

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**GAZLI AROMALI İÇECEKLERİN İYON KROMATOĞRAFI-
KONDÜKTİVİTE DEDEKTÖRÜ İLE ANYON TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Büşra İPEK

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülçin YILMAZ

ŞUBAT 2021

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**GAZLI AROMALI İÇECEKLERİN İYON KROMATOĞRAFI-
KONDÜKTİVİTE DEDEKTÖRÜ İLE ANYON TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Büşra İPEK
509181275**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülçin YILMAZ

ŞUBAT 2021

İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 509181275 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Büşra İPEK, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “GAZLI AROMALI İÇECEKLERİN İYON KROMATOĞRAFİ-KONDÜKTİVİTE DEDEKTÖRÜ İLE ANYON TAYİNİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Gülçin YILMAZ**

İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Gülçin YILMAZ**

İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Birsen ÖZTÜRK

İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. İkbal KOYUNCU

Yıldız Teknik Üniversitesi

Teslim Tarihi : 22 Ocak 2021
Savunma Tarihi : 12 Şubat 2021





Aileme,



ÖNSÖZ

Proje kodu TYL-2019-42156 ve proje numarası 42156 olan “GAZLI AROMALI İÇECEKLERİN İYON KROMATOĞRAFİ-KONDÜKTİVİTE DEDEKTÖRÜ İLE ANYON TAYİNİ” adlı bu çalışmaya sağladıkları destek için İTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca bilgi ve önerileriyle beni yönlendirip destek olan saygıdeğer hocam Doç. Dr. Gülçin Yılmaz’ a teşekkürlerimi sunuyorum.

Laboratuvar ve tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sayın Melike Güler Şimşek’e teşekkürü bir borç bilirim.

Her zaman ve her türlü desteğini hissettiğim sevgili arkadaşlarım, Duygu Karadeniz, Burcu Orhan, Neslihan Turhan, Ezgi Fidan ve Elif Demir’e,

Eğitim süreçlerimde ve diğer tüm zamanlarda desteklerini hissettiren başta annem Ayşe Nilüfer İpek ve babam Erol İpek’e, canım kardeşim Emir İpek’e, sonsuz teşekkürler.

Ocak 2021

Büşra İpek
Araştırma Görevlisi



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
SEMBOLLER	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET.....	xix
SUMMARY	xxi
1. GİRİŞ.....	1
2. KROMATOĞRAFI	3
2.1 Kromotografi	3
2.1.1 Giriş.....	3
2.1.2 Genel tanım	3
2.2 İyon-Değiştirme Kromatografisi	4
2.2.1 Genel bilgi	4
2.2.2 İyon değişimi.....	5
2.2.3 İyon değiştiriciler	5
2.2.3.1 Organik iyon değiştiriciler	5
2.2.3.2 Sentetik iyon değiştiriciler	6
2.2.3.3 İyon değiştirici dolgular	7
2.2.3.4 İnorganik iyon değiştiriciler.....	8
2.2.4 Kütlelerin etkimesi kanununun iyon değişim dengesine etkisi.....	10
2.2.5 İyon kromatografisi etkinliğini etkileyen parametreler	11
2.2.5.1 pH.....	11
2.2.5.2 İyonik güç	12
2.2.5.3 Sıcaklık.....	12
2.2.5.4 Akış hızı	12
2.2.5.5 Organik modifiye ediciler	12
2.2.5.6 Tuz	12
2.2.6 Metot validasyonu	13
2.2.6.1 Seçicilik (Spesifiklik).....	14
2.2.6.2 Algılama sınırı ve ölçüm limiti	14
2.2.6.3 Doğrusallık ve çalışma aralığı.....	15
2.2.6.4 Doğruluk	16
2.2.6.5 Ölçüm belirsizliği.....	17
2.2.6.6 Sağlamlık	18
2.2.7 İyon kromatografisi uygulama alanları	18
3. ICS-3000 Sistemi	21
3.1 ICS-3000 Sistemi ve Parçaları	21
3.1.1 ICS-3000-AS otoörnekleyici.....	22

