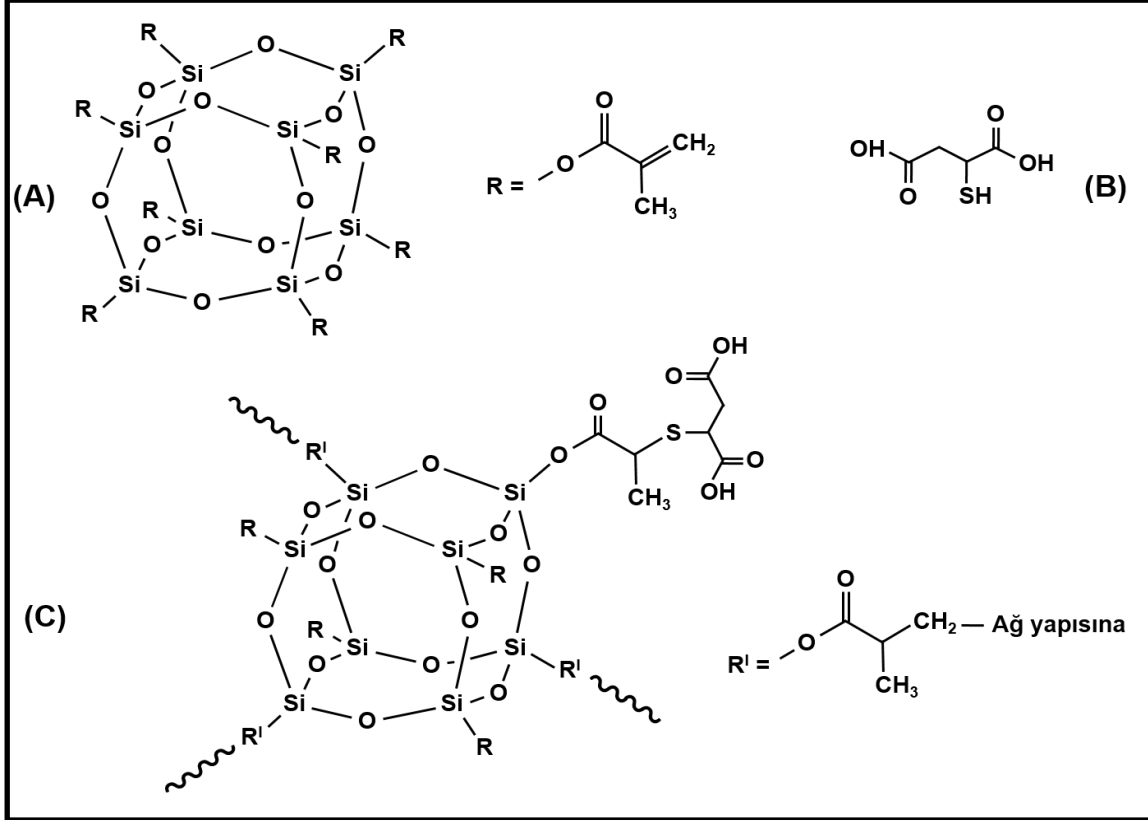
3.3.3. Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi (HILIC) Modunda Kullanılmak Üzere Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Bağlanması ile Monolit Sentezi

Bu bölümde hem çapraz bağlayıcı hem de ana monomer olarak kullanılan POSS-MA, ikili gözenek yapısı sistem bileşenleri (n-bütanol/etilen glikol) ve fotobaşlatıcı DMPA'nın varlığında tek tiyol ucuna sahip hidrofilik ligandların (MSA, GT) tiyol-en katılmasıyla yapıya bağlanmış olduğu monolitik kolonların sentezi fotopolimerizasyon ile gerçekleştirilmiştir.

3.3.3.1. Merkaptosüksinik asit (MSA) bağı bağı POSS-MA bazlı monolitlerin foto polimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezi

Hidrofilik özellikte bir ligand olan MSA'nın tiyol-en katılmasıyla yapıya bağlandığı monolitik kolonların sentezi temel olarak hidrofobik özellikteki ligandların var olduğu monolitik yapıların sentezlenmesiyle büyük benzerlikler göstermektedir. Buna göre öncelikle 10x75 mm boyularına sahip iki cam deney tüpü alınarak olarak numaralandırılır. 1. tüpe ikili gözenek yapıcı sistem bileşenleri (n-bütanol ve etilen glikol) konularak 5 dakika vortekslenir. Vortekslenen bu karışım içerisinde 100 μL çekilerek 2. tüpe aktarılır ve 1. tüpte kalan çözeltinin içerisinde kafes örgü yapısından dolayı hem ana monomer hem de çapraz bağlayıcı olarak görev yapan POSS-MA eklenir ve yine vorteks yardımıyla homojen bir çözelti elde edilir. 2. tüpte beklettiğimiz çözeltinin üzerine ise foto başlatıcı (DMPA) ışık almayan ortamda eklenir ve yine aynı ortamda çözünmesi sağlanır. Ardından yine ışıksız ortamda 1. tüpteki çözelti 2. tüpe eklenir ve vorteks kullanılarak tekrar homojenize edilir. Son olarak tek tiyol uçlu hidrofilik bir ligand olan MSA da eklenerek bir kez daha vorteks yardımıyla çözülür. Elde edilen homojen monolit çözeltisi 100 mikron iç çap değerine

sahip 30 santimetre boyutundaki UV geçirgen kapiler kolon çözeltisi içerisinde şırınga yardımıyla geçirilir ve çözelti kapiler kolonun içerisinde kalacak şekilde uçları kapatılarak şekil 3,6'daki sistemde döner tabla üzerine dairesel biçimde yerleştirilir. 60 devir/dakika hıza sahip döner sistem üzerine UV ışık 7 dakika süre ile polimerleştirilir. Bu polimerizasyon sonucu MSA'nın POSS yapısına tiyol grubu üzerinden bağlanmasıyla oluşan ağ yapısı şekil 3.8.'de verilmektedir.



Şekil 3.8. (A) Monomer ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan POSS-MA, (B) Tiyol gruplu hidrofilik ligand olarak kullanılan MSA'nın moleküler yapıları, (C) MSA'nın organosilikon polimerik zincire bağlanması.

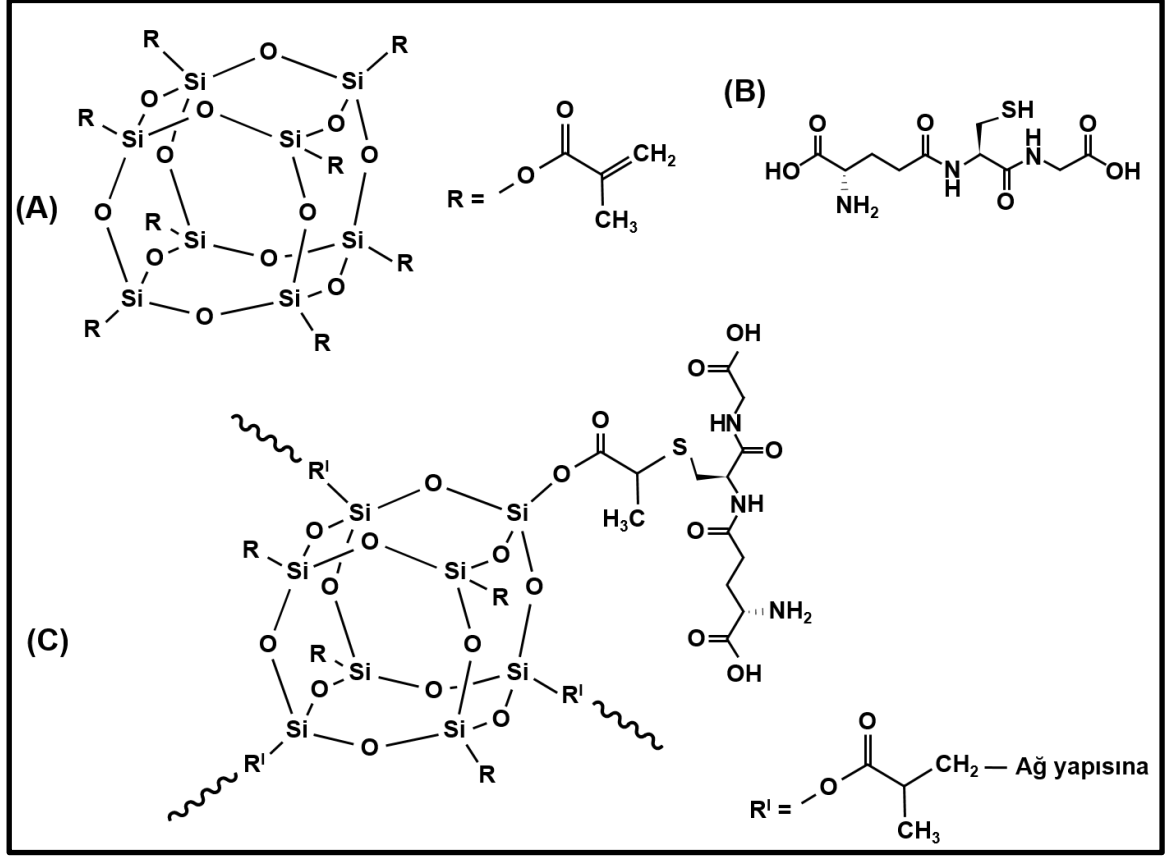
MSA bağlı poli(POSS-MA) kolonlarının sentezi için tablo 3.6'da verilen koşullara göre toplam gözenek yapıcı hacmi sabit tutularak mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranı değişimlerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Tablo 3.6. Değişen mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranlarında, fotopolimerizasyonla hazırlanan MSA bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon süresi: 7 dakika).

DENEY KODU	POSS - MA (μL)	n-But-OH (μL)	Etilen Glikol (μL)	MSA (mg)	DMPA (mg)
F1	150	414	186	50	7.5
F2	150	464	136	50	7.5

3.3.3.2. Glutasyon (GT) bağlı bağlı POSS-MA bazlı monolitlerin foto polimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezi

Glutasyon bağlı monolitlerin fotopolimerizasyon ile sentezinde ilk olarak 10x75 mm boyularına sahip iki cam deney tüpü alınarak 1 ve 2 olarak numaralandırılır. 1. tüpe sırasıyla mikrogözenek yapıcı bileşen (n-bütanol) ve makrogözenek yapıcı (etilen glikol) konularak vortekslenir. Bu karışım içerisinden 100 μL çekilerek 2. tüpe aktarılır ve 1. tüpe hidrofilik özellikteki glutasyon ligandı eklenir. Mevcut çözeltide glutasyonun çözünmesinde yaşanan zorluklar nedeniyle çözeltiliye su ve amonyum hidroksit çözeltisi ilave edilmiştir. Bu sırada 2. tüpte bekletilen (n- bütanol/etilen glikol) karışımının içerisine karanlık ortamda fotobaşlatıcı eklenerek 5 dakika boyunca çözünmesi sağlanmıştır. Ardından yine 1. tüpe POSS-MA konularak ve vortekslenerek çözelti berrak, homojen bir faza dönüştürülmüştür. Son aşamada 1. tüpteki monomer, gözenek yapıcı ve ligand fazından oluşan çözelti 2. tüpe alınarak başlatıcı ile bir araya getirilmiş ve bir kez daha vortekslenerek monolit çözeltisi elde edilmiştir. Monolit çözeltisi, şırınga yardımıyla kolona basılmış, kapiler kolonun içerisinde kalacak şekilde uçları septum ile kapatılarak şekil 3.6'daki sistemde döner tabla üzerine dairesel biçimde yerleştirilmiş ve UV ışık altında 7 dakika boyunca polimerleştirilmiştir. Polimerleşirme sonucu GT'nin POSS yapısına tiyol grubu üzerinden bağlanmasıyla oluşan ağ yapısı şekil 3.9'da verilmektedir. Tablo 3.7'de GT bağlı monolitik kolonların sentez koşulları verilmektedir.



Şekil 3.9. (A) Monomer ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan POSS-MA, (B) Tiyol gruplu hidrofilik ligand olarak kullanılan GT'nin moleküler yapıları, (C) GT'nin organosilikon polimerik zincire bağlanması.

Tablo 3.7. Değişen mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranlarında, fotopolimerizasyonla hazırlanan GT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin sentez koşulları (Polimerizasyon süresi: 7 dakika).

DENEY KODU	POSS - MA (μL)	But-OH (μL)	Etilen Glikol (μL)	GT (μL)	Su (μL)	Amonyum Hidroksit (μL)	DMPA (mg)
G1	150	640	250	25	50	50	7.5
G2	150	710	180	25	50	50	7.5

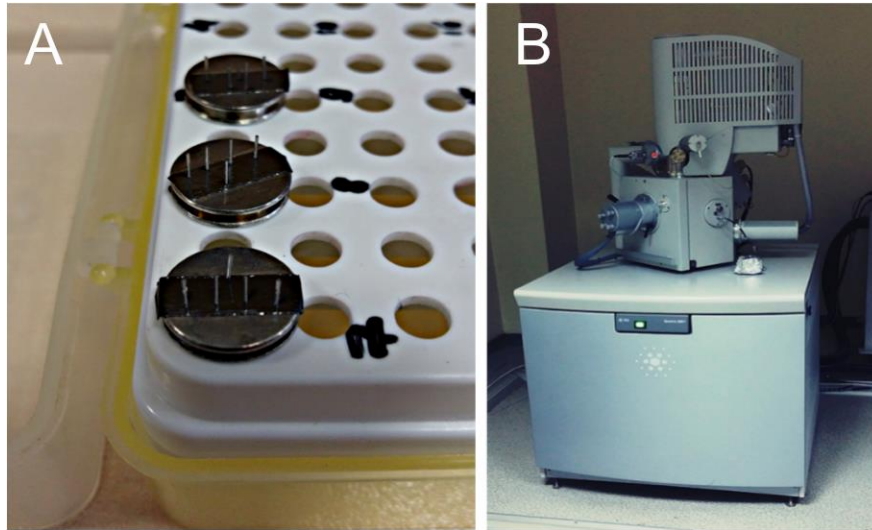
3.4. Organosilikon Hidrid Monolitlerin Karakterizasyonu

3.4.1. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ile Görüntüleme

Termal veya foto etki ile polimerleşerek monolitik yapıyı oluşturan monolit çözeltisi içerisindeki bileşenlerin miktarlarının, türlerinin veya birbirleriyle arasındaki oranın değişimi bu yapının morfolojik özelliklerini ve içerisinde bulunduğu kapiler kolonun

iç çeperlerine olan tutunma davranışını etkilemektedir. Bu etkiyi incelemek için, şekil 3.10B'de gösterilen taramalı elektron mikroskobundan yararlanılmıştır. (FEI, Quanta 200 FEG, ABD).

SEM ile istenilen özellikte görüntü alınması titiz bir örnek hazırlama prosedürü ile mümkündür. Buna göre, sentezlenen monolitik kapiler kolondan bir kesici yardımıyla 10 mm uzunluğunda düzgün bir parça kesilmiş ve şekil 3.10A'da gösterildiği şekilde yapışkanlı örnek tablasına dik bir şekilde yerleştirilmiştir. SEM cihazındaki örnek haznesine yerleştirilmeden hemen önce, iletken özellikte olmayan bölgelerin de tatmin edici görüntüsünün alınabilmesi için örnek fiziksel buhar biriktirme yöntemi kullanılarak plazma ortamında 150 Å kalınlığında altın ile kaplanmıştır. SEM cihazına bağlı bir bilgisayar sayesinde örneklere yaklaşma uzaklıkları, farklı boyutlarda alınacak görüntü özellikleri ayarlanmış ve görüntüler kaydedilmiştir.



Şekil 3.10. Kapiler monolit kolonların morfolojilerinin görüntülenmesi için (A) hazırlanan örnekler, (B) Quanta 200 FEG marka taramalı elektron mikroskobu (SEM)

3.4.2. Brunauer, Emmett ve Teller (BET) Cihazı ile Özgül Yüzey Alanı Tayini

Temel olarak çalışma prensibi azot adsorpsiyon/ desorpsiyon yöntemine dayanan BET cihazı, sentezlenen monolitlerin gözeneklilik özelliklerine göre değişiklik gösteren özgül yüzey alanlarını ölçmek ve değişen monolit çözeltisi içeriğine göre bu alanın değişikliklerini incelemek amacıyla kullanılmaktadır. Mevcut çalışmada şekil 3.11'de de görseli bulunan ABD yapımı Quantachrome Nova 2200 cihazından faydalanılmıştır.

BET için örnek hazırlama prosedüründe termal ve foto etki ile sentezlenen monolitler için farklılıklar mevcuttur. Termal polimerizasyonla yapılan monolit sentezinde 10x75 mm boyutlarında cam deney tüpünde ısı etkisi ile 20-24 saat süre ile polimerleştirilerek rijit bir blok yapıya dönüşen çözelti, cam tüp dikkatlice kırılarak içerisinden alınırken, foto polimerizasyonla yapılan monolit sentezinde, monolitik çözelti bir petri kabı içerisine dökülerek bu şekilde 7 dakika süre ile UV ışığa maruz bırakılmaktadır ve polimerik yapı spatül yardımıyla petri kabından kazınmaktadır. Her iki tür yöntemle de elde edilen katı monolitik yapılar, bir havan yardımıyla toz haline getirilmekte ve etanolla yıkanarak yaklaşık 80°C'lik sıcaklığa sahip etüvde 1 gün süre ile kurutulmaktadır. Kurutulan toz halindeki polimerler BET cihazının 9x150 mm boyutlarında cam örnek bölmesine yerleştirilerek önce 6 saat boyunca vakum altında degaz işlemine tabi tutulur. Ardından da cihaza bağlı bilgisayar yardımıyla örneğe uygun ölçüm programı seçilerek analiz gerçekleştirilmektedir.



Şekil 3.11. Monolitlerin özgül yüzey alanı tayinini gerçekleştiren Quantachrome Nova 2200 model BET cihazı.

3.4.3. Çapraz Bağ Yoğunluğu Tayini

Foto etki ile sentezlenen monolitik kapiler kolonların yapısındaki çapraz bağ oluşumu ve yoğunluğunun belirlenmesi için mekanik testler, şekil 3.12'de görseli verilen malzeme test cihazı (Zwick Z010) ile gerçekleştirilmiştir. 10x75 mm boyutlarındaki cam deney tüpü içerisinde UV ışık altında polimerleştirilip tüp

içerisinden çıkarılan katı monolitik blok silindir haline getirilmekte ve cihazın paralel iki kademesi arasında yerleştirilen bu silindirik yapı bu kademeler tarafından 5 mm/dakika hız ile sıkıştırılmaktadır. Sıkıştırma sırasında silindirik polimer yapısının üzerine uygulanan standart kuvvet değeri (f) çapraz bağ yoğunluğu hesaplamalarında kullanılmak üzere alınmıştır.



Şekil 3.12. Monolitlerin çapraz bağ yoğunluğunun belirlenmesi için yapılan mekanik testlerde kullanılan Zwick Z010 model malzeme test cihazı

Monolitik yapının çapraz bağ yoğunluğuna ulaşmak için öncelikle eşitlik 3.1 baz alınarak ölçülen f (MPa) değerinden ve cihazın sıkıştırma miktarından (ΔL) yola çıkılarak elastiklik modülü (G) değerine ulaşılır.

$$f = G \left(\alpha - \frac{1}{\alpha^2} \right) \quad (3.1)$$

Buradaki α değeri, eşitlik 3.2 de de görülebileceği üzere cihazın sıkıştırma miktarı ve silindirik polimerin ilk uzunluğunun oranı olan boyutsuz bir değerdir.

$$\alpha = \frac{\Delta L}{L_{ilk}} \quad (3.2)$$

\bar{M}_c olarak sembolize edilen çapraz bağlar arası molekül ağırlığına da eşitlik 3.3'ten ulaşılır.

$$G = \frac{\rho}{\bar{M}_c} RT (\vartheta_{2m})^{\frac{1}{3}} (\vartheta_{2r})^{\frac{2}{3}} \quad (3.3)$$

Bu eşitlikte,

ρ : Kuru polimerin yoğunluğu (kg/m³)

R : Evrensel gaz sabiti (8,3145 j/mol.K)

T : 298 (K)

Silindirik örneklerin hazırlandığı andaki hacim fraksiyonu (ϑ_{2r}) aşağıdaki eşitlik 3.4 ile bulunur.

$$\frac{1}{\vartheta_{2r}} = 1 + \rho \left[\left(\frac{W_{yaş}}{W_{kuru}} \right) - 1 \right] \quad (3.4)$$

Burada,

$W_{yaş}$: Örneklerin analiz edildiği andaki ağırlığı (g)

W_{kuru} : Kuru örneklerin ağırlıkları (g)

Son olarak mol/cm³ biriminde tanımlanan çapraz bağ yoğunluğu (ϑ_e) ise eşitlik 3.5 ile hesaplanmıştır.

$$\vartheta_e = \frac{\rho}{M_c} \quad (3.5)$$

3.4.4. Gözenek Boy Dağılımı Tayini

Foto etki ile polimerize edilen monolitlerde gözenek boy dağılımı ifadesi ve ortalama gözenek boyutu dağılımının tespiti civa porozimetresi yöntemi ile şekil 3.10'da görseli verilen Quantachrome Corporation, Poremaster 60 model cihaz ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.13 Civa porozimetresi yöntemi ile gözenek boy dağılım tayininin ve gözenek boy dağılım değerinin ölçüldüğü Quantachrome Corporation, Poremaster 60 model cihaz

Bilgisayar kontrollü cihazda, düşük basınç (50 psi'ya kadar) ve yüksek basınç (55.000 psi'ya kadar) çalışılmak üzere iki örnek haznesi mevcuttur ve 0.004-200 μm aralığında gözenek boyutu ölçümü yapılmakta ve intrüzyon ve ekstrüzyon verileri elde edilmektedir.

3.4.5. Ligand İçeriği Tayini

Foto etki ile ve Tiyol-en katılmasıyla bağlanan hidrofilik veya hidrofobik özellikteki tiyol gruplu ligandların yapıya ne kadar bağlandıklarının tespiti için şekil 3.14'de görseli verilen Elementel Analiz cihazı (Thermo Scientific, Flash 2000 model) ile ligandın tiyol grubu içerisindeki kükürtün % ağırlık cinsinden ölçülmesi sağlanmıştır.

Kükürtün % ağırlık cinsinden ölçülen değeri kullanılarak sırasıyla eşitlik 3.6, 3.7, 3.8 ve 3.9 yardımıyla monolitin sahip olduğu tiyol gruplu ligand içeriğine ulaşılmıştır.

$$\text{Ligand yükleme verimi (\% ağırlık)} = \frac{\text{Ligand ağırlık yüzdesi}}{\% \text{ Kantitatif verim}} \quad (3.6)$$

$$\text{Ligand ağırlık yüzdesi (hesaplanan)} = \% \text{Kükürt}_{\text{deneysel}} \times \frac{M_w \text{ ligand}}{M_w \text{ kükürt}} \quad (3.7)$$

$$\% \text{ Kantitatif Verim} = \frac{M_{\text{ligand}}}{M_{\text{ligand}} + M_{\text{POSS-MA}}} \quad (3.8)$$

$$\text{Tiyol ligand içeriği (mmol ligand/g monolit)} = \frac{\left[\frac{\% \text{ Kantitatif Verim} \times \text{Ligand Yükleme verimi}}{M_w \text{ Ligand}} \right]}{M_p} \quad (3.9)$$

Burada,

$M_{w \text{ ligand}}$: tiyol uçlu grubun molekül ağırlığı (g)

$M_{w \text{ kükürt}}$: kükürtün molekül ağırlığı (g)

% Kükürt _{deneySEL} : örneğin cihaz yardımıyla ölçülen ağırlıkça kükürt yüzdesidir

M_{ligand} : tiyol gruplu ligandın polimerizasyon karışımı içerisindeki kütlesi (g)

$M_{\text{POSS-MA}}$: POSS-MA'nın polimerizasyon karışımı içerisindeki kütlesi (g)

% Kantitatif verim : ligandın tamamı polimerik yapıya yüklendiğinde polimerik yapı içerisinde elde edilecek ligand ağırlık yüzdesidir.

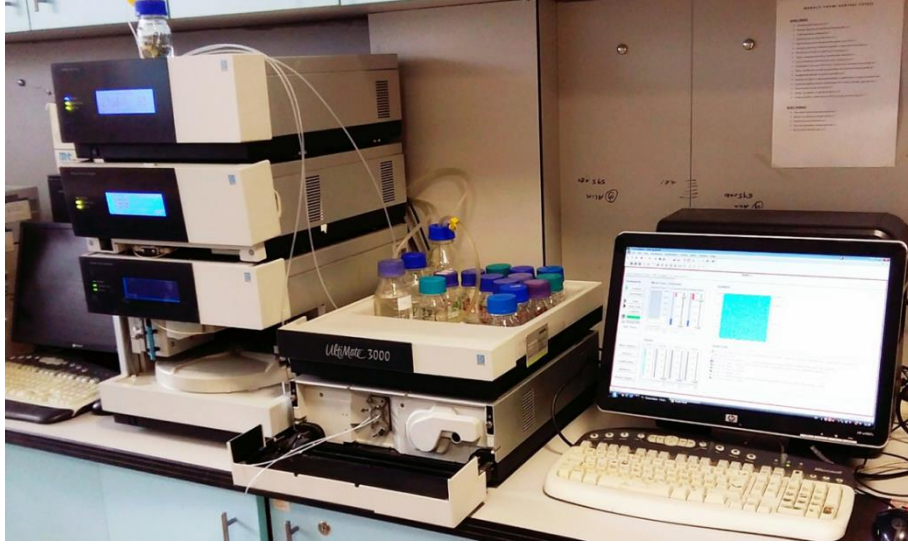
M_p : monolit kütlesi (g)



Şekil 3.14. Monolitik yapıya bağlanan ligand içeriğinin tayini için kullanılan Thermo Scientific, Flash 2000 model elementel analiz cihazı

3.5. Nano-Sıvı Kromatografisi Sistemi ile Gerçekleştirilen Monolitlerin Akış Davranışı ve Kromatografik Performansı Deneyleri

Çalışma mekanizması bölüm 2.1.2'de anlatılan ve şekil 3.15'te görseli verilen Ultimate 3000 marka (Dionex Technologies, Münih, Almanya) nano-sıvı kromatografisi sistemi kullanılarak değişen parametrelere göre monolitin akış davranışı ile HILIC ve RPC modlarında belirli analit karışımlarının ayırım performansının incelenmiştir.



Şekil 3.15. Sentezlenen monolitlerin akış davranışı ve kromatografik performansı için kullanılan Ultimex 3000 marka nano sıvı kromatografisi cihazı

3.5.1. Nano Sıvı Kromatografisi Sisteminde Geri Basınç Deneyleri

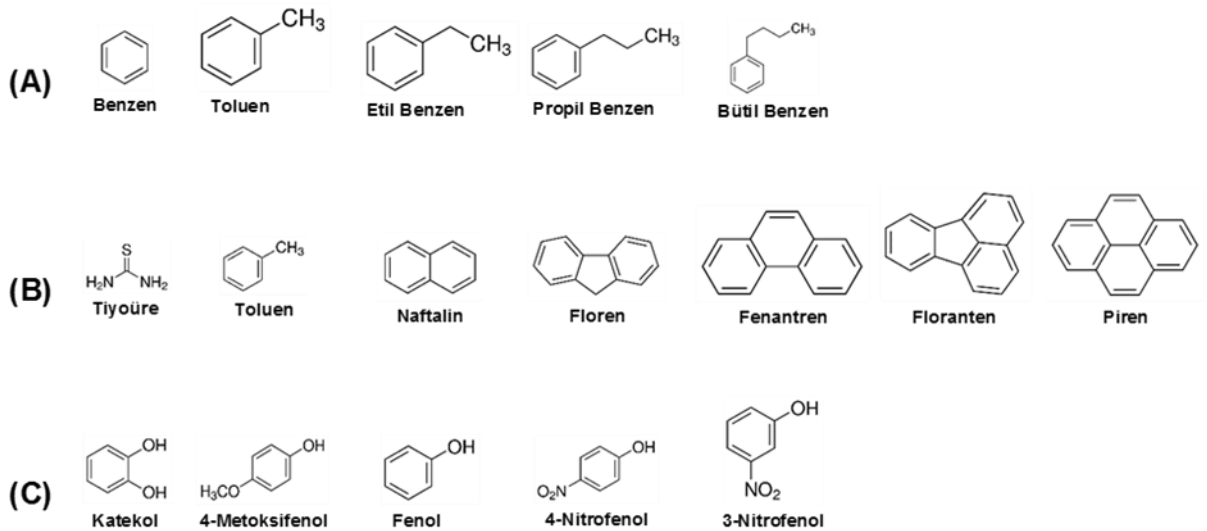
Monolit çözeltisi içerisindeki her bir bileşenin farklı miktarlarda veya türlerde kullanımı oluşan monolitin morfolojisini dolayısıyla nano-lc sistemine bağlanmasının ardından monolitik yapının içerisinde belirli bir akış hızında geçen hareketli fazın sistemde yarattığı geri basınç değerini de etkilemektedir. Bu etkilenmenin ne düzeyde olduğu ve değişen monolit çözeltisi bileşen miktarlarının geri basınca olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Foto ve termal etki ile sentezlenen ve nano-lc sisteminde sabit faz olarak kullanılan monolitik kolonların hidrofobik ve hidrofilik özelliğine göre hareketli faz oranları seçilmiştir. (hidrofilik kolonlar için %95 ACN / %5 su, hidrofobik kolonlar için %50 ACN / %50 su). Seçilen oranlar ile hazırlanan hareketli faz çözeltisi, belirli akış hızlarında basınç değeri yaratacak bir sabit faz bağlı olmaksızın nano-lc sisteminden geçirilmiş ve sadece sistemin yarattığı geri basınç değeri not edilmiştir. Ardından sisteme bağlanan kolonun, 60 dakika boyunca özelliğine uygun hareketli faza şartlanması sağlanmış ve farklı akış hızlarındaki geri basınç değerleri kaydedilmiştir. Değerler sistemin ve kolonun birlikte oluşturduğu geri basınç değerleri olduğundan, her bir akış hızı için mevcut değerden sistemin oluşturduğu basınç değeri çıkartılarak yalnızca kolonun geri basınç değerlerine ulaşılmış ve akış hızına karşılık grafiğe alınmıştır.

3.5.2. Nano Sıvı Kromatografisi Sisteminde Ters Faz Kromatografisi Deneyleri

Ters ters kromatografisinde (RPC) izokratik modda kullanılmak üzere sentezlenen hidrofobik özellikteki monolitik kolonlar, polimerizasyon sonrası, gözenek yapıcı solventlerin uzaklaştırılması amacıyla yaklaşık 2 saat boyunca saf etanol ile basınç 150 barı geçmeyecek bir akış hızında yıkanmıştır. Ardından ters faz kromatografisi için belirlenen hacimce %0.05 asetik asit içeren bir ACN/su oranındaki hareketli faz çözeltisi ile 60 dakika süre boyunca şartlanmıştır.

Çalışma kapsamında, ters faz kromatografisinde tiyol gruplu ODT, OT, BT ve PET ligandlarının bağlı olduğu organosilikon monolitik kolonlar ile moleküler yapıları şekil 3.16' da verilen 3 tür analit grubunun (alkilbenzenler, fenol türevleri ve çok halkalı aromatik bileşikler) kromatografik ayırım çalışmaları yapılmıştır. Vialler içerisinde hazırlanan analit karışımları, nano-ic sisteminde otoörnekleyici kısmındaki uygun bölmeye yerleştirilmiştir. Analiz başlatıldığı zaman, bir iğne bu bölme içerisinden 0.1 µL hacmindeki analit karışımını çekmekte ve hareketli faz akışı yardımıyla sabit faza göndermektedir. Karışımdaki her bir analit, sahip olduğu özelliğe bağlı olarak sabit faz içerisinde farklı sürelerde alıkonulur. Dolayısıyla farklı zamanlarda sabit fazı terk eden analitler, 45 nL akış hücresi hacmine sahip diyot sıralı dedektöre ulaşarak uygun dalga boyunda optik sinyaller oluşturur. Bu oluşan sinyaller, sisteme bağlı bilgisayarda pik olarak görüntülenmektedir.



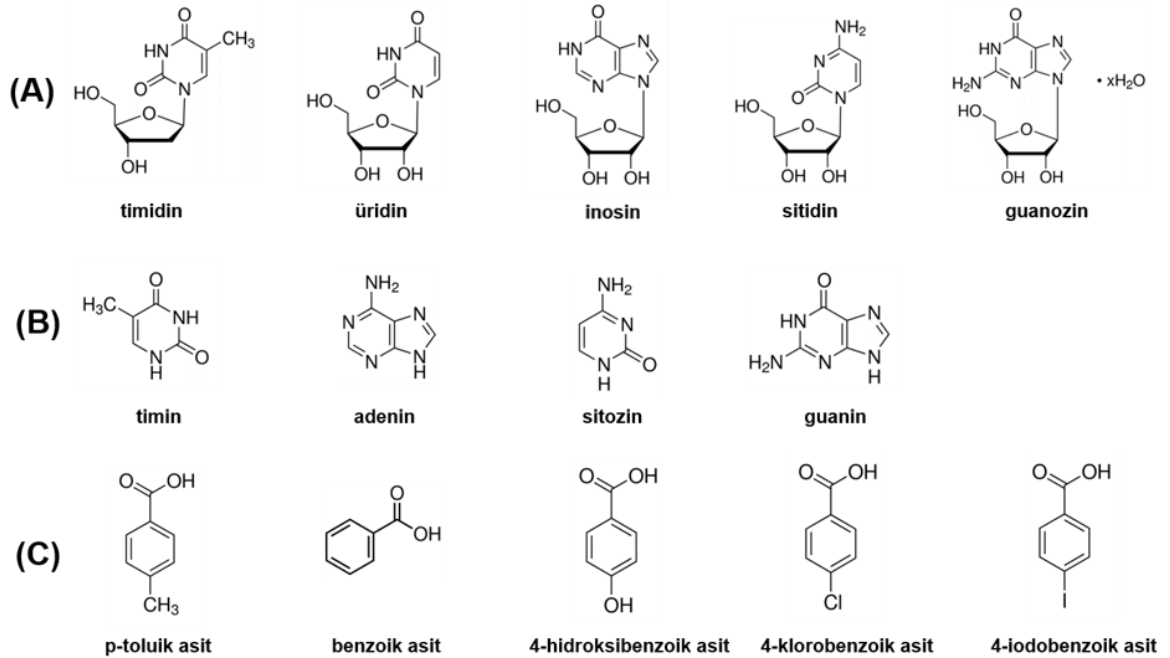
Şekil 3.16. Ters faz kromatografisi modunda ayrımı yapılan analit grupları (A) alkilbenzenler, (B) çok halkalı aromatik hidrokarbonlar, (C) fenol türevleri

Kromatografik analizde çoğunlukla 1.0 μ L akış hızına kadar hareketli faz kullanılmıştır. Bu akış hızlarından biri seçilerek farklı ACN/su oranlarındaki elde edilen kromatogramlar karşılaştırılmış ve optimum ayırımın sağlandığı koşullarda farklı akış hızlarında analiz tekrarlanmıştır. Elde edilen kromatogramlardan ifade edildiği gibi alıkonma faktörü, kademe yüksekliği ve pik çözünürlüğü gibi kromatografik analiz parametrelerine ulaşılmıştır.

3.5.3. Nano Sıvı Kromatografisi Sisteminde Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi Deneyleri

Hidrofilik etkileşim kromatografisinde izokritik modda kullanılmak üzere sentezlenen hidrofilik özellikteki hibrid monolitik kolonlar, ters faz kromatografisinde kullanılmak üzere sentezlenen hidrofobik özellikteki hibrid monolitik kolonlarla benzer şekilde kullanılmıştır. Farklı olarak yapılan ön çalışmalarda ACN/su hareketli fazında istenen sağlıklı ayırımın gerçekleşmediğinin gözlenmesi üzerine uygun pH'da ACN/ amonyum asetat tamponu hareketli faz olarak kullanılmıştır.

HILIC çalışması kapsamında da molekül yapıları şekil 3.17'de verilen 3 grup analit türü ile kromatografik ayırım amaçlanmıştır.



Şekil 3.17. Hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda ayırımı yapılan analit grupları (A) nükleositler, (B) nükleotitler, (C) organik asit türevleri

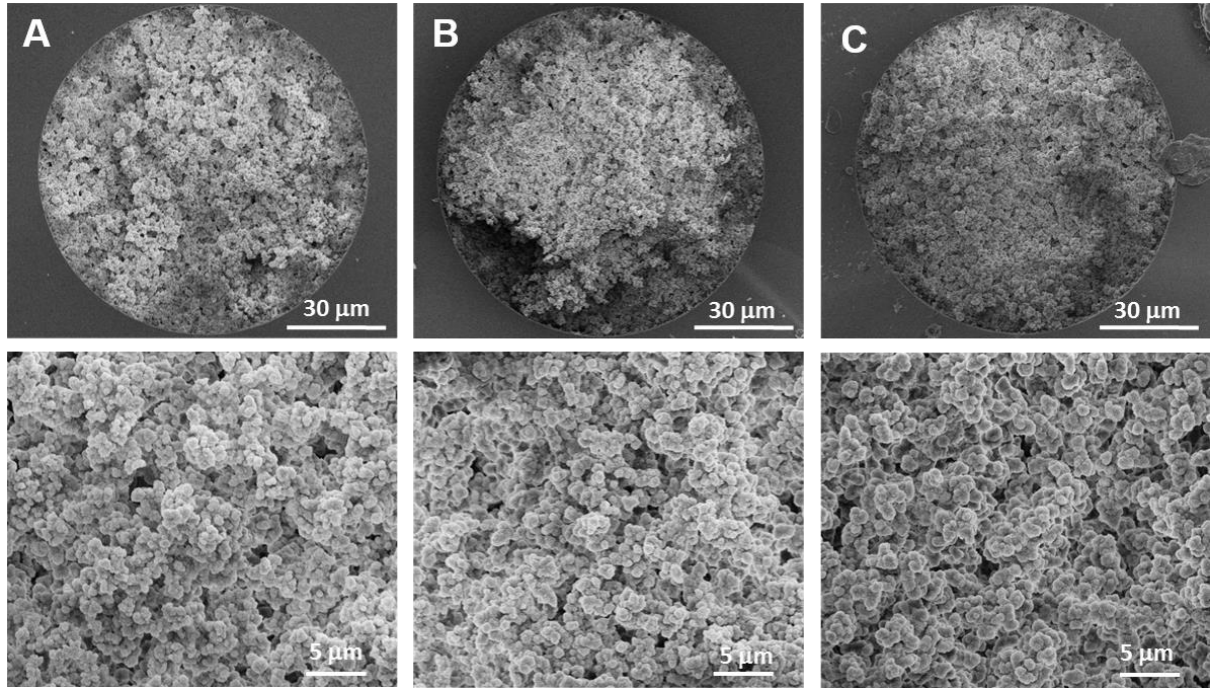
Sentezlenen hidrofilik özellikteki monolitler, polimerizasyon sonrası gözenek yapıcı solventlerin ve polimerleşmeyen yapıların uzaklaştırılması amacıyla yaklaşık 2 saat boyunca saf etanol ile basınç 150 barı geçmeyecek bir akış hızında yıkanmıştır. Analit karışımları vialler içerisinde hazırlanarak, nano-İC nin otoörnekleyici bölmesine yerleştirilmektedir. Analizin başlamasıyla otoörnekleyici iğnesi uygun bölmeye yerleştirilen vial içerisinden 0.1 µL hacmindeki analit karışımını çekmekte ve sisteme enjekte etmektedir. Bundan sonra ters faz kromatografisi için verilen yöntem aynen uygulanarak kromatografik analiz sürdürülmüştür.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Termal Polimerizasyon ile Monolit Sentezi ve Karakterizasyonu

4.1.1. Poli(POSS-MA-Co-EDMA) Monolitlerinin Termal Polimerizasyon ile Sentezi Ve Karakterizasyonu

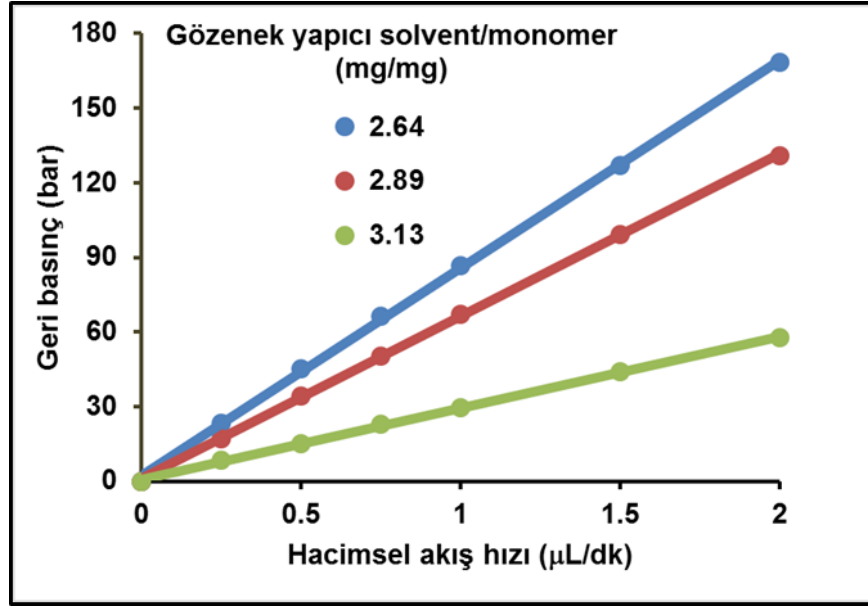
Çalışmanın ilk aşamasında n-PrOH/1,4 BD/PEG 2000'den oluşan gözenek yapıcı sistem varlığında POSS-MA'nın ana monomer, EDMA'nın çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı 100 mikron iç çaplı Poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitler sentezlenmiştir. Bu deneyleri tablo 3.1'de görüldüğü üzere 3 farklı grupta kategorize etmek mümkündür. İlk grupta gözenek yapıcı solvent/monomer oranı değiştirilerek, bu değişimin kolon morfolojisine ve hareketli faz geçirgenlik değerine olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, farklı gözenek yapıcı sistem bileşenleri/monomer oranında sentezlenen monolitlerin taramalı elektron mikroskobu ile alınan görseller karşılaştırılmıştır. (Şekil 4.1)



Şekil 4.1. Farklı gözenek yapıcı solvent/monomer oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n PrOH/BD/PEG-2000. Gözenek yapıcı solvent/monomer oranı (mg/mg): (A) 2.64, (B) 2.89, (C) 3.13, Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.

Şekil 4.1'den de görülebileceği üzere gözenek yapıcı solvent/monomer oranının artması ile agregat boyutu dolayısıyla da gözenek boyutu artmaktadır. Bu gözlem ile artan gözenek boyutunda monolitik yapının hareketli faza olan direncinin düşerek

daha kolay hareketli faz akışına sebep olması öngörülmektedir. Geri basınç deneyleri sonucunda elde edilen akış hızı-geri basınç grafiği göz önüne alındığında (Şekil 4.2) artan gözenek yapıcı solvent/ monomer oranının artmasıyla oluşan geri basınç düşüşü ve tablo 4.1’de verilen artan geçirgenlik değerleri ile azalan özgül yüzey alanı bu öngörüü doğrulamaktadır. Elde edilen grafikte doğrusal bir değişimin olması oluşan monolitik yapının artan akış hızı, dolayısıyla artan basınç karşısında dayanıklı olduğunun bir ispatıdır.