3.1.2 ICS-3000-DC dedektör/kromatografi modülü	23
3.1.3 ICS-3000-EG eluent üretici	27
3.1.4 ICS-3000-DP çift pompa ve ICS-3000-SP tekli pompa.....	28
3.1.5 ICS-3000-EO eluent düzenleyici	29
3.1.6 Chromelon-Chromelon Express ekranı	29
4. GAZLI İÇECEKLER.....	31
4.1 Meyveli ve Meyve Aromalı Doğal Mineralli Gazlı İçecek Hammaddeleri	31
4.1.1 Su.....	31
4.1.2 Şeker.....	32
4.1.3 Karbondioksit	32
4.1.4 Asit düzenleyiciler.....	33
4.1.5 Aroma vericiler	33
4.1.6 Renklendiriciler	34
4.1.7 Koruyucular.....	34
4.1.8 Antioksidanlar	35
4.1.9 Tatlandırıcılar	35
4.2 Meyveli ve Meyve Aromalı Doğal Mineralli Gazlı İçeceklerin Üretimi	35
4.2.1 Karıştırma.....	36
4.2.2 Gazlama.....	36
4.2.3 Dolum.....	37
4.2.4 Pastörizasyon.....	37
4.2.5 Etiketleme.....	38
4.2.6 Kasalama	38
4.2.7 Depolama	38
5. ANYONLAR VE ANYON ANALİZLERİNİN ÖNEMİ.....	39
5.1 Anyon Analizinde Kullanılan Cihazlar	41
6. DENEYSEL KISIM	43
6.1 Kullanılan Kromatografi Sistemi	43
6.2 Kullanılan Kimyasallar ve Araçlar	44
6.3 Çözeltilerin Hazırlanması	45
6.3.1 Ana stok çözeltinin hazırlanması	45
6.3.2 Standart çözeltilerin hazırlanması	45
6.3.3 Gazlı içecek numunelerinin hazırlanması	45
6.4 Kalibrasyon Grafikleri.....	47
6.5 Tekrarlanabilirlik Çalışmaları	53
7. TARTIŞMA VE YORUM	55
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	61

KISALTMALAR

Chromleon	: Chromotography Management System
CR-TC	: Continously Regenerated Trap Column
CR-ATC	: Continously Regenerated-Anion Trap Column
CR-CTC	: Continously Regenerated-Cation Trap Column
DC	: Dedector/Chromatography
DP	: Dual Pump
EG	: Eluent Generator
EO	: Eluent Organizer
IC	: Ion Chromatography
ICP-MS	: Inductively Coupled Plasma- Mass Spectrometer
ICS	: Ion Chromatography System
LOD	: Limit of Dedection
LOQ	: Limit of Quantification
MMS	: Micromembrane Suppressor
PES	: Polieter Sülfon
RFIC	: Reagent-Free Ion Chromatography
RSD	: Rölatif Standart Sapma
SP	: Single Pump
SRS	: Self Generating Suppressor
S/N	: Signal to Noise Ratio
TS	: Chromotography Management System
UP	: Ultra Pure, Ultra Saf



SEMBOLLER

R^2 : Kolerasyon sayısı

$^{\circ}C$: Santigrat Derece





ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

- Çizelge 6.1** : Standart çözeltilerdeki anyonların metot performans parametreleri. 51
- Çizelge 6.2** : İyon kromatografi ile analizleri yapılan meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerdeki florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonlarının konsantrasyonları. 52
- Çizelge 6.3** : İyon kromatografi ile analizleri yapılan meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerdeki florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonlarının %rölatif standart sapma (%RSD) sonuçları. 53
- Çizelge 6.3 (devam)**: İyon kromatografi ile analizleri yapılan meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerdeki florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonlarının % rölatif standart sapma (%RSD) sonuçları. 54



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Çapraz-bağlı polistiren iyon değiştirici reçinenin yapısı [1].	9
Şekil 2.2 : Fenol formaldehit reçinelerin sentez reaksiyonu ve yapısı [13].	10
Şekil 2.3 : Metodun geçerli kılınca süreci.	13
Şekil 2.4 : Metot çalışma aralığı [16].	15
Şekil 2.5 : Cihaz çalışma aralığı [16].	16
Şekil 3.1 : Örneklerin kromatografi sisteminde ilerleme aşamaları.	21
Şekil 3.2 : ICS-3000 sisteminin ana parçaları.	22
Şekil 3.3 : Otoörnekleyiciden eş zamanlı yapılan iki analiz takibi.	23
Şekil 3.4 : Dedektör/Kromatografi modülünün iç kısımdaki bileşenleri [18].	23
Şekil 3.5 : Baskılayıcıda kimyasal olarak gerçekleşen iyon değişimi.	24
Şekil 3.6 : Baskılayıcı ve baskılayıcı olmayan iyon kromatografi sisteminden alınan kromatogramların karşılaştırılması.	25
Şekil 3.7 : IonPac AS20 kolon dolgusunun yapısı.	26
Şekil 3.8 : AS20 kolonunda ayrımı yapılmış yirmi üç anyon kromatogramı.	26
Şekil 3.9 : Eluent üreticinin iç bileşenleri [18].	27
Şekil 3.10 : Çift pompamanın iç bölmesinde bulunan mekanik bileşenler [18].	28
Şekil 3.11 : ICS-3000 Chromelon Ana Ekran Paneli [18].	29
Şekil 4.1 : Sitrik Asit Yapısı [20].	33
Şekil 4.2 : Meyve ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerin üretimi.	36
Şekil 6.1 : Numunelerin analize uygun hale getirilmesi için yapılan ön işlemler	46
Şekil 6.2 : 0,01-5,0 mg/L florür kalibrasyon grafiği.	47
Şekil 6.3 : 0,01-5,0 mg/L nitrit kalibrasyon grafiği.	47
Şekil 6.4 : 0,05-5,0 mg/L nitrat kalibrasyon grafiği.	48
Şekil 6.5 : 0,05-10,0 mg/L sülfat kalibrasyon grafiği.	48
Şekil 6.6 : 0,05-10,0 mg/L sülfid kalibrasyon grafiği.	48
Şekil 6.7 : 0,05-5,0 mg/L oksalat kalibrasyon grafiği.	49
Şekil 6.8 : 0,03-5,0 mg/L fosfat kalibrasyon grafiği.	49
Şekil 6.9 : 0,05-5 mg/L flor, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat içeren standart çözeltilerinin multistep gradient 5 mM'dan 12 mM'a NaOH eluenti ile üst üste alınan kromatogramları.	50
Şekil 6.10 : 1:20 oranda seyreltilmiş 10 nolu örneğin kromatogramı.	51



GAZLI AROMALI İÇECEKLERİN İYON KROMATOĞRAFI- KONDÜKTİVİTE DEDEKTÖRÜ İLE ANYON TAYİNİ

ÖZET

Gazlı ve gazlı içecekleri kapsayan alkolsüz içeceklerin son on yılda dünya çapında tüketimi büyük oranda artış göstermektedir. Yapılan araştırmalar sonucu elde edilen veriler, dünyadaki nüfusun giderek artması, insanların daha sağlıklı bir yaşam sürdürmek için alkollü içecek tüketimini azaltmak istemeleri ve bu doğrultuda tüketicilerden gelen alkolsüz içecek ürün yelpazesinde çeşitlilik talepleri ve yerkürenin sıcaklığının artması nedeniyle insanların artan su ihtiyaçlarını su ve çeşitli aroma ve tatların bulunduğu su veya mineral su bazı içecekleri tüketerek karşılama talepleri gibi parametreler göz önünde bulundurulduğunda alkolsüz içecek tüketimindeki bu artışın daha da katlanacağını öngörülmektedir.

Popüler ve doğal olarak kaynak sularından elde edilen köpüren suların taklit edilmesiyle 17. yüzyılda Avrupalılar tarafından gazlı içecekler ve sular üretilmiştir. İlk olarak, 1767 yılında karbondioksit gazının içeceklere eklenmesi sonucunda alkolsüz içecekler kategorisinde yer alan gazlı içecek ürün grubu oluşmuştur. Gazlı içecekler; su veya mineralli su, karbondioksit, şeker gibi ana hammaddelerden ve antimikrobiyal bileşenler, asit düzenleyiciler, tatlandırıcılar, aroma vericiler ve renklendiriciler gibi yardımcı bileşenlerin Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği'ne uygun üretim koşullarında bir araya getirilmesiyle üretilen alkolsüz içeceklerdir. Tüketiciler tarafından genellikle ferahlamak, serinlemek, su ihtiyacını karşılamak ve enerjik hissetmek amacıyla kullanılan gazlı içeceklerin insan sağlığını riske atmayacak şekilde üretilmesi önemlidir. Bu hususta, gazlı içecek üretiminde kullanılan bileşenlerin yüksek saflıkta ve gıda kalitesinde olması gerekir. Türk Gıda Kodeksi'ne göre gazlı içecekler; meyveli, meyve aromalı, kola ve tonik gibi farklı gruplara ayrılmaktadır.