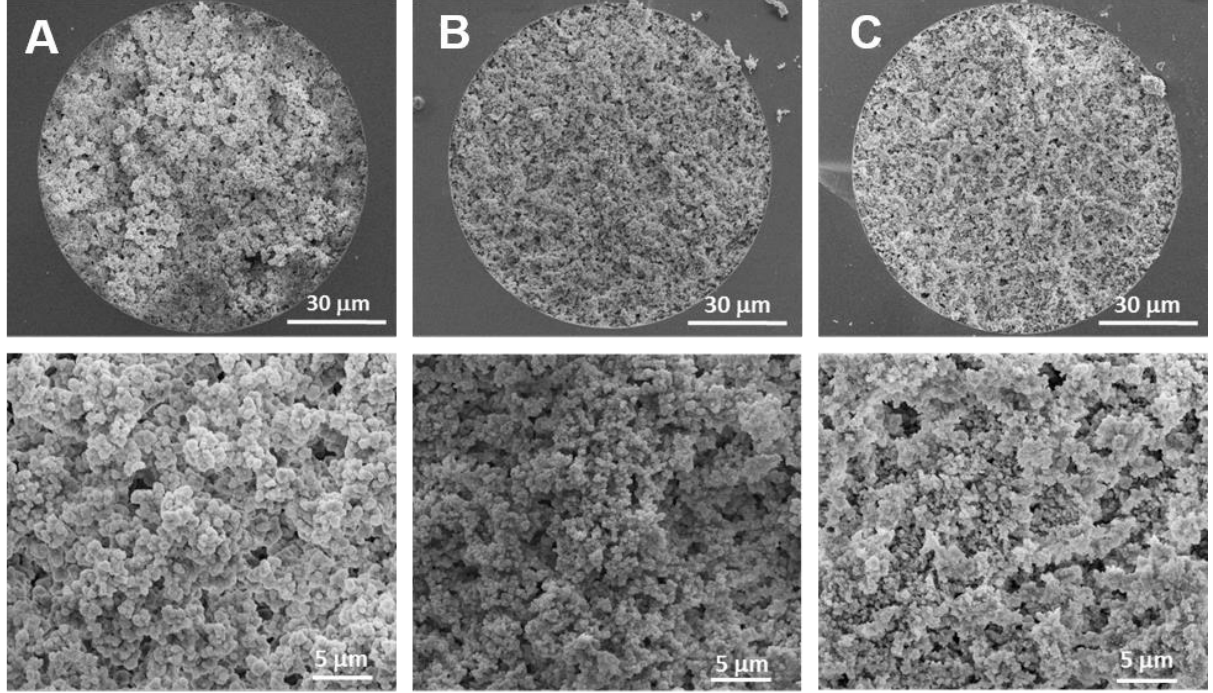
Şekil 4.2. Farklı gözenek yapıcı solvent/monomer oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin geri basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/BD/PEG-2000. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 µm, Mobil faz: 50/50 mL/mL ACN/su.

Tablo 4.1. Farklı gözenek yapıcı /monomer oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri

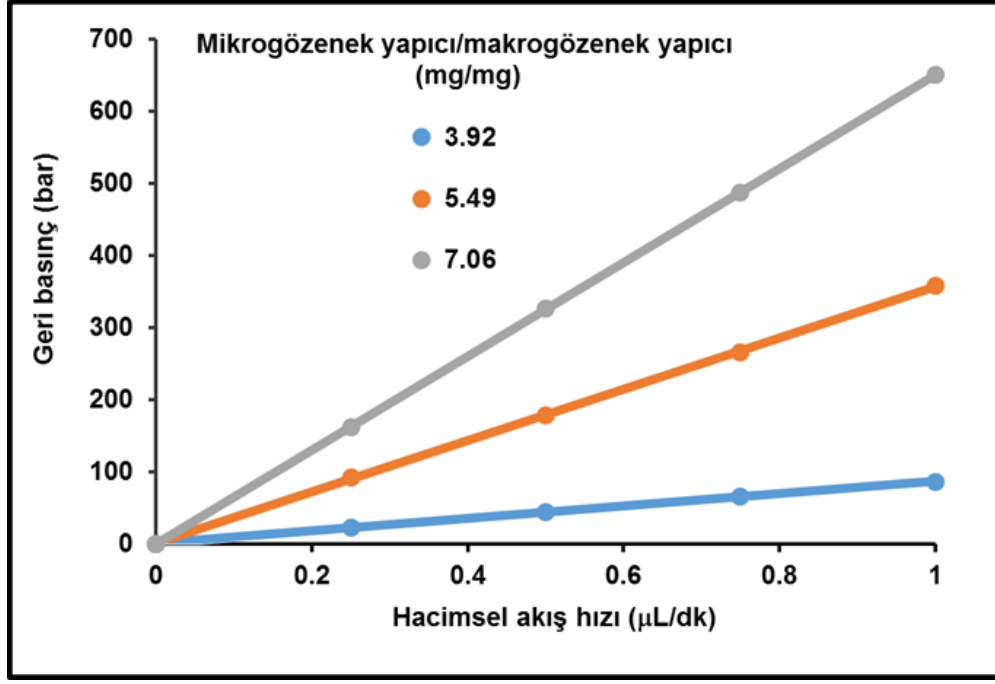
Deney Kodu	Gözenek yapıcı solvent / monomer (mg/mg)	Özgül Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴
A1	2.64	229.2	6.1
A2	2.89	130.0	7.9
A3	3.13	67.8	17.8

İkinci grup deneyleri olarak mikogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranının değiştirildiği monolitlerin morfolojisi ve akış davranışlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Buna göre, şekil 4.3’te SEM görüntülerinde verildiği gibi, mevcut

oranın artması agregat, dolayısıyla da gözenek boyutunun azalmasına neden olmuştur. Azalan gözenek boyutunun, artan geri basınç ve özgül yüzey alanı ve azalan geçirgenlik değeri olarak karşımıza çıkması beklenir. Şekil 4,3'teki akışa karşı, geri basınç değerlerinin çizildiği grafikte ve tablo 4,2'de verilen özgül yüzey alanı ve geçirgenlik değerleri bu beklentiyi karşılamaktadır.



Şekil 4.3. Farklı mikrogözenek yapıcı/makro gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/BD/PEG-2000. mikrogözenek yapıcı/makro gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 3.92, (B) 5.49, (C) 7.06. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X

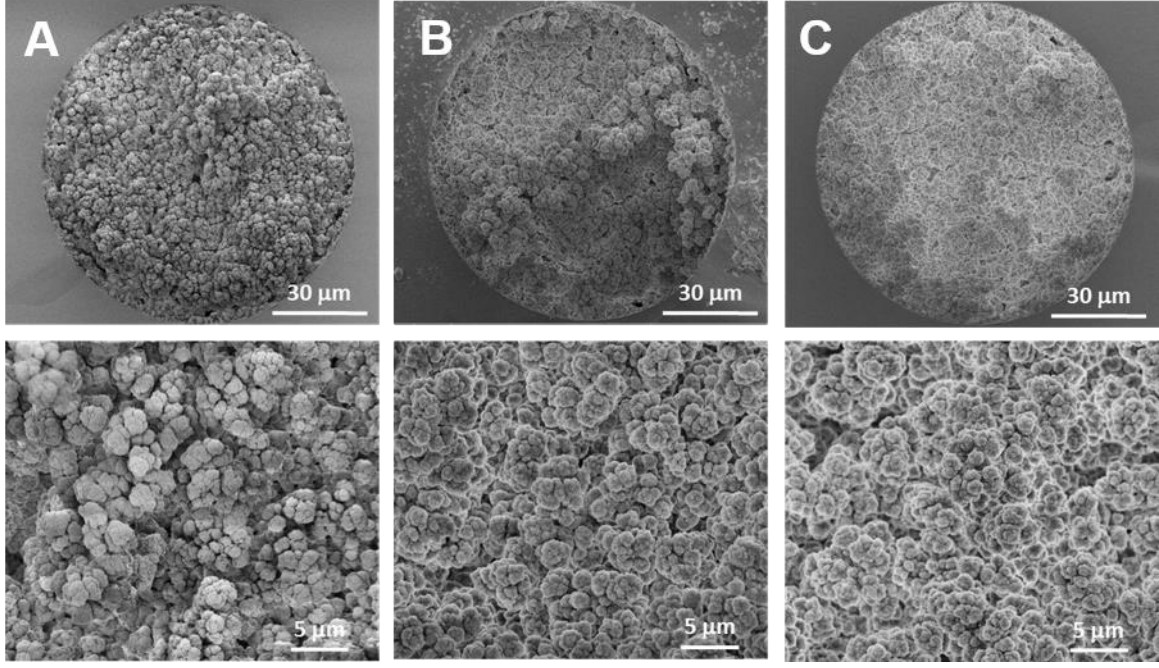


Şekil 4.4. Farklı mikrogözenek yapıcı/makro gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin geri basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/BD/PEG-2000. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 µm, Mobil faz: 50/50 mL/mL ACN/su.

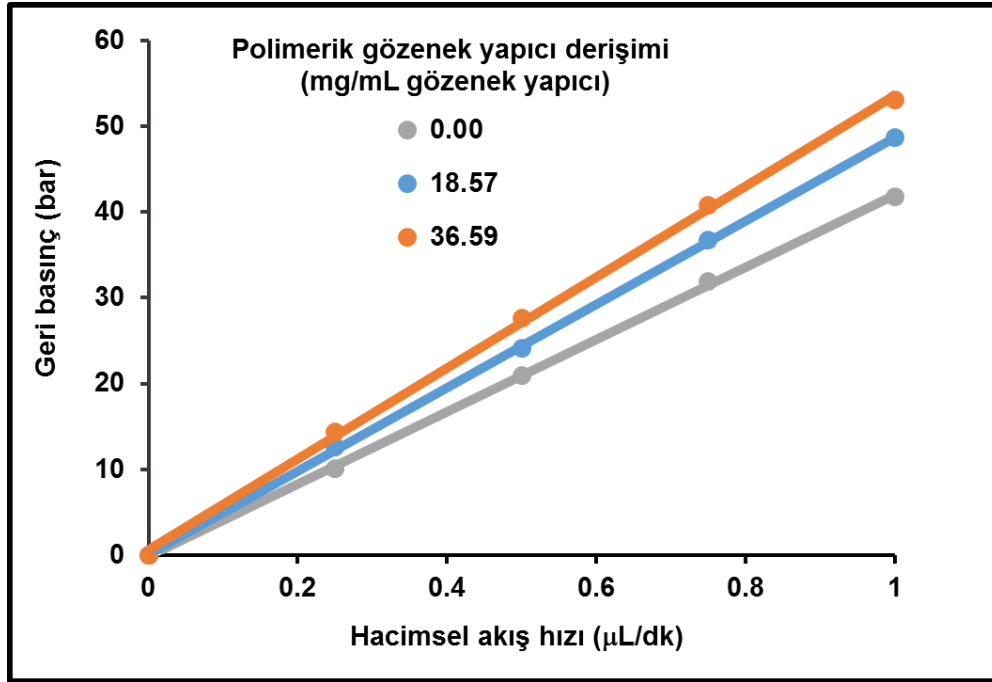
Tablo 4.2. Farklı mikrogözenek yapıcı/makro gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri

Deney Kodu	Mikrogözenek yapıcı / makrogözenek yapıcı (mg/mg)	Özgül Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴
A1	3.9	229.2	6.1
A5	5.5	315.4	1.5
A4	7.1	320.0	0.8

Üçüncü grup deneylerde ise polimerik makrogözenek yapıcı ajan (PEG 2000) derişiminin değişiminin monolit morfolojisine ve akış davranışına etkisi incelenmiştir. Şekil 4,5’de verilen SEM fotoğrafları, şekil 4,6’da verilen akış hızına karşı geri basınç grafiği ve tablo 4.3’te verilen özgül yüzey alanı-geçirgenlik verileri göz önüne alındığında PEG 2000’in değişiminin incelenen değişimlere dikkate değer bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Birinci ve ikinci grup deneyleri göz önüne alındığında morfolojiye ve akış karakteristiğine mikro ve makrogözenek yapıcı oranının ve gözenek yapıcı derişiminin daha çok etki ettiği sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 4.5. Farklı polimerik gözenek yapıcı (PEG-2000) derişimleri ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/BD/PEG-2000. Polimerik gözenek yapıcı (PEG-2000) derişimi (mg/mL gözenek yapıcı): (A) 0, (B) 18.6, (C) 36.6. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X



Şekil 4.6. Farklı polimerik gözenek yapıcı (PEG-2000) derişimleri ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin geri basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/BD/PEG-2000. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 µm, Mobil faz: Mobil faz: 50/50 mL/mL ACN/su

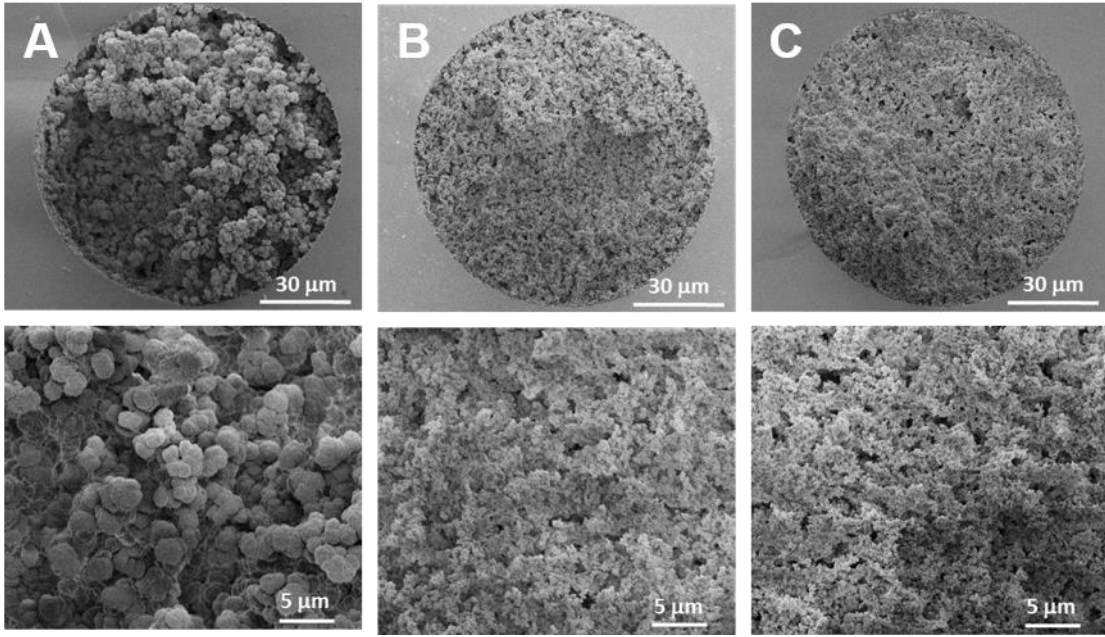
Tablo 4.3. Farklı polimerik gözenek yapıcı (PEG-2000) derişimleri ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri

Deney Kodu	Polimerik gözenek yapıcı derişimi (mg/mL)	Özgül Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴
A8	0	6.9	12.4
A7	18.6	9.8	10.7
A6	36.6	13.5	9.7

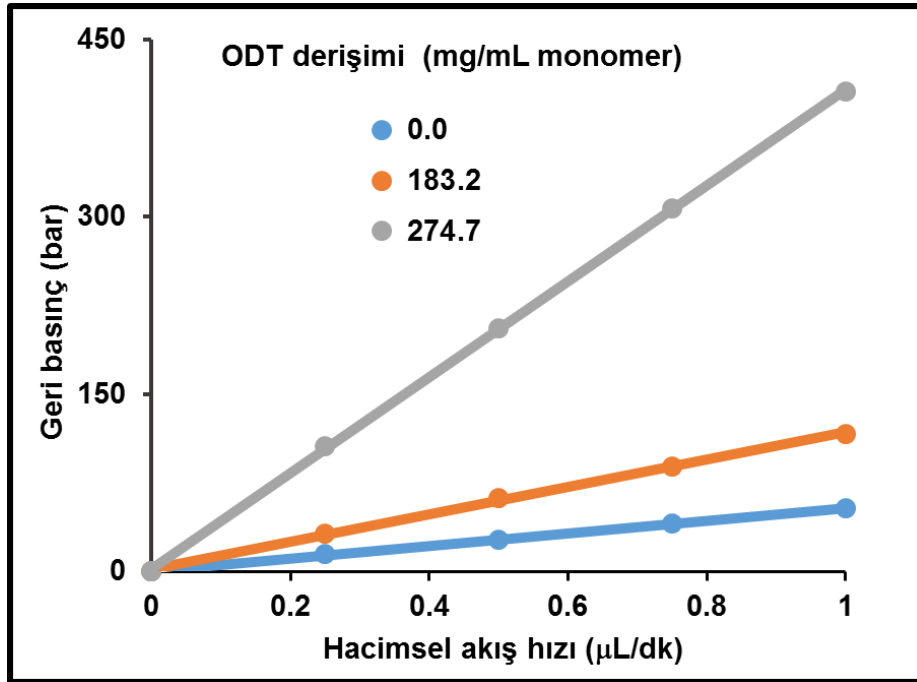
4.1.2. ODT bağı Poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerinin termal polimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezi ve karakterizasyonu

Ana monomer olarak POSS-MA'nın, çapraz bağlayıcı olarak da EDMA'nın kullanıldığı, tiyol-en katılması ile hidrofobik özellikteki 18 karbonlu ODT ligandının bağlandığı Poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitik yapısının sentezi iki grup deney setine ayrılmıştır. Ligand olmayan ve sadece serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenen monolitten farklı olarak, polimerizasyon çözeltisi içerisinde çözünmeyen PEG 2000 yerine, PEG 400 kullanılmıştır. Ayrıca aynı problemin çözümüne yönelik olarak, makrogözenek yapıcı olarak görev yapan 1,4 bütandiol yerine bu deney grubunda n-dekanol kullanılmıştır.

İlk deney grubunda, ODT derişiminin monolitik yapıya etkisi incelenmiştir. Şekil 4,7'de SEM görüntüleri verilen monolit yapısında artan ODT derişimi ile agregat boyutunun azaldığı, bununla beraber gözenek boyutunun küçüldüğü gözlenebilmektedir. Azalan gözenek boyutu, hareketli faz geçişini zorlaştıracığından geri basınç değerinin artacağı öngörülebilir. Şekil 4.8'de akış hızına karşı geri basınç değerinin görüldüğü grafikte bu öngörü açık bir biçimde doğrulanmıştır. Mobil faz geçirgenlik değerinde artan ODT derişimi ile gözlenen azalma, monolitin gözeneklilik oranında azalmayı gösteren bir diğer kanıttır.



Şekil 4.7. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. ODT derişimi (mg/mL monomer): (A) 0, (B) 183.2, (C) 274.7. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X

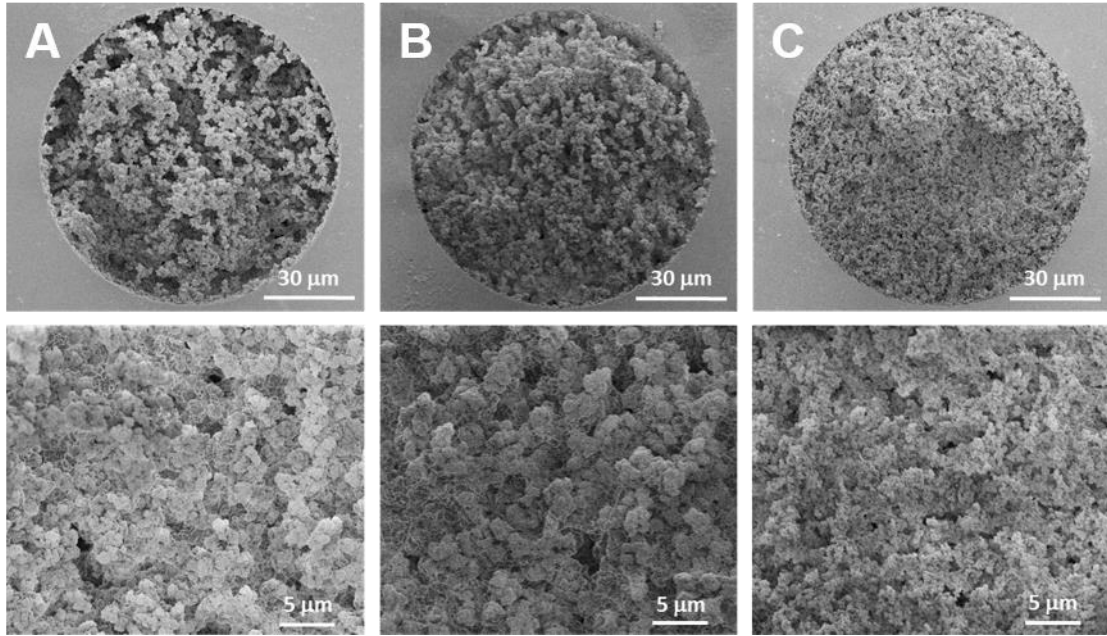


Şekil 4.8. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin geri basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 μm, Mobil faz: 50/50 mL/mL ACN/su.

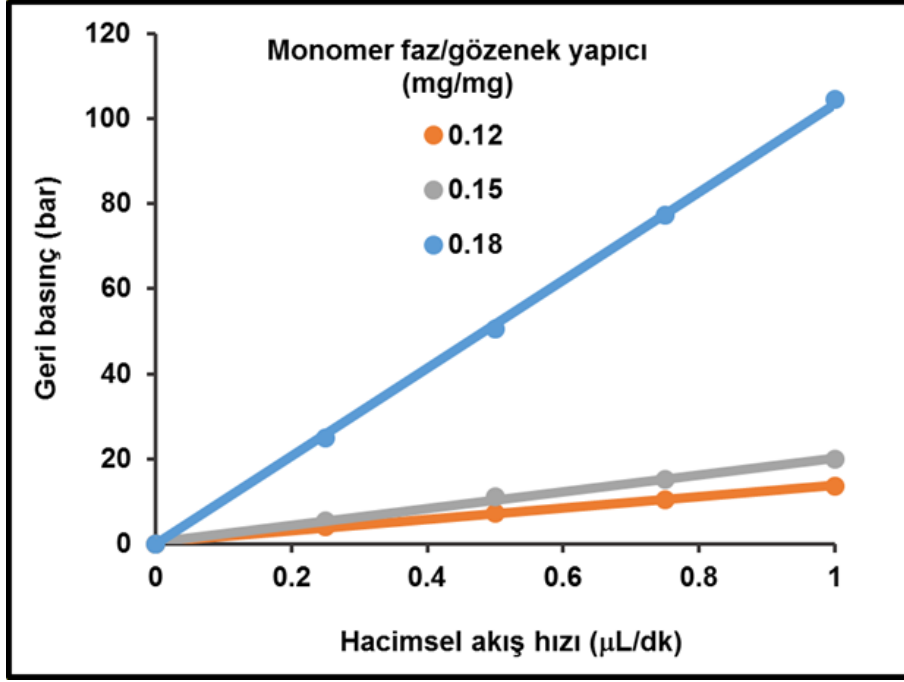
Tablo 4.4. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri.

Deney Kodu	ODT derişimi (mg/mL monomer)	Özgül Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴
B1	0.0	79.7	9.7
B2	183.2	41.0	4.4
B3	274.7	18.3	1.3

İkinci deney grubunda ise polimerizasyon çözeltisi içerisinde monomer / gözenek yapıcı oranı değişikliği ile üç farklı kolon sentezlenmiştir. Monomer fazının artışı dolaylı olarak agregat ve gözenek boyutu azalması şekil 4,9'daki SEM görüntülerinden anlaşılabilmektedir. Gözenek boyutunun azalmasından kaynaklanan hareketli fazın geçişinin zorlanması, artan geri basınç olarak karşımıza çıkmaktadır (şekil 4.10). Tablo 4.5'te monolit azalan gözeneklilik değerine bağlı olarak, geçirgenlik değerinde azalma gözlenmektedir.



Şekil 4.9. Farklı monomer /gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. Monomer /gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 0,12, (B) 0,15, (C) 0,18. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X



Şekil 4.10. Farklı monomer faz/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 µm, Mobil faz: 50/50 mL/mL ACN/su.

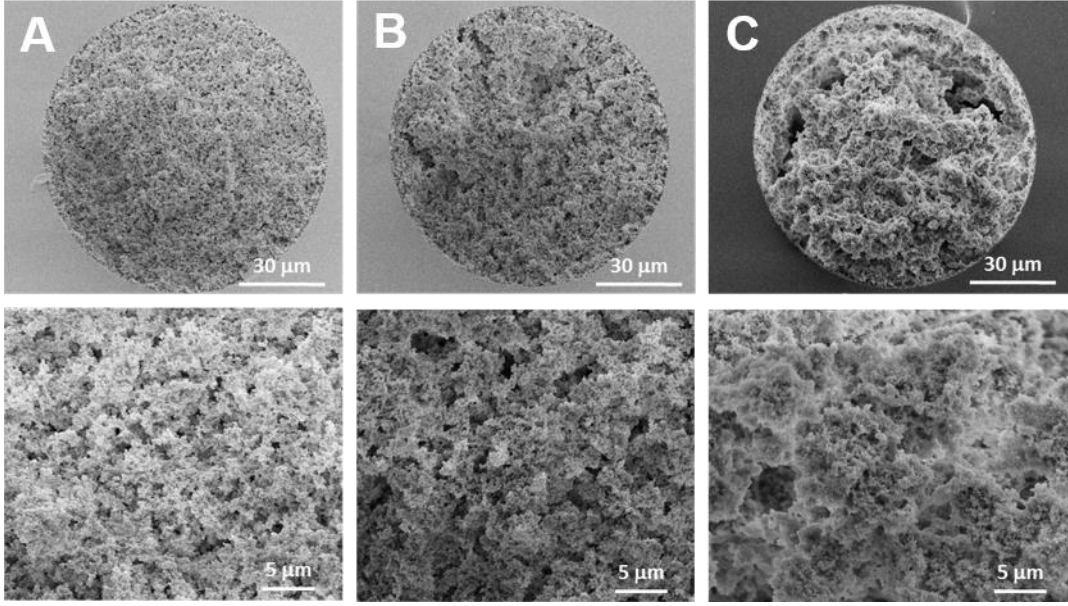
Tablo 4.5. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri

Deney Kodu	Monomer / gözenek yapıcı solvent (mg/mg)	Özgül Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴
B4	0.12	17.7	37.5
B5	0.15	31.7	25.6
B2	0.18	41.0	4.4

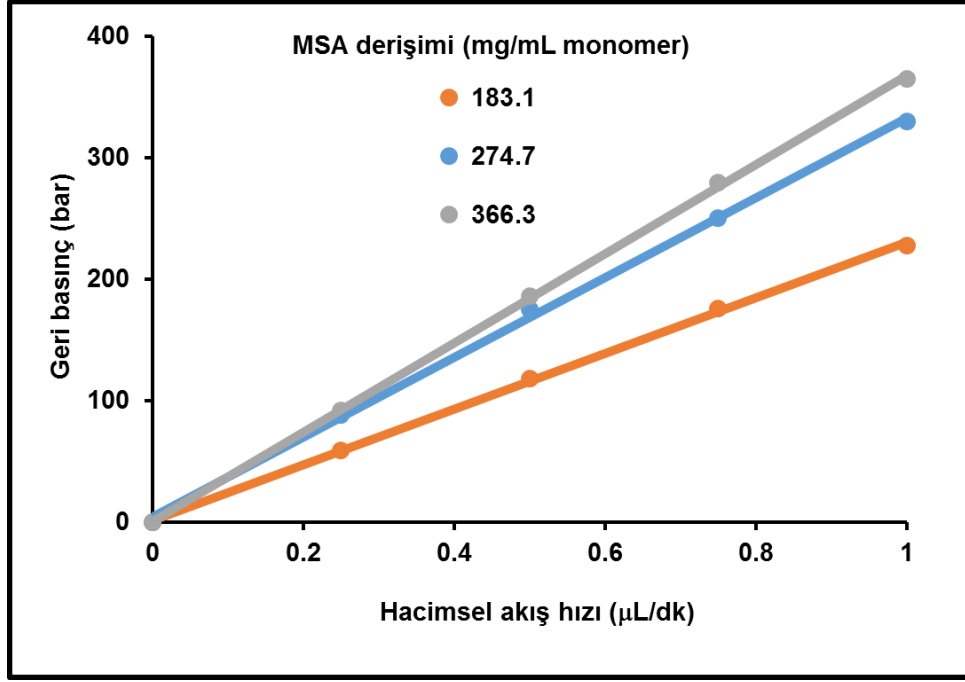
4.1.3. MSA Bağlı poli(POSS-MA-Co-EDMA) Monolitlerinin Termal Polimerizasyonu ve Tiyo-En Katılması ile Sentezi ve Karakterizasyonu

Termal polimerizasyon ve tiyo-en katılması yöntemlerinin birlikte kullanımıyla hidrofilik özellikteki monolitlerin sentezlenmesi için tiyo gruplu ligand olan merkaptosüksinik asit (MSA) kullanılmıştır. Şekil 4.11'de sentezlenen monolitlerin SEM fotoğrafları incelendiğinde bariz bir morfolojik değişim yorumunun yapılması zordur. Bu yüzden bu değişimin olup olmadığının ispatı için öncelikle ilgili monolite ait akış hızı /geri basınç ilişkisini veren grafiğe başvurulmuştur.(şekil 4.12) Bu grafiğe

göre artan MSA derişimi, geri basınç değeri ile orantıdır. Geri basınç değerinin artıyor olması, hareketli faza karşı direncin arttığını, bu durumun da monolit geçirgenliğini azalttığını gstermektedir. Tablo 4,6'daki geçirgenlik verileri bu beklentimizi doğrular niteliktedir. Yine aynı tablodan gzelemlenebileceği üzere MSA derişimi ile özgül yüzey alanındaki artış ise büyük olasılıkla ortalama gözenek boyutunun azalmasından kaynaklanmaktadır.



şekil 4.11. Farklı MSA derişimleri ile sentezlenen MSA bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin SEM fotoğrafları. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. MSA derişimi (mg/mL monomer): (A) 183.1, (B) 274.7, (C) 366.3. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X



Şekil 4.12. Farklı MSA derişimleri ile sentezlenen MSA bağı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin basınç-akış hızı eğrileri. Gözenek yapıcı sistem: n-PrOH/Dec-OH/PEG-400. Kolon uzunluğu: 300 mm, Kolon iç çapı: 100 µm, Mobil faz: 95/5 ACN/su (mL/mL).

Tablo 4.6. Farklı MSA derişimleri ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri

Deney Kodu	MSA derişimi (mg/mL monomer)	Özgül Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴
C3	183.1	30.2	1.1
C2	274.7	54.0	0.8
C1	366.3	89.0	0.7

4.2. Fotopolimerizasyon ile Monolit Sentezi ve Karakterizasyonu

Termal polimerizasyon ve tiyol-en katılmasıyla sentezlenen monolitlerin nano-sıvı kromatografisi sisteminde sabit faz olarak kullanıldığı ön çalışmalarda söz konusu monolitlerin mekanik özelliklerinin ve ayırma davranışının kromatografik çalışma için yetersiz kaldığı, gözlenmiştir. Bu sorunun çözümü için monolitik kolonun termal etki yerine foto etki ile sentezlenmesine karar verilmiştir. Bu karar ile serbest radikal üretim hızı artırılarak hem sentez süresini kısaltmak hem de daha kararlı ve rijit bir monolitik yapının elde edilmesini sağlamak amaçlanmıştır.

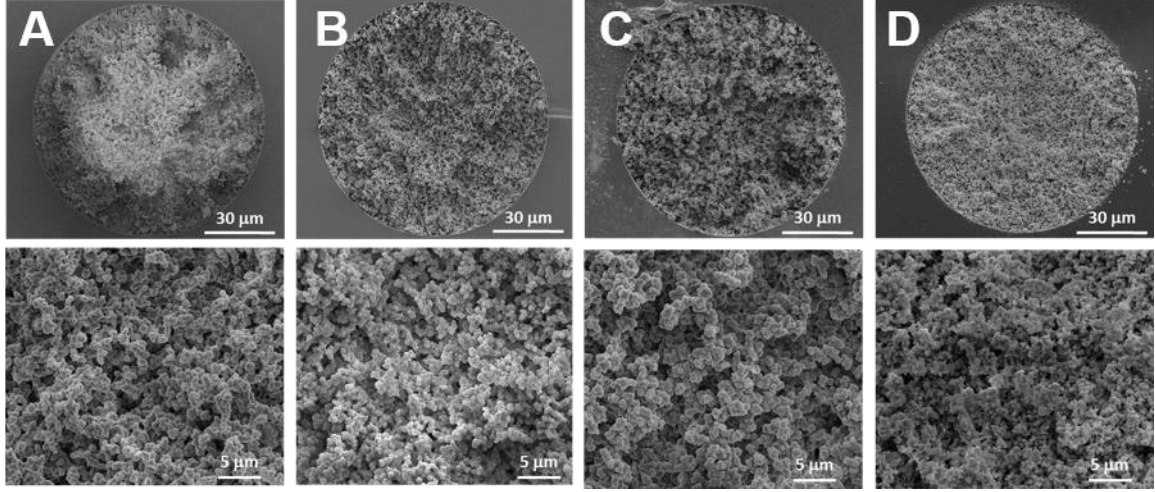
4.2.1. Ters Faz Kromatografisi (RPC) Modunda Kullanılmak Üzere Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Bağlanması ile Monolit Sentezi ve Karakterizasyonu

Ters faz kromatografisinde kullanılmak üzere fotopolimerizasyon ile monolitik yapının oluşturulması ve tiyol-en katılmasıyla hidrofobik özellikteki ligandların monolitik yapıya katılması esasına dayanan sentezde, POSS-MA kafes örgü yapısından ileri gelen özelliği nedeniyle hem ana monomer hem de çapraz bağlayıcı görevi yapmıştır. Gözenekli yapının oluşturulması bütanol ve etilen glikol'den oluşan ikili gözenek yapıcı sistem ile sağlanmıştır. Monolite hidrofobisite kazandırması amacıyla, alkantiyol olarak adlandırılan farklı karbon zincir uzunluklarına sahip alifatik ligandlar ile (BT, OT, ODT), aromatik PET ligandının kullanıldığı monolitik yapıların sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

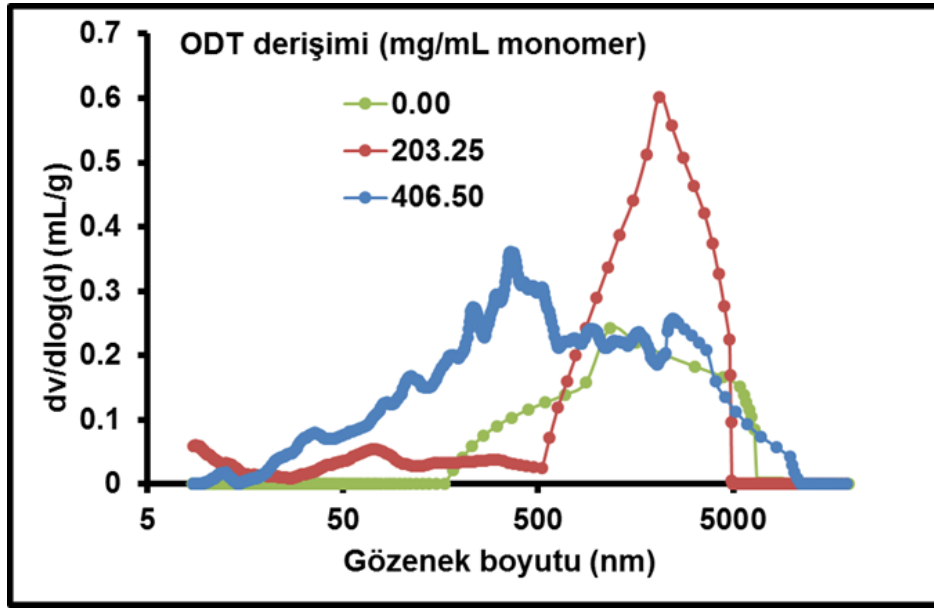
4.2.1.1. ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin fotobaşlatıcılı serbest radikal polimerizasyonu ve tiyol-en katılması ile sentezi ve karakterizasyonu

Ters faz kromatografisinde kullanılmak üzere ODT ligandı ile modifiye edilen ve fotopolimerizasyon ile tiyol-en katılmasının birlikte kullanımıyla hidrofobik özellikteki monolitik kolonların sentezi yapılmıştır.

İlk aşamada, ODT'nin olmadığı durumda ve 3 farklı ODT derişimi kullanılarak toplam 4 monolit sentezlenmiştir. Sentezlenen monolitik kolonların morfolojileri şekil 4.13'deki SEM görüntüleri ile verilmektedir. Buradan görüldüğü gibi agregat boyutunda dikkate değer bir değişim olmadığı sonucuna varabiliriz. Monolitik kolonların gözeneklilik özellikleri için önemli bir parametre olan gözenek boy dağılımı şekil 4.14'te verilmektedir. ODT'nin bulunmadığı ve 203.3 mg/mL derişime sahip olduğu iki farklı durumda monolit gözenek boy dağılımının yaklaşık 500-5000 nm arasında değiştiği gözlemlenirken 406.6 mg/mL ODT derişimine sahip monolitte bu dağılımın yaklaşık 20-5000 nm aralığında bir değere düştüğü görülebilmektedir.

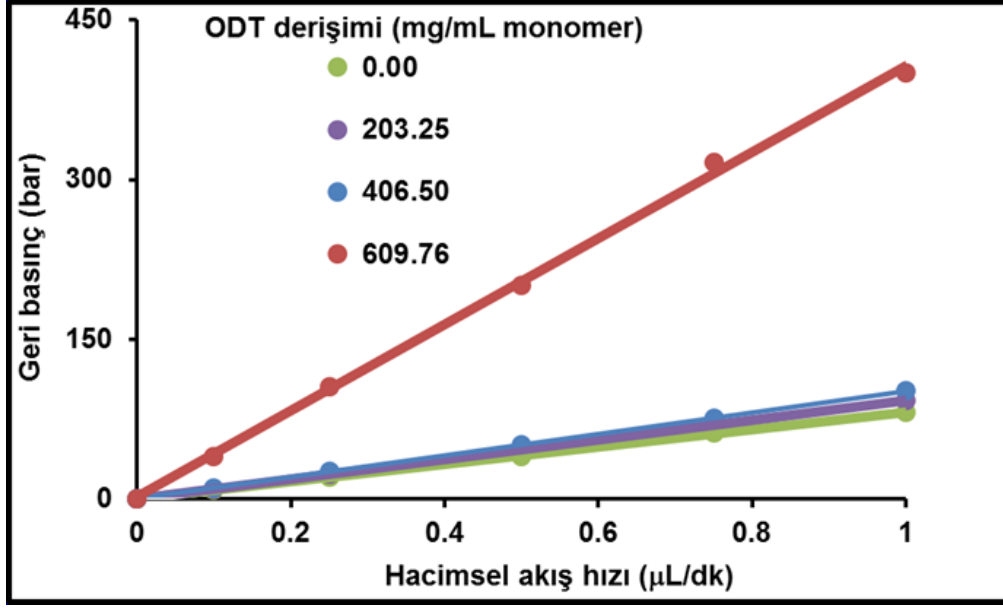


Şekil 4.13. Farklı ODT derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağılı-POSS-MA bazlı monolitlerin SEM fotoğrafları. ODT derişimi (mg/mL monomer): (A) 0, (B) 203.3, (C)406.5, (D) 609.8. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X



Şekil 4.14. Farklı ODT derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağılı poli(POSS-MA) monolitlerinin genel gözenek boyut dağılımları.

ODT olmaksızın ve farklı ODT derişiminde toplam 4 monolit in şekil 4.15'te akış hızı-geri basınç grafiğinde, 406.5 mg/mL derişime kadar monolitlerin geri basınç değerlerinde bir kayda değer değişiklik görülmemektedir. Fakat 609.8 mg/mL derişimi için geri basınç değerinin yaklaşık 3-4 kat arttığı fark edilmektedir. Bu durum SEM sonuçlarına bakarak söylenen en yüksek derişimli monolit in agregat boyutunun daha düşük olduğu gözlemimizi desteklemektedir.



Şekil 4.15. Farklı ODT derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağı poli (POSS-MA) monolitlerin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mm x 100 μm iç çap, Mobil faz: 75/25 ACN/su (mL/mL).

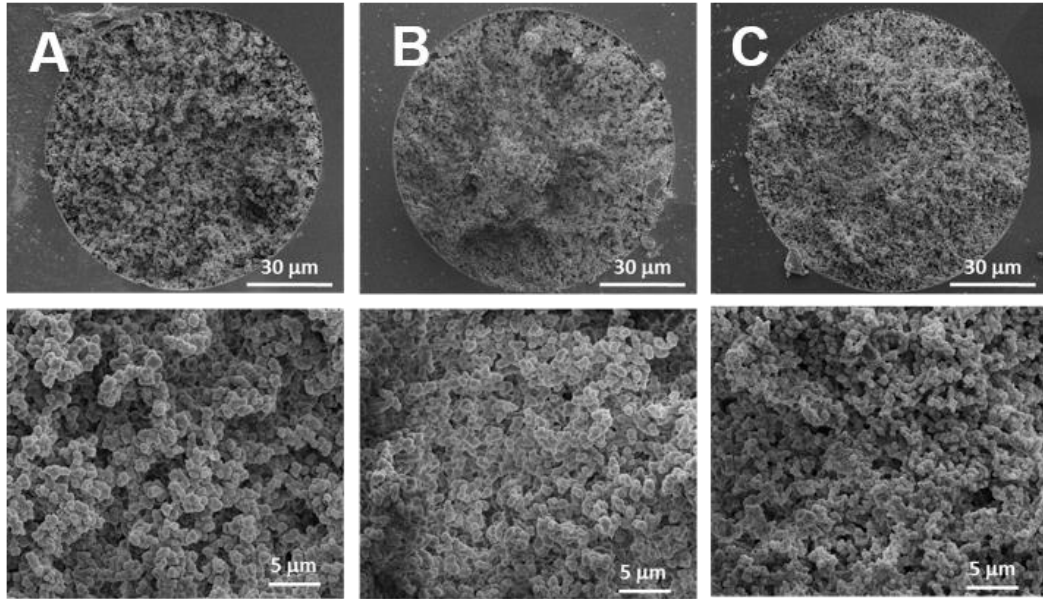
Değişen ODT derişimlerinde tablo 4.7’de verilen özgül yüzey alanı değerlerini karşılaştırıldığında, ODT olmaksızın sentezlenen monolit en yüksek özgül yüzeyine sahip olması ve artan ODT derişimi ile özgül yüzey alanının düştüğü ifade edilebilir. Bu da ODT ligandının kullanımının monolit gözenekliliğinde azalmaya neden olduğu yorumuyla açıklanabilir. Monolit gözenekliliğindeki düşüş ile geçirgenlik değerinin de düşeceği beklentisi oluşmakta ve tablo 4.7’de verilen geçirgenlik değerleri bu beklentimizi doğrulamaktadır.

Monolitik yapının sahip olduğu çapraz bağ yoğunluğunun karşılaştırılması için de yine tablo 4.7’deki verilerden faydalanılmıştır. Buna göre ODT kullanımının çapraz bağ yoğunluğunu artırdığı sonucu çıkarılabilir. Bu da ODT’nin, POSS-MA’nın vinil grupları arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonunun daha verimli bir biçimde gerçekleşmesine yardımcı olduğu yorumuna ulaşmamızı sağlar. Bunun dışında da aynı tablodan yola çıkılarak tiyol yapılı bir ligand olan ODT’nin derişiminin artmasıyla, monolit tiyol içeriğinin artması şaşırtıcı değildir.

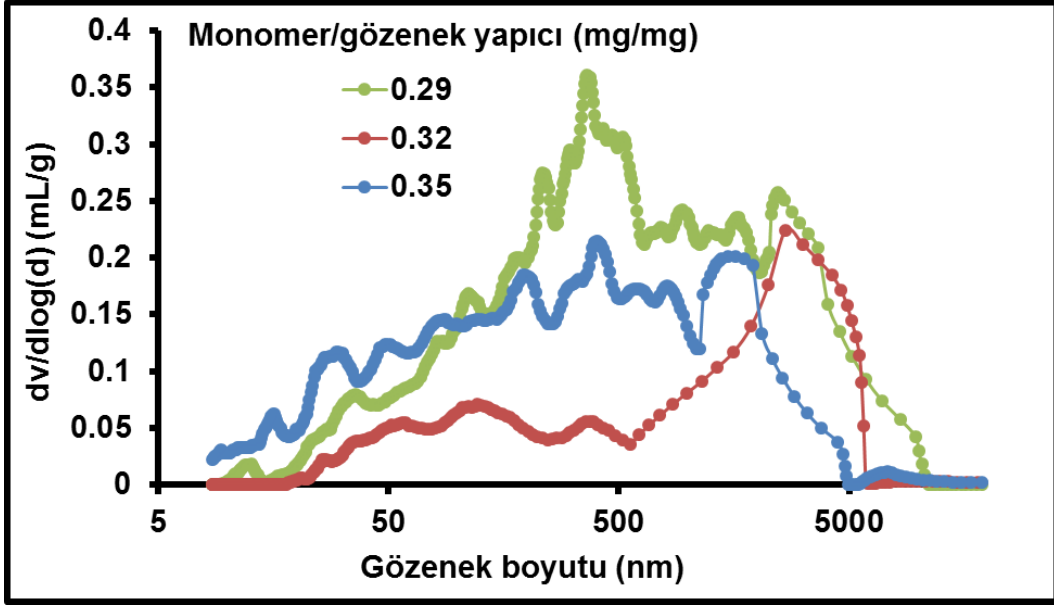
Tablo 4.7. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin karakterizasyon parametre değerleri

Deney Kodu	ODT derişimi (mg/mL monomer)	Özgöl Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴	Çapraz Bağ Yoğunluğu (mol/cm ³)	Tiyol İçeriği (mmol/g)
D1	0	227.0	4.3	0.85x10 ⁻⁵	0
D10	203.25	35.9	3.9	6.20x10 ⁻⁵	0.39
D2	406.5	52.7	3.5	3.63x10 ⁻⁵	0.75

Deney planının ikinci aşamasında bu kez sabit ODT derişiminde üç farklı monomer (POSS-MA) /gözenek yapıcı oranları kullanılan monolitik kolonlar sentezlenmiştir. Bu oranın artmasıyla agregat ve gözenek boyutunun azaldığı şekil 4.16'de verilen SEM fotoğraflarında görülebilmektedir. Fakat genel gözenek boyutu dağılımının belirgin bir biçimde değişmediği şekil 4.17'deki gözenek boyutu dağılım grafiği ile söylenebilir.



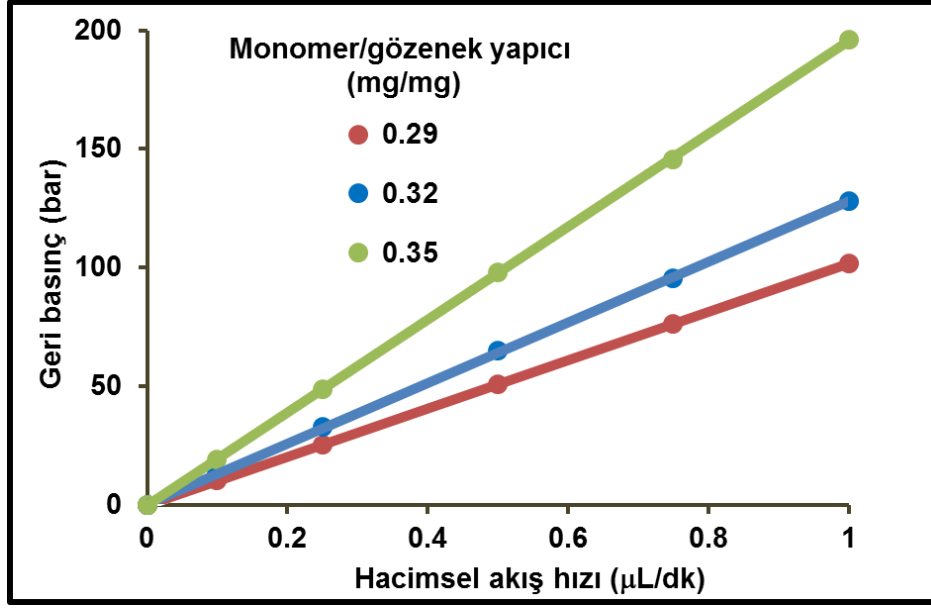
Şekil 4.16. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin SEM fotoğrafları. ODT derişimi: 50/600 mL ODT/mL gözenek yapıcı. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X



Şekil 4.17. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin gözenek boyut dağılımları. ODT derişimi: 50/600 mL (ODT/mL gözenek yapıcı).

Polimerizasyon çözeltisi içerisinde monomer fazının hacminin artması, oluşan monolitın gözenekliğinin azalmasına neden olmakta bu da monolitın hareketli faza karşı bir akış direnci yaratması sonucunu doğurarak şekil 4.18’de görüldüğü gibi daha yüksek monomer derişiminde daha yüksek geri basınç değerleri elde edilmesine neden olmaktadır. Bahsedilen akış direnci, tablo 4.8’de verilen geçirgenlik değerinin de azalması demektir. Yine aynı tabloda artan monomer derişimine karşılık artan özgül yüzey alanı değerleri ise, şekil 4.17’de verilen gözenek boyutu dağılım grafiğinin sol kısmındaki düşük gözenek boyut bölgesi içerisinde en yüksek monomer derişimine sahip (0.35 mg/mg) monolitik kolonun diğer kolonlara göre bu düşük gözeneklere sahip olması ile açıklanabilir.

Tablo 4.8’de de görüldüğü gibi bu grup deneyleri ile sentezlenen monolitlerin çapraz bağ yoğunluğu değerleri artan monomer fazı ile ilişkili değildir. Bunun dışında yine tablo 4.8’de görülebileceği üzere tiyol içeriğinin kritik bir değişime uğramaması tiyol gruplu ligand derişiminin sabit tutulması nedeniyle beklenen bir durumdur.

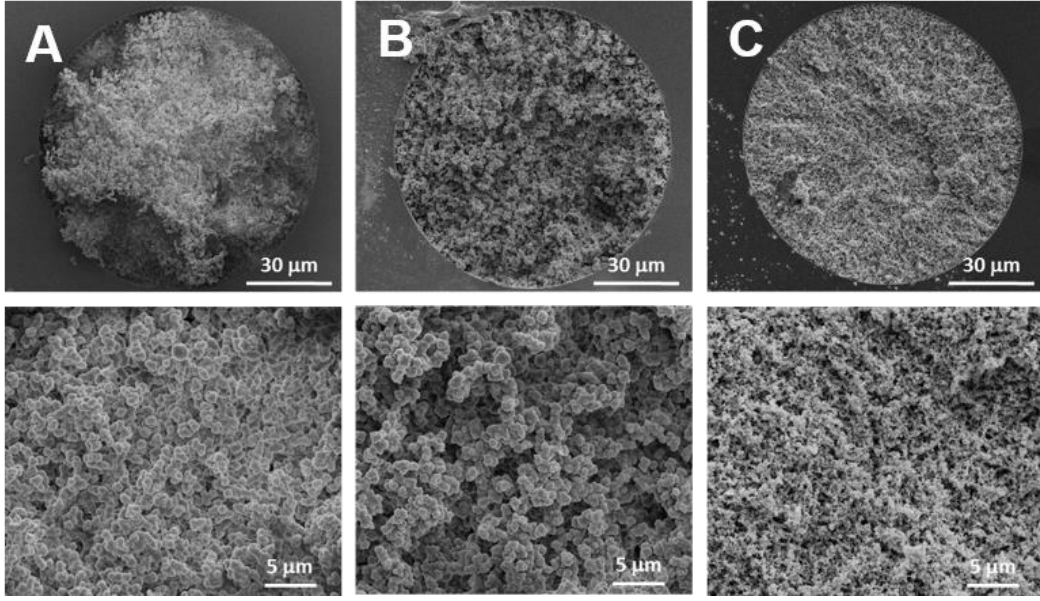


Şekil 4.18. Farklı monomer derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağılı poli(POSS-MA) monolitlerinin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 75/25 ACN/su (mL/mL).

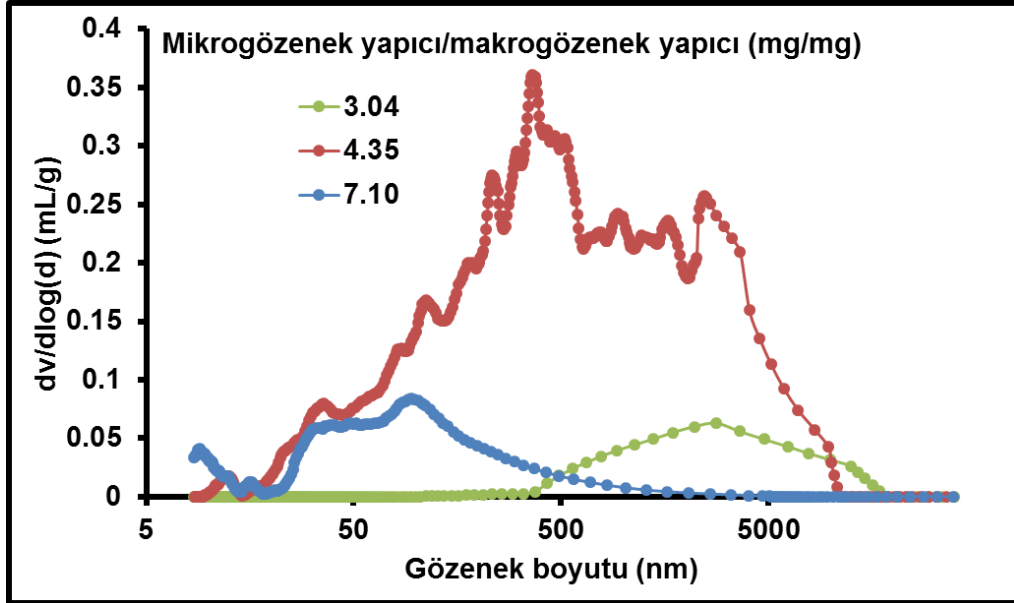
Tablo 4.8. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağılı poli(POSS-MA) monolitlerin karakterizasyon parametre değerleri

Deney Kodu	Monomer/gözenek yapıcı (mg/mg)	Özgül Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴	Çapraz Bağ Yoğunluğu (mol/cm ³)	Tiyol İçeriği (mmol/g)
D4	0.29	52.7	3.5	3.63x10 ⁻⁵	0.75
D2	0.32	55.2	2.8	7.94x10 ⁻⁵	0.72
D5	0.35	80.8	1.8	3.40x10 ⁻⁵	0.68

Deney planının üçüncü aşamasında değişen mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları ile sentezlenen monolitik yapıların özellikleri ele alındı. Artan oran ile yapının mikrogözenekliliğinin artması, agregat ve gözenek boyutunun ise azalmasını beklentisini ifade etmek mümkündür. Şekil 4.19'da bahsi geçen monolitlerin SEM görüntülerine bakarak, bu beklenti nitel olarak doğrulanmaktadır. Şekil 4.20'deki gözenek boyutu dağılımı grafiği göz önüne alındığında artan toplam gözenek yapıcı miktarı sabit kalmak şartıyla mikrogözenek miktarının artması gözenek dağılımının daha küçük boyutlara kaydığını göstermektedir.



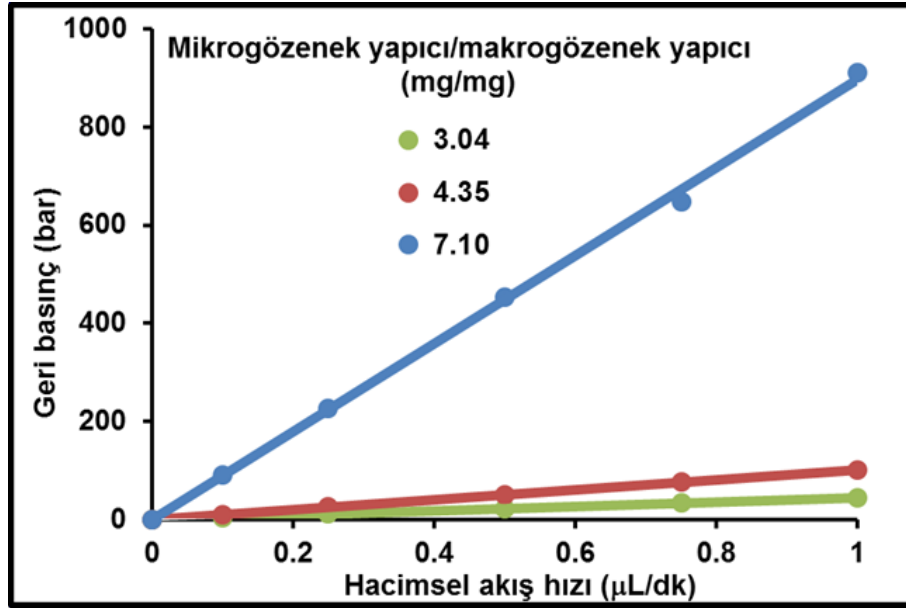
Şekil 4.19. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı (POSS-MA) monolitlerinin SEM fotoğrafları. ODT derişimi: 50/600 mL ODT/mL gözenek yapıcı. N-butanol/etilen glikol derişimi (mg/mg): (A) 3.04, (B) 4.35, (C) 7.10. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X



Şekil 4.20. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin gözenek boyut dağılımları. ODT derişimi: 50/600 mL ODT/mL gözenek yapıcı.

Şekil 4.21'de verilen akış hızı-geri basınç grafiğine göre mikrogözenekliliğin artmasıyla agregat boyutunun küçülmesi ve gözenek dağılımının daha küçük boyutlara doğru kayması geri basınç değerinin belirgin bir biçimde artması ile sonuçlanmaktadır.

Tablo 4.9'da görüldüğü üzere mikrogözenekliliğin artışı özgül yüzey alanının artışı ve geçirgenliğin azalmasıyla aynı yönde ilerlemektedir. Bu da küçük boyutlara doğru kayan gözenek dağılımının bir sonucudur. Yine aynı tabloda tiyol gruplu ODT derişiminin sabit tutulması sebebiyle elde edilen tiyol içeriği değerlerinde kayda değer bir değişim gözlenmemektedir. Fakat çapraz bağ yoğunluğu artan mikrogözeneklilik ile artışı göstermektedir. Bu durum monolitik yapıyı oluşturan polimerizasyon reaksiyonunun n-bütanolün artmasıyla daha verimli gerçekleştiğini düşündürmektedir.



Şekil 4.21. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 75/25 ACN/su (mL/mL).

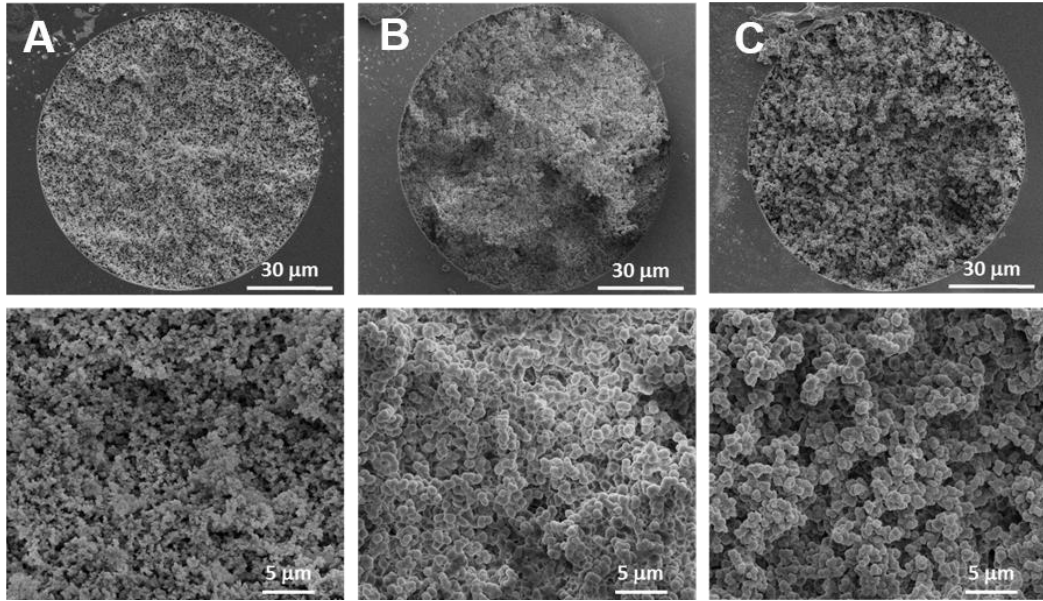
Tablo 4.9. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanarak sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin karakterizasyon parametre değerleri

Deney Kodu	Monomer/gözenek yapıcı (mg/mg)	Özgöl Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴	Çapraz Bağ Yoğunluğu (mol/cm ³)	Tiyol İçeriği (mmol/g)
D6	3.1	4.7	8.0	4.69x10 ⁻⁵	0.74
D2	4.4	52.7	3.5	3.63x10 ⁻⁵	0.75
D7	7.1	85.4	0.4	8.76x10 ⁻⁵	0.77

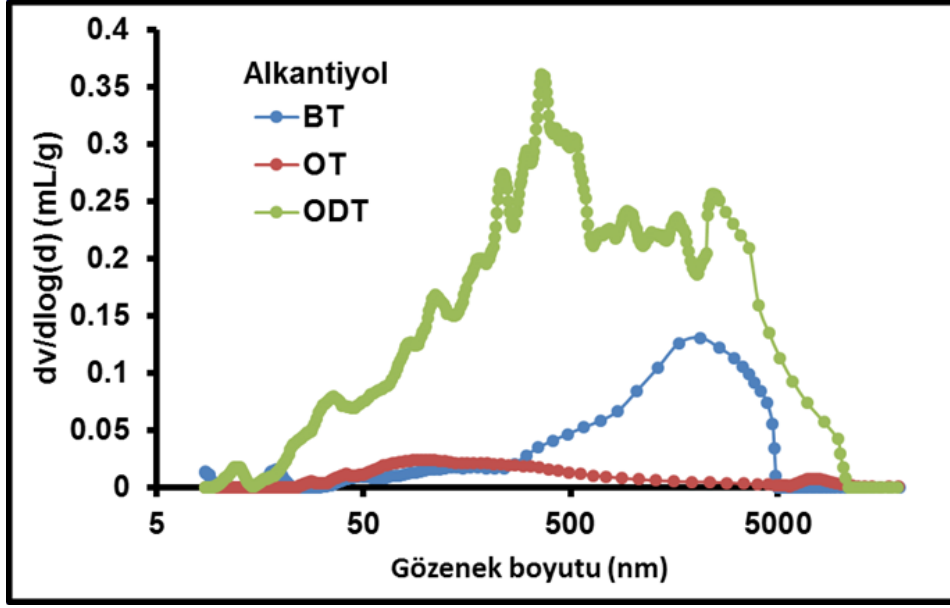
4.2.1.2. Farklı alkantiyol ligandları bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin fotobaşlatıcılı serbest radikal polimerizasyonu ve tiyol-en katılması ile sentezi ve karakterizasyonu

Bu deney setinde, monomer, gözenek yapıcı sistem bileşenlerin türleri ve miktarları sabit kalmak şartıyla 1-bütantiyol (BT), 1-oktantiyol (OT) ve 1-oktadekantiol (ODT)'un varlığında sentezlenen monolitik kolonların morfolojik özellikleri ve akış karakteristikleri incelenmiş ve karşılaştırılmıştır.

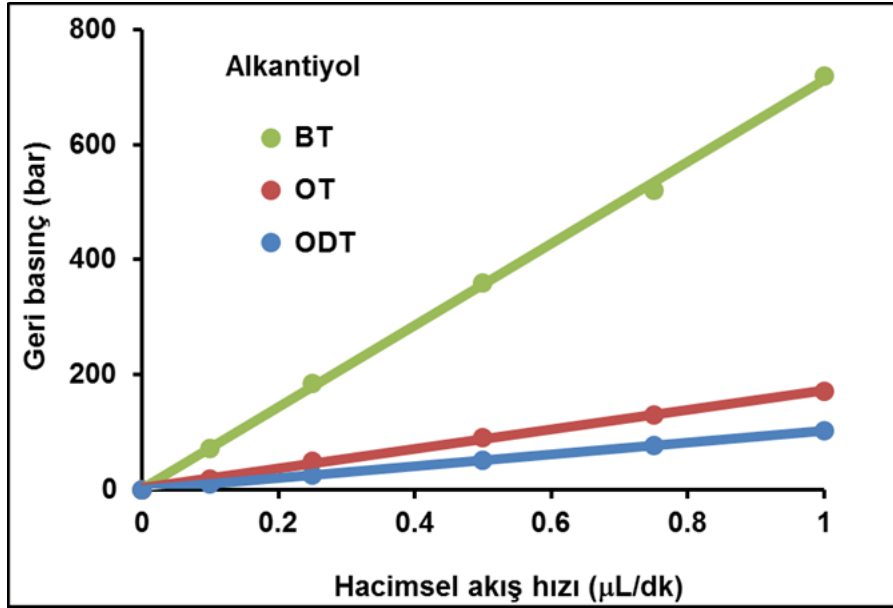
Şekil 4.22'de verilen SEM fotoğraflarında ligand karbon sayısının artışı ile agregat boyutunda belirgin bir değişim olduğunu söylemek zordur. Monolitlerin gözenek dağılım eğrileri ise şekil 4.23'te verilmektedir. Şekil 4.24'de verilen akış hızı/geri basınç grafiğinde artan ligand zincir uzunluğunun, geri-basınç değerinde azalmaya neden olduğu görülmektedir. Bu durum BT varlığında monolit gözenekliliğinde azalma oluştuğu sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Şekil 4.23'te verilen gözenek dağılım eğrileri bu yormu destekler niteliktedir.



Şekil 4.22. Farklı alkantiyol ligandları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin SEM fotoğrafları. Alkantiyol derişimi: 50 mg/mL monomer. Alkantiyol türü: (A) 1-bütantiyol (BT), (B) 1-oktantiyol (OT), (C) 1-oktadekantiyol (ODT). Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.



Şekil 4.23. Farklı alkantiyol ligandları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin gözenek boyut dağılımı. Alkantiyol derişimi: 50 mg/mL monomer.



Şekil 4.24. Farklı alkantiyoller kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 75/25 ACN/su (mL/mL).

Tablo 4.10'da verilen değerlere bakıldığında, BT'den ODT'ye doğru azalan bir özgül yüzey alanı ve artan bir geçirgenlik sıralamasının oluştuğu görülebilmektedir. Ayrıca tüm monolitlerin sağlıklı bir kromatografik ayırım sağlayacak özgül yüzey alanı değerlerine ($> 50\text{m}^2/\text{g}$) sahip olduğunu vurgulamak doğru olur. Mevcut tablodan yapacağımız bir başka çıkarım ise çapraz bağ yoğunluğunun, ligandın karbon zincir

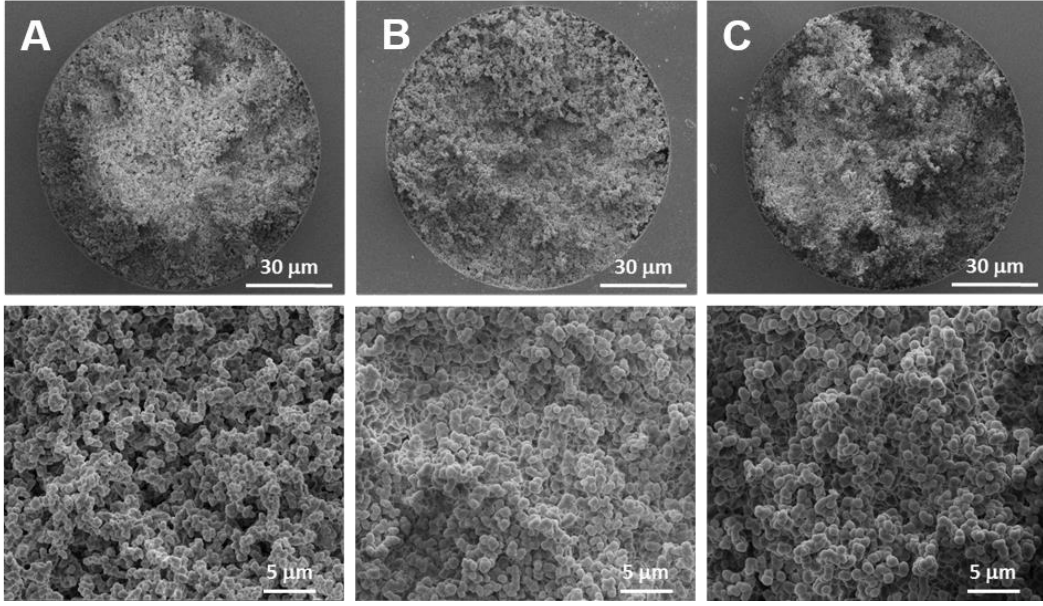
uzunluğuna göre değişmediğidir. Ayrıca BT ve OT'nin mevcut olduğu monolitlerdeki tiyol ligand içeriği ODT'ye göre daha yüksektir. Bu da düşük karbon sayısına sahip BT ligandının gözenek yapıcı sistem içerisindeki yüksek çözünürlüğü ile açıklanabilir.

Tablo 4.10. Farklı alkantiyoller kullanılarak sentezlenen alkantiyol bağlı-POSS-MA bazlı monolitlerin karakterizasyon parametre değerleri

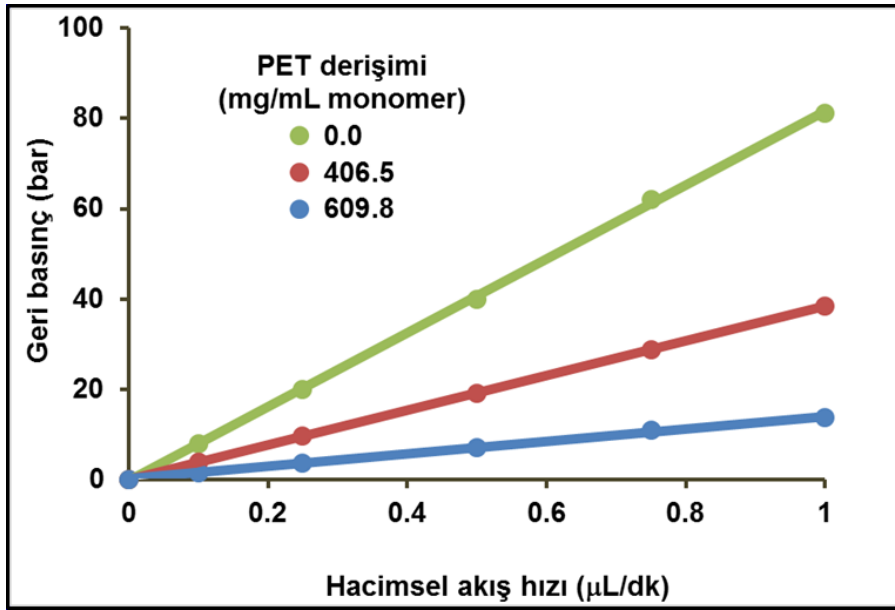
Deney Kodu	Alkantiyol Türü	zgl Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴	apraz Bağ Yoğunluğu (mol/cm ³)	Tiyol içeriği (mmol/g)
D8	BT(4 karbonlu)	70.1	0.5	2.68x10 ⁻⁵	0.92
D9	OT(8 karbonlu)	67.1	2.1	5.65x10 ⁻⁵	1.12
D2	ODT (18 karbonlu)	52.7	3.5	3.63x10 ⁻⁵	0.75

4.2.1.3. PET bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin fotobaşlatıcılı serbest radikal polimerizasyonu ve tiyol-en katılması ile sentezi ve karakterizasyonu

Bu deney setinde aromatik formda bir hidrofobik ligand olan PET'in artan derişimlerde kullanımında monolitın morfolojik yapısında ve akış karakteristiğinde meydana gelen değişimlerin incelenmesi hedeflenmiştir. Fakat bu monolitler ile yapılan ön çalışmalar monolitlerin kromatografik kullanım için çok uygun olmadığını göstermiştir. Şekil 4.25'de verilen SEM görüntülerinden elde edilen ilk izlenim artan PET derişiminin agregat boyutunda artışa neden olmasdır. Bu artış, gözeneklilik oranının artması, Şekil 4.26 de görülebileceği gibi hareketli faza olan direncin azalması dolayısıyla geçirgenliğin artması sonucuyla karşımıza çıkmaktadır (tablo 4.11). Aynı yönde özgül yüzey alanında da bir azalmanın olduğu not edilmesi gereken bir özelliktir.



Şekil 4.25. Farklı PET derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen PET bağılı poli(POSS-MA) monolitlerinin SEM fotoğrafları. PET derişimi (mg/mL monomer): (A) 0, (B) 406.5, (C) 609.8. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.



Şekil 4.26. Farklı PET derişimleri kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen PET bağılı poli(POSS-MA) monolitlerinin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 75/25 ACN/su (mL/mL).

Tablo 4.11. Farklı PET derişimleri kullanılarak sentezlenen PET bağı poli(POSS-MA) monolitlerinin özgül yüzey alanları ve geçirgenlik değerleri

Deney Kodu	PET derişimi (PET/monomer) (mg/mL)	Özgül Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴
D1	0	227.0	4.3
E1	407	21.1	9.2
E2	610	0.4	25.1

Bu sonuçlar, aromatik tiyol gruplu ligandların, alifatik benzerlerinden daha düşük tiyol-en katılması performansına sahip olduğunu göstermektedir. Alifatik formdaki ligandlara kıyasla her iki PET derişimi ile elde edilen monolitlerin özgül yüzey alanlarının ve hareketli faza karşı dirençlerinin düşük oluşu ters faz kromatografisinde başarılı kromatografik ayırım yapabilmeye şansını ortadan kaldırmaktadır.

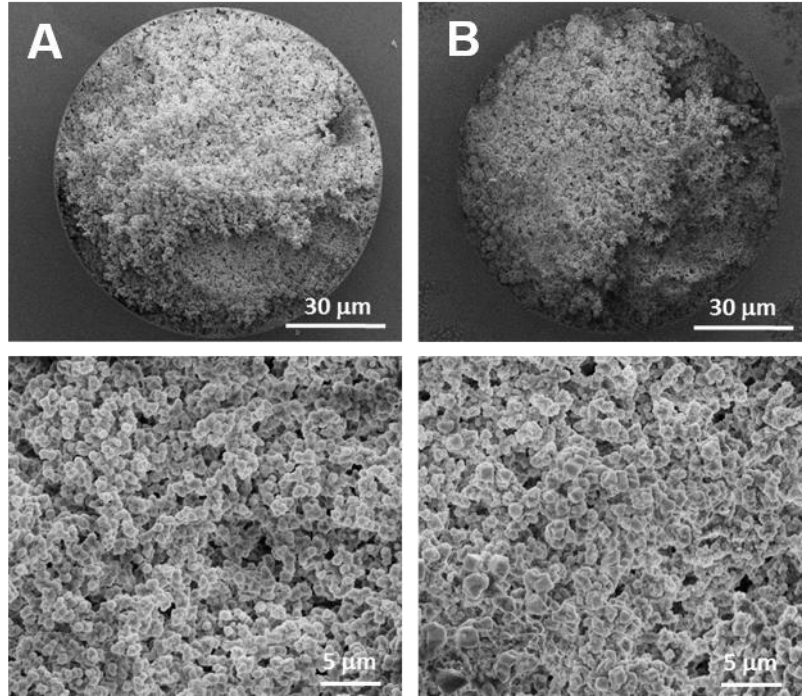
4.2.2. Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi (HILIC) Modunda Kullanılmak Üzere Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Bağlanması ile Monolit Sentezi ve Karakterizasyonu

Hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda kullanılacak sabit fazların fotopolimerizasyon ile sentezinde, POSS-MA kendine özgü kafes örgü yapısından ileri gelen özelliği nedeniyle hem ana monomer hem de çapraz bağlayıcı görevi yapmıştır. Gözenekli yapının oluşturulması da bütanol ve etilen glikolden oluşan ikili gözenek yapıcı sistem ile sağlanmıştır. Monolitin hidrofilik özelliğini sağlayan tek tiyol gruplu ligandlar ise merkaptosüksinik asit (MSA) ve glutatyon (GT) olarak seçilmiştir. Bu bölümde bu iki ligandın kullanımıyla sentezlenen monolitik kolonların karakterizasyonu verilmektedir

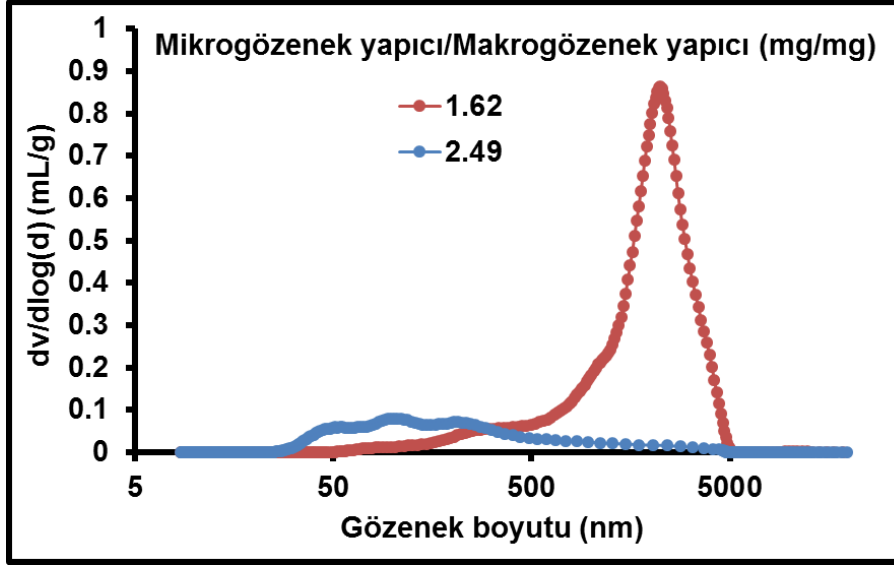
4.2.2.1. MSA bağı poli(POSS-MA) monolitlerinin foto polimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezi ve karakterizasyonu

MSA'nın tiyol-en katılması ile monolit yapısına bağlanmasıyla hidrofilik özellikte monolitik kolonların senteziyle ilgili ön çalışmalarda, monomer fazının (POSS-MA) derişiminin, gözenek yapıcı bileşenlerin (n-bütanol/etilen glikol) toplam miktarlarının ve MSA derişimi değişiminin monolit çözeltisinde çözünme problemlerine sebep

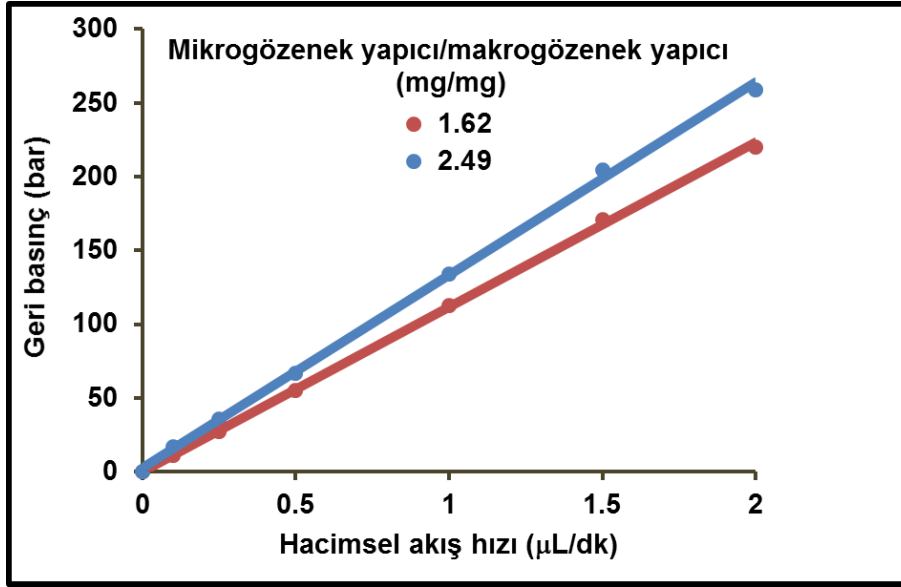
olduğunun gözlenmesiyle bu değerlerin sabit tutulması kararlaştırılmıştır. Bu amaçla yapılan deneylerde yalnızca mikrogözenek yapıcı / makrogözenek yapıcı oranı değiştirilmiştir. İki farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranı ile sentezlenen monolitlerin SEM fotoğrafları şekil 4.27’de verilmiştir. Burada belirgin bir agregat veya gözenek boyutu değişikliği görünmemesine rağmen şekil 4.28’de verilen gözenek boyutu dağılımında artan mikrogözenek yapıcı solvent derişiminde gözenekliliğin azaldığı görülmektedir. Daha sağlıklı bir sonuca ulaşabilmek için şekil 4.29’da verilen akış hızına karşı geri basınç grafiğine başvurulmuştur. Bu grafiğe göre toplam porojen miktarı sabit kalmak şartıyla, mikrogözenek yapıcı derişiminin artmasıyla monolitinin hareketli faza olan direncinin arttığı, buna paralel olarak geri basınç değerinin de arttığı gözlenmiştir.



Şekil 4.27. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen MSA bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin SEM fotoğrafları. MSA derişimi: 50 mg MSA/600 mL gözenek yapıcı, Mikrogözenek yapıcı solvent/ Makrogözenek yapıcı solvent (mg/mg): (A) 1.6 , (B) 2.5. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.



Şekil 4.28. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen MSA bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin SEM fotoğrafları. MSA derişimi: 50 mg MSA/600 μ L gözenek yapıcı.



Şekil 4.29. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen MSA bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 μ m iç çap, Mobil faz: 92/8 pH 8 ACN/ 100 mM asetat tamponu (mL/mL).

Tablo 4.12'deki veriler incelenecek olunursa, artan mikrogözenek yapıcı /makrogözenek yapıcı oranlarında özgül yüzey alanı artarken geçirgenlik azalmaktadır. Şekil 4.29'da verilen geri basınç değerleri göz önüne alındığında bu durum artan mikrogözenekliliğin doğal sonucudur. Yine aynı tablodaki çapraz bağ yapısının ve tiyol içeriğinin de bahsi geçen oran ile birlikte belirgin bir biçimde arttığı

görülmektedir. Bu sonuç da POSS-MA'nın ve MSA ligandının, sentez sırasında mikrogözenek yapıcı solvent olarak kullanılan n-bütanol içerisinde daha iyi çözüldüğünü ve daha yüksek verimle bir tiyol-en katılması olduğunu düşündürmektedir.

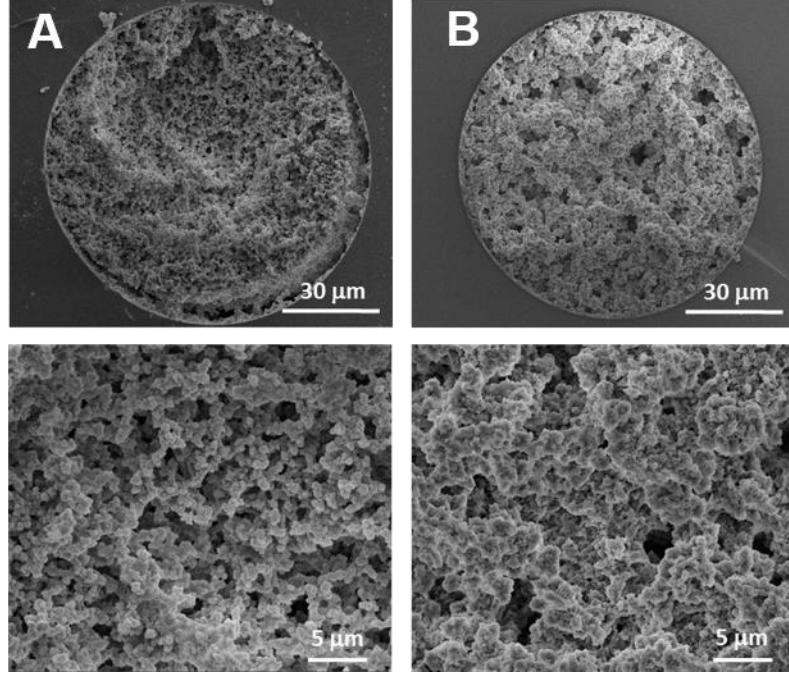
Tablo 4.12. Farklı mikrogözenek / makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak sentezlenen MSA bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin karakterizasyon parametre değerleri

Deney Kodu	Mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı (mg/mg)	Özgül Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴	Çapraz Bağ Yoğunluğu (mol/cm ³)	Tiyol İçeriği (mmol/g)
F1	1.60	59.3	2.6	0.70x10 ⁻⁵	0.63
F2	2.50	106.6	2.2	2.81x10 ⁻⁵	0.85

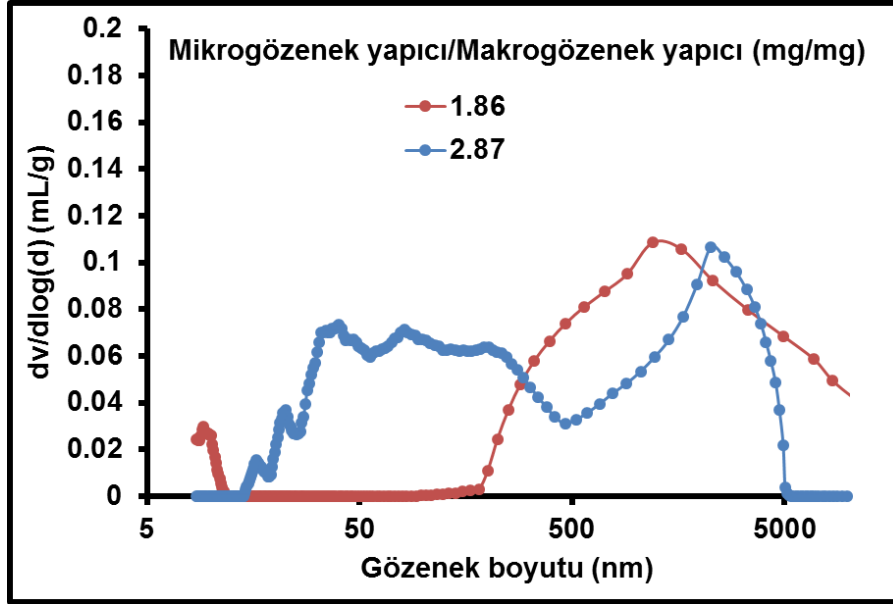
4.2.2.2. GT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezi ve karakterizasyonu

GT'nin tiyol-en katılması ile monolit yapısına bağlanmasıyla hidrofilik özellikle monolitik kolonların senteziyle ilgili ön çalışmalarda, homojen bir monolit çözeltisinin eldesinin glutasyon derişiminin 0.028 mg/mL gözenek yapıcı değerini aşmadığı durumda elde edilebileceği görülmüştür. Buna göre bölüm 4.2.2.1'de ifade edilen MSA ligandı ile sentezlenen monolitik kolonlardaki yaklaşımın benzeri uygulanmış ve yalnızca mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranının değişiminin monolitin morfolojisine ve akış karakteristiğine olan etkisi incelenmiştir.

Bu deney setinde sentezlenen iki monolitik kolonun SEM fotoğrafları şekil 4.30'da verilmiştir. Buna göre maksimum GT derişiminde, 2.87 mg/mg mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranı ile sentezlenen monolitik bloğun kolon iç çeperlerine daha kolay tutunduğu görülmüştür. Şekil 4.31'de verilen gözenek boy dağılımı grafiği göz önüne alındığında da artan mikrogözenek yapıcı /makrogözenek yapıcı oranı ile birlikte gözenek boy dağılımı, makrogözenek ve mezogözenek olmak üzere iki gözenekli dağılım formuna dönüştüğü görülmüştür.



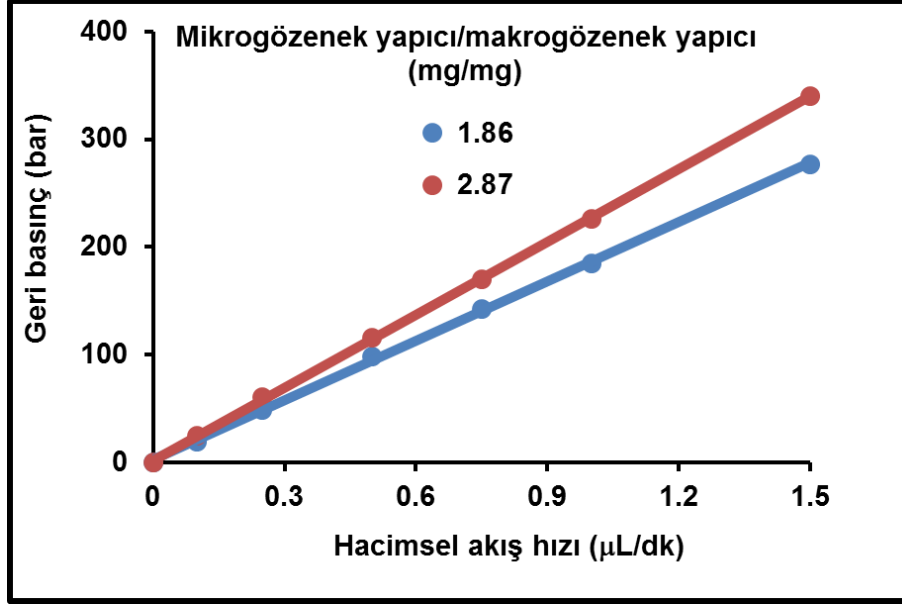
Şekil 4.30. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen GT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin SEM fotoğrafları. GT derişimi: 0.028 mg/mL gözenek yapıcı solvent, N-butanol/etilen glikol derişimi (mg/mg): (A) 1.86 (B) 2.87. Üst sıra: 2000X, Alt sıra: 8000X.



Şekil 4.31. Farklı mikrogözenek yapıcı / makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen GT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin gözenek boyut dağılımları. GT derişimi: 25 mg/890 µL gözenek yapıcı solvent.

Mikrogözenek yapıcı / makrogözenek yapıcı oranının artması tablo 4.13'te görüldüğü gibi geçirgenliğin azalmasına neden olmaktadır. Bu durum da şekil

4.32’de görülen artan geri basınç davranışından kaynaklanmaktadır. GT bağlı monolitlerin mikrogözenekliliğinin artışının tiyol içeriğine bağlı olmadığı da Tablo 4.13’den görülmektedir. Bu durum monolit üzerindeki tiyolün kaynağı olan GT ligand miktarının sabit tutulmuş olmasıyla ilişkilendirilebilir.