İnsan sağlığı için gerekli mineralleri içeren mineralli sulardan yapılan meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecekler özellikle yaz aylarında diğer gazlı içecek çeşitlerine göre daha çok tercih edilmektedir. Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği'ne göre; meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecekler, doğal mineralli su, aroma maddeleri ve/veya diğer bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre gazlı olarak üretilen içecek; meyveli doğal mineralli gazlı içecekler ise, meyve suyu ve/veya meyve püresi ve/veya bunların konsantresi ve/veya meyve tozu, doğal mineralli su ve/veya diğer bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden, tekniğine göre gazlı olarak üretilen içecek olarak tanımlanmaktadır. Bu içeceklerin üretimi; karıştırma, gazlama, dolum, pastörizasyon, etiketleme, kasalama ve depolama olarak adlandırılan yedi aşamanın tamamlanması sonucu gerçekleşmektedir.

Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği'ne göre meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerini kapsayan gazlı içecekler tüketime uygun olması için bazı şartlara uygun üretilmesi gerekmektedir. İlk olarak üretilen gazlı içecekler, tipine özgü tat, koku, renk ve görünüşte olmalıdır ve yabancı koku ve tat içermemelidir.

Üretilen gazlı içeceğin üretim ortamından kaynaklı olarak içinde bulunma durumu olan bileşenlerden; etil alkol miktarının en çok 3,0 g/L, laktik asit miktarı en çok 0,6 g/L, uçucu asit miktarı en çok 0,4 g/L olması gerekir.

Bu tebliğe göre, gazlı içeceklerdeki karbondioksit miktarı en az 2 g/L ve meyveli doğal mineralli içeceklerde meyve oranı, gazlı olanlarda ağırlıkça en az %4 olmalıdır. Gazlı içeceklerin üretiminde kullanılan yardımcı bileşenlerden aroma maddeleri, "Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği"nin Gıda Aroma Maddeleri Bölümüne uygun; katkı maddeleri 25/8/2002 tarihli ve 24857 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan "Türk Gıda Kodeksi-Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği", 21/9/2006 tarihli ve 26296 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan "Türk Gıda Kodeksi - Gıdalarda Kullanılan Tatlandırıcılar Tebliği" ile 22/12/2003 tarihli ve 25324 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan "Türk Gıda Kodeksi-Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği"ne uygun olmalıdır.

Bu çalışmada piyasadaki meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecekler içerisinde bulunan düşük konsantrasyonları insan sağlığı için gerekli fakat yüksek konsantrasyonları metabolizmayı olumsuz etkileyebilen florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonlarının tayini için seçici, güvenilir ve hassas bir yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu doğrultuda baskılayıcı ve iletkenlik dedektörü ile donanımlandırılmış, Dionex IonPac® AS20 analitik kolon (2x250 mm) ve Dionex IonPac® AG20 Guard (Koruma) kolonu (2x50 mm) bulunan Dionex marka iyon kromatografi cihazında gradient ve izokratik NaOH eluenti kullanılarak metod geliştirilmiştir.

1000 mg/L florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat standart çözeltileri kullanılarak bu anyonların karışımlarından oluşan kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Bu standartların ölçümünden elde edilen kalibrasyon eğrilerinde lineer aralık florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonları için sırasıyla 0,01-5,0 mg/L; 0,01-5,0 mg/L; 0,05-5,0 mg/L; 0,05-10,0 mg/L; 0,05-10,0 mg/L; 0,05-5,0 mg/L ve 0,03-5,0 mg/L konsantrasyonları aralığındadır ve tüm anyonların kalibrasyon grafiklerinde R^2 olarak ifade edilen kolerasyon değeri ise 0,999 olarak elde edilmiştir. Tekrarlanabilirlik çalışmaları, incelenen meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecek numunelerinin aynı gün içinde 3 tekrarla yapılan analizleri ile gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmada örneğin hazırlanması oldukça kolay, ucuz ve basit rutin olarak gerçekleştirilen analizler için hızlı, hassas olarak yapılan ve güvenilir bir analiz yöntemi geliştirilmiştir.