Şekil 4.32. Farklı mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak, fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile sentezlenen GT bağlı poli(POSS-MA) bazlı monolitlerin geri-basınç/akış hızı ilişkisi. Kolon: 300 mmx100 µm iç çap, Mobil faz: 92/8 pH 8 ACN/ 100 mM asetat tamponu (mL/mL).

Tablo 4.13. Farklı mikrogözenek / makrogözenek yapıcı oranları kullanılarak sentezlenen GT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin karakterizasyon özellikleri

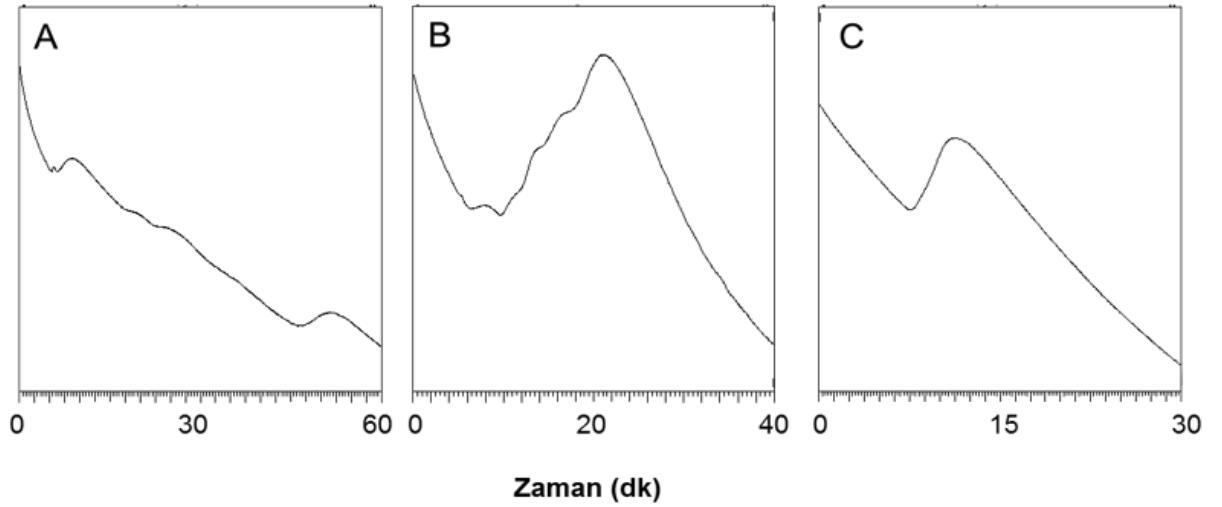
Deney Kodu	Mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı (mg/mg)	Özgül Yüzey Alanı (m ² /g)	Geçirgenlik (m ²)x10 ¹⁴	Çapraz Bağ Yoğunluğu (mol/cm ³)	Tiyol İçeriği (mmol/g)
G1	1.86	210	1.6	2.51x10 ⁻⁵	0.37
G2	2.87	220	1.3	2.44x10 ⁻⁵	0.36

4.3. Termal Polimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Sentezlenen POSS-MA Bazlı Monolitler ile Ters Faz Kromatografisi Çalışmaları

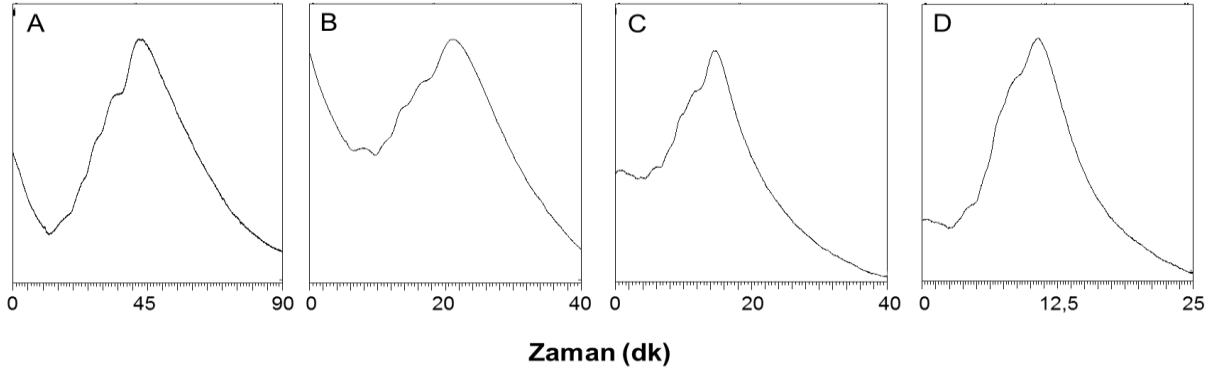
Termal polimerizasyon ile bir ligand olmaksızın sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) kolon ile ODT içeren ve termal polimerizasyonun ve tiyol-en katılması ile sentezlenen kolonun ters faz kromatografisi metodunda istikrarlı bir akış davranışı

göstermediği, sistemde tıkanmaların ve akış kesintilerinin yaşandığı gözlemlenmiştir. Tıkanma sorununun yaşanması, kolonun sahip olduğu geri basınç değerinin üzerine çıkarak kromatografik çalışma sırasında analizin sistem tarafından otomatik olarak durdurulmasına yol açmıştır. Bu değişken kolon davranışı, monolitik yapının yeterince rijit olmadığı şeklinde yorumlanabilir. Mekanik bir yetersizlik şeklinde ifade edilebilecek bu durumun, termal etkinin polimerizasyon sırasında serbest radikal oluşumunda yetersiz kalmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Termal polimerizasyon ile üretilen poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitin kromatografik ayırmada yetersiz kaldığı, şekil 4.33'te değişen ACN/su oranlarında ve şekil 4.34'te değişen hareketli faz akış hızları için verilen örnek kromatogramlarda görülmektedir. Burada benzenden başlayarak ilk 5 alkilbenzen homologu analit karışımı olarak kullanılmıştır. Ancak her iki şekil de de alınan kromatogramların hiçbirinde kromatografik ayırım gözlenmemiştir.

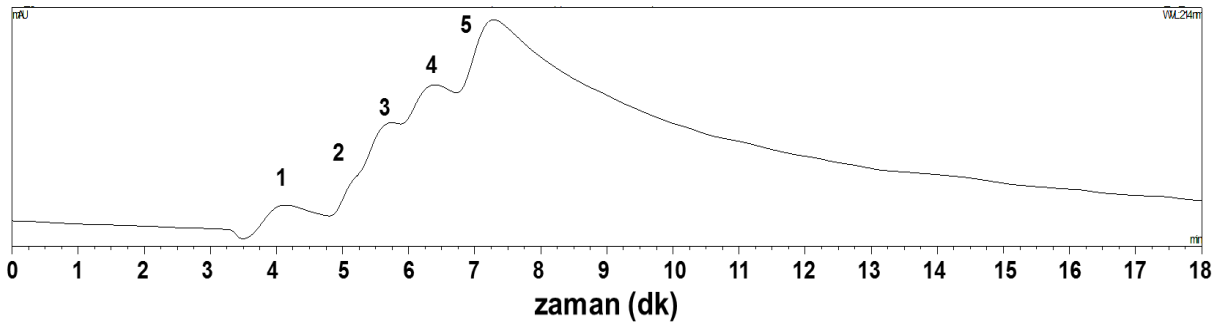


Şekil 4.33. Termal etki ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monoliti kullanılarak, ters faz kromatografisi modunda, farklı mobil faz bileşimleri ile alkilbenzenlerin ayırımı için elde edilen örnek kromatogramlar. Deney kodu: A8. Asetonitril/su: (A) 50/50, (B) 60/40, (C) 80/20, Akış hızı: 0,5 μ L/dak, UV-dedektör, 214 nm. Kolon: 300 mm x 100 μ m iç çap.



Şekil 4.34. Termal etki ile sentezlenen poli(POSS-MA-co-EDMA) monoliti kullanılarak, ters faz kromatografisi modunda farklı akış hızları ile alkilbenzenlerin ayırımı için elde edilen örnek kromatogramlar. Deney Kodu: A8. Asetonitril/su: 60/40%, Akış hızları : (A) 0.25 $\mu\text{L}/\text{dak}$, (B) 0.50 $\mu\text{L}/\text{dak}$, (C) 0.75 $\mu\text{L}/\text{dak}$ UV-dedektör, 254 nm. Kolon: 300 mm x 100 μm iç çap

Termal polimerizasyon ve tiyol-en katılması metoduyla sentelenen ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) için de öngörümüzün desteklenmesi amacıyla ters faz kromatografisi yapılmıştır. Şekil 4.35'te de görüldüğü üzere poli(POSS-MA-co-EDMA) monolit ile elde edilen sonuçlara kıyasla daha iyi bir kromatografik davranış eldesine karşın elde edilen ayırımın yeterli olduğunu söylemek mümkün değildir.



Şekil 4.35. ODT bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitinin kullanılarak, ters faz kromatografisi modunda alkilbenzen türevlerinin ayırımı için elde edilen örnek kromatogram. Deney kodu : B2, Asetonitril/su: 60/40 (mL/mL), Akış hızı:0.8 $\mu\text{L}/\text{dak}$, UV-dedektör, 214 nm. Kolon: 300 mm x 100 μm iç çap. Çıkış sırası: (1) benzen, (2) toluen, (3) etilbenzen, (4) propilbenzen, (5) bütılbenzen.

Elde edilen bu sonuçların ışığında termal polimerizasyonun sağlıklı bir kromatografik ayırım yapılabilmesi için gerekli özelliklere sahip monolitik kolonların eldesinde yetersiz kaldığı görülmüş ve alternatif olarak polimerizasyonda foto etki kullanılması gerektiği düşünülmüştür.

4.4. Termal Polimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Sentezlenen Monolitler ile Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi Çalışmaları

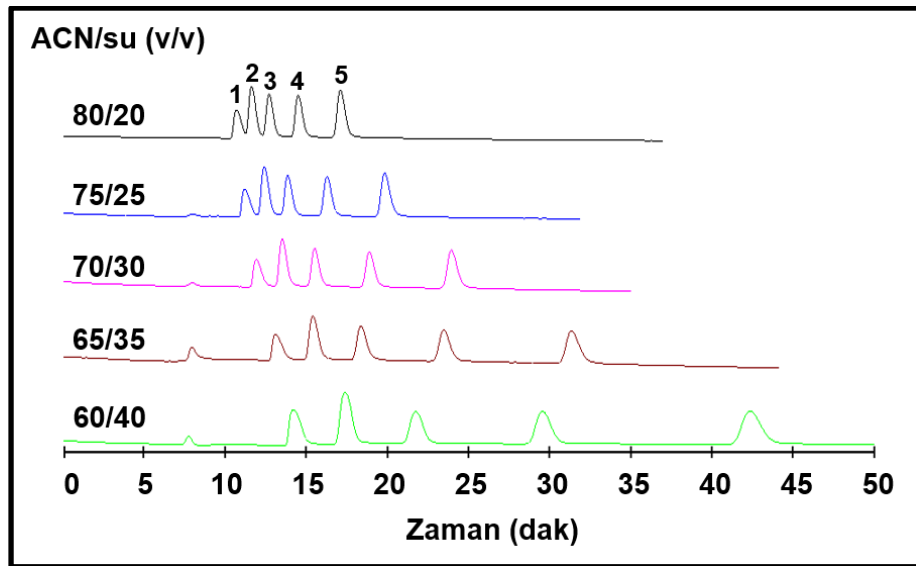
Termal polimerizasyon ve tiyol-en katılması yöntemiyle sentezlenen hidrofilik özellikteki MSA bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitik kolonların hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda izokratik olarak incelenmesi için, nükleosit karışımlarının ayrılması hedeflenmiştir. Fakat sözü edilen kolonlar sisteme takılarak yüksek ACN içeriğine sahip (%95) hareketli faz geçirilmeye başlanmasının ardından kolonda tıkanma ve akış kesintilerinin yaşandığı, ve geri basıncın kontrolsüz artışı ile kromatografik analizin sistem tarafından durdurulduğu gözlenmiştir. Hareketli faz kompozisyonunun değiştirilmesinin de sonucu değiştirmediğinin görülmesi ile termal polimerizasyon ve tiyol-en katılması ile üretilen MSA bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitlerin hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda kullanılmasından vazgeçilmiştir. Bunun yerine fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılması ile üretilen monolitlerin sentezine ve HILIC modunda kromatografik incelenmesine yönelinmiştir.

4.5. Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Sentezlenen POSS-MA Bazlı Monolitler ile Ters Faz Kromatografisi Çalışmaları

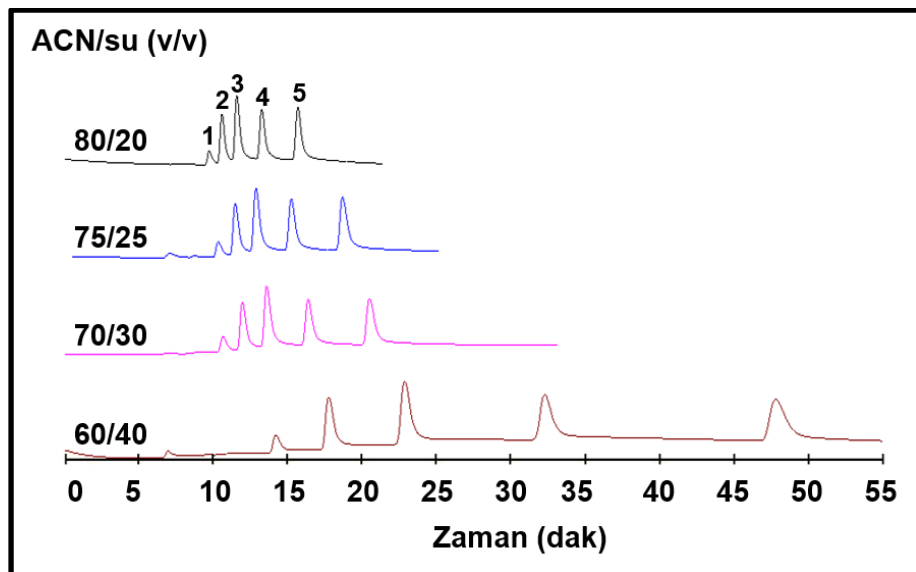
4.5.1. Farklı Monomer/Gözenek Yapıcı Oranlarına Sahip ODT Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Alkilbenzenlerin Kromatografik Ayrımı

Fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılmasıyla sentezlenen monolitlerin kromatografik performans incelenmesine öncelikle ODT ligandı varlığında farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile üretilen monolitler kullanılarak alkilbenzen türevlerinin ayrımı çalışmalarıyla başlanmıştır. Şekil 4.36'da farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen monolitler ile sabit akış hızında, değişen ACN/su oranları ile alınan kromatogramlar görülebilmektedir. Buna göre en iyi kromatografik ayırımın 0.29 mg/mg monomer/gözenek yapıcı oranıyla sentezlenen kolona ait olduğu görülmektedir. Artan ACN/su oranı ile piklerde kuyruklanma (tailing) davranışı gözlenmektedir ki bu istenmeyen bir durumdur.

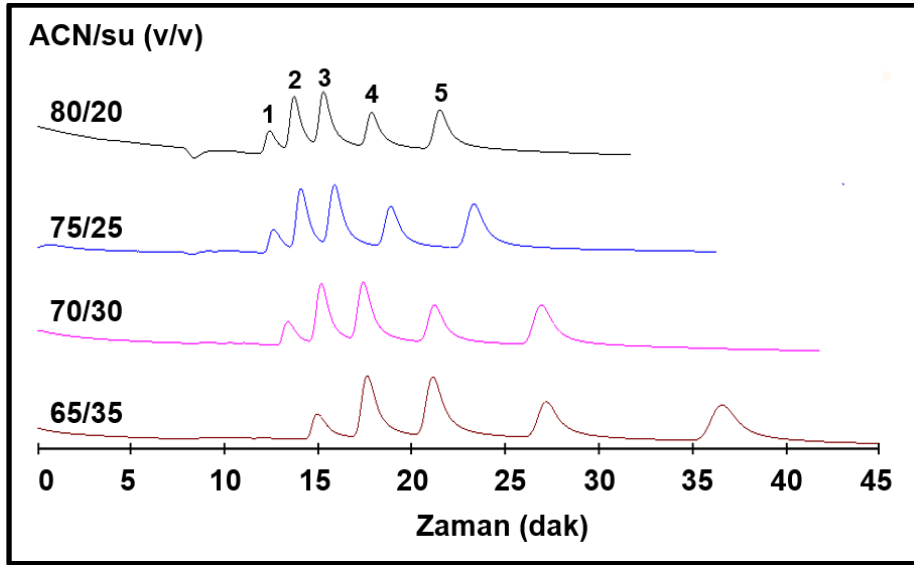
(A)



(B)



(C)



Şekil 4.36. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolitler için hareketli faz ACN derişiminin değişimi ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi: 406.5 mg/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı: 0.5 µL/dak, Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütilbenzen.

Şekil 4.36'da verilen kromatogramlardan yola çıkılarak birbiri ardı sıra pik veren iki analitin birbirinden ne kadar iyi ayrıldığıнын bir ölçüsü olan pik çözünürlüğü değerleri bulunabilmektedir. (tablo 4.14) Fakat piklerin birbirinden en iyi şekilde ayrılmasının yanında toplam analiz süresinin de uzun olmaması kritik bir öneme sahiptir. Kısacası en kısa sürede en etkin ayırma ana hedefimizi oluşturmaktadır. Bu yüzden en kısa analiz süresinde en yüksek pik çözünürlüğü değerlerine karşılık gelen ACN/su oranına dikkat edilmiştir. Tablo 4.14'deki değerlere bakılacak olursa sırasıyla 70/30, 75/25 ve 65/35 ACN/su oranına sahip kromatogramların bu şartı sağladığı görülmektedir.

Tablo 4.14. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitler için hareketli fazda farklı ACN/su oranları ile elde edilen pik çözünürlük değerleri.

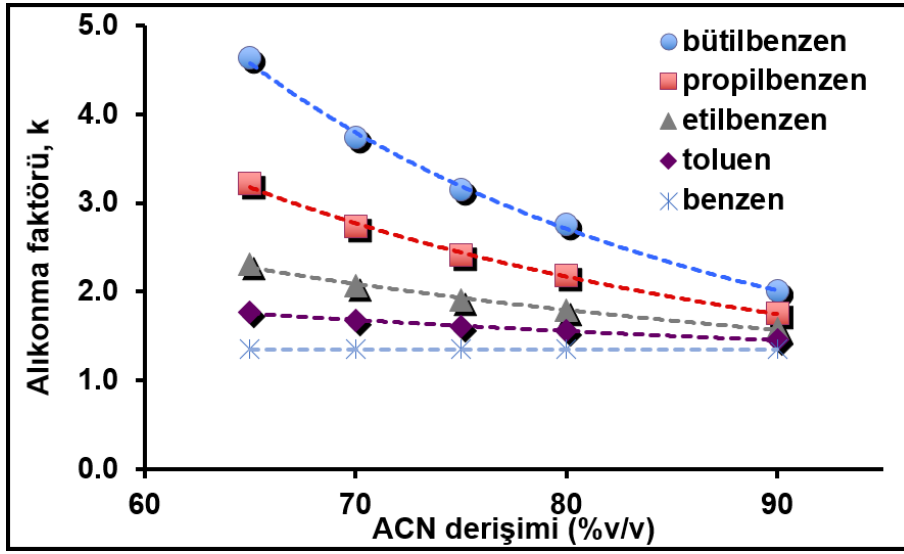
Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg				
ACN/su (v/v)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
65/35	2.43	3.07	4.55	5.08
70/30	1.53	1.86	2.82	3.70
75/25	1.40	1.70	2.78	3.61
80/20	1.23	1.41	2.24	3.08
90/10	0.64	0.82	1.22	1.86

Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.32 mg/mg				
ACN/su (v/v)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
60/40	3.82	4.38	5.75	6.84
70/30	1.64	1.76	2.80	3.77
75/25	1.61	1.66	2.60	3.13
80/20	1.39	1.47	2.20	2.93
90/10	0.79	0.88	1.27	1.48

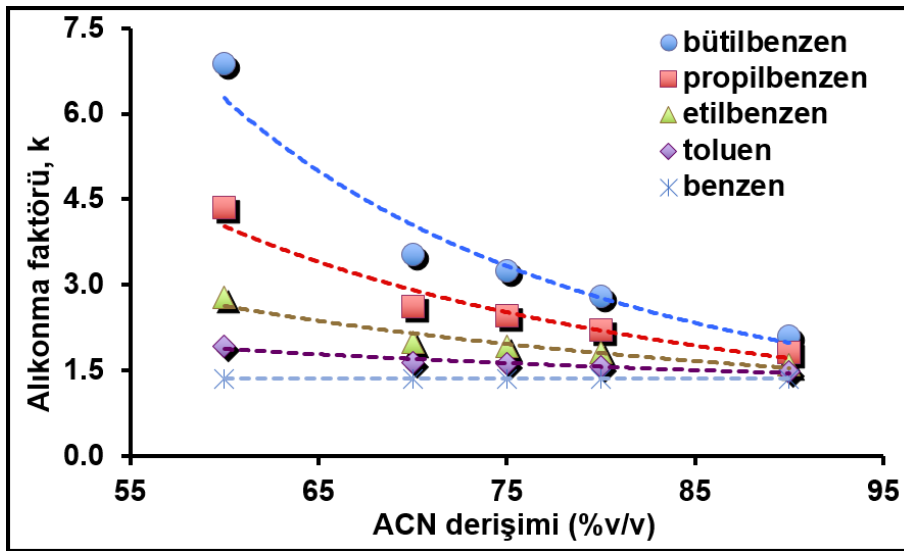
Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.35 mg/mg				
ACN/su (v/v)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
60/40	2.24	2.60	3.54	4.40
65/35	2.04	2.34	3.17	4.11
70/30	1.34	1.47	2.34	3.06
75/25	1.16	1.33	1.93	2.43
80/20	1.12	1.13	1.85	2.25

Analiz süresinin temel belirleyici parametresi olan alıkonma faktörü de yine şekil 4.36'daki kromatogramlardan elde edilmiş ve değişen hareketli faz ACN konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilmiştir (şekil 4.37). Buna göre, ayrımı yapılacak alkilbenzenler en polar olandan en apolar olana doğru artan alıkonma faktörü ile sıralanmıştır. Sabit bir ACN konsantrasyonu dikkate alındığında % 70 ACN konsantrasyonu değerine kadar bütün kolonlar ile tatminkâr kromatografik ayrımların elde edildiği söylenebilir.

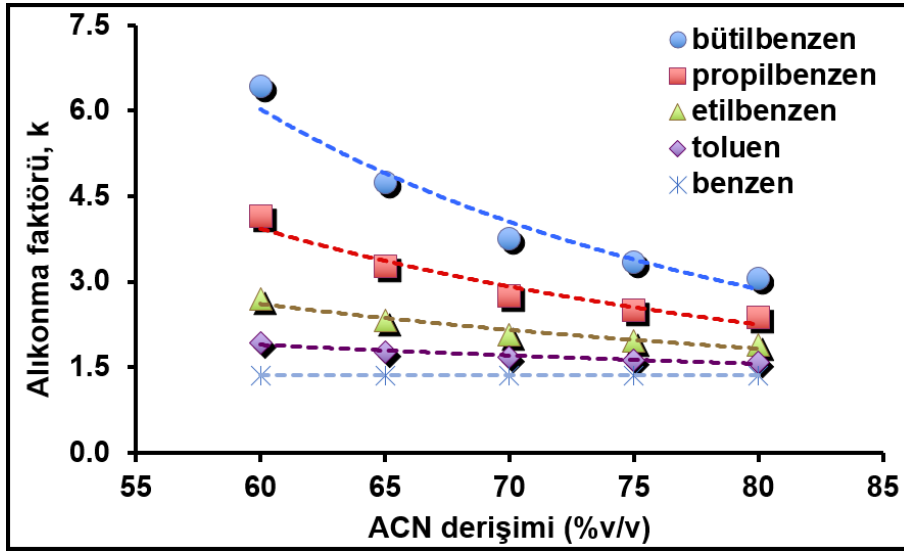
(A)



(B)



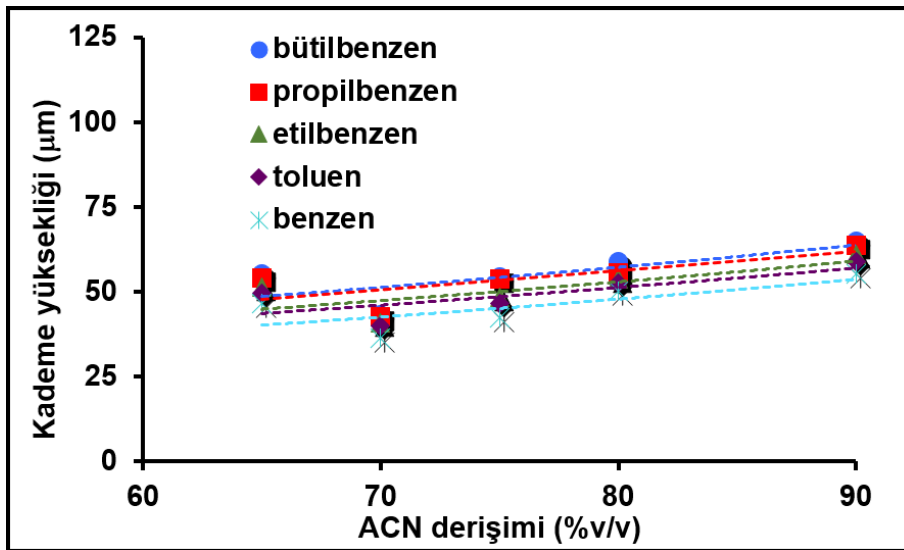
(C)



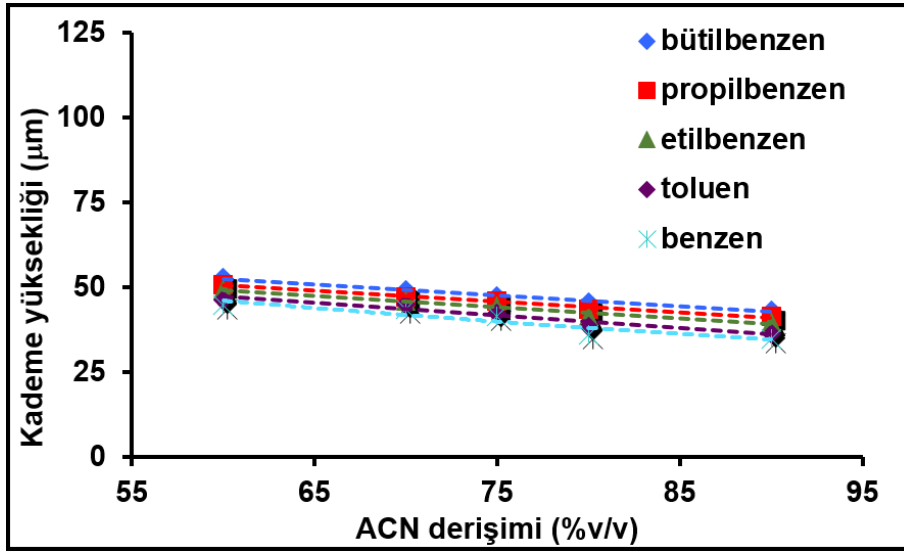
şekil 4.37. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerde alıkona faktörünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. Monomer/gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35.

şekil 4.38'de değişen farklı monomer/gözenek yapıcı oranlarında ACN konsantrasyonuna karşılık gelen kademe yüksekliği değerleri verilmektedir. Buna göre istenilen en düşük kademe yüksekliği değerine 0.29 ve 0.32 mg/mg monomer/gözenek yapıcı oranıyla sentezlenen monolitler ile ulaşıldığı ve 0.35 mg/mg oranı ile sentezlenen monolitte kademe yüksekliğinin artarak kolon performansını düşürdüğü söylenebilir.

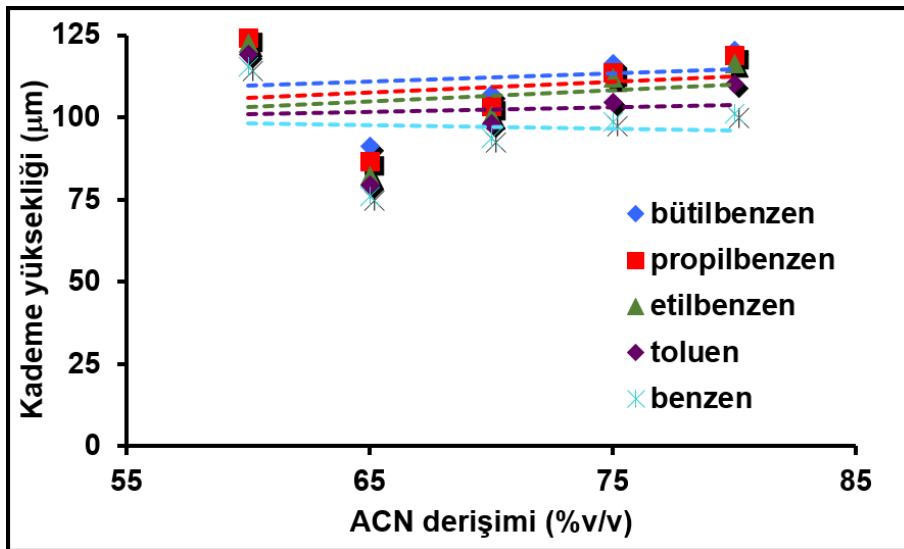
(A)



(B)



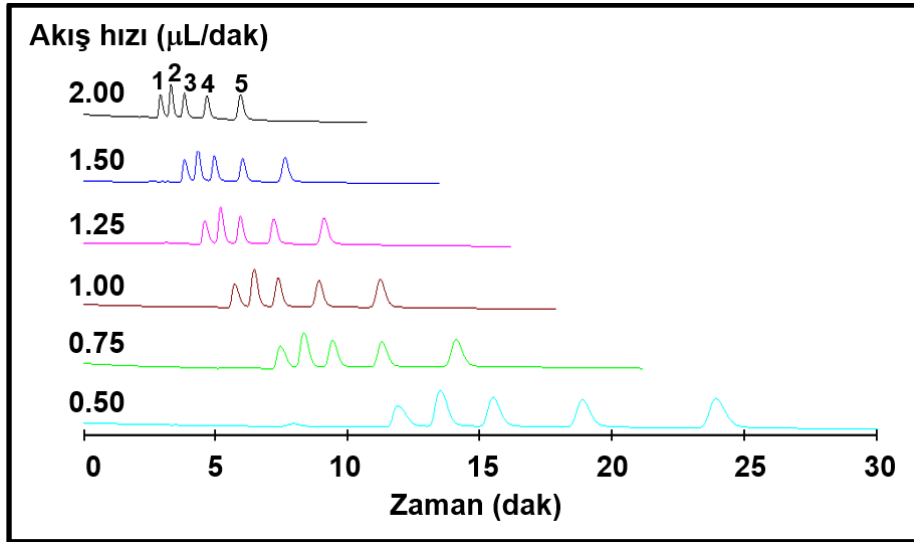
(C)



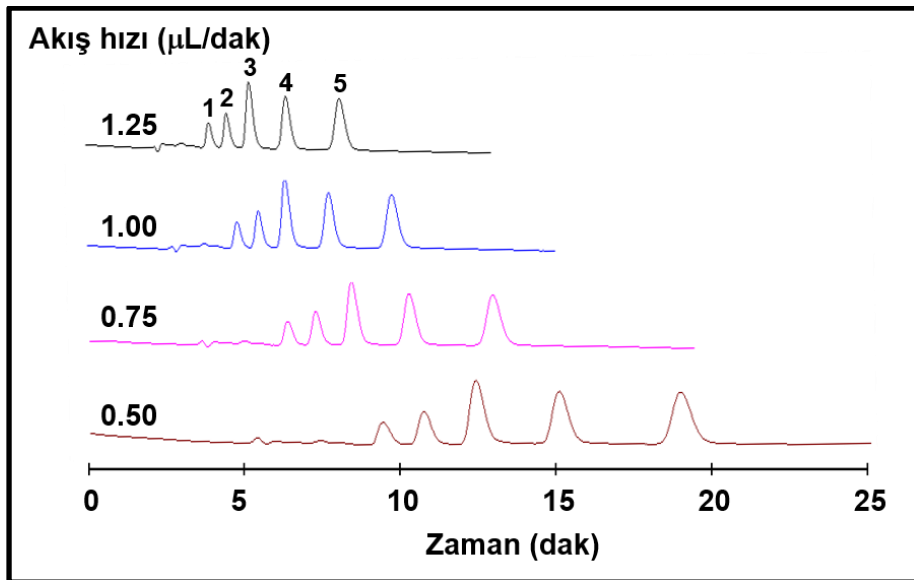
Şekil 4.38. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerde kademe yüksekliğinin ACN derişimi ile değişimi. Monomer/gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35.

Takiben her kolon için en uygun ACN/Su oranı sečilerek, akış hızı taraması yapılmış ve farklı akış hızlarında elde edilen kromatogramlardan (şekil 4.39), tablo 4.15’de verilen pik çözünürlüğü değerlerine ulaşılmıştır. Bu sonuçlara göre artan akış hızı pik çözünürlüğünde bir azalmaya neden olarak piklerin birbirine yaklaşmasına sebep olmaktadır. Ayrıca artan monomer/gözenek yapıcı oranında da belirgin bir pik çözünürlüğü düşüşünün gözlemlendiği görölmektedir.

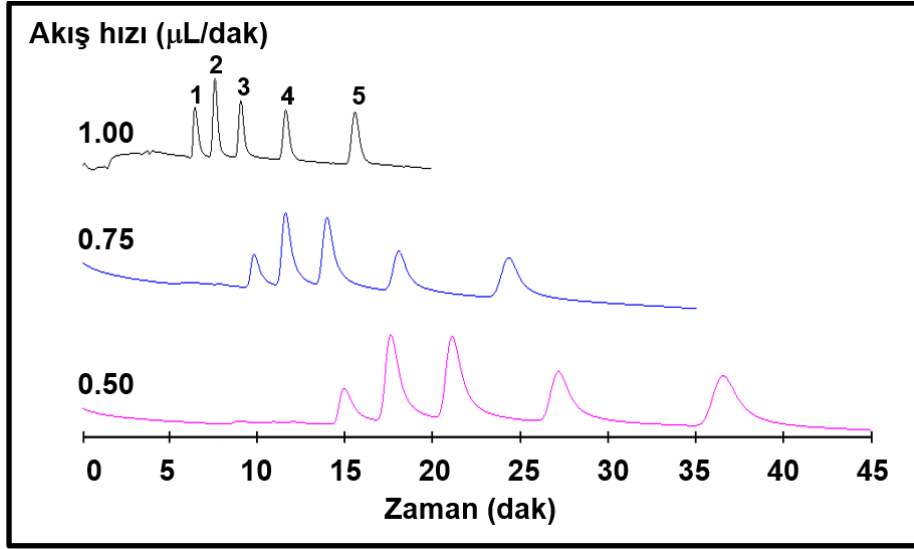
(A)



(B)



(C)



Şekil 4.39. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlıpoli(POSS-MA) monolitler için hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, Hareketli fazda ACN/su hacimsel oranı (mL/mL): A) 70/30, B) 75/25, C) 65/35. Akış hızları (µL/dak) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütilbenzen.

Tablo 4.15. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolitler için farklı hareketli faz akış hızları ile elde edilen pik çözünürlük değerleri

Monomer/gözenek yapıcı oranı : 0.29 mg/mg				
Akış hızı ($\mu\text{L/dak}$)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
0.10	1.63	2.00	3.02	4.26
0.25	1.62	1.91	2.88	3.93
0.50	1.54	1.86	2.82	3.71
0.75	1.47	1.76	2.56	3.55
1.00	1.45	1.66	2.47	3.20
1.25	1.41	1.62	2.41	3.18
1.50	1.31	1.60	2.33	3.15

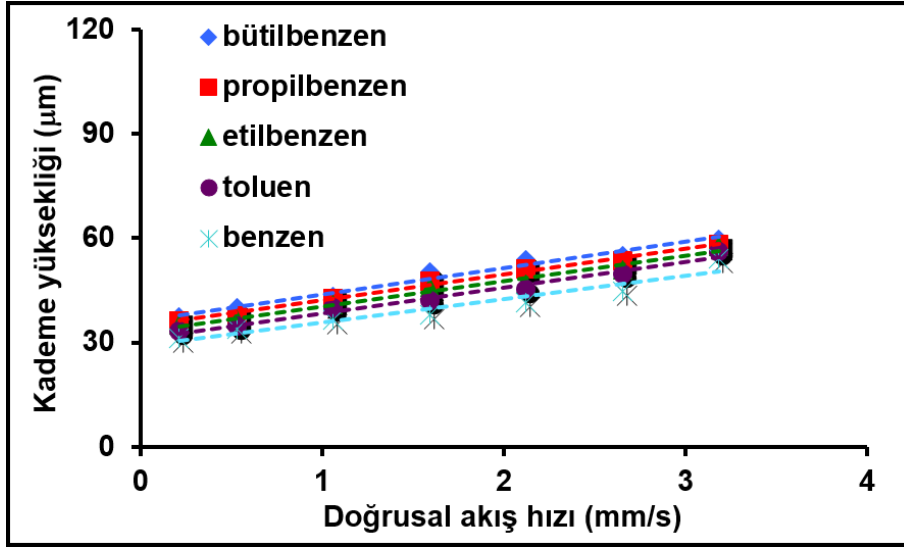
Monomer/gözenek yapıcı oranı : 0.32 mg/mg				
Akış hızı ($\mu\text{L/dak}$)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
0.10	1.68	1.95	2.74	3.20
0.25	1.63	1.93	2.66	3.18
0.50	1.61	1.66	2.60	3.13
0.75	1.42	1.65	2.51	3.10
1.00	1.41	1.56	2.50	3.07
1.25	1.40	1.54	2.46	3.05

Monomer/gözenek yapıcı oranı : 0.35 mg/mg				
Akış hızı ($\mu\text{L/dak}$)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
0.10	2.13	2.46	3.44	4.71
0.25	2.11	2.34	3.12	3.98
0.50	2.04	2.21	3.05	3.85
0.75	1.83	2.13	2.75	3.61
1.00	1.12	1.30	1.93	2.47

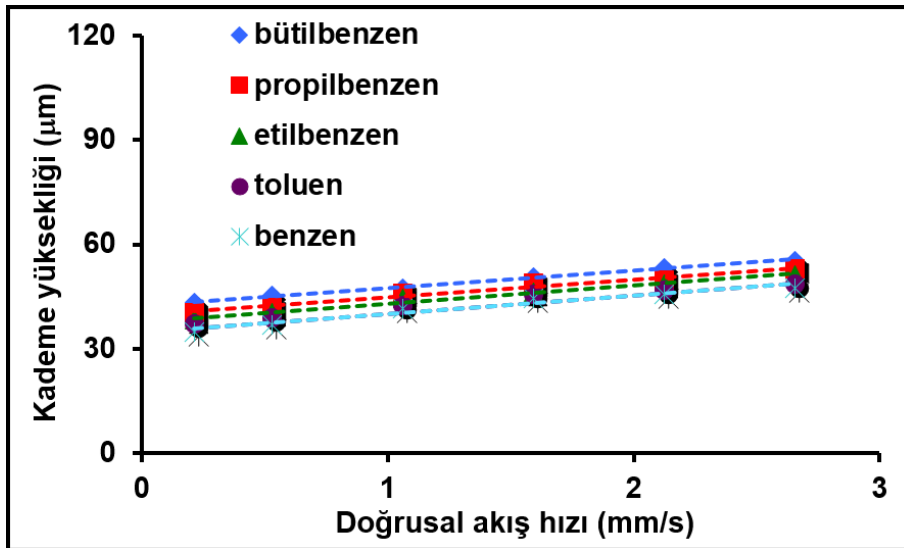
Akış hızının artırılmasıyla kademe yüksekliğinde yani kolonun ayırma performansında meydana gelen değişikliğinde incelenmesi amaçlanmıştır. farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen monolitlerin kademe yüksekliğine karşı doğrusal akış hızı grafikleri Şekil 4.40'ta verilmektedir. 0.29 mg/mg değeri ile sentezlenen monolit için, doğrusal akış hızının değişmesi ile kademe yüksekliğinde

bariz bir değişim olmamıştır. 0.35 mg/mg oranına çıkıldığında ise artan hareketli faz akış hızında kademe yüksekliğinin bariz arttığı görülmektedir. Bu durum, artan monomer derişimi ile, birim monomer kütesine göre daha az gözenek yapıcı kullanılması sonucu, monolit yapısında mikrogözenekli bölgelerin oluşması ve oluşan bu bölgelerin yüksek kütle transferi direnci nedeniyle ayırma veriminin düşmesi şeklinde açıklanabilir.

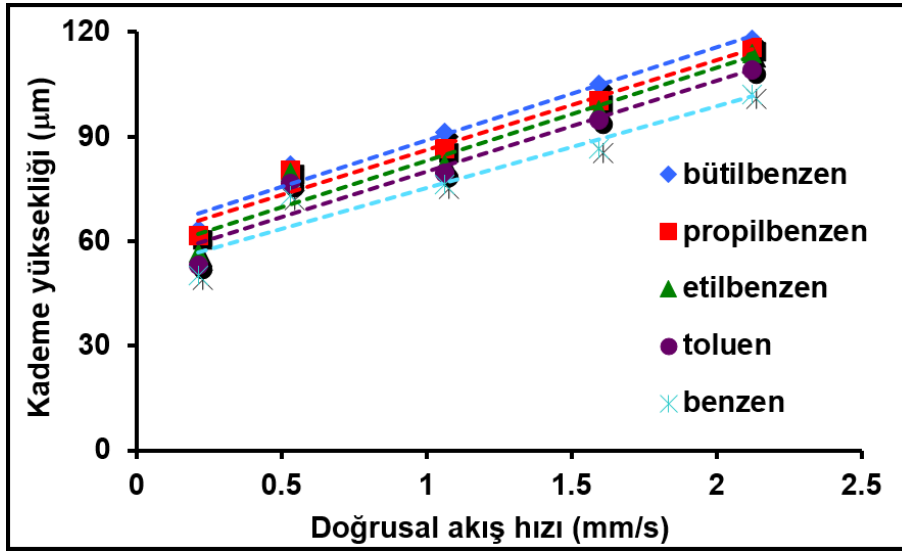
(A)



(B)



(C)

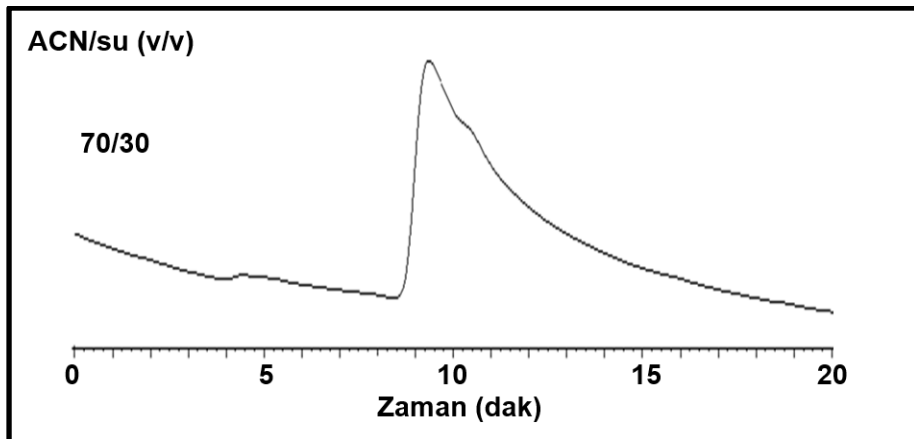


Şekil 4.40. Farklı monomer/gözenek yapıcı oranları ile sentezlenen ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolitlerde kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): (A) 0.29, (B) 0.32, (C) 0.35.

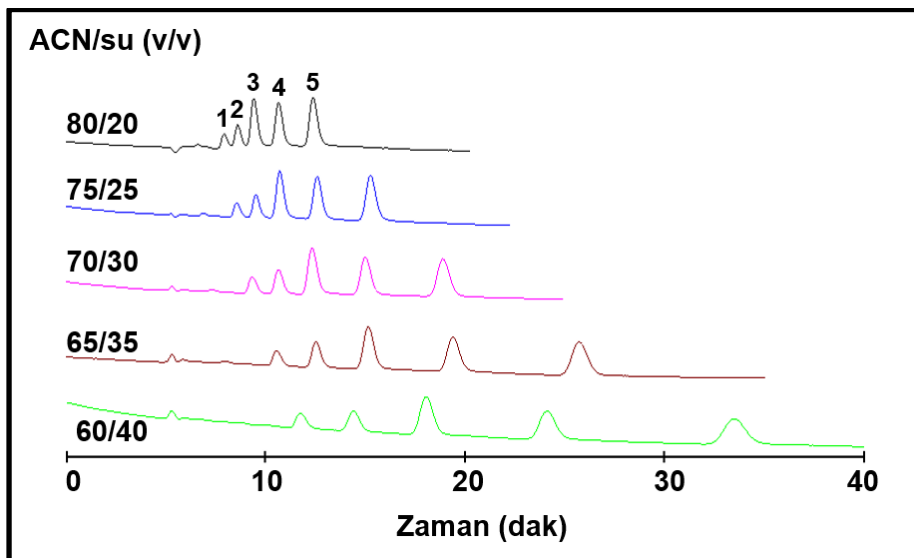
4.5.2. Farklı ODT Derişimlerine Sahip ODT Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Alkilbenzenlerin Kromatografik Ayrımı

Bu başlık altında farklı ODT derişimleri ile sentezlenen monolitik kolonların ters faz kromatografisinde izokratik modda alkilbenzen türevlerini ayırma performansının incelenmesi amaçlanmıştır. Farklı ODT derişimi ile sentezlenen monolitik kolonlar kullanılarak değişen hareketli farklı ACN derişimleri ile alınan kromatogramlar şekil 4.41’de bunlardan hesaplanan pik çözünürlüğü değerleri ise tablo 4.16’da verilmiştir. Buradan görüldüğü gibi ODT’nin olmadığı koşullarda POSS-MA bazlı monolitlerin kromatografik ayrımı olmamakta ve kromatogram birbirinden ayrılamayan piklerin toplamından oluşan tek bir pik olarak gözükmektedir. Artan ODT derişimi ile sentezlenen monolitler kullanılarak alınan farklı ACN konsantrasyonlarındaki kromatogramlara ve pik çözünürlük değerlerine bakıldığında ODT derişiminin artmasıyla piklerin birbirinden ayrılmasının kolaylaştığı sonucu çıkarılabilir. Bu yüzden en iyi kromatogramların şekil 4.41C’de verilenler olduğunu söylemek doğru olur.

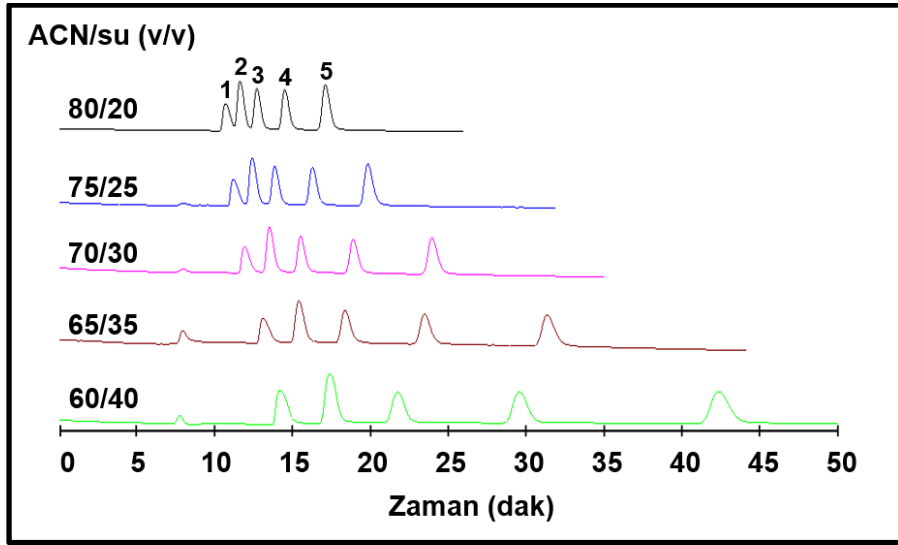
(A)



(B)



(C)



Şekil 4.41. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağı poli(POSS-MA) monolitler için hareketli fazdaki ACN derişiminin değişimi ile alınan kromatogramlar. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. ODT derişimi (mg ODT/mL monomer): (A) 0, (B) 203.3, (C) 406.5. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı: 0.5 µL/dak. Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütilbenzen.

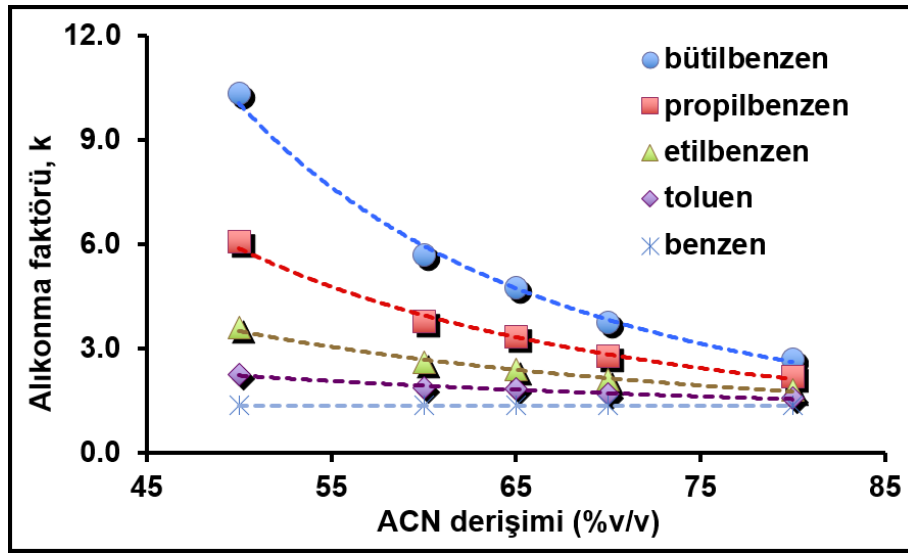
Tablo 4.16. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağı poli(POSS-MA) monolitler için pik çözünürlüğünün hareketli fazdaki ACN/su oranı ile değişimi.

ODT derişimi (mg/mL monomer) : 203.3				
ACN/su (%v/v)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃	R ₅₄
50/50	4.43	4.66	5.57	5.81
60/40	2.54	2.92	4.12	4.60
65/35	2.26	2.66	3.62	4.35
70/30	1.59	2.01	2.61	3.48
80/20	1.11	1.37	1.97	2.46

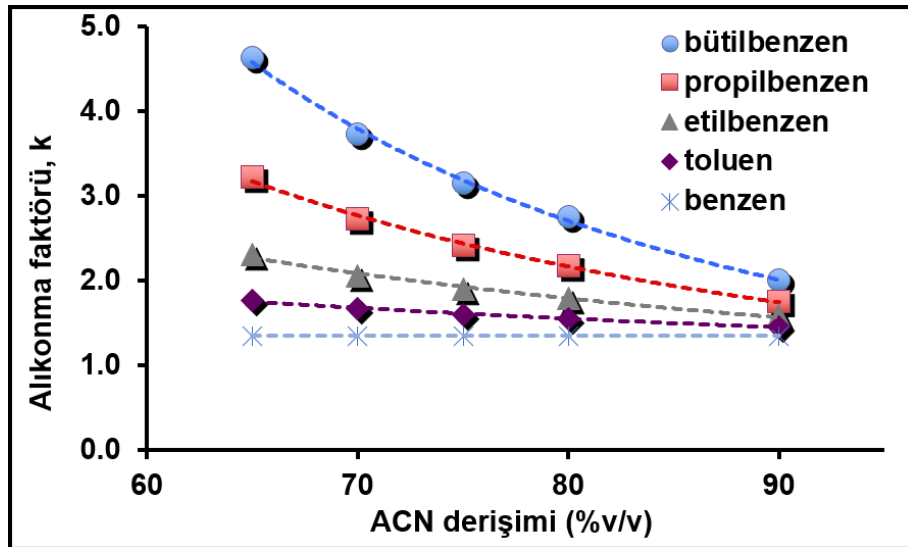
ODT derişimi (mg/mL monomer) : 406.5				
ACN/su (%v/v)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃	R ₅₄
65/35	2.43	3.07	4.55	5.08
70/30	1.53	1.86	2.82	3.70
75/25	1.40	1.70	2.78	3.61
80/20	1.23	1.41	2.24	3.08
90/10	0.64	0.82	1.22	1.86

Şekil 4.42’de alıkonma faktörü- ACN derişimi grafikleri iki farklı ODT derişimi ile sentezlenen monolit için verilmektedir. Tablo 4.16’da verilen pik çözünürlük değerleri de dikkate alındığında en yüksek ODT derişimli monolitik kolonun ayırma için daha iyi bir seçenek olduğu görülmektedir. Şekil 4.43’te verilen kademe yüksekliği değerlerinin yüksek ODT derişimi ile sentezlenen monolit için daha düşük olduğu ve dolayısıyla bu monolitin ayırma performansının daha iyi olduğu söylenebilir.

(A)

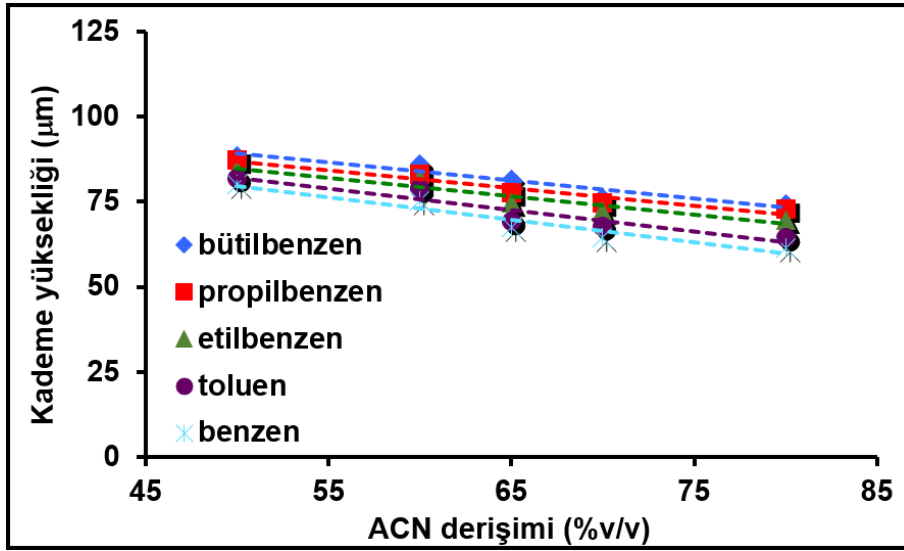


(B)

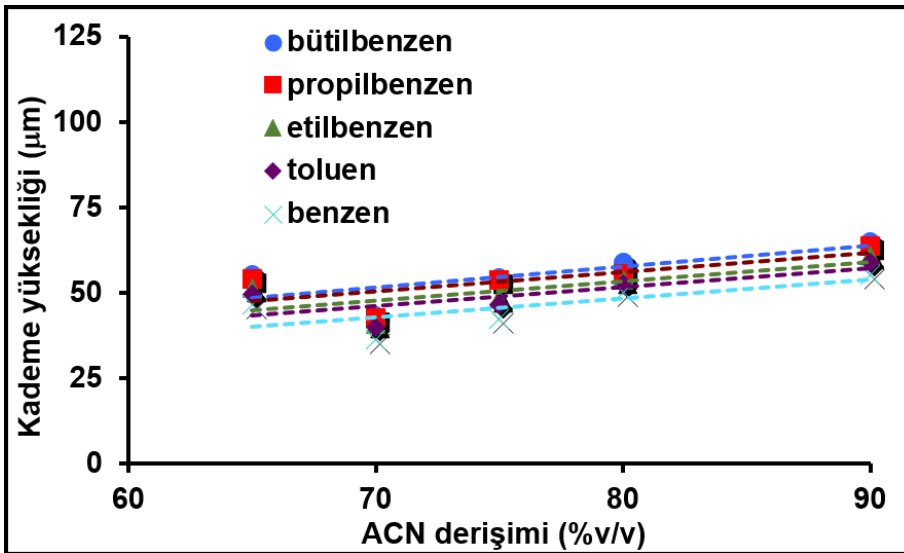


Şekil 4.42. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerde alıkonma faktörünün ACN derişimi ile değişimi. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi: 0.29 mg/mg. ODT derişimi (mg/mL monomer): (A) 203.3, (B) 406.5.

(A)



(B)

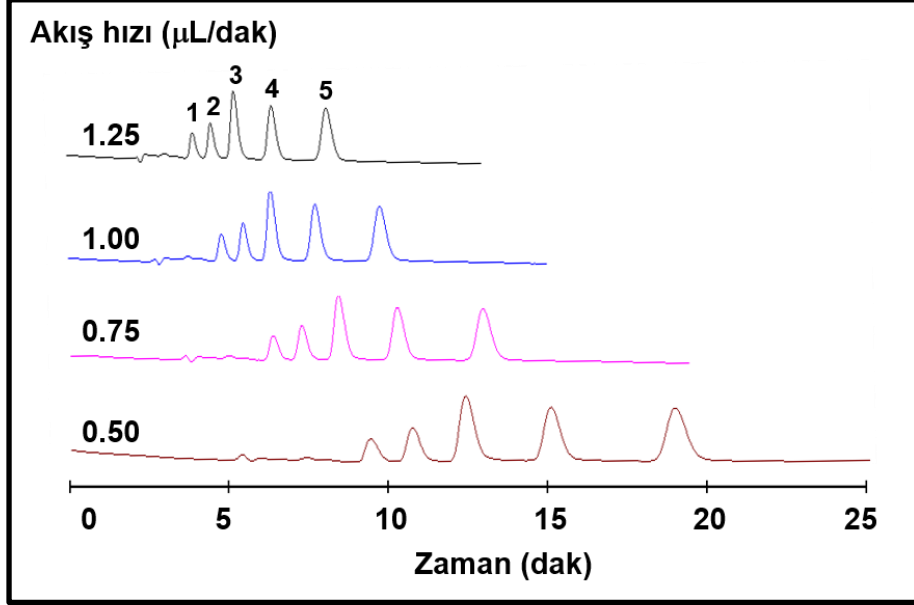


Şekil 4.43. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerde kademe yüksekliğinin ACN derişimi ile değişimi. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. ODT derişimi (mg ODT/mL monomer): (A) 203.3, (B) 406.5.

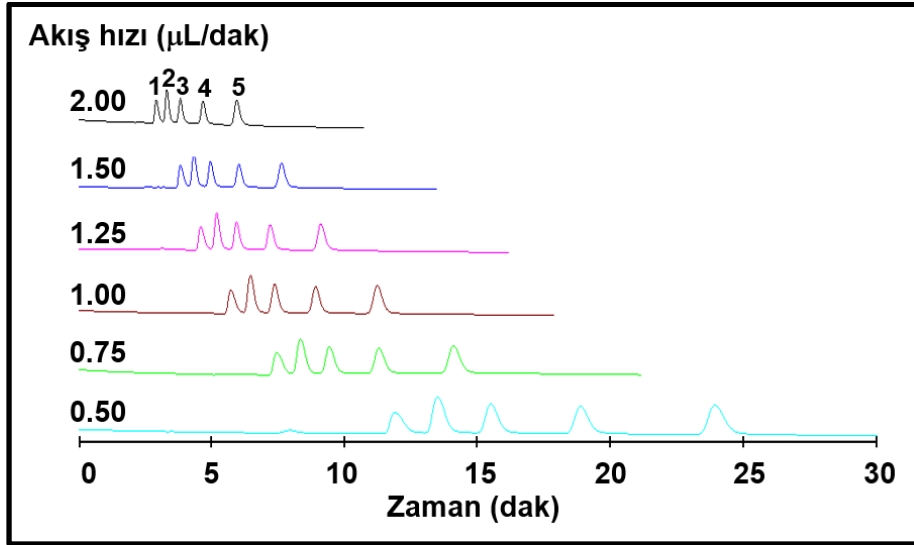
Farklı ODT derişimlerinde (203.3 mg/mL ve 406.5 mg/mL) sentezlenen monolitik kolonlar ile hareketli fazın akış hızının değiştirilmesiyle alınan kromatogramlar ve bu kromatogramlardan yola çıkılarak hesaplanan pik çözünürlük değerleri sırasıyla Şekil 4.44 ve tablo 4.17’de verilmiştir. Buna göre, hareketli faz akış hızının artışı, pik çözünürlük değerlerinde kritik bir değişikliğe neden olmaksızın analizin süresini azaltmaktadır ki bu kromatografik yönden önemli bir avantajdır. Sabit akış hızı göz önüne alındığında ise yüksek ODT derişimine sahip kolonun pik çözünürlüğünün

daha yüksek olduğu ve yüksek ODT derişimi ile sentezlenen kolonun yüksek bir ayırma verimine sahip olduğu görülmektedir.

(A)



(B)



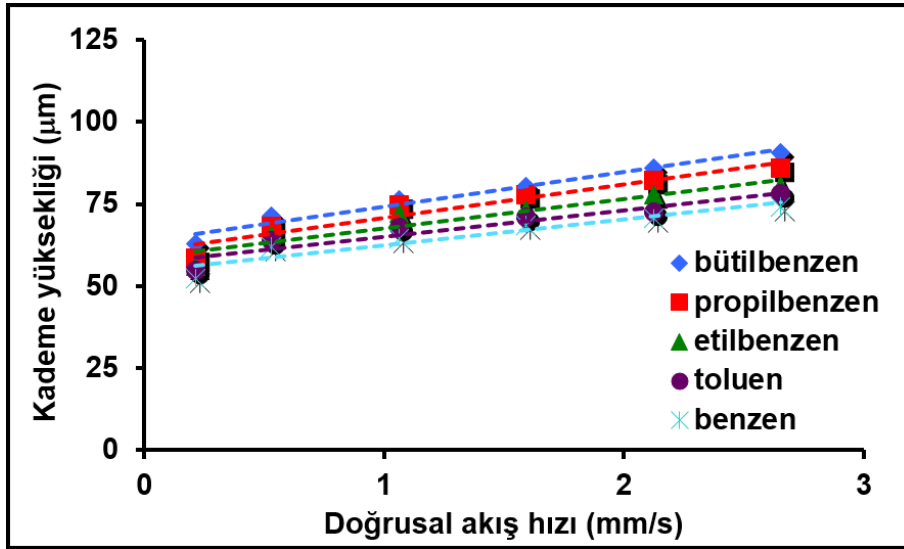
Şekil 4.44. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağı poli(POSS-MA) monolitler için hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi (mg ODT/mL monomer): (A) 203.3, (B) 406.5. Kolon: 300 mm x 100 □m iç çap. Hareketli faz ACN/su: oranı: 70/30 mL/mL, Hareketli faz: ACN/Su + % 0.05 AAc, Akış hızları kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütilbenzen.

Tablo 4.17. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolitler için pik çözünürlüğünün akış hızı ile değişimi.

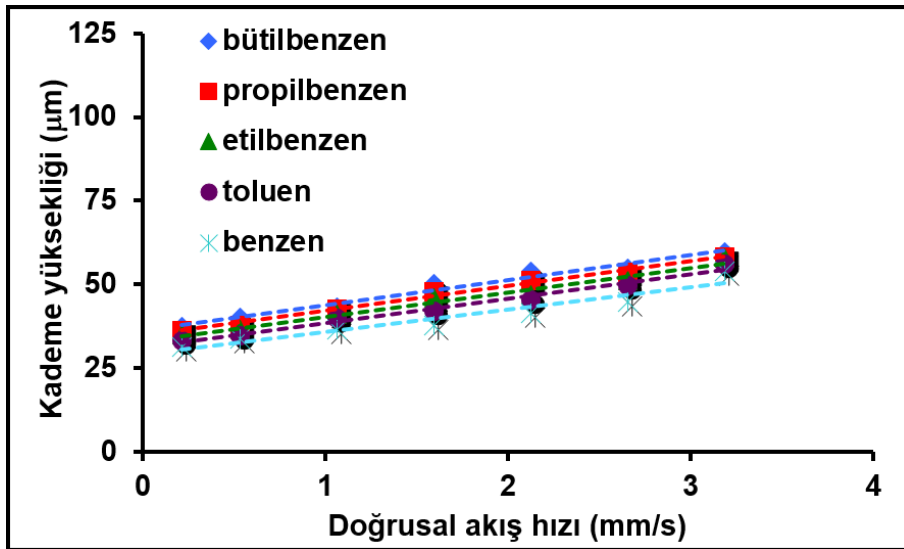
ODT derişimi : 203.3 mg/mL monomer				
Akış hızı (μL/dak)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
0.10	1.64	2.06	3.10	4.03
0.25	1.62	2.00	3.05	3.89
0.50	1.59	1.98	2.57	3.46
0.75	1.53	1.88	2.54	3.12
1.00	1.50	1.75	2.44	3.05
1.25	1.37	1.57	2.31	2.81
ODT derişimi : 406.5 mg/mL monomer				
Akış hızı (μL/dak)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
0.10	1.63	2.00	3.02	4.26
0.25	1.62	1.91	2.88	3.93
0.50	1.54	1.86	2.82	3.71
0.75	1.47	1.76	2.56	3.55
1.00	1.45	1.66	2.47	3.20
1.25	1.41	1.62	2.41	3.18
1.50	1.31	1.60	2.33	3.15

Şekil 4.44'de verilen kromatogramlar için elde edilen kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimini gösteren Van-Deemter grafikleri şekil 4.45'te verilmiştir. Artan ODT derişimi ile kademe yüksekliğinin düşüş göstermesi kromatografik performansın arttığı manasına gelmektedir. Yüksek ODT derişiminde (406.5 mg/mL) bütün analitler için sabit akış hızında, düşük kademe yüksekliği, artan akış hızında da bağlı olarak daha az değişen kademe yüksekliği davranışı elde edilmiştir. Akış hızının arttırılmasıyla kademe yüksekliğinin belirgin bir değişime uğramaması kolonun alıkonma süresinden bağımsız kolon verimi davranışına uygun olduğunu göstermektedir. Bu durum monolitin sentezinde POSS-MA'nın hem monomer hem de çapraz bağlayıcı olarak görev almasından ileri gelmektedir.

(A)



(B)



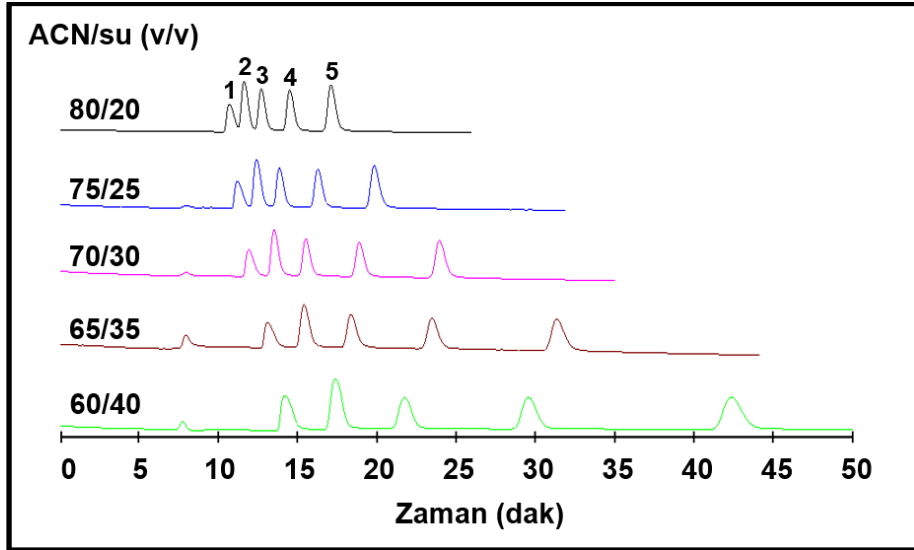
Şekil 4.45. Farklı ODT derişimleri ile sentezlenen ODT bağı-poli(POSS-MA) monolitlerde kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. ODT derişimi (mg/mL monomer): (A) 203.3, (B) 406.5.

4.5.3. Farklı Alkantiyol Ligand Türleri (BT, OT, ODT) Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Alkil Benzenlerin Kromatografik Ayırımı

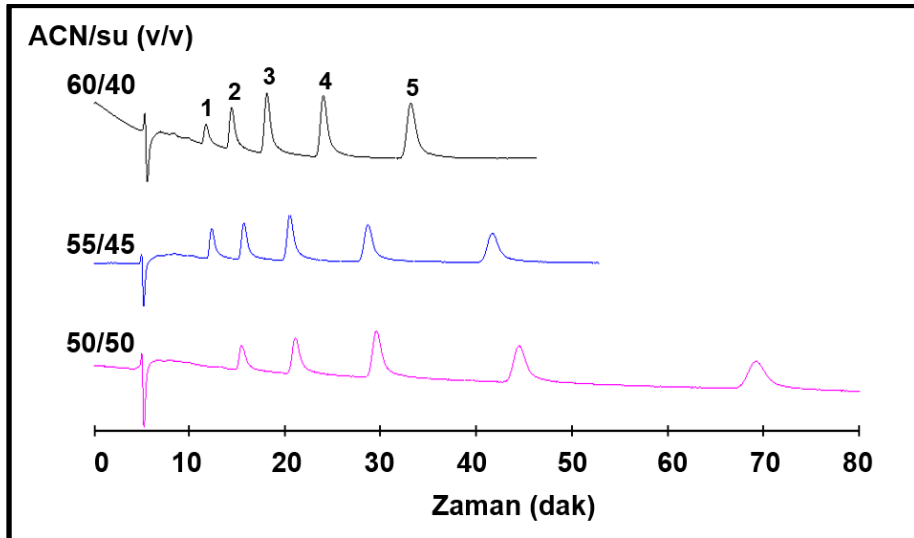
Bu bölümde daha düşük karbon zincir uzunluğuna sahip hidrofobik ligandlar olan BT(C₄) ve OT(C₈)'nin varlığında sentezlenen organosilikon monolitik kolonların da analiziyle, ligandın karbon zinciri uzunluğunun, kolonun kromatografik ayırma performansına olan etkisinin ortaya konması hedeflenmektedir. Üç farklı ligand türü ile sentezlenen kolonların sabit faz olarak kullanılmasıyla, farklı hareketli faz ACN/su

oranlarında elde edilen kromatogramlar Şekil 4.46'da ve bu kromatogramlar yardımıyla hesaplanan pik çözünlüğü değerleri de tablo 4.18'de verilmiştir. Hem kromatogramlar hem de sabit ACN/su oranında büyük bir değişiklik göstermeyen pik çözünlük değerleri her bir ligand varlığında sentezlenen kolonlar ile sağlıklı kromatografik ayrımların yapılabildiğini göstermektedir.

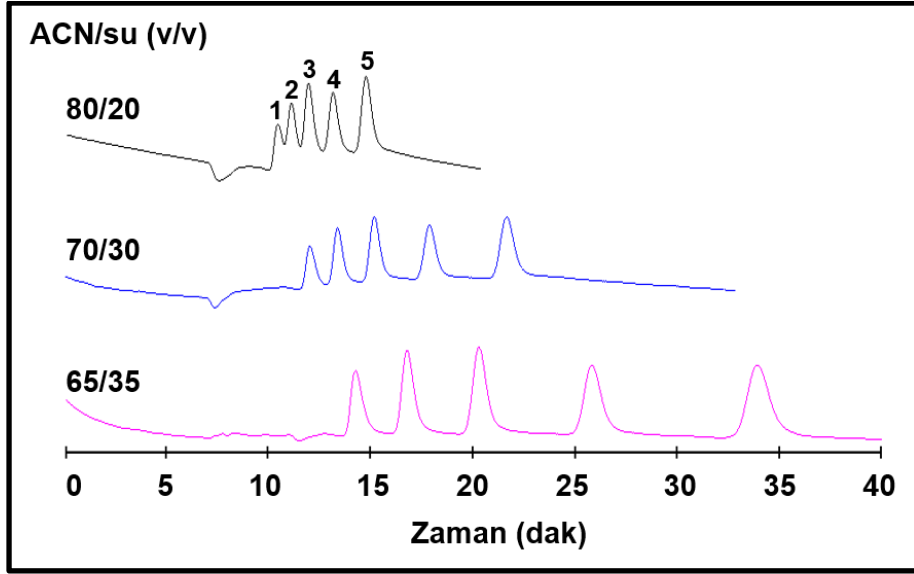
(A)



(B)



(C)



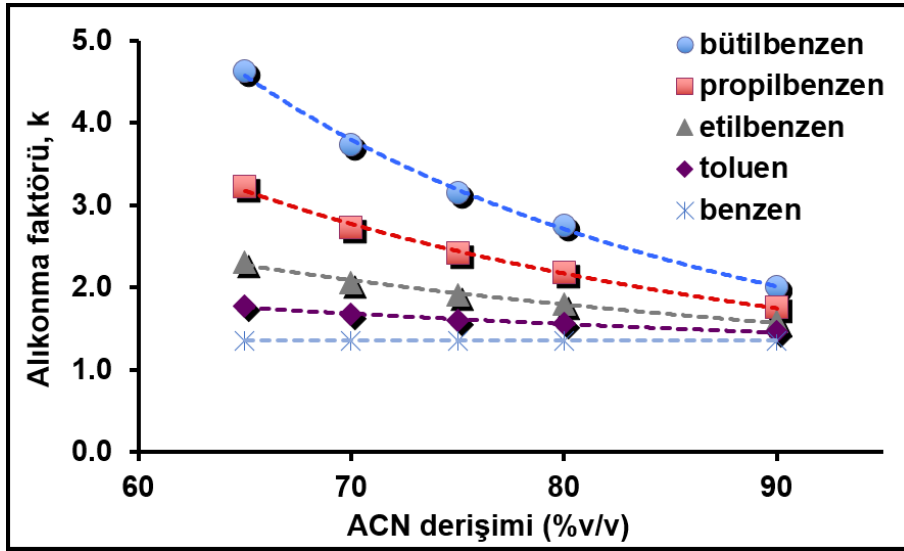
Şekil 4.46. Farklı hidrofobik ligand türleri ile sentezlenen alkantiyol ligand bağlı poli(POSS-MA) monolitler kullanılarak farklı ACN/Su oranları ile alınan kromatogramlar. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg, Ligand derişimi: 406.5 mg ligand/mL monomer. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı: 0.5 µL/dak. Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, Hidrofobik ligand türü: (A) ODT, (B) OT, (C) BT, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütılbenzen.

Tablo 4.18. Farklı hidrofobik ligandlar bağı poli(POSS-MA) monolitler için pik çözünürlüğünün hareketli fazdaki ACN/Su oranı ile değişimi.

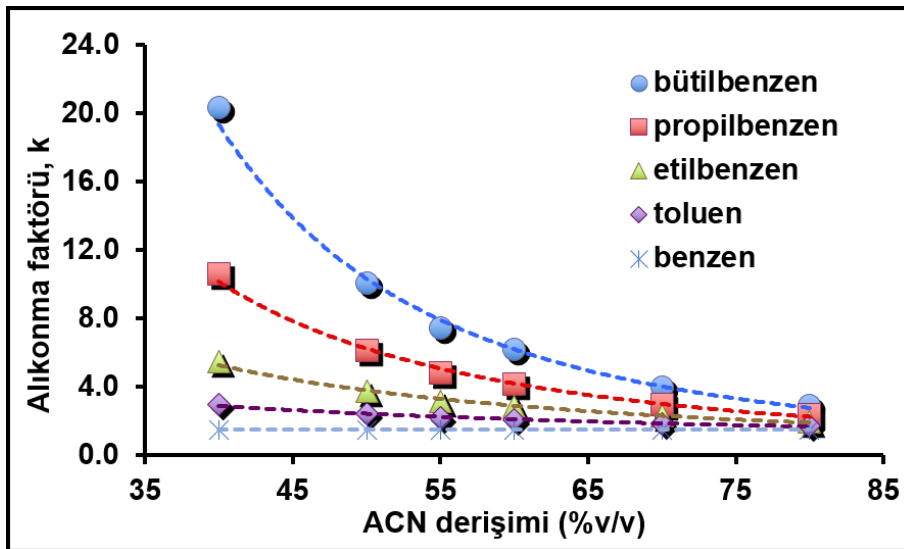
Hidrofobik Ligand : ODT (C₁₈)				
ACN/su (%v/v)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
65/35	2.43	3.07	4.55	5.08
70/30	1.54	1.86	2.82	3.70
75/25	1.40	1.70	2.78	3.61
80/20	1.23	1.41	2.24	3.08
Hidrofobik Ligand : OT (C₈)				
ACN/su (%v/v)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
40/60	7.14	8.22	8.58	10.10
50/50	4.70	5.51	6.72	7.48
55/45	2.99	3.72	4.85	6.15
60/40	2.63	3.47	4.57	5.43
70/30	1.54	1.91	2.99	3.74
Hidrofobik Ligand : BT (C₄)				
ACN/su (%v/v)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
50/50	6.54	4.96	4.52	5.57
60/40	2.32	2.89	3.62	4.42
65/35	2.17	2.67	3.57	4.25
70/30	1.43	1.61	2.37	2.90
80/20	0.82	0.88	1.20	1.44

Şekil 4.47’de ACN derişiminin alıkonma faktörü ile değişim grafikleri verilmektedir. Bu grafiklere göre sabit ACN oranında alıkonma faktöründe belirgin bir değişiklik göze çapmamaktadır. Fakat şekil 4.48’de kademe yüksekliği-ACN derişimi grafikleri en düşük kademe yüksekliği dolayısıyla en yüksek kolon veriminin ODT ile sentezlenen monolit ile kolondan elde edildiğini göstermektedir.

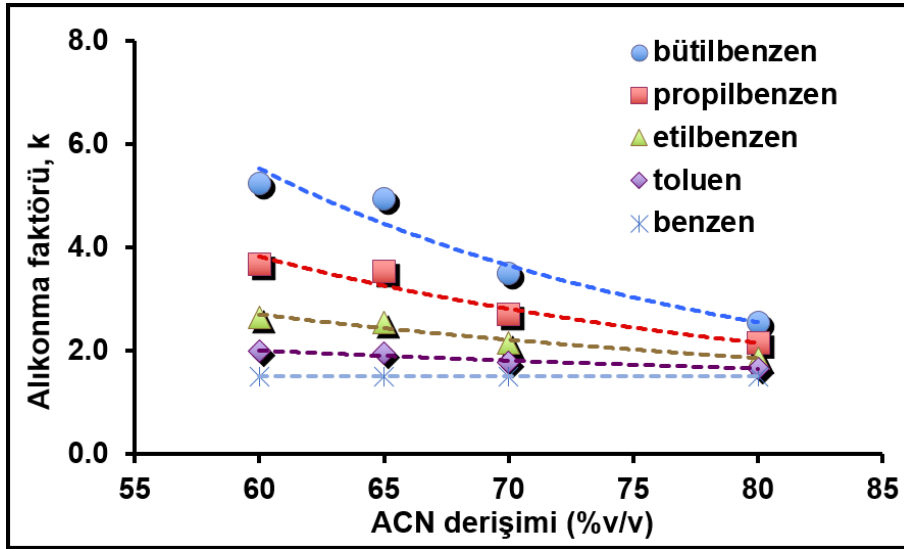
(A)



(B)

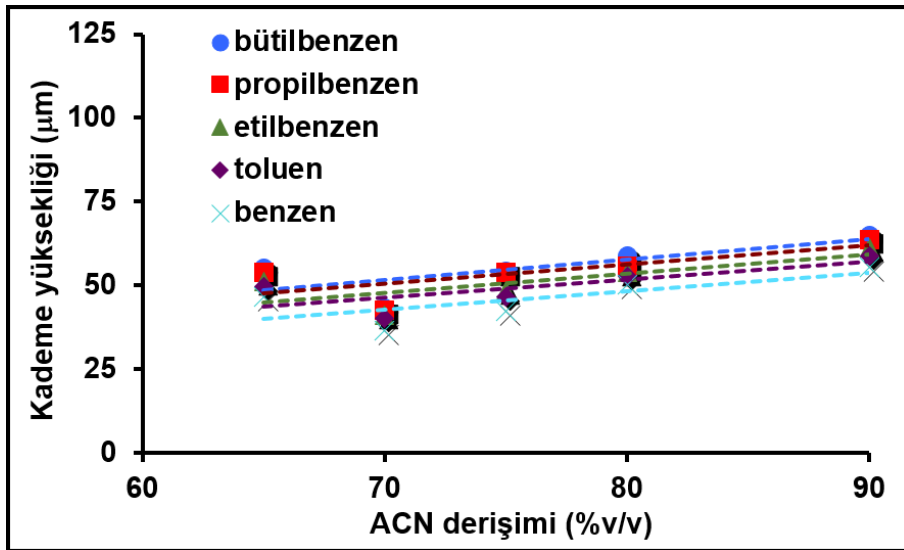


(C)

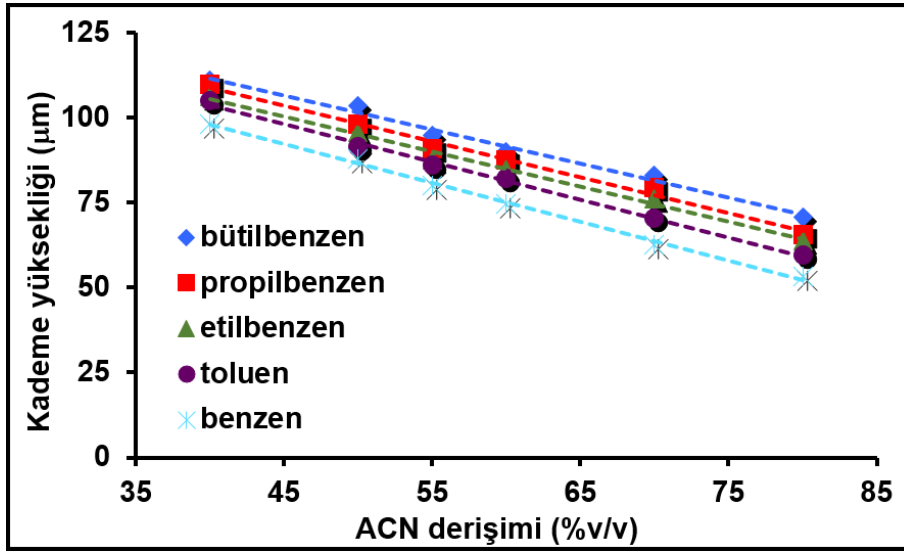


şekil 4.47. Farklı hidrofobik ligand türleri ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) monolitler için alıkonma faktörünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. Tiyol gruplu hidrofobik ligand: (A) ODT (B) OT (C) BT.

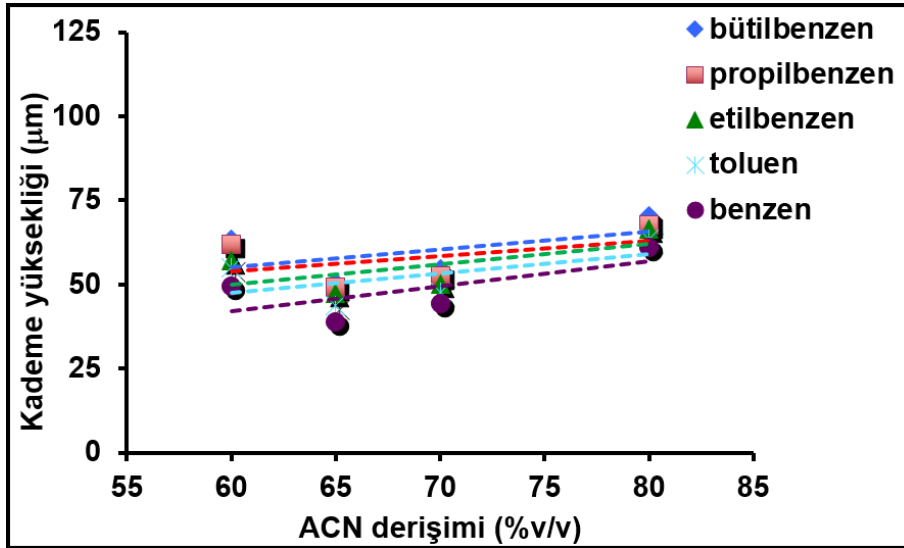
(A)



(B)



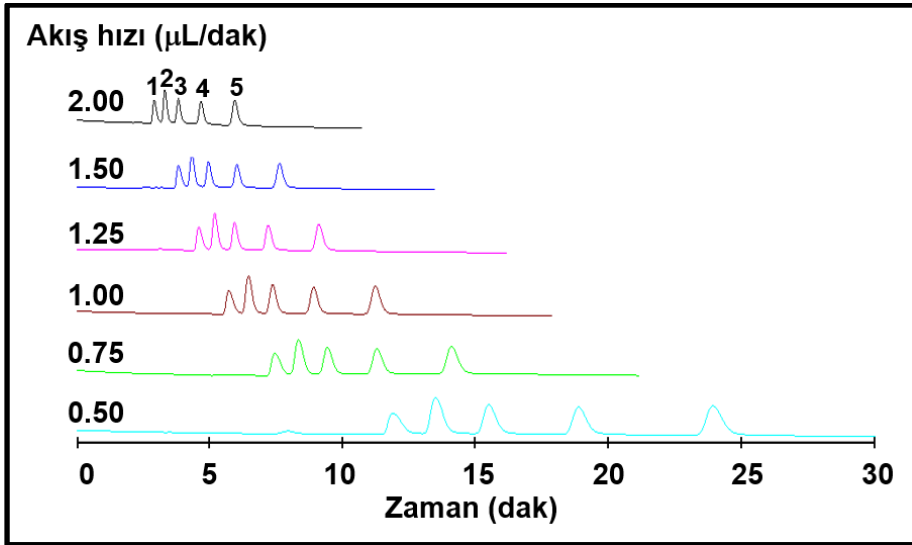
(C)



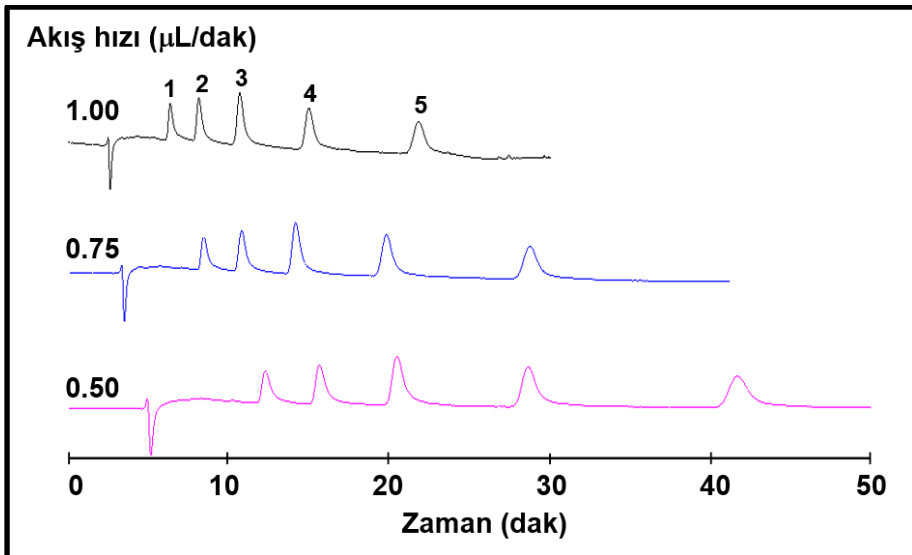
Şekil 4.48. Farklı hidrofofik ligand türleri ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) monolitler için kademe yüksekliğinin hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. Tiyol gruplu hidrofofik ligand: (A) ODT, (B) OT, (C) BT

Farklı karbon zincir uzunluğuna sahip hidrofofik ligandlar ile sentezlenen monolitik kolonlar ile hareketli fazın akış hızının değiştirilmesiyle elde edilen kromatogramlar ve hesaplanan pik çözünlük değerleri sırasıyla Şekil 4.49'da ve tablo 4.19'da verilmiştir. Pik çözünlük değerleri ile ligand karbon zincir uzunluğu arasında doğrudan bir korelasyon olmamasına rağmen, bütün ligandlar ile çalışılan akış hızlarında tatminkar kromatografik ayrımların elde edildiği söylenebilir.