ANION DETERMINATION OF CARBONATED FLAVORED BEVERAGES WITH ION CHROMATOGRAPHY – CONDUCTIVITY DETECTOR

SUMMARY

Worldwide consumption of soft drinks that include sparkling and sparkling beverages, has grown significantly over the past decade. Some researches shows that the increasing population in the world, the desire of people to reduce the consumption of alcoholic beverages in order to maintain a healthier life, and accordingly, the demand for diversity in the non-alcoholic beverage product range from consumers and the increase in the temperature of the earth that gives rise to increase the need of water or mineral water with various aromas and flavor. According to the given parameters, this increase in non-alcoholic beverage consumption is predicted to be further multiplied.

In the 17th century, carbonated beverages and waters were produced by Europeans by imitating the sparkling waters that were obtained from popular and natural spring waters. First try is made in 1767 by adding carbon dioxide gas to the beverages. By the way, carbonated beverage that is in the non-alcoholic beverages category, was produced. Carbonated drinks which are soft drinks produced by combining main raw materials such as water or mineral water, carbon dioxide, sugar and auxiliary components such as antimicrobial components, acidity regulators, sweeteners, flavorings and colorants under production conditions that are suitable for the Turkish Food Codex Non-Alcoholic Beverages Communiqué. It is important that carbonated beverages, which are generally used by consumers to refresh, cool off, meet water needs and feel energetic, are produced in a way that does not risk human health. In this regard, the components used in the production of carbonated beverages must be high purity and food quality. According to the Turkish Food Codex, carbonated drinks are divided into different groups such as fruity, fruit flavored, cola and tonic.

Fruity and fruit flavored natural mineral carbonated beverages made from mineral waters that contain minerals in low concentrations that is necessary for human health, are more preferred than other carbonated beverages, especially in summer. According to the Turkish Food Codex Communiqué of Non-Alcoholic Beverages, fruit flavored natural mineral carbonated beverages are described as carbonated beverages that is made of natural mineral water, flavoring substances and/or other ingredients and sugar or no sugar. Fruity natural mineral carbonated drinks are defined as carbonated beverages including fruit juice and/or fruit puree and/or fruit concentrate and/or fruit powder, natural mineral water and/or other ingredients with or without sugar. Production of these beverages is occurred with completion of seven stages that are called mixing, gassing, filling, pasteurization, labeling, casing and storage, respectively.

According to the Turkish Food Codex Non-Alcoholic Beverages Communiqué, carbonated beverages including fruity and fruit flavored natural mineral carbonated beverages must be produced in accordance with certain conditions in order to be suitable for consumption. First of all, produced carbonated beverages should have a

type-specific taste, odor, color and appearance, and should not contain any foreign odor or flavor. Ethyl alcohol, lactic acid and volatile acids are the components that can be found in carbonated beverages due to the production environment. The amount of ethyl alcohol should be at most 3.0 g/L, the amount of lactic acid should be at most 0.6 g/L, the amount of volatile acid should be at most 0.4 g/L. According to this communiqué, the amount of carbon dioxide in carbonated beverages should be at least 2 g/L and the ratio of fruit in fruity natural mineral carbonated beverages should be at least 4% by weight. Aroma substances that is one of the auxiliary components used in the production of carbonated beverages, are in compliance with the Food Flavoring Materials Section of the "Turkish Food Codex Regulation"; additives "Turkish Food Codex-Communiqué on Colorings Used in Foods" published in the Official Gazette dated 25/8/2002 and numbered 24857, "Turkish Food Codex Communiqué on Flavors Used in Foods" published in the Official Gazette dated 21/9/2006 and numbered 26296 "and" Turkish Food Codex - Communiqué on Food Additives Excluding Coloring and Sweeteners "published in the Official Gazette dated 22/12/2003 and numbered 25324.

Fluoride, nitrite, nitrate, sulfate, sulfite, oxalate and phosphate anions are commonly present in most of carbonated beverages. The low concentrations of fluoride, nitrite, nitrate, sulfate, sulfite and phosphate anions are necessary for the body, but oxalate anions that are not needed. Besides, intake of high concentrations of all these seven anions into the body affects health negatively. Firstly, high concentrations of fluoride anion cause serious health problems such as tooth decay, osteoporosis and damage to kidney, bone, muscle, nerve and productive proportions. Secondly, excessive amounts of nitrate, nitrite anions and their metabolites in the body cause carcinogenic diseases such as methemoglobinemia, hypotension and hypertension, and gastric cancer. Thirdly, intake of high amounts of sulfate and sulfide anions causes to the loss of osmotic water, diarrhea with ulcerative colitis and asthma. Fourthly, excess amount of oxalate anion in the body can cause oxalate poisoning, kidney stone formation and even death. Lastly, high concentration of phosphate anion in the blood causes fatigue, shortness of breath, nausea, vomiting, sleep disturbance, hyperphosphatemia and anorexia in some individuals. Thinking of benefits and adverse effects these ions on human body, it is important to determine the amount of these ions in the beverages.

In this study, it was tried to develop a selective, reliable and sensitive method for the determination of fluoride, nitrite, nitrate, sulfate, sulfite, oxalate and phosphate anions. In order to this target, the method is developed using gradient and isocratic NaOH eluent in Dionex ion chromatography system that is equipped with a suppressor and conductivity detector, includes a Dionex IonPac® AS20 analytical column (2x250 mm) and a Dionex IonPac® AG20 Guard (2x50 mm) column.

Calibration solutions containing different concentration levels of mixtures of these anions were prepared using 1000 mg/L fluoride, nitrite, nitrate, sulfate, sulfite, oxalate and phosphate standard solutions. The linear range in the calibration curves obtained from the measurement of these standards is for fluoride, nitrite, nitrate, sulfate, sulfide, oxalate and phosphate anions, respectively; 0.01-5.0 mg/L; 0.01-5.0 mg/L; 0.05-5.0 mg/L; 0.05-10.0 mg/L; 0.05-10.0 mg/L; 0.05-5.0 mg/L and 0.03-5.0 mg/L and the correlation value expressed as R^2 in the calibration graphs of all anions was obtained as 0.999. Fruity and fruit flavored natural mineral carbonated beverage samples have undergone some pre-treatment to make them suitable for analysis. After completing the analysis of calibration standards, fruity and fruit flavored natural mineral carbonated beverage samples were analyzed by ion chromatography system. The

repeatability studies were carried out by analyzing the samples of fruity and fruit flavored natural mineral carbonated beverages in 3 repetitions in the same day.

As a result of this study, a fast, precise and reliable analysis method was developed for the analysis that is very easy to prepare, cheap and simple routine analysis.



1. GİRİŞ

Kromatografi yöntemi, hızlı, basit ve etkili bir ayırma yöntemi olduğu için günümüzde yaygın olarak kullanılmakta olup kompleks karışımlardaki maddeleri birbirinden ayırıp tanımlamaya ve maddeleri saflaştırmaya olanak sağlayan son yıllarda ciddi anlamda gelişme gösteren bir tekniktir. [1] Bu özellikleri sayesinde nitel ve nicel analiz amacıyla kullanılabilen aletli bir analiz yöntemi olarak da nitelendirilmektedir.

Kromatografik yöntemler farklı kategorilere göre sınıflandırılabilir ve ayırma mekanizmasına göre sınıflandırılacak olursa; adsorpsiyon, dağılma, jel geçirgenlik ve iyon kromatografisi olmak üzere dörde ayrılmaktadır. Bu çalışmada yapılan analizler, iyon kromatografi yönteminden faydalanılarak gerçekleştirilmiştir.

İyon kromatografisi, birbirine çok benzemekte olan nadir toprak katyonlarının katyon değiştirici reçinelerin kullanımıyla ayrılması için geliştirilen Manhattan projesi esnasında ortaya çıkan iyon-değiştirme kromatografinin gelişmiş hali olarak da bilinmektedir.[2] İyon kromatografinin ilk geliştirilmeye başlandığı yıllarda belirleme, genellikle iletkenlik ölçümleriyle yapılmaktaydı; fakat günümüzde iyon kromatografisiyle ayırma ve belirleme için başka dedektörler mevcut olup kullanılmaktadır.