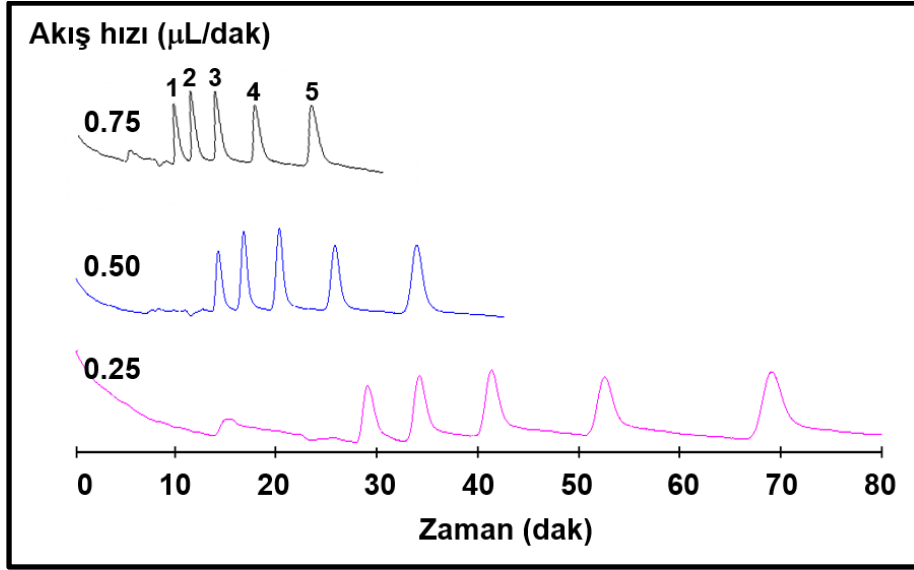
(A)



(B)



(C)



Sekil 4.49. Farklı hidrofobik ligandlar bağlı poli(POSS-MA) monolitler için hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar. Kolon: 300 mm x 100 μm iç çap. Hareketli faz ACN/Su oranı (mL/mL): (A) 70/30, (A) 55/45, (C) 65/35. Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, Akış hızları kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir. Tiyol gruplu hidrofobik ligand: (A) ODT (B) OT (C) BT. UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. benzen, 2. toluen, 3. etilbenzen, 4. propilbenzen, 5. bütılbenzen.

Tablo 4.19. Farklı hidrofobik ligandlar bağlı-poli(POSS-MA) monolitler için hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar ile hesaplanan çözünürlük değerleri.

Hidrofobik Ligand : ODT (C₁₈)				
Akış hızı (μL/dak)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
0.10	1.63	2.00	3.02	4.26
0.25	1.62	1.91	2.88	3.93
0.50	1.54	1.86	2.82	3.71
0.75	1.47	1.76	2.56	3.55
1.00	1.45	1.66	2.47	3.20
1.25	1.41	1.62	2.41	3.18
1.50	1.31	1.60	2.33	3.15

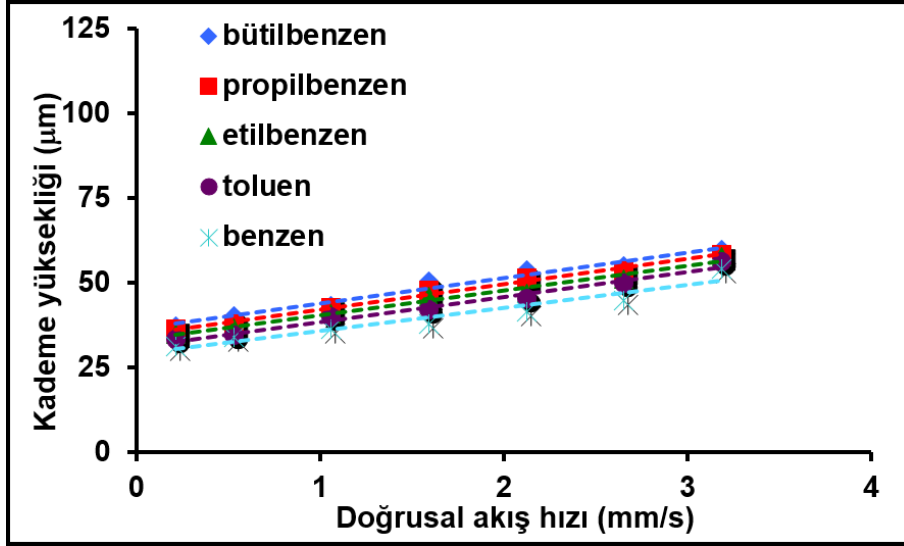
Hidrofobik Ligand : OT (C₈)				
Akış hızı (μL/dak)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
0.10	3.08	3.96	5.22	6.88
0.25	3.03	3.77	5.06	6.59
0.50	2.99	3.72	4.85	6.15
0.75	2.97	3.66	4.77	5.63
1.00	2.94	3.56	4.65	5.23

Hidrofobik Ligand : BT (C₄)				
Akış hızı (μL/dak)	R₂₁	R₃₂	R₄₃	R₅₄
0.10	2.35	3.02	3.84	4.95
0.25	2.30	2.70	3.70	4.42
0.50	2.17	2.67	3.57	4.25
0.75	2.01	2.56	3.21	3.86

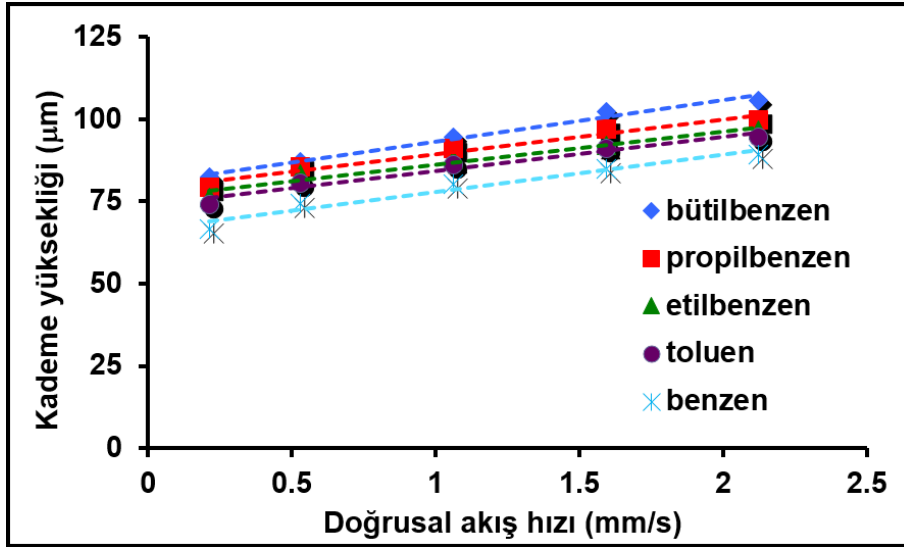
BT, OT ve ODT'nin varlığında sentezlenen üç farklı monolitik kolonun hareketli faz akış hızının kademe yüksekliğine karşı çizilen grafikleri üzerinden (şekil 4.50) sabit bir akış hızı ve analit türü seçilerek yapılan değerlendirmede, BT ve ODT'nin daha düşük kademe sayılarına sahip olduğu ve hareketli faz akış hızı ile kademe sayısında kayda değer bir değişim olmadığı görülmüştür. Bu durum kolonların alıkonma süresinden bağımsız ayırma performansının bir sonucudur. Bu çıkarımı desteklemek adına, kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimini gösteren

yeni grafikler oluşturulmuş (şekil 4.51), kademe yüksekliğinin, alkonma faktörüyle değişim eğilimi göstermediği ortaya konmuştur.

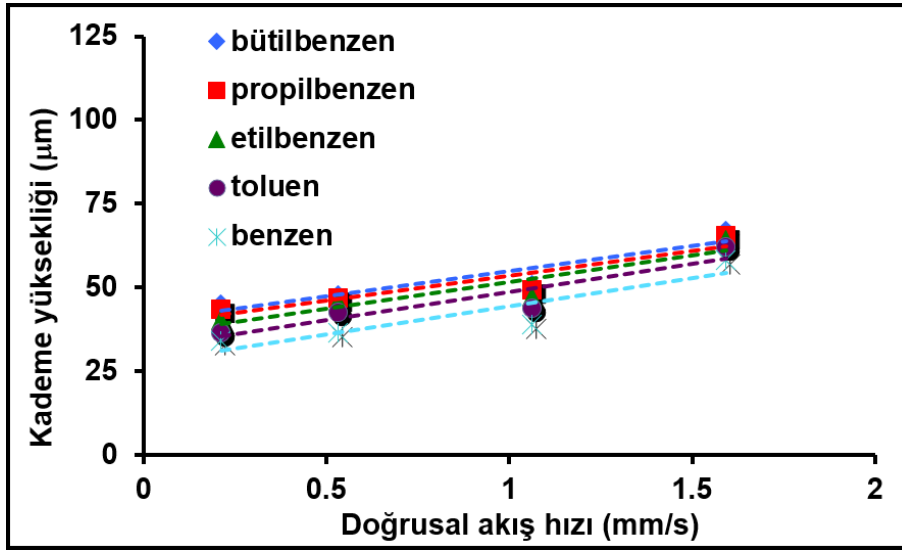
(A)



(B)

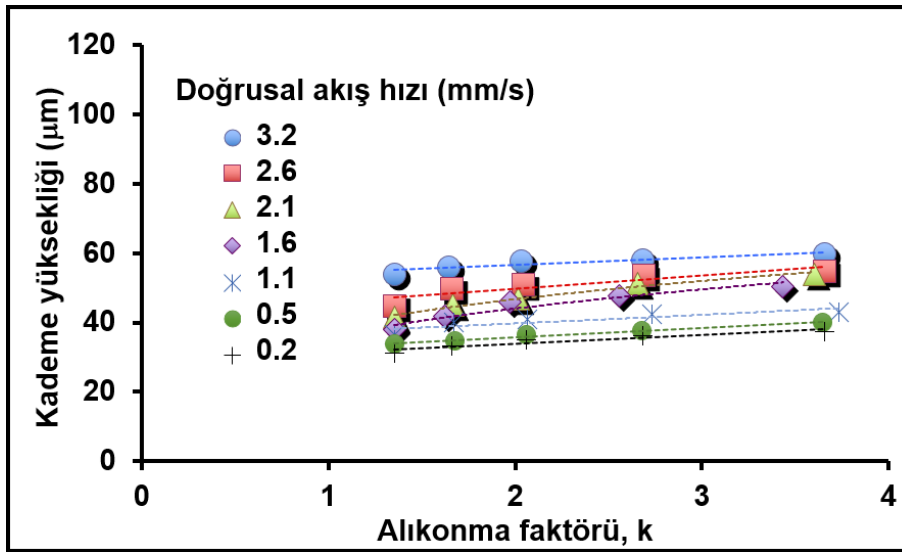


(C)

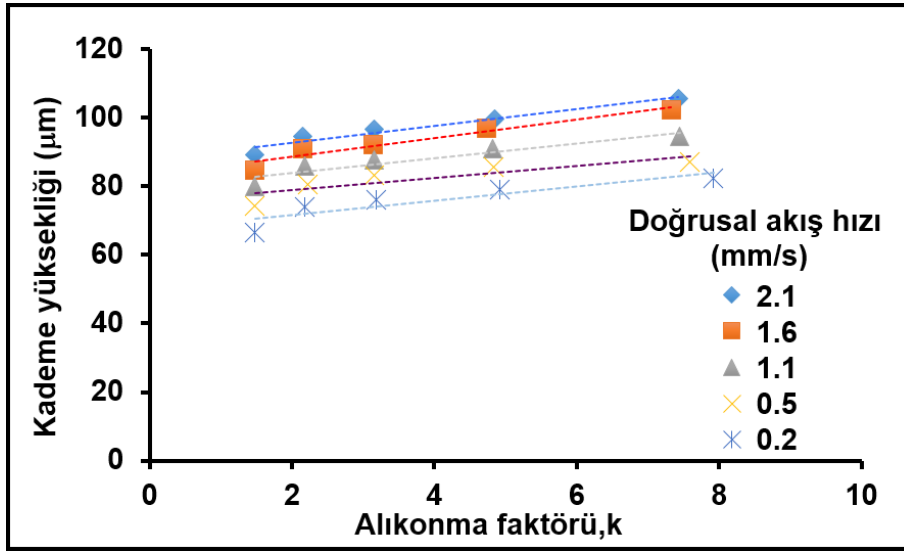


Şekil 4.50. Farklı hidrofobik ligand türleri ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) monolitler için kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. Tiyol gruplu hidrofobik ligand: (A) ODT (B) OT (C) BT.

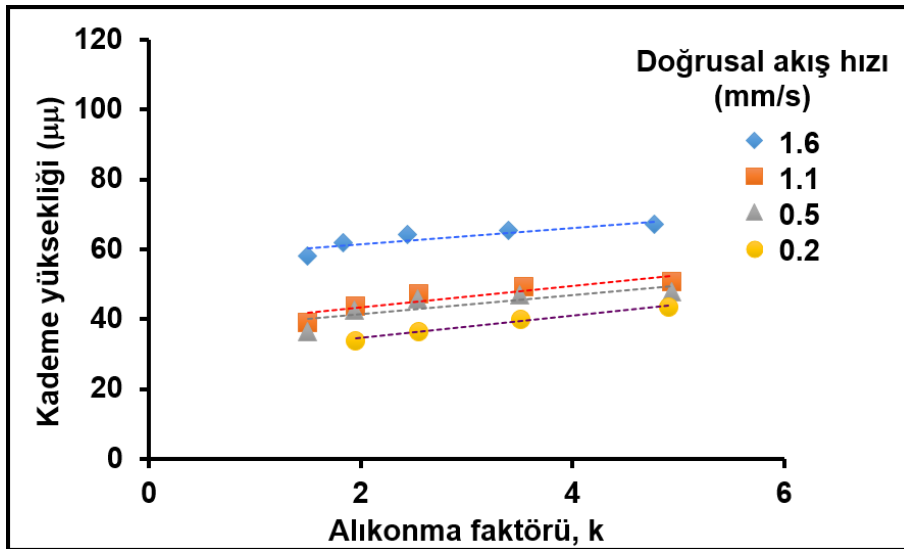
(A)



(B)



(C)

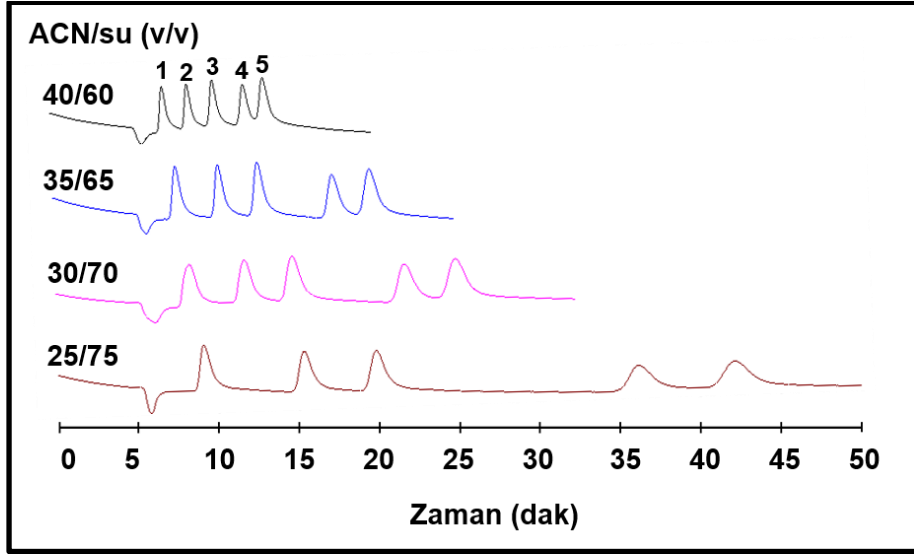


Şekil 4.51. Farklı hidrofobik ligand türleri ile sentezlenen alkantiyol bağlı poli(POSS-MA) monolitler için kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimi. Tiyol gruplu hidrofobik ligand: (A) ODT (B) OT (C) BT.

4.5.4. ODT Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Fenollerin Kromatografik Ayrımı

Fotopolimerizasyon ve ODT'nin tiyol-en katılması ile sentezlenen monolitler ile ters faz kromatografisi modunda fenol türevlerinin kromatografik ayrımı yapılmıştır. Bu ayrımın sağlanabilmesi için önceki bölümlerde alkilbenzen ayrımının yapıldığı kolonlar içerisinde en iyi kromatografik performansa sahip olan ve monomer/gözenek yapıcı oranı 0.29 mg/mg, ODT derişimi 406.5 mg/mL değerleri ile

sentezlenen monolitik kolon kullanılmıştır. Bu kolon ile farklı ACN/su oranlarında alınan kromatogramlar ve bu kromatogramlar yardımıyla hesaplanan pik çözünümlük değerleri sırasıyla şekil 4.52’de ve tablo 4.20’de verilmiştir. Buna göre ACN derişiminin %35 ve daha düşük olduğu durumlarda sağlıklı bir ayırım sağlanmıştır. Fenol ve türevlerinin, alkil benzene göre daha hidrofilik bileşikler olması sağlıklı bir ayırım için hareketli fazın içeriğinde daha yüksek su konsantrasyonunun varlığı ile mümkün olmaktadır.

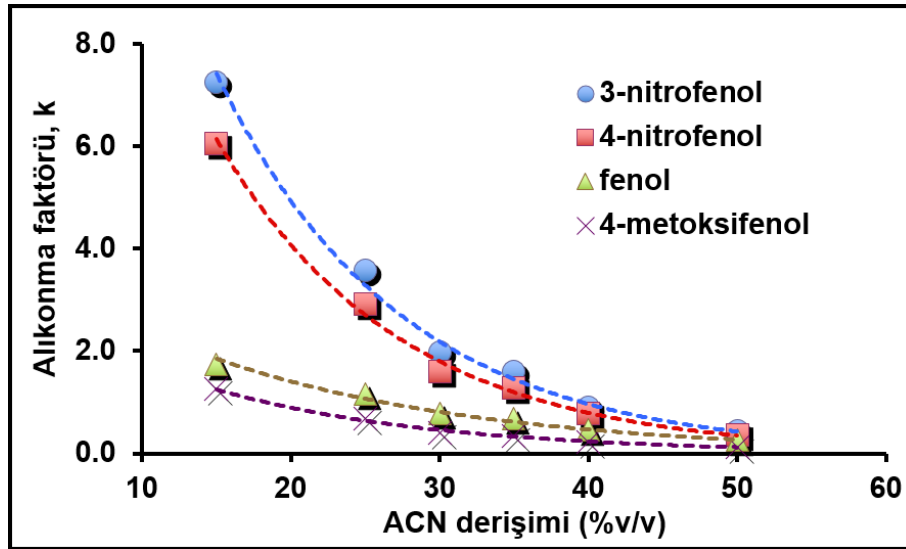


Şekil 4.52. Fenollerin kromatografik ayırımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için ACN derişiminin değişimi ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı: 0.5 µL/dak, Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. Katekol, 2. 4-metoksifenol, 3. fenol, 4. 4-nitrofenol, 5. 3-nitrofenol.

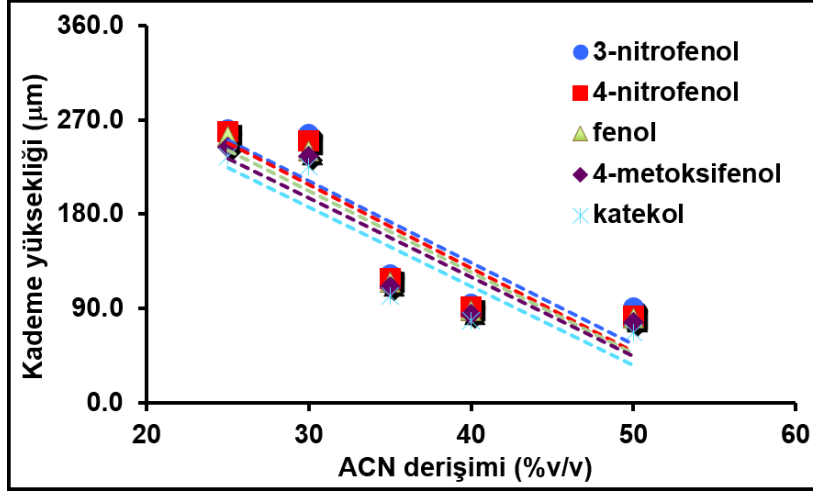
Tablo 4.20. Fenollerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için pik çözünürlüğünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi

ACN/su (%v/v)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃	R ₅₄
15/85	10.52	3.02	12.16	1.90
25/75	5.35	3.00	7.01	1.80
30/70	2.29	1.96	3.95	1.62
35/65	2.86	2.46	3.89	1.56
40/60	2.30	2.11	2.84	0.93
50/50	1.32	1.41	0.89	0.75

Fenol ayrımında alıkonma faktörünün ACN derişimi ile değişimi Şekil 4.53'de verilmiştir. Bu grafiklerde ilk göze çarpan durum, ACN derişiminin artmasıyla analitlerin alıkonma faktörlerinin birbirine yaklaşmasıdır. Ayrıca Şekil 4.54'de kademe yüksekliği değerlerinin artan ACN konsantrasyonu ile düştüğü gözlenmektedir. Şekil 4.52'deki kromatogramlar ve tablo 4.20'deki pik çözünürlüğü değerleri göz önüne alındığında %35 ve altındaki ACN derişimlerinde sağlıklı ayırım olduğu görölmektedir. Bu bilgilerin ışığında bu kolon için en uygun ACN derişimi değerinin %35 olduğuna karar verilmiştir.

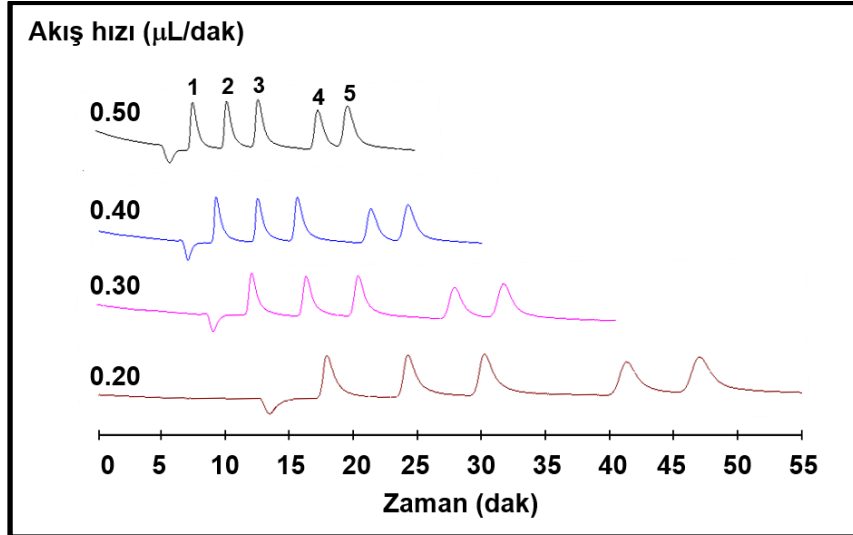


Şekil 4.53. Fenollerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için alıkonma faktörünün ACN derişimi ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.



Şekil 4.54. Fenollerin kromatografik ayırımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için kademe yüksekliğinin ACN derişimi ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.

Bir sonraki aşamada en uygun değer olarak seçilen 35/65 ACN/su hareketli faz oranı sabit tutularak akış hızı taraması yapılmıştır. Bu tarama ile elde edilen kromatogramlar ve bu kromatogramlar kullanılarak hesaplanan pik çözünürlük değerleri Şekil 4.55 ve Tablo 4.21'de verilmiştir. Burada taraması yapılan tüm akış hızlarındaki kromatogramlar tatminkâr pik çözünürlük değerleri ile elde edilmiş ve fenollerin kromatografik ayırımı gerçekleştirilmiştir.

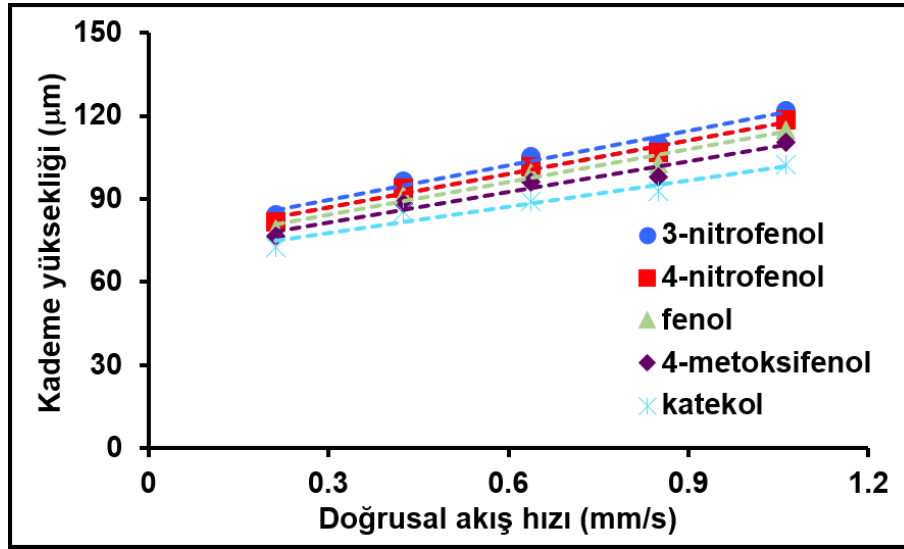


Şekil 4.55. Fenollerin kromatografik ayırımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için farklı hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Hareketli faz ACN/Su oranı: 35/65 mL/mL, Hareketli faz: ACN/su + % 0.05 AAc, Akış hızları kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir. UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. Katekol, 2. 4-metoksifenol, 3. fenol, 4. 4-nitrofenol, 5. 3-nitrofenol.

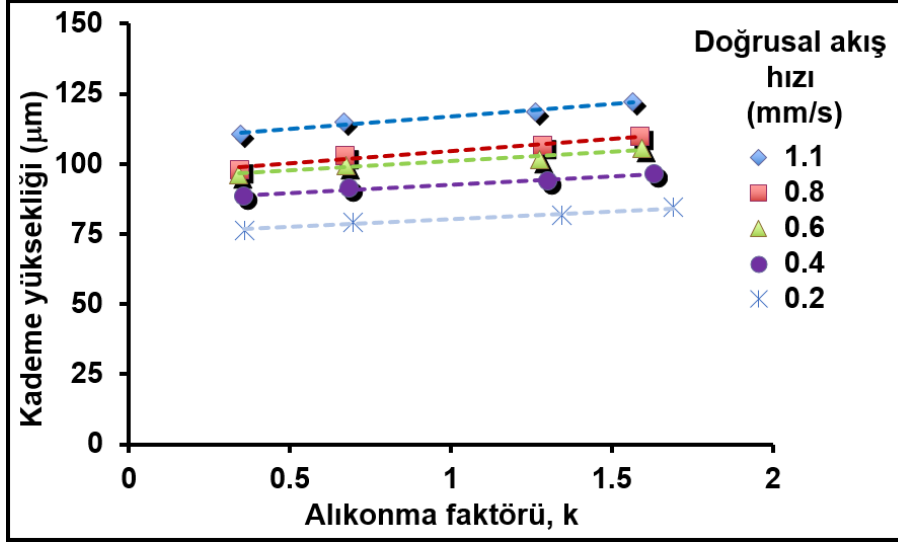
Tablo 4.21.Fenollerin kromatografik ayrımında ODT bağı-poli(POSS-MA) monolit için farklı hareketli faz akış hızları ile elde edilen pik çözünürlüğü değerleri

Akış hızı ($\mu\text{L}/\text{dak}$)	R_{21}	R_{32}	R_{43}	R_{54}
0.1	4.30	3.46	5.40	2.26
0.2	4.00	3.35	4.82	2.14
0.3	3.84	3.22	4.50	1.84
0.4	3.37	2.90	4.34	1.62
0.5	2.86	2.46	3.95	1.54

Şekil 4.56'da ve şekil 4.57'de artan akış hızı veya alıkonma faktörü ile kademe yüksekliğinde dikkate değer bir değişiklik olmamaktadır. Bu durum yüksek alıkonma sürelerinde dahi kolon ayırma performansının azalmadığını göstermektedir.



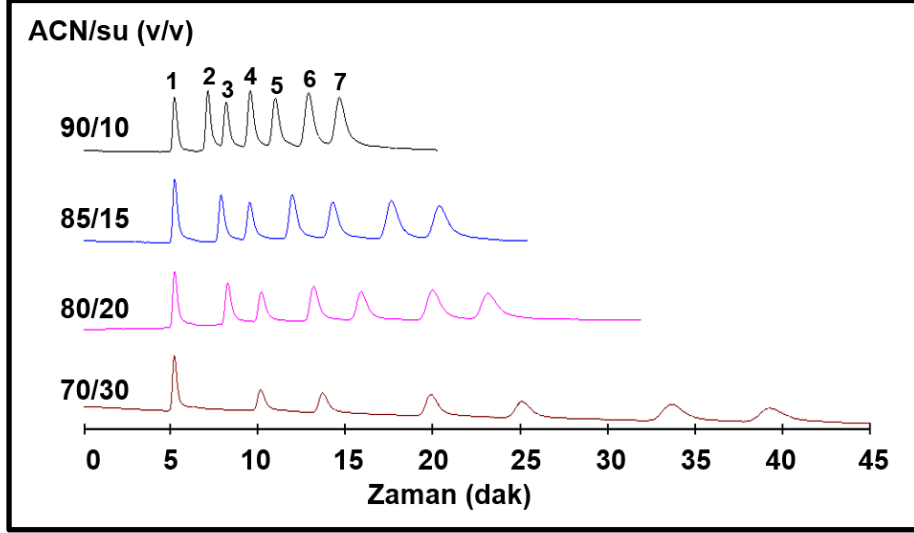
Şekil 4.56. Fenollerin kromatografik ayrımında ODT bağı-poli(POSS-MA) monolit için kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.



Şekil 4.57. Fenollerin kromatografik ayrımında, ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolit için kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. Katekol, 2. 4-metoksifenol, 3. fenol, 4. 4-nitrofenol, 5. 3-nitrofenol.

4.5.5. ODT Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Çok Halkalı Aromatik Bileşiklerin Kromatografik Ayrımı

Fotopolimerizasyon ve ODT'nin tiyol-en katılmasıyla sentezlenen monolit ile ters faz kromatografisi modunda çok halkalı aromatik bileşiklerin (PAH) de kromatografik ayrımları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma da fenol ayrımında olduğu gibi 0.29 mg/mg monomer gözenek yapıcı oranı ve 406.5 mg/mL ODT derişimi ile sentezlenen monolitik kolon kullanılmıştır. İlk olarak sabit akış hızında yapılan ACN taraması ile elde edilen kromatogramlar şekil 4.58'de görülmektedir. Mevcut kromatogramlara ve tablo 4.22'de verilen pik çözünürlük değerlerine göre, hareketli fazda ACN derişiminin %70-90 olduğu durumda tatmin edici kromatografik ayırım sağlanmaktadır. Hatırlanacağı üzere aynı kolon şartlarında, fenollerin ayrılması için %20-35 alkilbenzenlerin ayrılması için %40-70, çok halkalı aromatik hidrokarbonların ayrılması için de %70-90 aralığında hareketli faz ACN konsantrasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun sebebi, polar olan fenollerden, apolar olan PAH'lara geçişte analitin kolonda tutulması için ACN'ye daha çok ihtiyaç duyulmasıdır. Sonuç olarak geniş polarite skalasındaki analit türünün ayrılabilmesi sabit fazın iyi bir kromatografik performansa sahip olduğunu göstermektedir.

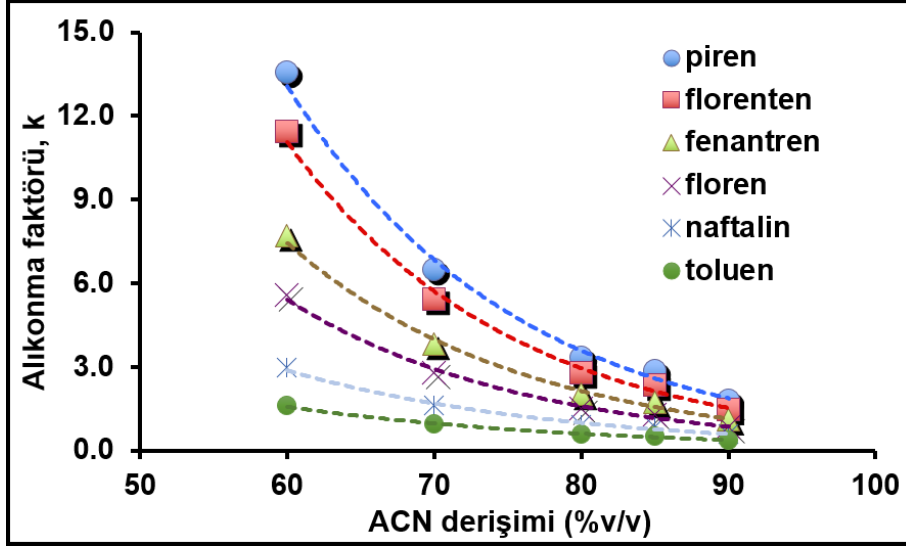


Şekil 4.58. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayırımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için hareketli fazdaki ACN derişiminin değişimi ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı (µL/dak): 0.5, Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAC, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. tiyöüre, 2. toluen, 3. naftalin, 4. floren, 5. fenantren, 6. florenten, 7. piren.

Tablo 4.22. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayırımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için pik çözünürlüğünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi.

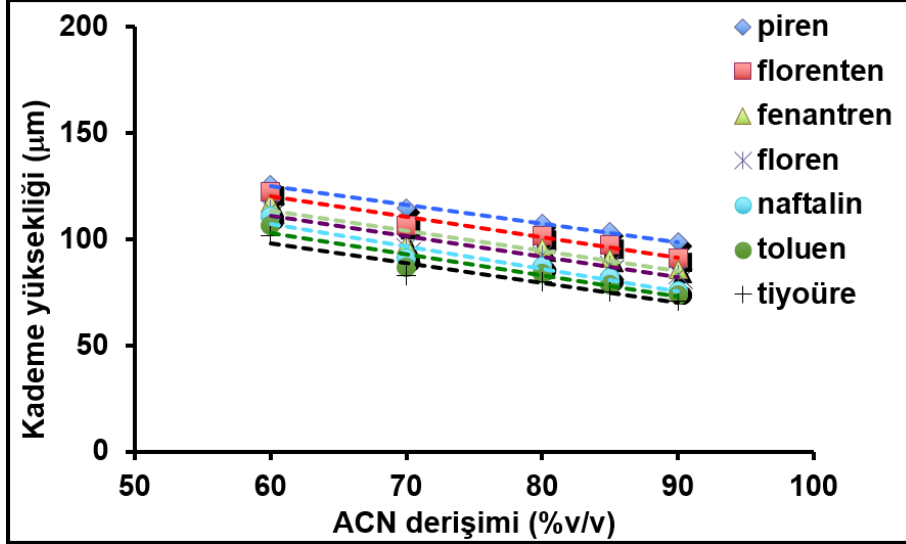
ACN/su (%v/v)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃	R ₅₄	R ₆₅	R ₇₆
60/40	13.63	6.03	7.31	3.57	4.27	2.06
70/30	8.86	4.14	5.41	3.42	3.56	2.00
80/20	5.65	2.95	3.42	2.58	3.06	1.86
85/15	5.37	2.72	3.21	2.33	2.90	1.71
90/10	4.14	2.05	2.30	2.10	2.21	1.60

Çok halkalı aromatik bileşiklerin ayırımında alıkonma faktörünün ACN derişimi ile değişimi şekil 4.59’da verilmiştir. Bu grafiğe göre artan ACN, yani azalan su derişiminde analitlerin alıkonma faktörü değerleri birbirine çok yaklaşmakta ve analitler birbirinden sağlıklı bir biçimde ayırlanamamaktadır. Hem şekil 4.58’deki kromatogramlar ve tablo 4.22’deki pik çözünürlük değerleri dikkate alınarak en uygun ACN/su oranı olarak 85/15 mL/mL seçilmiştir.



Şekil 4.59. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için alıkonma faktörünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg/mL. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.

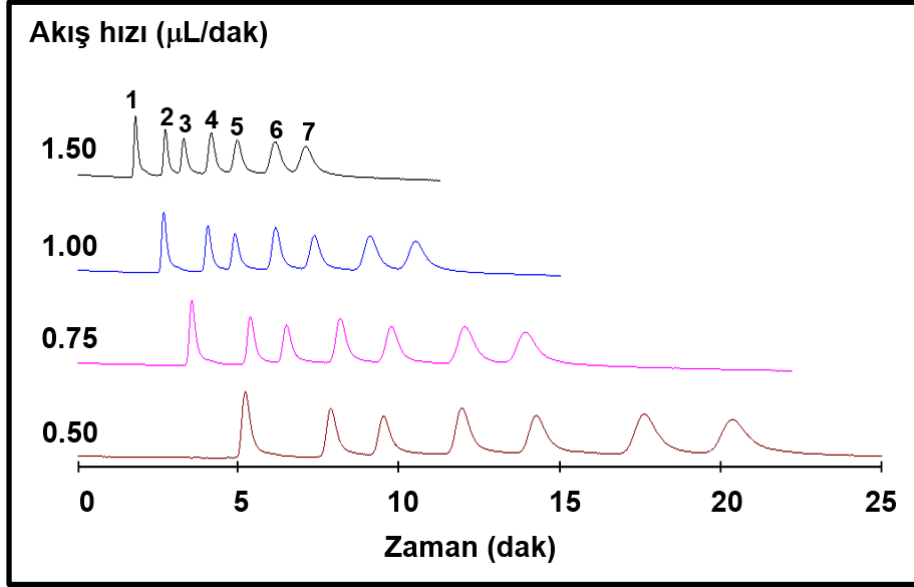
Hareketli fazdaki ACN/su oranının kolonun ayırma performansına etkisi ise şekil 4.60'daki grafikten incelenebilir. Buna göre artan ACN derişimi ile kademe yüksekliği azalmakta dolayısıyla kolonun ayırma performansı artmaktadır.



Şekil 4.60. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayrımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için kademe yüksekliğinin hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.

Bir sonraki aşamada en iyi hareketli faz ACN/su oranı olarak seçilen 85/15 varlığında akış hızı taraması yapılmıştır(Şekil 4.61). Ardından pik çözünürlük değerleri hesaplanmıştır (tablo 4.23). Buna göre 0.5-1.5 µL/dak aralığındaki akış

hızlarında ayırımın başarıyla gerçekleştirildiği görülmektedir. Ayrıca pik çözünürlük değerleri de bu değerlendirmeyi doğrular niteliktedir.



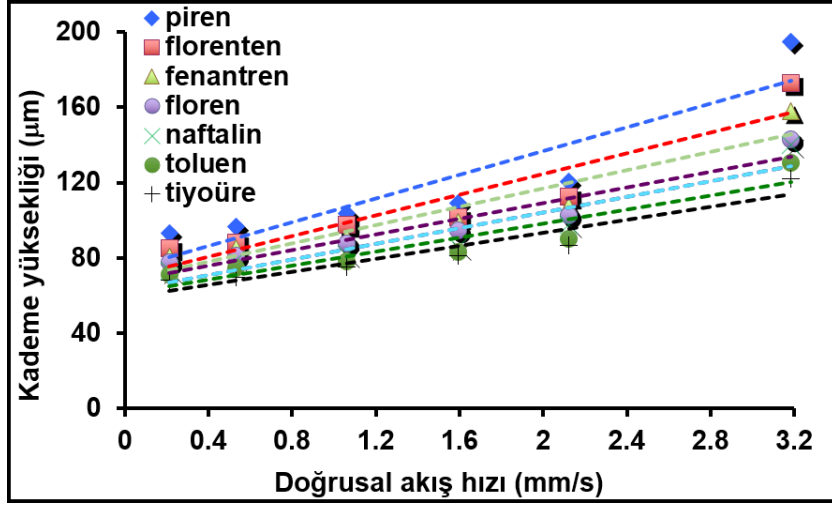
Şekil 4.61. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayırımında ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolit için farklı hareketli faz akış hızları ile alınan kromatogramlar. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. Kolon: 300 mm x 100 \square m iç çap. Hareketli faz ACN/Su oranı 85/15 mL/mL, Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, Akış hızları kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir. UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası, Kolondan çıkış sırası: 1. tiyoüre, 2. toluen, 3. naftalin, 4. floren, 5. fenantren, 6. florenten, 7. piren.

Tablo 4.23. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayırımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit için pik çözünürlüğünün akış hızı ile değişimi.

Akış hızı (μ L/dak)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃	R ₅₄	R ₆₅	R ₇₆
0.1	5.73	2.82	3.43	2.72	3.17	2.29
0.25	5.69	2.77	3.32	2.61	2.95	2.00
0.5	5.37	2.72	3.21	2.33	2.90	1.71
0.75	4.65	2.32	3.03	2.20	2.65	1.65
1	4.54	2.03	2.56	2.15	2.47	1.61

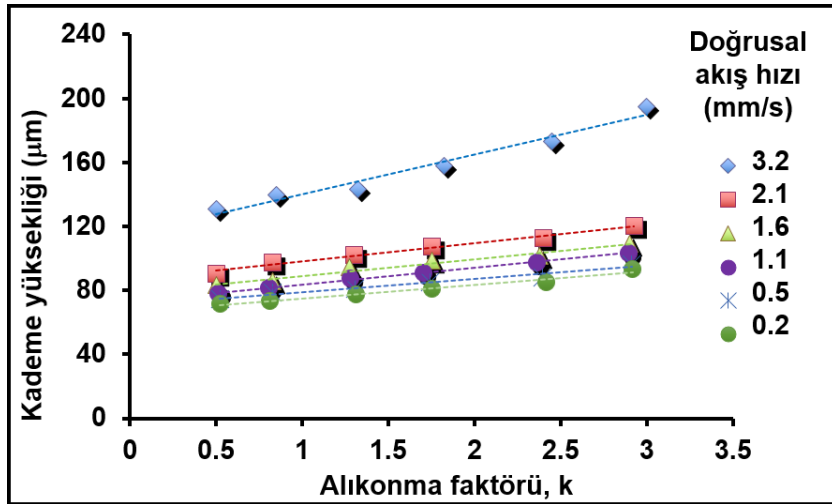
Hareketli faz akış hızına karşılık kademe yüksekliği grafiğine (şekil 4.62) bakıldığında, artan akış hızında kademe yüksekliğinin arttığı görülmektedir. Bu grafikte fenol ve alkilbenzenlerin ayırımı için çizilen benzerlerine kıyasla daha yüksek kademe yüksekliği değerleri elde edilmiştir. Bu durum apolar formdaki

ODT'nin, apolar formdaki PAH homologları ile diğer analitlere kıyasla daha fazla etkileşiminden kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.62. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayırımında ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitinin kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg ODT/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg.

Çok halkalı aromatik hidrokarbonların ayırımında alıkonma faktörüne karşılık, kademe yüksekliği değerlerinin verildiği şekil 4.63'deki grafiğe bakıldığında, alıkonma faktörünün artışı ile, kademe yüksekliğinde önemli sayılabilecek bir artış olmadığı görülmektedir.



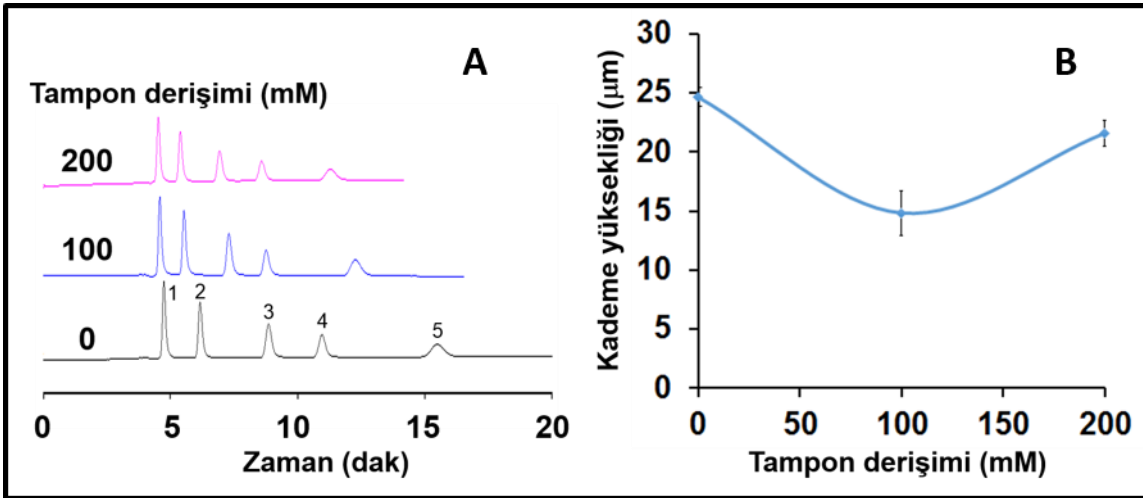
Şekil 4.63. Çok halkalı aromatik bileşiklerin kromatografik ayırımında, ODT bağlı-poli(POSS-MA) monolit için kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimi. ODT derişimi: 406.5 mg/mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı: 0.29 mg/mg. Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. UV dedektör, 214 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. tiyoüre, 2. toluen, 3. naftalin, 4. floren, 5. fenantren, 6. florenten, 7. piren

4.6. Fotopolimerizasyon ve TiyoL-En Katılması ile Sentezlenen Monolitler ile Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi Çalışmaları

4.6.1. MSA Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Nükleositlerin Kromatografik Ayrımı

MSA bağlı poli(POSS-MA) kolonlarının hidrofilik etkileşim kromatografisinde sabit faz olarak kullanıldığı çalışmalarda üç farklı analit grubu (nükleositler, nükleotidler, organik asit türevleri) ile çalışılmıştır. Nükleosit karışımının ayrılması için yapılan çalışmalarda ACN/amonyum asetat tampon çözeltisi kullanılmıştır.

İlk olarak hareketli fazda tampon derişiminin kromatografik performansa etkisinin ölçülmesi amacıyla sabit bir hareketli faz bileşiminde ve akış hızında nükleositlerin ayrımı yapılmıştır. Bu amaçla elde edilen kromatogramlar ile değişen tampon derişiminin kolonun kademe yüksekliğine etkisi şekil 4.64'te ve pik çözünürlüğü değerleri ise tablo 4.24'te verilmektedir. En düşük kademe yüksekliği 100 mM tampon çözeltisi ile elde edilmiş ve deneylerde bu derişim değeriyle hazırlanan hareketli fazlar kullanılmıştır.

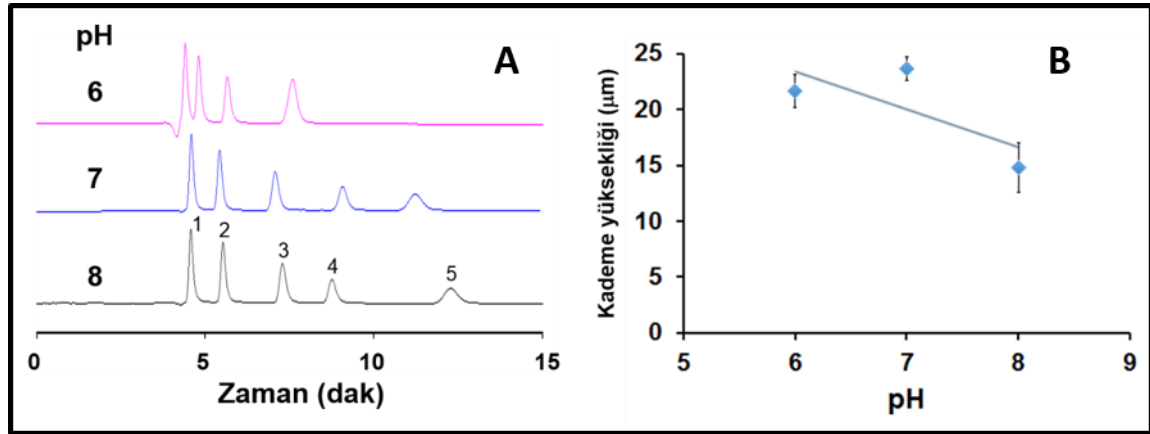


Şekil 4.64. A) Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için farklı amonyum asetat tampon derişimleri ile alınan kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitidin, 5. guanozin. B) Kademe yüksekliğinin amonyum asetat tampon derişimi ile değişimi. Analit: timidin. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 μm i.ç. x 300 mm uzunluk, Hareketli faz: 90/10 mL/mL ACN/amonyum asetat tamponu, pH: 8.0, Akış hızı: 1 $\mu\text{L}/\text{dak}$, izleme: DAD, 254 nm.

Tablo 4.24. Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün tampon derişimi ile değişimi.

Tampon derişimi (mM)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃	R ₅₄
0	3.11	4.06	3.70	4.13
100	3.52	5.18	3.82	5.65
200	4.47	6.27	4.27	6.56

şekil 4.65'te farklı pH değerlerine sahip hareketli fazlarla alınan kromatogramlar verilmektedir. Kromatogramlar ve bu kromatogramlardan elde edilen pik çözünürlük değerleri (tablo 4.25) incelendiğinde artan pH değerlerinde piklerin birbirinden ayrıldığı fakat analiz süresinin uzadığı görülmektedir. şekil 4.65'te pH'in artışının kademe yüksekliğinde bir düşüşe yol açması sebebiyle, uygun pH değeri, 8 olarak belirlenmiştir.

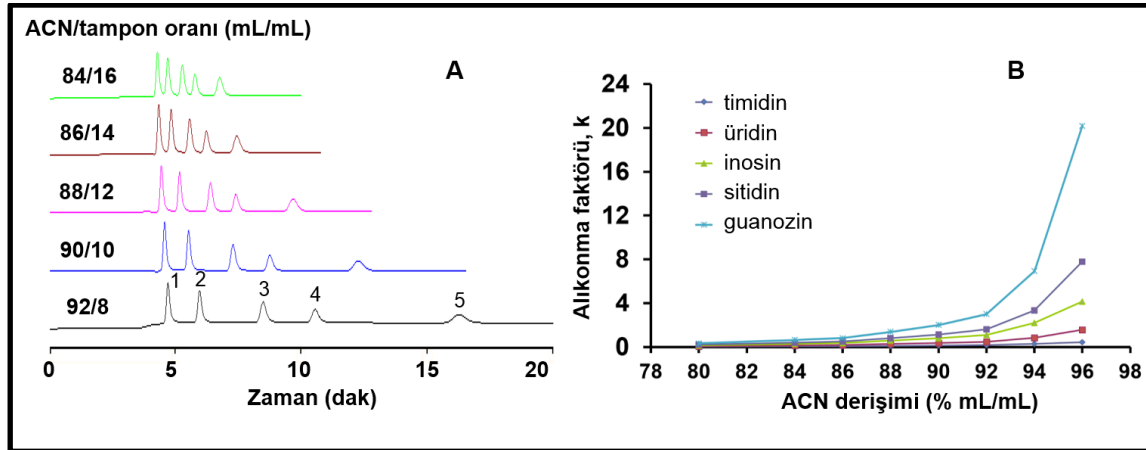


şekil 4.65. (A) Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monolitinin farklı hareketli faz pH değerleri ile alınan kromatogramlar, Çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitidin, 5. guanozin, (B) Kademe yüksekliğinin hareketli faz pH değeri ile değişimi, Analit: timidin. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 μm i.ç. x 300 mm uzunluk, Hareketli faz: pH 8, 90/10 mL/mL ACN/amonyum asetat tamponu, Akış hızı: 1 μL/min, izleme: DAD, 254 nm.

Tablo 4.25. Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün hareketli faz pH değeri ile değişimi

pH	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃	R ₅₄
6	1.37	2.50	4.58	-
7	2.77	4.50	4.28	3.31
8	4.05	5.87	3.65	5.65

Nükleositlerin ayrımı için en uygun hareketli faz bileşiminin pH=8'de ACN/100mM amonyum asetat tamponu olarak seçilmesinin ardından farklı ACN/tampon oranlarında analizler tekrarlanmıştır. Bu analizler ile elde edilen kromatogramlar ve pik çözünürlüğü değerleri sırasıyla şekil 4.66A'da ve tablo 4.26'da verilmiştir. Buna göre artan ACN derişiminde piklerin birbirinden ayrılması HILIC modunun mekanizmasından ileri gelen kolon davranışının bir sonucudur. Bu çıkarımı şekil 4.66B'de birbirinden uzaklaşan alıkonma faktörü değerleri doğrulamaktadır. Artan ACN derişimi iyi bir pik çözünürlüğü sağlamakta fakat analiz süresini uzatmaktadır. Bu yüzden nükleositlerin ayrımı için en uygun ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranı 90/10 mL/mL olarak seçilmiştir.

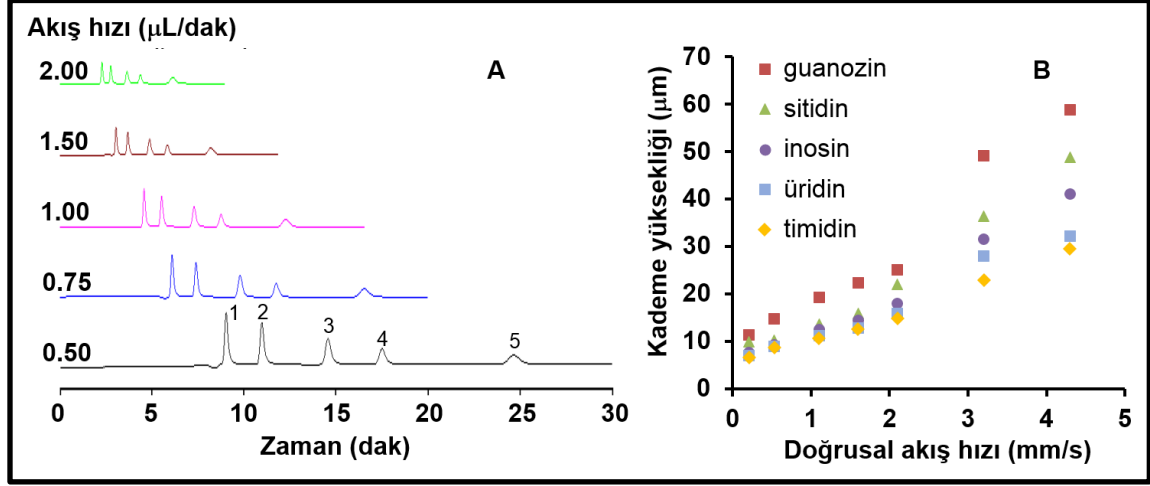


Şekil 4.66. A) Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranları ile alınan kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitidin, 5. guanozin. (B) Alıkonma faktörünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm uzunluk, ACN/ 100 mM amonyum asetat tampon oranı: değişken, pH: 8.0, Akış hızı: 1 µL/dak, izleme: DAD 254 nm.

Tablo 4.26. Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün ACN/amonyum asetat oranı ile değişimi.

ACN/Tampon oranı (v/v)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃
86/14	3.22	3.75	0.61
88/12	4.16	4.23	1.70
90/10	4.75	5.10	3.19
92/8	6.07	7.15	5.36
94/6	7.94	10.11	11.21
96/4	9.82	11.53	12.06

Bir sonraki aşamada pH=8'de 90/10 mL/mL ACN/100mM amonyum asetat tamponu oranında akış hızı taraması yapılmıştır. Bu tarama ile elde edilen kromatogramlar ve bu kromatogramlardan hesaplanan artan pik çözünürlüğü değerleri şekil 4.67A ve tablo 4.26'da verilmiştir. Sonuçta akış hızının artmasıyla analiz süresi kısaltmakta ve pik çözünürlük değerleri azalmaktadır. Şekil 4.67B'de verilen akış hızına karşı kademe yüksekliği grafiğinde artan akış hızında analitlerin alıkonma süresinin azalması ve monolit-analit etkileşiminin daha kısa sürede gerçekleşmesi sebebiyle kademe yüksekliğinin artması beklenen bir durumdur.



Şekil 4.67. A) Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için değişen hareketli faz akış hızları ile alınan kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitidin, 5. guanozin. (B) Kademe yüksekliğinin akış hızı ile değişimi. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm uzunluk, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranı: 90/10 mL/mL, pH: 8.0, izleme: DAD 254 nm.

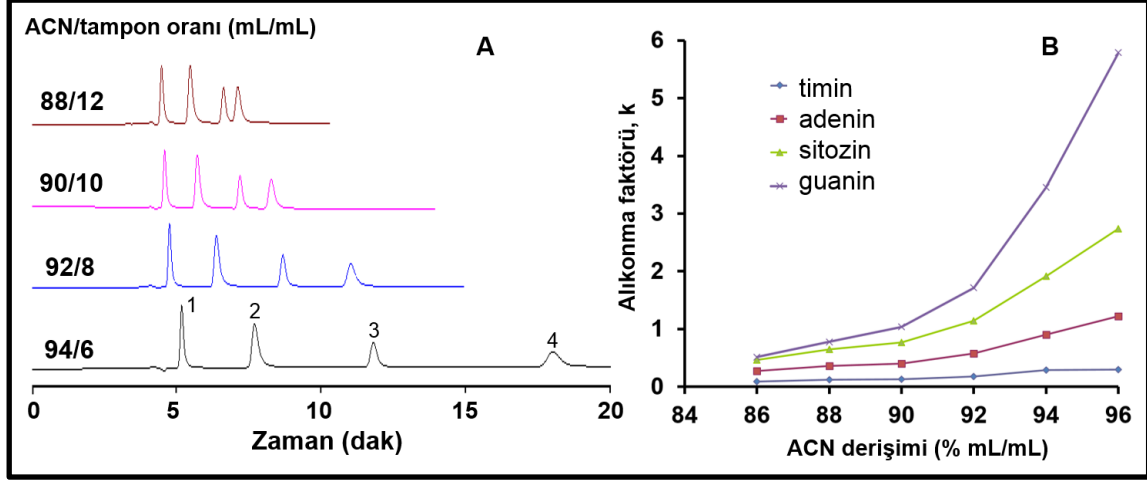
Tablo 4.27. Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün hareketli faz akış hızı ile değişimi

Akış hızı (µL/dak)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃	R ₅₄
0.10	7.27	9.51	6.43	10.84
0.25	5.63	8.61	6.23	8.96
0.50	4.62	7.12	5.05	7.22
0.75	4.24	6.04	3.88	6.10
1.00	3.89	5.58	3.59	5.43
1.50	3.33	4.66	3.06	4.85
2.00	2.54	3.72	2.45	4.07

4.6.2. MSA Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Nükleotitlerin Kromatografik Ayrımı

MSA bağlı hidrofilik özellikteki poli(POSS-MA) monolitler ile ikinci aşamada nükleik asitlerin temel yapıtaşı olan nükleotitlerin ayrımı çalışması yapılmıştır. Buna göre ACN/100mM amonyum asetat tamponu ile pH 7'de hareketli fazdaki ACN

derişiminin değiştiği kromatogramlar (şekil 4.68A) ve pik çözünürlüğü değerleri (tablo 4.28) verilmiştir. Artan ACN derişimi ile alıkonma faktörünün artışı şekil 4.68B'de görülmektedir. Buna göre ACN derişiminin artması, piklerin birbirinden iyi bir biçimde ayrılmasını sağlamakta fakat birbirinden uzaklaşan alıkonma faktörü değerleri analiz süresinin uzamasına neden olmaktadır. Bu iki durumdan yola çıkılarak en uygun hareketli faz derişimi 90/10 mL ACN/100mM asetat tamponu olarak seçilmiştir.

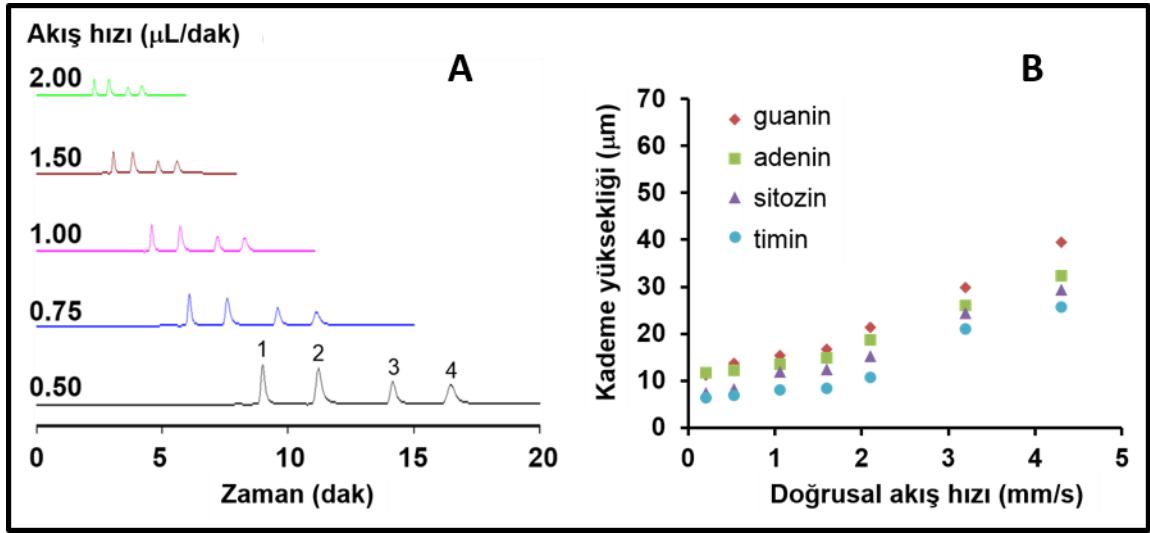


şekil 4.68. A) Nükleotitlerin kromatografik ayırımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için farklı ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranları ile alınan kromatogramlar. ıkış sırası: 1. timin, 2. adenin, 3. sitozin, 4. guanin. (B) Alıkonma faktörünün hareketli fazdaki ACN derişimi ile değişimi. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 μ m i.. x 300 mm, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranı: değişken, pH: 7.0, Akış hızı: 1 μ L/dak, izleme: DAD 254 nm.

Tablo 4.28. Nükleotitlerin kromatografik ayırımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün farklı ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranları ile değişimi

ACN/Tampon oranı (v/v)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃
86/14	3.22	3.75	0.61
88/12	4.16	4.23	1.70
90/10	4.75	5.10	3.19
92/8	6.07	7.15	5.36
94/6	7.94	10.11	11.21
96/4	9.82	11.53	12.06

90/10 mL ACN/100mM asetat tamponunun pH 7'ye getirilmesiyle hazırlanan hareketli faz ile nükleotitlerin analit olarak kullanımıyla farklı akış hızlarında kolon performansı incelenmiştir. Bu amaçla elde edilen şekil 4.69A'daki kromatogramlar ve bu kromatogramlardan elde edilen ve tablo 4.29'da verilen pik çözünürlük değerlerine bakıldığında, artan hareketli faz akış hızlarında daha düşük pik çözünürlüğü değerlerinin elde edildiği görülmektedir. Bu durum şekil 4.69B'de görüldüğü gibi kademe yüksekliğinin akış hızıyla artışını açıklamaktadır. Yine aynı grafikte farklı analitlerin kademe yüksekliği değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir. Buda sentezlenen kolonun alıkonma süresinden bağımsız ayırma performansına işaret etmektedir.



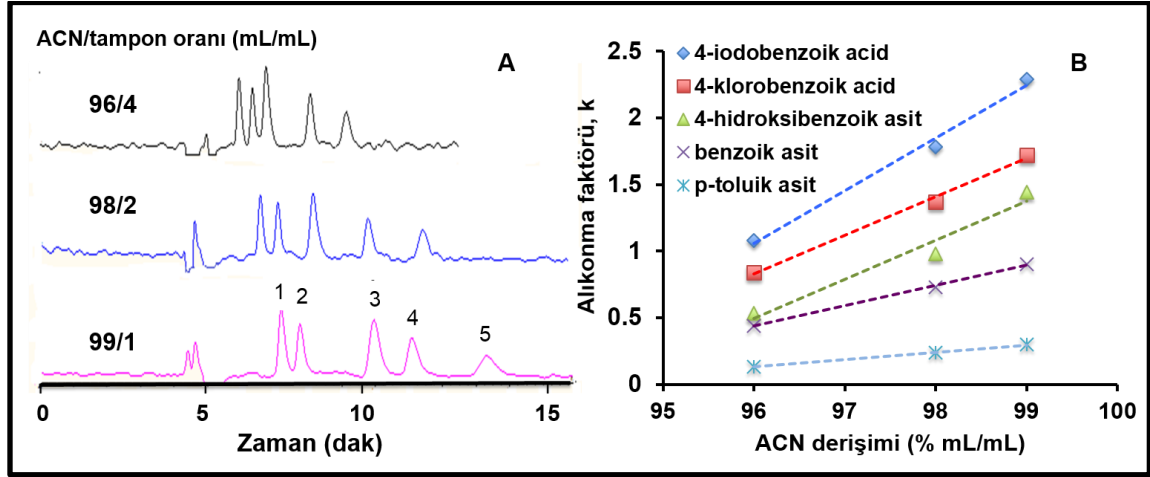
Şekil 4.69. A) Nükleotitlerin kromatografik ayırımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için farklı hareketli faz akış hızları ile alınan kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. timin, 2. adenin, 3. sitozin, 4. guanin. (B) Kademe yüksekliğinin akış hızı ile değişimi. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 µm i.ç. x 300 mm uzunluk, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranı: 90/10 mL/mL, pH: 7.0, izleme: DAD 254 nm.

Tablo 4.29. Nükleotitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün hareketli faz akış hızı ile değişimi

Akış hızı ($\mu\text{L}/\text{dak}$)	R_{21}	R_{32}	R_{43}
0.10	6.55	7.72	5.88
0.25	6.32	8.24	5.60
0.50	6.26	6.86	4.63
0.75	5.11	6.15	3.74
1.00	4.75	5.10	3.19
1,50	3.83	4.61	2.96
2.00	3.30	3.93	2.36

4.6.3. MSA Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Organik Asitlerin Kromatografik Ayrımı

MSA bağlı poli(POSS-MA) monolitler ile organik asitlerin kromatografik ayrımı çalışmalarının hemen başında tıpkı nükleosit ve nükleotit ayrırımlarında olduğu gibi bir ön çalışma yapılmış ve hareketli faz için pH 7 ve ACN/100mM amonyum asetat tamponu kullanımı seçilmiştir. Seçilen bu şartlarda ACN oranının değiştirilmesiyle elde edilen kromatogramlar ve bu kromatogramlardan elde edilen pik çözünürlük değerleri sırasıyla şekil 4.70A'da ve tablo 4.30'da verilmiştir. Buna göre en uygun ACN/asetat tamponu oranı olaak 98/2 mL/mL seçilmiştir.

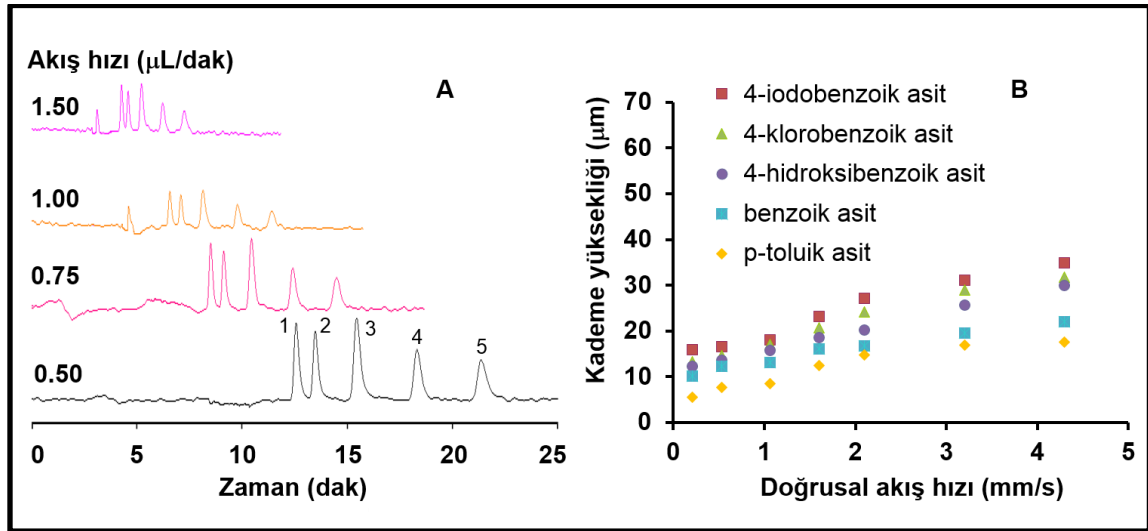


Şekil 4.70. (A) Organik asitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için hareketli fazdaki farklı ACN derişimleri ile alınan kromatogramlar. (B) kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. Çıkış sırası: 1. p-toluik asit, 2) benzoik asit, 3) 4-hidroksibenzoik asit, 4) 4-klorobenzoik asit, 5) 4-iyodobenzoik asit. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 μm i.ç. x 300 mm uzunluk, Hareketli faz: ACN/ amonyum asetat tamponu, pH: 7.0, Akış hızı: 1 $\mu\text{L}/\text{dak}$, izleme: DAD 254 nm

Tablo 4.30. Organik asitlerin kromatografik ayrımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün ACN/amonyum asetat oranı ile değişimi.

ACN/tampon oranı	R_{21}	R_{32}	R_{43}	R_{54}
96/4	1.35	1.23	3.75	2.54
98/2	1.64	2.77	3.57	3.11
99/1	1.37	4.01	1.69	2.64

ACN/asetat tamponu oranı olarak seçilen 98/2 mL/mL ile yapılan akış taramasında (şekil 4.71A) artan akış hızında beklenildiği gibi azalan pik çözünürlüğü değerlerine sahiptir (Tablo 4.31) Ayrıca Şekil 4.71B'de kademe yüksekliği bu artıştan ancak sınırlı bir biçimde etkilenmektedir. Bu da akış hızı değişiminin kolonun performansı üzerine olumsuz bir etki yaratmadığını ortaya koymaktadır. Dolayısıyla organik asit analitlerinin ayrımı başarıyla sağlanabilmektedir.



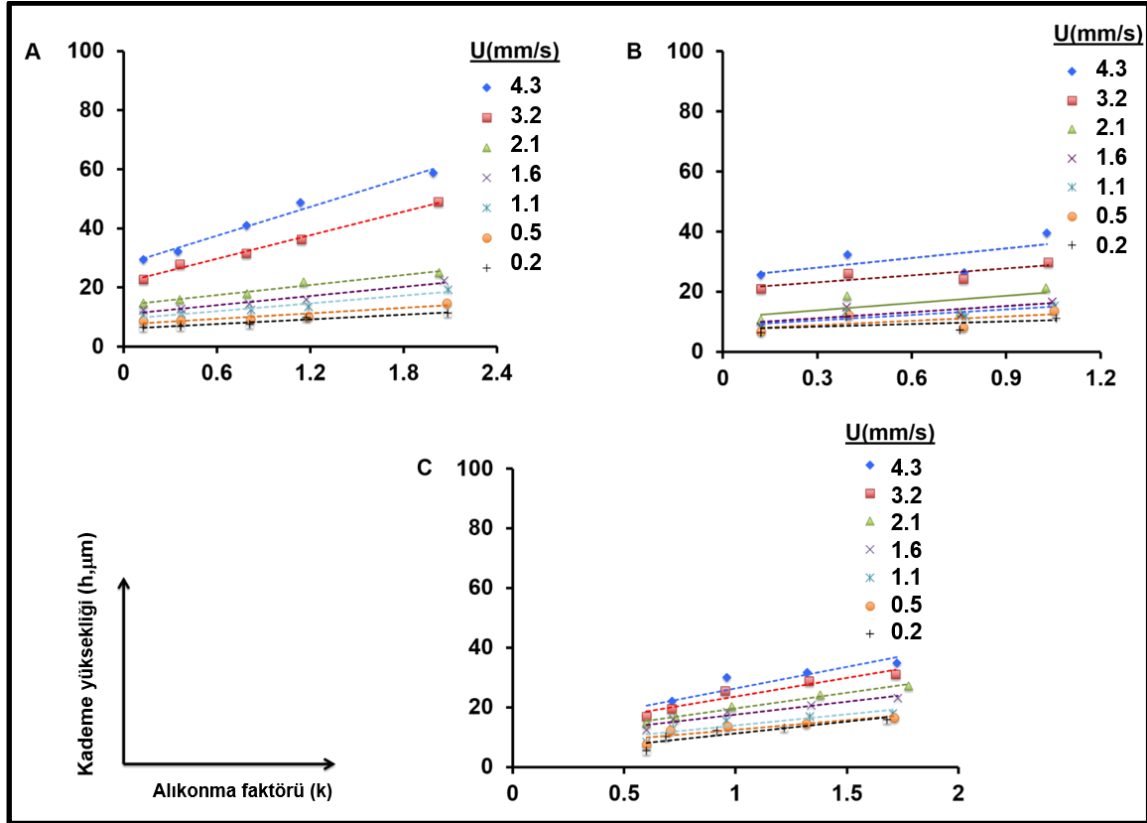
Şekil 4.71. A) Organik asitlerin kromatografik ayırımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için farklı hareketli faz akış hızları ile elde edilen kromatogramlar. Çıkış sırası: 1. p-toluik asit, 2) benzoik asit, 3) 4-hidroksibenzoik asit, 4) 4-klorobenzoik asit, 5) 4-iyodobenzoik asit. (B) Kademe yüksekliğinin akış hızı ile değişimi. Kromatografik koşullar: Kolon: 100 μm i.ç. x 300 mm uzunluk ACN/100 mM amonyum asetat tamponu oranı: 98/2 v/v, pH: 8.0, izleme: DAD 214 nm.

Tablo 4.31. Organik asitlerin kromatografik ayırımında MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün hareketli faz akış hızı ile değişimi

Akış hızı ($\mu\text{L/dak}$)	R_{21}	R_{32}	R_{43}	R_{54}
0.10	3.77	5.51	6.33	5.62
0.25	2.15	4.11	4.77	4.16
0.50	1.97	3.59	4.23	3.62
0.75	1.78	3.19	3.67	3.51
1.00	1.64	2.77	3.57	3.11
1,50	1.50	2.26	2.82	2.29
2.00	1.14	2.03	2.57	2.24

MSA bağlı poli(POSS-MA) monolitinin kullanılarak uygun hareketli faz özelliklerinde nükleositlerin, nükleotitlerin ve organik asitlerin ayırımında, söz konusu kolonların çalışmanın ana amaçlarından biri olan “alınma süresinden bağımsız kolon verimi” özelliğine sahip olduğunun desteklenmesi için her bir analit grubu için alınma faktörünün kademe yüksekliği ile değişimi şekil 4.72’de birarada değerlendirilmiştir.

Buna göre nükleotit ve organik asit grafiklerinde alıkonma faktörünün artmasıyla kademe yüksekliğinin önemli bir değişikliğe uğramaması alıkonmadan bağımsız kolon performansına işaret etmektedir. Nükleosit grafiği için durum biraz farklı olmakla birlikte 2.1 mm/s doğrusal akış hızı değerine kadar bu özellik geçerlidir. Bu yüzden nano-1c ile yapılan tüm analizlerde 2.0 mm/s azami akış hızı olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.72. MSA bağlı poli(POSS-MA) monoliti ile hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda farklı hidrofilik moleküllerin izokratik ayırımında kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimi. Analit grupları: (A) Nükleosidler, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu: 90/10 v/v, pH 8.0, (B) Nükleotidler, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu: 90/10 v/v, pH 7.0, (C) Organik asitler, ACN/100 mM amonyum asetat tamponu: 98/2 v/v, pH 7.0.

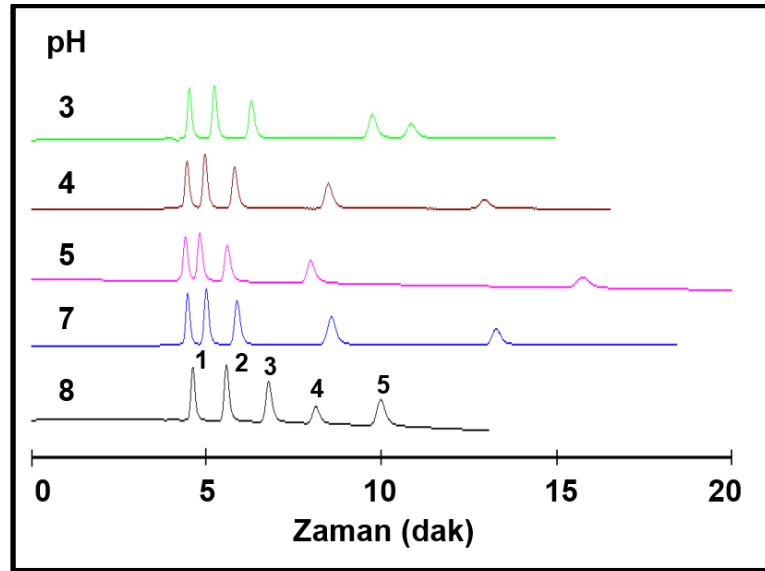
4.6.4. GT Bağlı poli(POSS-MA) Monolitler İle Nükleositlerin Kromatografik Ayırımı

Hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda glutatyonun (GT) ligand olarak kullanıldığı monolitik kolonlarda kromatografik analiz çalışmaları yapılmıştır. Fotopolimerizasyon ile monolitik yapının oluşturulduğu ve tiyol-en katılmasıyla da GT'nin yapıya bağlandığı monolit ile nükleosit, nükleotit ve organik asitlerin ayrımı

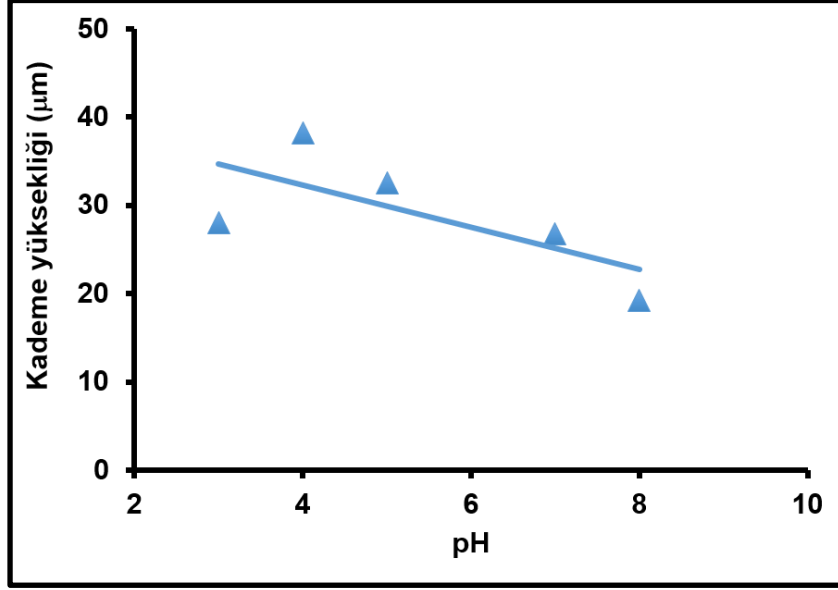
amaçlanmıştır. Yapılan ön çalışmalarda sadece nükleositlerin ayrılması için gerçekleştirilen analizlerde sağlıklı kromatogramlar elde edilebilmiştir.

Bu durum, nükleositin diğer analit gruplarına göre daha yüksek hidrofilik özelliğe sahip olmasından ileri gelmektedir. Yüksek hidrofilisite monolitik yapıyla olan yüksek etkileşimin de kaynağını oluşturmaktadır ki bu sayede uygun alıkonma süreleri ile yeterli pik çözünürlüğünde bir ayırım sağlanmaktadır. Nükleotit ve organik asitlerde böylesi bir etkileşimin yeterince olmadığı düşünülebilir. Nükleositlerin ayrımı için yapılan ön çalışmada, ortamın pH değişiminin analiz sonrası elde edilen kromatogramlar üzerinde dikkat çekici düzeyde değişiklik yaratması nedeniyle, seçilen sabit bir ACN/su oranı (94/6 mL/mL) ile sabit bir hareketli faz akış hızında (1.0 µL/dak) pH taraması yapılmıştır.

Şekil 4.73'teki bu tarama sonucunda elde edilen kromatogramlara bakıldığında artan pH değerinde analiz süresinde bir değişim olmadığı görülmektedir. Fakat en kısa sürede belirgin bir ayırımın sağlandığı görülebilen pH=8 değeri bu aşamada iyi bir tercihtir. Şekil 4.74'te verilen kademe yüksekliğinin pH ile değiştiği grafiğe bakıldığında düşük kademe yüksekliğine artan pH ile ulaşıldığı görülmektedir.

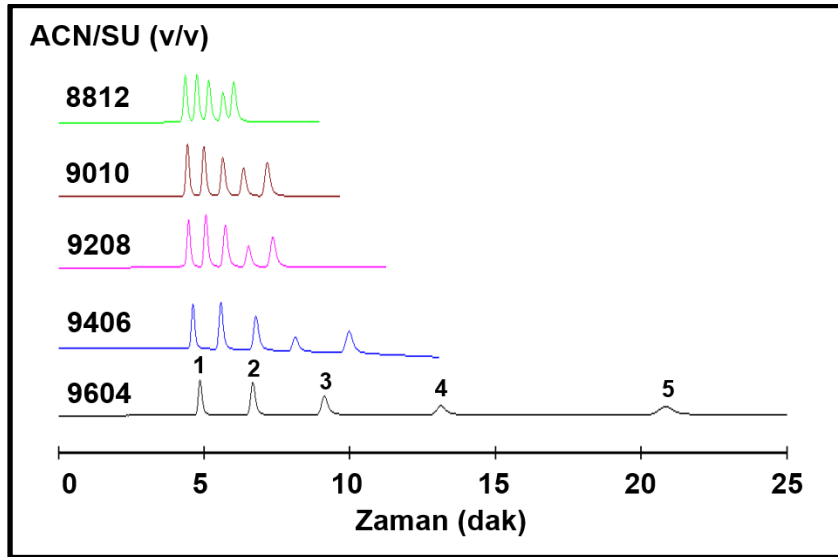


Şekil 4.73. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için hareketli fazın pH değişimi ile alınan kromatogramlar. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12 Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı (µL/dak): 1.0, Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, Hareketli fazda ACN/su hacimsel oranı (mL/mL): 94/6. pH değerleri kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 254 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitozin, 5. guanozin.



Şekil 4.74. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için kademe yüksekliğinin pH ile değişimi. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12 Analit: timidin.

pH'ın 8 olduğu hareketli faz ortamında sabit akış hızında farklı ACN/su oranları ile kromatogramlar (şekil 4.75) alınmış ve bu kromatogramlar yardımıyla piklerin çözünürlük değerleri hesaplanmıştır. (tablo 4.32) Artan ACN oranıyla piklerin birbirinden daha iyi ayrıldığı açıkça görülmektedir.

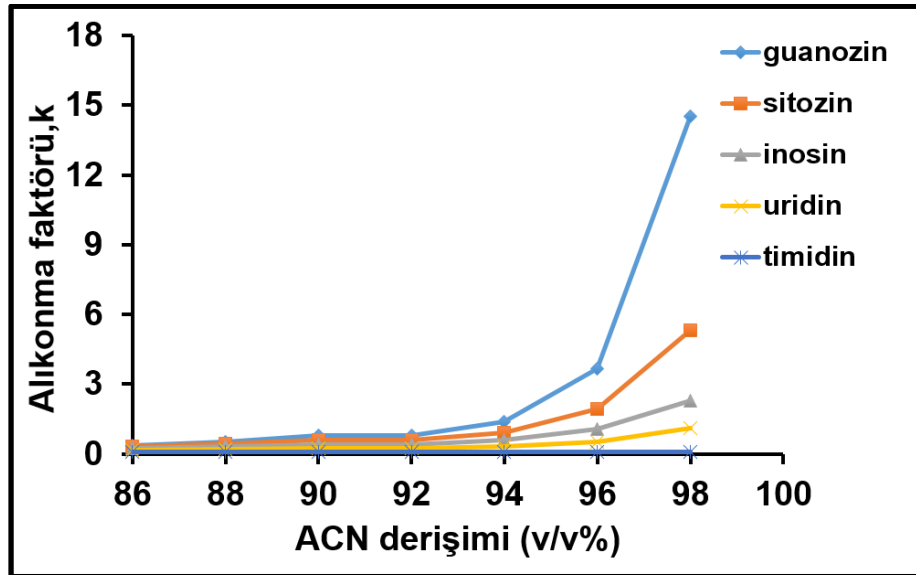


Şekil 4.75. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için ACN derişiminin değişimi ile alınan kromatogramlar. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12 Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Akış hızı (µL/dak): 1.0, Hareketli faz: pH 8, ACN+Su + % 0.05 AAc, pH 8, ACN/su oranları (mL/mL) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 254 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitozin, 5. guanozin.

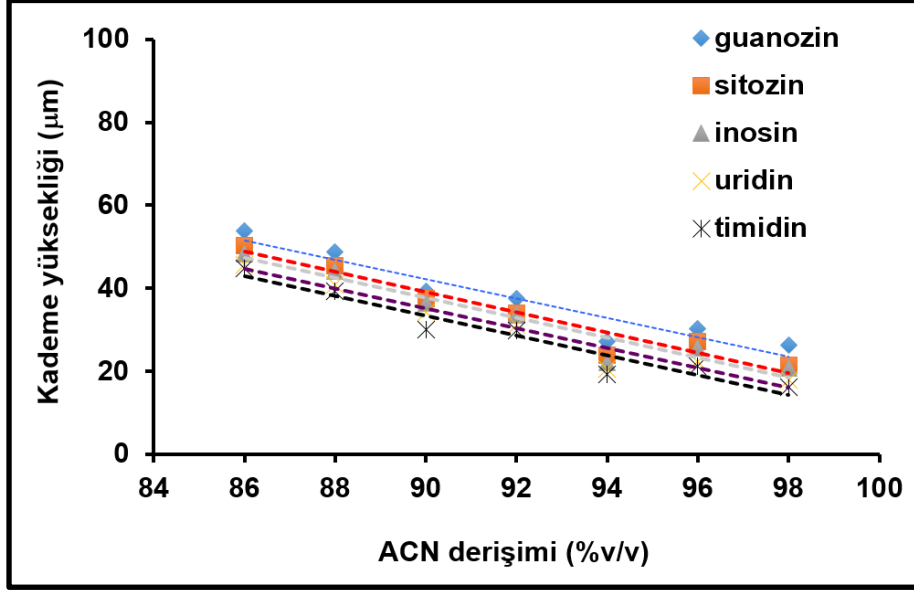
Tablo 4.32. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün ACN derişimi ile değişimi.

ACN/su (%v/v)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃	R ₅₄
86/14	0.86	1.00	0.80	0.53
88/12	1.42	1.50	1.67	1.16
90/10	2.02	2.34	2.46	2.37
92/8	2.25	2.46	2.55	2.40
94/6	3.61	3.90	4.22	4.38
96/4	6.18	6.81	7.73	9.42
98/2	10.00	11.62	12.38	16.50

şekil 4.76.'da alıkonma faktörünün de her bir analit için artan ACN derişimi ile birbirinden uzaklaştığı, dolayısıyla artan analiz süreleri ile karşılaşıldığı da gözden kaçmamalıdır. şekil 4.77'deki grafikte artan ACN'nin, düşük kademe yüksekliğine işaret etmesine rağmen bu bilgi, ACN seğiminde yüksek değerlere çıkılması analiz süresini çok uzatmaktadır. Bu yüzden uygun ACN/su oranı olarak 94/6 mL/mL seğilmiştir.

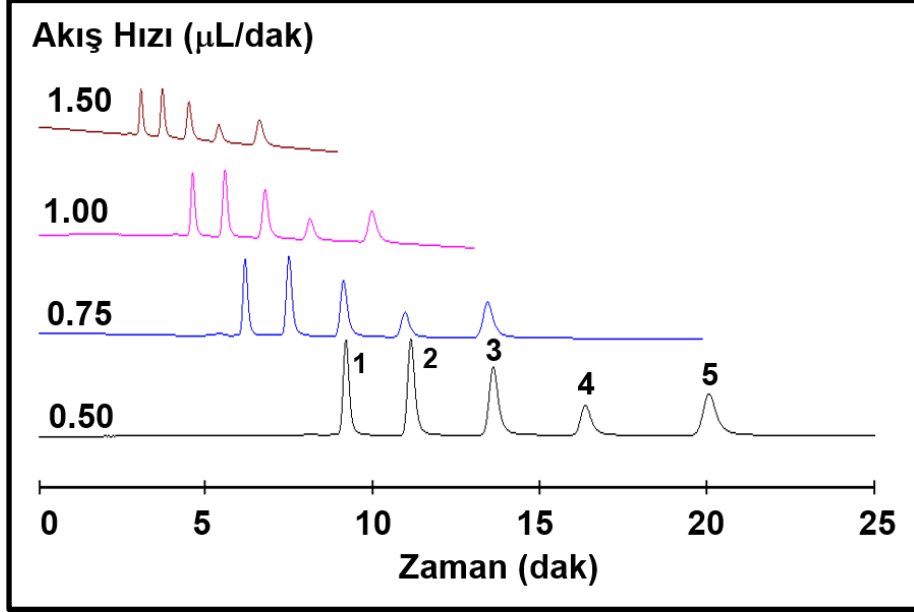


şekil 4.76. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için alıkonma faktörünün ACN derişimi ile değişimi. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12



Şekil 4.77. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağı-poli(POSS-MA) monoliti için kademe yüksekliğinin ACN derişimi ile değişimi. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12

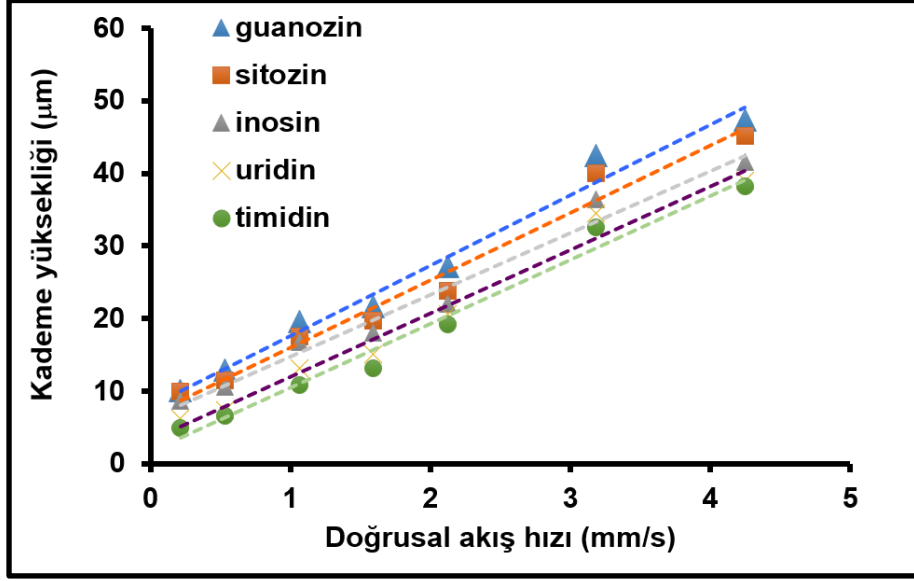
ACN/su oranı ve pH değerinin belirlenmesi ile bu hareketli faz içeriğinde farklı akış hızlarında kromatogramlar (şekil 4.78) ve bu kromatogramlardan referans alınarak pik çözünürlük değerleri alınmıştır (tablo 4.33). Buna göre artan akış hızları ile piklerin birbirine yaklaşarak pik çözünürlüğü değerlerini düşürmesi makul bir sonuçtur. Şekil 4.79'da verilen akış hızına karşı kademe yüksekliği grafiğinde de artan akış hızında analitlerin alıkonma süresinin azalması ve monolit-analit etkileşiminin daha kısa süre boyunca gerçekleşmesi sebebiyle kademe yüksekliğinin artması beklenen bir durumdur.



Şekil 4.78. Nükleositlerin kromatografik ayırımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için hareketli faz akış hızının değişimi ile alınan kromatogramlar. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12 Kolon: 300 mm x 100 µm iç çap. Hareketli faz: ACN+Su + % 0.05 AAc, Hareketli fazda ACN/su hacimsel oranı (mL/mL): 94/6. Akış hızları (µL/dak) kromatogramlar üzerinde gösterilmektedir, UV dedektör, 254 nm, Kolondan çıkış sırası: 1. timidin, 2. uridin, 3. inosin, 4. sitozin, 5. guanozin

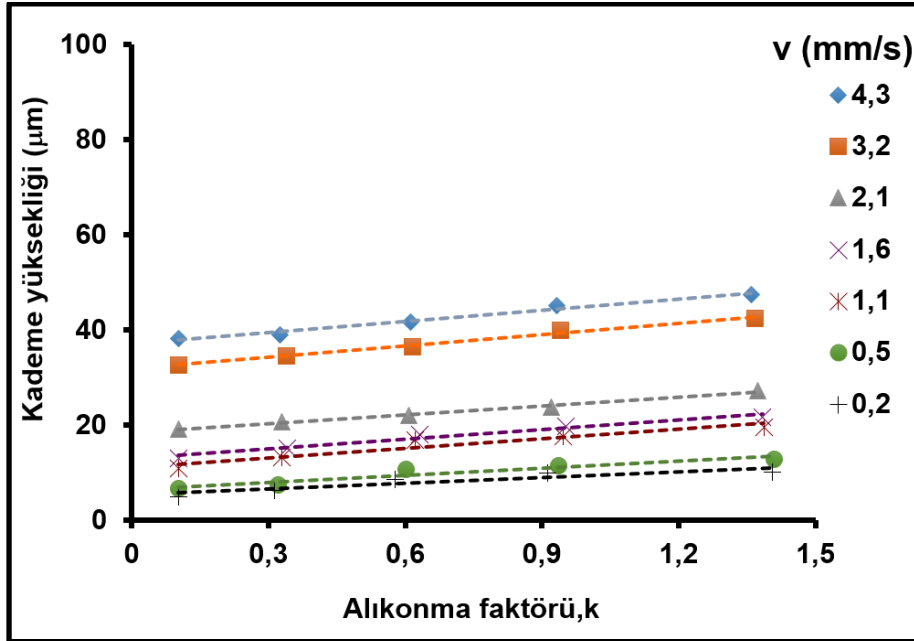
Tablo 4.33. Nükleositlerin kromatografik ayırımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için pik çözünürlüğünün akış hızı ile değişimi

Akış hızı (µL/dak)	R ₂₁	R ₃₂	R ₄₃	R ₅₄
0.10	6.66	6.71	7.31	8.40
0.25	5.86	6.23	7.02	7.25
0.50	5.00	5.13	5.35	5.85
0.75	4.43	4.56	4.77	5.13
1.00	3.61	3.90	4.22	4.38
1.50	3.17	3.21	3.31	3.62
2.00	2.78	2.96	3.15	3.21



Şekil 4.79. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için kademe yüksekliğinin doğrusal akış hızı ile değişimi. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12

Sentezlenen tüm kolonlar için alıkonma süresinden bağımsız kolon performansı özelliğine GT bağlı monolitik kolon ile de ulaşıldığı şekil 4.80’de verilen grafikte de açıkça görülebilmektedir.



Şekil 4.80. Nükleositlerin kromatografik ayrımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için kademe yüksekliğinin alıkonma faktörü ile değişimi. Glutasyon derişimi: 609.8 mg GT /mL monomer. Monomer/gözenek yapıcı oranı derişimi (mg/mg): 0.12.

4.7. Fotopolimerizasyon ve Tiyol-En Katılması ile Sentezlenen POSS-MA Bazlı Monolitlerin Tekrarlanabilirlik Sonuçları

Bölüm 2.5.5'te kromatografik çalışmalarda sentezlenen sabit faz ile aynı analiz koşullarında, arka arkaya veya farklı zaman dilimlerinde alınmış kromatogramlardaki değişim olarak ifade edilen tekrarlanabilirlik, kolonun aynı şartlarda birden fazla kullanımı durumunda kolonun analit ayırma performansının ne ölçüde değiştiği konusunda fikir sahibi olunmasını sağlamaktadır. Bu çalışmada ODT, MSA ve GT'nin varlığında sentezlenen monolitik kolonlar ile arkaya yapılan 10 adet analiz sonucunda elde edilen "analizden analize tekrarlanabilirlik" değerleri ve 10 ardışık günde yapılan birer analiz sonucunda elde edilen "günden güne tekrarlanabilirlik" değerleri hesaplanarak değerlendirilmiştir.

4.7.1. ODT Bağlı-Poli(POSS-MA) Monolit İçin Tekrarlanabilirlik Sonuçları

ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerinin iki farklı tekrarlanabilirlik parametresini (analizden analize ve günden güne) ifade eden bağıl standart sapma değerleri, sabit hareketli faz koşullarında alkilbenzenlerin ayrılması için yapılan analizlerdeki alıkonma süreleri ile hesaplanmıştır. Bu değerler tablo 4.34'te gösterilmiştir. Buna göre analizden analize tekrarlanabilirlik sonuçlarının tümü %1'in altında kalmıştır ki bu monolitin çok iyi bir günlük kullanım tekrarlanabilirliğine sahip olduğunu göstermektedir. Günden güne tekrarlanabilirlik değerlerine de bakıldığında ise hepsinin bölüm 2.5.5'te ifade edildiği üzere iyi tekrarlanabilirlik için gerekli olan % 5'ten daha düşük olduğu görülmektedir. Bu sayede sentezlenen kolonların alıkonma süresinden bağımsız kolon verimi özelliğinin yanında iyi tekrarlanabilirlik özelliğine de sahip olduğu görülmektedir.

Tablo 4.34. Alkilbenzenlerin kromatografik ayrımında ODT bağı poli(POSS-MA) monoliti için “analizden analize” ve “günden güne” tekrarlanabilirlik değerleri

Analit	Analizden analize tekrarlanabilirlik BSS(%)	Günden güne tekrarlanabilirlik BSS (%)
Benzen	0.67	2.14
Toluen	0.83	3.23
Etilbenzen	0.85	3.29
Propilbenzen	0.89	3.33
Bütilbenzen	0.92	3.85

4.7.2. MSA Bağı-Poli(POSS-MA) Monolit İçin Tekrarlanabilirlik Sonuçları

MSA bağı poli(POSS-MA) monolit için tablo 4.35'te nükleositler için verilen tekrarlanabilirlik sonuçlarına göre en yüksek hidrofilik özelliğe sahip ve en yüksek alıkonma süresine sahip guanozin hariç, tüm analitler için analizden analize tekrarlanabilirlik sonuçları %1 ve günden güne tekrarlanabilirlik sonuçları da %2 değerinin altındadır. Genel olarak tekrarlanabilirlik için % 5'in altında bir değer uygun olduğu düşünüldüğünde sözkonusu monolitin tekrarlanabilirlik açısından başarılı bir kolon olduğu görülmektedir.

Tablo 4.35. Nükleositlerin kromatografik ayrımında MSA bağı poli(POSS-MA) monoliti için “analizden analize” ve “günden güne” tekrarlanabilirlik değerleri

Analit	Analizden analize tekrarlanabilirlik BSS(%)	Günden güne tekrarlanabilirlik BSS (%)
Timidin	0.32	0.49
Üridin	0.54	0.68
İnosin	0.88	1.24
Sitidin	0.99	1.68
Guanozin	1.62	2.63

4.7.3. GT Bağlı-Poli(POSS-MA) Monolit İçin Tekrarlanabilirlik Sonuçları

Tablo 4.36’da verilen GT bağlı poli(POSS-MA) için nükleosit analit grubu ile alınan tekrarlanabilirlik sonuçlarına göre hem analizden analize, hem de günden güne tekrarlanabilirlik sonuçlarının %1’in altında olduğu görülebilmektedir. Bu da mevcut kolonun iyi bir tekrarlanabilirlik özelliğine sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.36. Nükleositlerin kromatografik ayırımında GT bağlı-poli(POSS-MA) monoliti için “analizden analize” ve “günden güne” tekrarlanabilirlik değerleri

Analit	Analizden analize tekrarlanabilirlik BSS (%)	Günden güne tekrarlanabilirlik BSS (%)
Timidin	0.12	0.19
Üridin	0.17	0.23
İnosin	0.29	0.38
Sitozin	0.26	0.35
Guanozin	0.15	0.21

5. SONUÇLAR

Tez çalışması kapsamında yapılan deneyler ve bu deneylerden elde edilen verilerin ışığında bir değerlendirme yapacak olunursa,

- POSS-MA'nın ana monomer EDMA'nın da çapraz bağlı olarak kullanıldığı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitleri termal etki ile serbest radikal polimerizasyonu metodu kullanılarak üç farklı grupta monolit sentezi yapılmıştır, ilk grupta mikrogözenek yapıcı (n-PrOH) miktarı değiştirilmeden, makrogözenek yapıcı (1,4-BD) miktarı değiştirilmiştir. İkinci grupta ise gözenek yapıcı sistem hacmi değiştirilmeden mikrogözenek yapıcı/mikrogözenek yapıcı oranı ile oynanmış, üçüncü grupta ise polimerik gözenek yapıcı bileşenin (PEG 2000) etkisi incelenmiştir.
- Termal etki kullanılarak serbest radikal polimerizasyonu ile monolit yapısının oluşturulduğu ODT bağlı poli(POSS-MA-co EDMA) monolitler, ODT derişimi ve monomer/çapraz bağlayıcı ajan oranının derişimi ile sentezlenmiştir.
- Termal etki kullanılarak serbest radikal polimerizasyonu ile monolit yapısının oluşturulduğu MSA bağlı poli(POSS-MA-co-EDMA) monolitler, MSA'nın üç farklı derişiminde sentezlenmiştir.
- Termal etki ile sentezlenen hem hidrofobik özellikteki monolitler ile yapılan ters faz kromatografisi çalışmalarında, hem de hidrofilik özellikteki monolitler yapılan ile hidrofilik etkileşim kromatografisi çalışmalarında kromatografik ayırım için istenilen morfolojik özelliklere ve ideal bir hareketli faz akış rejimine ulaşamamıştır. Bu sonuçların gözlemlenmesi, fotopolimerizasyon ve tiyol-en bağlanmasının bir arada kullanıldığı metodun kullanılmasına gündeme getirmiştir.
- Fotopolimerizasyon ve tiyol-en kimyasının bir arada kullanıldığı sentez yöntemiyle öncelikle ODT bağlı poli(POSS-MA) monolitlerin ODT derişimi, monomer/gözenek yapıcı oranı, ve mikrogözenek yapıcı/makrogözenek yapıcı oranı değiştirilerek sentezlenmiştir.
- 18 karbon zincirine sahip bir alkantiyol olan ODT'nin yanısıra 4 karbon zincirine sahip BT ve 8 karbon zincirine sahip OT ligandları varlığında sentezlenen kolonlar ile hidrofobik ligandın sahip olduğu karbon zincir uzunluğunun derişimi ile kolonun morfolojik ve kromatografik özelliklerindeki derişim izlenmiştir.

- Hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda kullanılmak üzere, hidrofilik özellikteki monolitik kolonlar, tiyol gruplu MSA ve GT ligandlarının varlığında fotopolimerizasyon ve tiyol-en bağlanmasının bir arada kullanıldığı yöntemle sentezlenmiştir.
- Tüm monolitik kolonlar için taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüleri, akış hızlarına karşı kolonun uyguladığı geri basınç değerleri, gözenek dağılım eğrileri, özgül yüzey alanı değerleri ve geçirgenlik monolit morfolojisi ve hareketli faz akış rejimi konusunda bilgi sağlayan özellikler olarak belirlenmiştir.
- Fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılmasının bir arada kullanıldığı sentez yöntemiyle üretilen hidrofobik özellikteki alifatik ligandların (BT,OT,ODT) bağlı olduğu monolitler ile nano-sıvı kromatografisi sistemi kullanılarak ters faz kromatografisi modunda alkil benzenlerin kromatografik ayırımı yapılmıştır. Kromatogramlardan yola çıkılarak hesaplanan pik çözünürlüğü, kademe yüksekliği, alıkonma faktörü gibi kolon performansı için kritik parametreler göz önüne alınarak mevcut ligand türleri içerisinde en iyi kromatografik performansın ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit ile elde edildiği ortaya konmuştur.
- En iyi sentez koşullarına sahip ODT bağlı poli(POSS-MA) monolit ile ayrıca fenol türevleri ile çok halkalı aromatik hidrokarbonların kromatografik ayırımları sağlıklı bir biçimde gerçekleşmiştir.
- Fotopolimerizasyon ve tiyol-en katılmasının bir arada kullanıldığı sentez yöntemiyle üretilen hidrofilik özellikteki tiyol gruplu ligandların (MSA ve GT) bağlı olduğu monolitler hidrofilik etkileşim kromatografisi modunda seçilen analitlerin ayırımı için kullanılmıştır. MSA bağlı poli(POSS-MA) monolit ile nükleosit, nükleotit ve organik asit türevlerinin ayırımı söz konusu iken, GT bağlı poli(POSS-MA) monolitinde yapılan ön çalışmalarda yalnızca nükleositler ile tatmin edici bir ayırım elde edilmiştir.
- Hidrofobik ve hidrofilik özellikte kromatografik analizi yapılmış tüm organosilikon hibrid kolonların alıkonma faktöründen bağımsız kromatografik performans gösterdikleri ortaya konmuştur. Polimerik monolitlerin düşük çapraz bağ yoğunluğuna sahip mikrogözenekli bölgelerden kaynaklanan

dezavantajı, POSS'un çok uçlu polimerleşebilir gruplarının yüksek çapraz bağ yoğunluğu sağlaması ile ortadan kaldırılmıştır.

- ODT, MSA ve GT varlığında sentezlenen ve iyi kromatografik ayırım gözlenen monolitik kolonların tekrarlanabilirlik değerleri değerlendirilmiş, çıkan sonuçlar, monolitik yapının uzun süreli kullanım için uygun olduğunu göstermiştir.
- Sonuç olarak çalışma, nano-sıvı kromatografisi sisteminde yüksek kromatografik performansına sahip, mekanik ve kimyasal dayanımı yüksek, uzun ömürlü yeni bir sabit faz ailesinin geliştirilmiş olduğu anlamına gelmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Nischang, I., Brüggemann, O., On the separation of small molecules by means of nano-liquid chromatography with methacrylate-based macroporous polymer monoliths. *Journal of Chromatography A*, 1217(33), 5389-5397, **2010**.
- [2] Nischang, I., Teasdale, I., Brüggemann, O., Towards porous polymer monoliths for the efficient, retention-independent performance in the isocratic separation of small molecules by means of nano-liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1217(48), 7514-7522, **2010**.
- [3] Kip, Ç., Erkakan, D., Gökaltun, A., Çelebi, B., Tuncel, A., Synthesis of a reactive polymethacrylate capillary monolith and its use as a starting material for the preparation of a stationary phase for hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1396, 86-97, **2015**.
- [4] Alves, F., Nischang, I., Tailor-Made Hybrid Organic–Inorganic Porous Materials Based on Polyhedral Oligomeric Silsesquioxanes (POSS) by the Step-Growth Mechanism of Thiol-Ene “Click” Chemistry. *Chemistry–A European Journal*, 19(51), 17310-17313, **2013**.
- [5] Liu, Z., Ou, J., Lin, H., Liu, Z., Wang, H., Dong, J., Zou, H., Photoinduced thiol–ene polymerization reaction for fast preparation of macroporous hybrid monoliths and their application in capillary liquid chromatography. *Chemical Communications*, 50(66), 9288-9290, **2014**.
- [6] Shen, S., Ye, F., Zhang, C., Xiong, Y., Su, L., Zhao, S., Preparation of polyhedral oligomeric silsesquioxane based hybrid monoliths by thiol-ene click chemistry for capillary liquid chromatography. *Analyst*, 140(1), 265-271, **2015**.
- [7] Tswett, M. S., Trudy Varshavskogo Obshchestva Estestvoispytatelei . *Otdelenie Biologii*, 14(6), 20-39, **1905**.
- [8] Engelhardt, H., One century of liquid chromatography: from Tswett’s columns to modern high speed and high performance separations. *Journal of chromatography B*, 800(1), 3-6, **2004**.
- [9] Fairchild J.N., *Multidimensional Liquid Chromatography Separations*, Doktora Tezi, University of Tennessee, Knoxville, **2010**.
- [10] Martin, A. J. P., Synge, R. M., A new form of chromatogram employing two liquid phases: A theory of chromatography. 2. Application to the micro-determination of the higher monoamino-acids in proteins. *Biochemical Journal*, 35(12), 1358, **1941**.
- [11] Gordon, A. H., Martin, A. J. P., Synge, R. L. M., Partition chromatography of free amino-acids and peptides. *Biochem. j*, 37, **1943**.
- [12] Anon., Nobel Prize for Chemistry for 1952: Dr. A. J. P. Martin, F.R.S., and Dr. R. L. M. Synge, F.R.S. *Nature* 170, 826, **1952**.

- [13] Horvath, C. G., Lipsky, S. R., Use of liquid ion exchange chromatography for the separation of organic compounds. *Nature*, 211(5050), 748-749, **1966**.
- [14] Ettre, L. S., Csaba Horvath and the development of the first modern high performance liquid chromatograph. *LC/GC N. Am*, 23, 486-495, **2005**.
- [15] Monolithic HPLC column,
https://en.wikipedia.org/wiki/Monolithic_HPLC_column (Mart **2017**)
- [16] Pretorius, V., Hopkins, B. J., Schieke, J. D., Electro-osmosis: A new concept for high-speed liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 99, 23-30, **1974**.
- [17] Ettre, L. S., Chromatography: The separation technique of the 20th century. *Chromatographia*, 51(1), 7-17, **2000**.
- [18] Knox, J. H., Gilbert, M. T., Kinetic optimization of straight open-tubular liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 186, 405-418, **1979**.
- [19] Takeuchi, T., Ishii, D., High-performance micro packed flexible columns in liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 213(1), 25-32, **1981**.
- [20] Novotny, M., Microcolumns in liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, 53(12), 1294A-1308A, **1981**.
- [21] Jorgenson, J. W., Guthrie, E. J., Liquid chromatography in open-tubular columns: theory of column optimization with limited pressure and analysis time, and fabrication of chemically bonded reversed-phase columns on etched borosilicate glass capillaries. *Journal of Chromatography A*, 255, 335-348, **1983**.
- [22] Erkakan, S.D., *Reaktif poliakrilat kapiler monolitlerin sentezi ve hidrofilik etkileşim kromatografisinde sabit faz olarak kullanımı*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2015**.
- [23] Ali, I., Aboul-Enein, H. Y., Cazes, J., A journey from Mikhail Tswett to nano-liquid chromatography. *Journal of Liquid Chromatography Related Technologies*, 33(5), 645-653, **2010**.
- [24] Karlsson, K. E., Novotny, M., Separation efficiency of slurry-packed liquid chromatography microcolumns with very small inner diameters. *Analytical chemistry*, 60(17), 1662-1665, **1988**.
- [25] Fanali, C., Dugo, L., Dugo, P., Mondello, L., Capillary-liquid chromatography (CLC) and nano-LC in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 52, 226-238, **2013**.
- [26] Aydoğan, C., *Hidrofilik etkileşim kromatografisi ve ters faz sıvı kromatografisi için yeni polimetakrilat bazlı monolitik kapiler kolonların hazırlanması, karakterizasyonu ve biyokromatografide kullanımı*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2013**.

- [27] Neue, U. D., Stationary phase characterization and method development. *Journal of separation science*, 30(11), 1611-1627, **2007**.
- [28] Tsuda, T., Hibi, K., Nakanishi, T., Takeuchi, T., Ishii, D., Studies of open-tubular micro-capillary liquid chromatography: II. Chemically bonded octadecylsilane stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 158, 227-232, **1978**.
- [29] Jorgenson, J. W., Guthrie, E. J., Liquid chromatography in open-tubular columns: theory of column optimization with limited pressure and analysis time, and fabrication of chemically bonded reversed-phase columns on etched borosilicate glass capillaries. *Journal of Chromatography A*, 255, 335-348, **1983**.
- [30] Colon, L. A. (2013). Monolithic columns in liquid phase separations. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 405(7), 2093, **2013**.
- [31] Yan, L., Zhang, Q., Zhang, J., Zhang, L., Li, T., Feng, Y., ... Zhang, Y., Hybrid organic-inorganic monolithic stationary phase for acidic compounds separation by capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 1046(1), 255-261, **2004**.
- [32] Zou, H., Huang, X., Ye, M., Luo, Q., Monolithic stationary phases for liquid chromatography and capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 954(1), 5-32, **2002**.
- [33] Núñez, O., Nakanishi, K., Tanaka, N., Preparation of monolithic silica columns for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1191(1), 231-252, **2008**.
- [34] Mould, D. L., Syngé, R. L. M., Separations of polysaccharides related to starch by electrokinetic ultrafiltration in collodion membranes. *Biochemical journal*, 58(4), 571, **1954**.
- [35] Kubin, M., Špaček, P., Chromeček, R., Gel permeation chromatography on porous poly (ethylene glycol methacrylate). *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 32(11), 3881-3887, **1967**.
- [36] Hileman, F. D., Sievers, R. E., Hess, G. G., Ross, W. D., In situ preparation and evaluation of open pore polyurethane chromatographic columns. *Analytical Chemistry*, 45(7), 1126-1130, **1973**.
- [37] Svec, F., Fréchet, J. M., Continuous rods of macroporous polymer as high-performance liquid chromatography separation media. *Analytical Chemistry*, 64(7), 820-822, **1992**.
- [38] Svec, F., Fréchet, J. M., Modified poly (glycidyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate) continuous rod columns for preparative-scale ion-exchange chromatography of proteins. *Journal of Chromatography A*, 702(1-2), 89-95, **1995**.

- [39] Peters, E. C., Petro, M., Svec, F., Fréchet, J. M., Molded rigid polymer monoliths as separation media for capillary electrochromatography. 2. Effect of chromatographic conditions on the separation. *Analytical chemistry*, 70(11), 2296-2302, **1998**.
- [40] Peters, E. C., Petro, M., Svec, F., Frechet, J. M., Molded rigid polymer monoliths as separation media for capillary electrochromatography. 1. Fine control of porous properties and surface chemistry. *Analytical chemistry*, 70(11), 2288-2295, **1998**.
- [41] Svec, F., Peters, E. C., Sykora, D., Yu, C., Frechet, J. M., Monolithic stationary phases for capillary electrochromatography based on synthetic polymers: designs and applications. *Journal of High Resolution Chromatography*, 23(1), 3-18, **2000**.
- [42] Fields, S. M., Silica xerogel as a continuous column support for high-performance liquid chromatography. *Analytical chemistry*, 68(15), 2709-2712, **1996**.
- [43] Minakuchi, H., Nakanishi, K., Soga, N., Ishizuka, N., Tanaka, N., Octadecylsilylated porous silica rods as separation media for reversed-phase liquid chromatography. *Analytical chemistry*, 68(19), 3498-3501, **1996**.
- [44] Unger, K. K., Lamotte, S., Machtejevas, E., *Liquid Chromatography: Chapter 3. Column Technology in Liquid Chromatography*. Elsevier Inc. Chapters, Almany, **2013**.
- [45] Svec, F., Recent developments in the field of monolithic stationary phases for capillary electrochromatography. *Journal of separation science*, 28(8), 729-745, **2005**.
- [46] Svec, F. (2004). Organic polymer monoliths as stationary phases for capillary HPLC. *Journal of separation science*, 27(17-18), 1419-1430, **2004**.
- [47] Hayes, J. D., Malik, A., Sol- Gel Monolithic Columns with Reversed Electroosmotic Flow for Capillary Electrochromatography. *Analytical chemistry*, 72(17), 4090-4099, **2000**.
- [48] Wu, M., Wu, R. A., Zhang, Z., Zou, H., Preparation and application of organic-silica hybrid monolithic capillary columns. *Electrophoresis*, 32(1), 105-115, **2011**.
- [49] Zhu, T., Row, K. H., Preparation and applications of hybrid organic-inorganic monoliths: a review. *Journal of separation science*, 35(10-11), 1294-1302, **2012**.
- [50] Liu, Z., Ou, J., Lin, H., Wang, H., Dong, J., Zou, H., Preparation of polyhedral oligomeric silsesquioxane-based hybrid monolith by ring-opening polymerization and post-functionalization via thiol-ene click reaction. *Journal of Chromatography A*, 1342, 70-77, **2014**.

- [51] Siouffi, A. M., Silica gel-based monoliths prepared by the sol–gel method: facts and figures. *Journal of Chromatography A*, 1000(1), 801-818, **2003**.
- [52] Tanaka, N., Kobayashi, H., Ishizuka, N., Minakuchi, H., Nakanishi, K., Hosoya, K., Ikegami, T., Monolithic silica columns for high-efficiency chromatographic separations. *Journal of chromatography A*, 965(1), 35-49, **2002**.
- [53] Núñez, O., Ikegami, T., Kajiwara, W., Miyamoto, K., Horie, K., Tanaka, N., Preparation of high efficiency and highly retentive monolithic silica capillary columns for reversed-phase chromatography by chemical modification by polymerization of octadecyl methacrylate. *Journal of Chromatography A*, 1156(1), 35-44, **2007**.
- [54] Rogeberg, M., Wilson, S. R., Malerod, H., Lundanes, E., Tanaka, N., Greibrokk, T., High efficiency, high temperature separations on silica based monolithic columns. *Journal of chromatography A*, 1218(41), 7281-7288, **2011**.
- [55] Zhang, N., Zhang, L., Qiao, X., Wang, Y., Yan, H., Bai, L., Facile one-pot preparation of an imidazolium embedded C 8 hybrid monolith using polyhedral oligomeric silsesquioxane for capillary liquid chromatography. *RSC Advances*, 5(111), 91436-91440, **2015**.
- [56] Lin, H., Zhang, Z., Dong, J., Liu, Z., Ou, J., Zou, H. (2013). Preparation of polyhedral oligomeric silsesquioxane based hybrid monoliths by ring-opening polymerization for capillary LC and CEC. *Journal of separation science*, 36(17), 2819-2825, **2013**.
- [57] Lin, X., Zheng, N., Wang, J., Wang, X., Zheng, Y., Xie, Z., Polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSS)-based multifunctional organic–silica hybrid monoliths. *Analyst*, 138(19), 5555-5558, **2013**.
- [58] Lin, Z., Tan, X., Yu, R., Lin, J., Yin, X., Zhang, L., Yang, H., One-pot preparation of glutathione–silica hybrid monolith for mixed-mode capillary liquid chromatography based on “thiol-ene” click chemistry. *Journal of Chromatography A*, 1355, 228-237, **2014**.
- [59] Ou, J., Zhang, Z., Lin, H., Dong, J., Zou, H., Polyhedral oligomeric silsesquioxanes as functional monomer to prepare hybrid monolithic columns for capillary electrochromatography and capillary liquid chromatography. *Analytica chimica acta*, 761, 209-216, **2013**.
- [60] Tang, S., Wang, L., Han, H., Qiu, H., Liu, X., Jiang, S., Preparation and characterization of dipyrindine modified hybrid-silica monolithic column for mixed-mode capillary electrochromatography. *Rsc Advances*, 3(21), 7894-7901, **2013**.
- [61] Lin, X., Zheng, N., Wang, J., Wang, X., Zheng, Y., Xie, Z., Polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSS)-based multifunctional organic–silica hybrid monoliths. *Analyst*, 138(19), 5555-5558, **2013**.

- [62] Scott, D. W., Thermal rearrangement of branched-chain methylpolysiloxanes. *Journal of the American Chemical Society*, 68(3), 356-358, **1946**.
- [63] Hartmann-Thompson, C. (Ed.). *Applications of polyhedral oligomeric silsesquioxanes* (Vol. 3). Springer Science Business Media, **2011**
- [64] Kannan, R. Y., Salacinski, H. J., Butler, P. E., Seifalian, A. M., Polyhedral oligomeric silsesquioxane nanocomposites: the next generation material for biomedical applications. *Accounts of chemical research*, 38(11), 879-884, **2005**.
- [65] Cordes, D. B., Lickiss, P. D., Rataboul, F., Recent developments in the chemistry of cubic polyhedral oligosilsesquioxanes. *Chem. Rev*, 110(4), 2081-2173, **2010**.
- [66] Wu, M., Wu, R. A., Li, R., Qin, H., Dong, J., Zhang, Z., Zou, H., Polyhedral oligomeric silsesquioxane as a cross-linker for preparation of inorganic-organic hybrid monolithic columns. *Analytical chemistry*, 82(13), 5447-5454, **2010**.
- [67] Ou, J., Zhang, Z., Lin, H., Dong, J., Wu, M., Preparation and application of hydrophobic hybrid monolithic columns containing polyhedral oligomeric silsesquioxanes for capillary electrochromatography. *Electrophoresis*, 33(11), 1660-1668, **2012**.
- [68] Liu, Z., Ou, J., Liu, Z., Liu, J., Lin, H., Wang, F., Zou, H., Separation of intact proteins by using polyhedral oligomeric silsesquioxane based hybrid monolithic capillary columns. *Journal of Chromatography A*, 1317, 138-147, **2013**.
- [69] Lin, H., Ou, J., Liu, Z., Wang, H., Dong, J., Zou, H., Facile construction of macroporous hybrid monoliths via thiol-methacrylate Michael addition click reaction for capillary liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1379, 34-42, **2015**.
- [70] Posner, T., Information on unsaturated compounds ii the addition of mercaptan to unsaturated hydrocarbon, *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 38, 646-657., **1905**.
- [71] Lin, H., Ou, J., Zhang, Z., Dong, J., Zou, H., Ring-opening polymerization reaction of polyhedral oligomeric silsesquioxanes (POSSs) for preparation of well-controlled 3D skeletal hybrid monoliths. *Chemical Communications*, 49(3), 231-233, **2013**.
- [72] Lin, H., Ou, J., Tang, S., Zhang, Z., Dong, J., Liu, Z., Zou, H., Facile preparation of a stable and functionalizable hybrid monolith via ring-opening polymerization for capillary liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1301, 131-138, **2013**.
- [73] Lin, X., Wang, X., Zhao, T., Zheng, Y., Liu, S., Xie, Z., Electroneutral silica-based hybrid monolith for hydrophilic interaction capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 1260, 174-182, **2012**.

- [74] Xiong, X., Yang, Z., Li, Y., Xiao, L., Jiang, L., Chen, Y., Chen, B., Preparation of a polyhedral oligomeric silsesquioxane-based perfluorinated monolithic column. *Journal of Chromatography A*, 1304, 85-91, **2013**.
- [75] Kharasch, M.S., Read, J., Mayo, F.R., The peroxide effect in the addition of reagents to unsaturated compounds. Xvi. The addition of thio-glycolic acid to styrene and isobutylene., *Chemistry Industry*, 752-773, **1938**.
- [76] Kolb, H. C., Finn, M. G., Sharpless, K. B., Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, 40(11), 2004-2021, **2001**.
- [77] Ten Brummelhuis, N., Diehl, C., Schlaad, H., Thiol- Ene Modification of 1, 2-Polybutadiene Using UV Light or Sunlight. *Macromolecules*, 41(24), 9946-9947, **2008**.
- [78] Campos, L. M., Killops, K. L., Sakai, R., Paulusse, J. M., Damiron, D., Drockenmuller, E., ... Hawker, C. J., Development of thermal and photochemical strategies for thiol- ene click polymer functionalization. *Macromolecules*, 41(19), 7063-7070, **2008**.
- [79] Gress, A., Völkel, A., Schlaad, H. Thio-click modification of poly [2-(3-butenyl)-2-oxazoline]. *Macromolecules*, 40(22), 7928-7933, **2007**.
- [80] Boyer, C., Granville, A., Davis, T. P., Bulmus, V., Modification of RAFT-polymers via thiol-ene reactions: A general route to functional polymers and new architectures. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 47(15), 3773-3794, **2009**.
- [81] Connal, L. A., Kinnane, C. R., Zelikin, A. N., Caruso, F., Stabilization and functionalization of polymer multilayers and capsules via thiol- ene click chemistry. *Chemistry of materials*, 21(4), 576-578, **2009**.
- [82] Goldman, A. S., Walther, A., Nebhani, L., Joso, R., Ernst, D., Loos, K., Müller, A. H., Surface Modification of Poly (divinylbenzene) Microspheres via Thiol-Ene Chemistry and Alkyne-Azide Click Reactions. *Macromolecules*, 42(11), 3707-3714, **2009**.
- [83] Killops, K. L., Campos, L. M., Hawker, C. J., Robust, efficient, and orthogonal synthesis of dendrimers via thiol-ene "click" chemistry. *Journal of the American Chemical Society*, 130(15), 5062-5064, **2008**.
- [84] Fiore, M., Marra, A., Dondoni, A., Photoinduced thiol- ene coupling as a click ligation tool for thiodisaccharide synthesis. *The Journal of organic chemistry*, 74(11), 4422-4425, **2009**.
- [85] Marechal, A., El-Debs, R., Dugas, V., Demesmay, C., Is click chemistry attractive for separation sciences?. *Journal of separation science*, 36(13), 2049-2062, **2013**.

- [86] Chu, C., Liu, R., Application of click chemistry on preparation of separation materials for liquid chromatography. *Chemical Society Reviews*, 40(5), 2177-2188, **2011**.
- [87] Hoyle, C. E., Bowman, C. N., Thiol–ene click chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(9), 1540-1573, **2010**.
- [88] Lowe, A. B., Thiol-ene “click” reactions and recent applications in polymer and materials synthesis. *Polymer Chemistry*, 1(1), 17-36, **2010**.
- [89] Kele, M., Guiochon, G., Repeatability and reproducibility of retention data and band profiles on reversed-phase liquid chromatographic columns: II. Results obtained with Symmetry C18 columns. *Journal of Chromatography A*, 830(1), 55-79, **1999**.
- [90] Gama, M. R., da Costa Silva, R. G., Collins, C. H., Bottoli, C. B., Hydrophilic interaction chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 37, 48-60, **2012**.
- [91] Howard, G. A., Martin, A. J. P., The separation of the C12-C18 fatty acids by reversed-phase partition chromatography. *Biochemical Journal*, 46(5), 532, **1950**.
- [92] Jandera, P., Stationary and mobile phases in hydrophilic interaction chromatography: a review. *Analytica Chimica Acta*, 692(1), 1-25, **2011**.
- [93] Alpert, A. J., Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds. *Journal of chromatography A*, 499, 177-196, **1990**.
- [94] Gregor, H. P., Collins, F. C., Pope, M., Studies on ion-exchange resins. III. Diffusion of neutral molecules in a sulfonic acid cation-exchange resin. *Journal of Colloid Science*, 6(4), 304-322, **1951**.
- [95] Hao, Z., Xiao, B., Weng, N., Impact of column temperature and mobile phase components on selectivity of hydrophilic interaction chromatography (HILIC). *Journal of separation science*, 31(9), 1449-1464, **2008**.
- [96] Liao, J. L., Zhang, R., Hjertén, S., Continuous beds for standard and micro high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 586(1), 21-26, **1991**.
- [97] <https://apps.webofknowledge.com/> (Mayis, **2017**)
- [98] Xu, R. N., Fan, L., Rieser, M. J., El-Shourbagy, T. A., Recent advances in high-throughput quantitative bioanalysis by LC–MS/MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 44(2), 342-355, **2007**.

- [99] García-Gómez, D., Rodríguez-Gonzalo, E., Carabias-Martínez, R., Stationary phases for separation of nucleosides and nucleotides by hydrophilic interaction liquid chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 47, 111-128, **2013**.
- [100] Kip, F. Ç., Poli (Akrilat) Bazlı Reaktif Sabit Fazların Geliştirilmesi ve Mikro-Sıvı Kromatografisi Sisteminde Kromatografik Performanslarının Tanımlanması, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, **2015**.
- [101] McCalley, D. V., Study of the selectivity, retention mechanisms and performance of alternative silica-based stationary phases for separation of ionised solutes in hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1217(20), 3408-3417, **2010**.
- [102] Hemström, P., Irgum, K., Hydrophilic interaction chromatography. *Journal of separation science*, 29(12), 1784-1821, **2006**.
- [103] Buszewski, B., Noga, S., Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)—a powerful separation technique. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 402(1), 231-247, **2012**.
- [104] Karatapanis, A. E., Fiamegos, Y. C., Stalikas, C. D., A revisit to the retention mechanism of hydrophilic interaction liquid chromatography using model organic compounds. *Journal of Chromatography A*, 1218(20), 2871-2879, **2011**.
- [105] Horie, K., Ikegami, T., Hosoya, K., Saad, N., Fiehn, O., Tanaka, N., Highly efficient monolithic silica capillary columns modified with poly (acrylic acid) for hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1164(1), 198-205, **2007**.
- [106] Snyder, L. R., Kirkland, J. J., Dolan, J. W., *Introduction to modern liquid chromatography*. John Wiley Sons, **2011**.
- [107] Nhat B.T.H., *Polyhydroxyl and Polyphosphorylcholine Functionalized Silica for Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography*, Doktora Tezi, Umea Üniversitesi, Kimya Bölümü, İsveç, **2012**.
- [108] Y. I. Yashin, and A. Y. Yashin, "Chapter 10 - Liquid Chromatography," *Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications*, Y. Picó, ed., pp. 285-310, Boston: Academic Press, **2012**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Mustafa Cihan DEMİR
Doğum Tarihi / Yeri : 22 Haziran 1990 / LEFKOŞA
Medeni Hali : Bekar
E-posta : mcihandemir@gmail.com
Adres : İlkbahar mah. Ukrayna cad. 8/5 Çankaya/ANKARA

Eğitim Bilgileri

Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü
Lisans : Selçuk Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü (2010-2013)
Lisans : Anadolu Üniversitesi İşletme Bölümü (2013 – devam ediyor)
Lisans : Selçuk Üniversitesi Kimya Bölümü (2010 yılında ayrıldı)
Lise : Reha Alemdaroğlu Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi (2004-2008)

Yabancı Dil

İngilizce : Intermediate

İş Deneyimi

2012 : Uludağ İçecek A.Ş. – Üretim Departmanı (Stajyer)
1. Bursa Yenice Uludağ İçecek Fabrikası Su Tasfiye Sisteminin İncelenmesi ve Yeni Kimyasal Arıtım Yöntem Yaklaşımları Getirilmesi
2. Üretim Planlama ve Üretim Hata Analizleri

2011 : ETİ Çikolata Fabrikası Kalite Kontrol Lab. (Stajyer)
1. Yeni Ürün Kimyasal Kalite Kontrol Analizleri

Projeler

2015-2017 Organosilikon Kapiler Monolitlerin Tiyol-En Kimyası İle Sentezi ve Nano-Sıvı Kromatografisinde Sabit Faz Olarak Kullanımı (TÜBİTAK 1001 PROJESİ – 115Z250)

Deneyim Alanları

- Nano-Sıvı Kromatografisi (Nano-LC)
- Mikro-Sıvı Kromatografisi (Mikro-LC)
- Brunauer-Emmet-Teller (BET) Yüzey Alanı ve Gözeneklilik Ölçüm Cihazı
- Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)

Yayınlar

1. Kip C., Demir C., Tuncel A., One pot synthesis of carboxyl functionalized polyhedral oligomeric siloxane monolith via photoinitiated thiol-methacrylate polymerization for nano-hydrophilic interaction chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1502:14-23.,**2017**. (**YAYINLANDI**)

2. Demir C., Kip C., Tuncel A., The synthesis of polyhedral oligomeric silsesquioxane based capillary monoliths via thiol-ene chemistry for nano-reversed phase chromatography, *Journal of Separation Science*, (**GÖNDERİLMEK İÇİN HAZIR**)

Sözlü ve Poster Sunumları

1. **M. C. Demir, F. Ç. Kip, S. A. Tuncel**, “Nano HILIC Applications of Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane based Capillary Monoliths Functionalized with Anionic and Cationic Ligands,” *HPLC 2016 - 44th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques*. San Fransisco, ABD, 19-24 Haziran 2016. (**POSTER SUNUMU**)

2. **F. Ç. Kip, D. D. Usta, K. Ö. Hamaloglu, F. Cambay, M. C. Demir, S. A. Tuncel**, “Immobilized Metal Affinity Microchromatography using Phosphonic Acid Functionalized Polymethacrylate based Monolithic Stationary Phases Carrying Lanthanide Ions,” *HPLC 2016 - 44th International Symposium on High Performance*

Liquid Phase Separations and Related Techniques. San Fransisco, ABD 19-24 Haziran 2016. **(POSTER SUNUMU)**

3. G. Günal, E. Öğüt, D. D. Usta, K. Salimi, M. C. Demir, F. Ç. Kip, S. A. Tuncel, “Magnetic monodisperse Silica Microspheres for Human Genomic DNA Microextraction in Batch Fashion,” *HPLC 2016 - 44th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques*. San Fransisco, ABD19-24 Haziran 2016. **(POSTER SUNUMU)**

4. E. Sağ, K. Ö. Hamaloğlu, M. C. Demir, S. A. Tuncel, “Ti⁴⁺ Functionalized Monodisperse Titania Microspheres for Nucleoside Isolation by Immobilized Metal Affinity Chromatography,” *HPLC 2016 - 44th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques*. San Fransisco, ABD 19-24 Haziran 2016. **(POSTER SUNUMU)**

5. F. Ç. Kip, M. C. Demir, S. A. Tuncel, “Hybrid stationary phases with retention independent separation performance in nano-hydrophilic interaction chromatography” *HPLC 2017 - 45th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques*. Prag, Çek Cumhuriyeti, 18-22 Haziran 2017. **(POSTER SUNUMU)**

6. F. Ç. Kip, M. C. Demir, G. Nedjip, S. A. Tuncel, “Preparation of phenylboronic acid functionalized-polyhedral oligomeric siloxane monolithic column via one-pot approach for nano liquid chromatography of small molecules” *HPLC 2017 - 45th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques*. Prag, Çek Cumhuriyeti, 18-22 Haziran 2017. **(POSTER SUNUMU)**

7. F. Ç. Kip, M. C. Demir, A. Kuban , S. A. Tuncel “Alkanethiol functionalized organosilicon monoliths via one-pot thiol-methacrylate polymerization for nano-reversed phase chromatography” *HPLC 2017 - 45th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques*. Prag, Çek Cumhuriyeti, 18-22 Haziran 2017. **(POSTER SUNUMU)**



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 03/07/2017

Tez Başlığı / Konusu : **ORGANOSİLİKON KAPİLER MONOLİTLERİN SENTEZİ VE NANO-SIVI KROMATOĞRAFİSİ UYGULAMALARINDA SABİT FAZ OLARAK KULLANIMI**

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 150 sayfalık kısmına ilişkin, 03/07/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 1 'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/dâhil
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: MUSTAFA CİHAN DEMİR

Öğrenci No: N14223408

Anabilim Dalı: KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

Programı: KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

Statüsü: Y.Lisans Doktora Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

PROF. DR. SÜLEYMAN ALİ TUNCEL

(Unvan, Ad Soyad, İmza)