İyon değişim tekniğinde temel olarak, çözeltideki iyonların çözünmemiş yüksek molekül ağırlıklı bir katının yüzeyindeki benzer iyonlarla değişim dengesine dayanmaktadır. Burada inorganik ve organik katı maddeler kullanılmaktadır. İnorganik iyon değiştiriciler çok uzun zamandan beri kullanılmakta olup en yaygın olarak kullanılanları kil ve zeolitlerdir. Günümüzde ise, organik olan iyon değiştiriciler, inorganik iyon değiştiricilere kıyasla daha fazla kullanılmaktadır.

İyon kromatografisi bilimin birçok alanında kullanılmaktadır. Toksikoloji, adli tıp, içme suyu ve atık sulardaki kirlilikler, hava kirliliği, endüstriyel atıkların ve biyolojik çözeltilerdeki iyonik türlerin belirlenmesi iyon kromatografi tekniğinin kullanıldığı alanlardan bazılarıdır.[3]

Geçmişten günümüze her dönem insan ve toplum tarafından düzenli ve fazla miktarlarda tüketilen alkolsüz ve alkollü içecekler insan sağlığı açısından olumlu ve olumsuz etkilere sahip olabildiğinden bu içeceklerin analizleri yapılmaktadır. Alkolsüz gazlı içecekler içerisinde bulunan mineraller belli bir değere kadar gerekli fakat o değeri üzerindeki miktarlarda alınması ciddi sağlık problemlerine yol açabilmektedir. Bu yüzden alkolsüz gazlı içeceklerin analizleri toplum açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada iyon kromatografisi cihazı ile meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecek numunelerinde bulunan ve limit değerlerinin üzerindeki konsantrasyonlarının insan sağlığı açısından zararlı olabilecek olan flor, nitrit, nitrat, sülfat, sülfat, oksalat ve fosfat anyonlarının tayini için seçici, güvenilir ve hassas bir yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır.

2007 yılı 26 tebliğ numaralı Alkolsüz İçecekler Tebliği kapsamında olan doğal mineralli gazlı içecekler, doğal mineralli su, aroma maddeleri ve/veya diğer bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre gazlı olarak üretilen içecekler olarak tanımlanmaktadır. Meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecekler en çok tüketilmekte olan alkolsüz gazlı içecekler arasında yer almaktadır. [4]

2. KROMATOGRAFI

2.1 Kromotografi

2.1.1 Giriş

Kimyasal ve fiziksel yöntemler, analizi yapılacak çözelti yani analit içinde bulunmak istenen ya da engelleyici etkisi olup uzaklaştırılmak istenen maddeleri ayırabilmektedir. Kristalizasyon, katı-sıvı ve sıvı-sıvı ekstraksiyonlar ve çöktürme en çok kullanılan ayırım yöntemlerdendir fakat analitik işlemler esnasında reaksiyona girebilecek maddelerin ayrılmasında bu tekniklerde çoğu zaman zorluklarla karşılaşmaktadır. Bu durum, çok fazla bileşen içeren karmaşık maddeleri ve fiziksel ya da kimyasal nitelik bakımından birbirine benzeyen yapıları analitten ayırabilmek için daha gelişmiş, spesifik sonuçların alınabileceği bir teknik ihtiyacı doğurmuştur. 1906 yılında Rus botanikçi Mikhail Tswett, bir cam kolonu toz haline getirilmiş kalsiyum karbonatla doldurarak klorofil ve ksantofil gibi çok sayıda bitki pigmenti içeren çözeltiyi bu kolondan geçirmiştir ve çözeltideki tüm pigmentleri saf olarak elde etmiştir. Ayırım sonucunda, renkli bölgeler halinde grup olduğu gözlemleyen Tswett bulduğu ayırım yöntemini renkli fotoğraf anlamına gelen kromatografi olarak isimlendirmiştir. Tswett tarafından bulunan kromatografi yöntemi bu eksikliği gidererek bilimin her alanında olarak kullanılan bir yöntem haline almıştır. [5]

Kromatografi yöntemi günümüzde yaygın olarak kullanılmakta olup çok benzer özellikte olduğu için diğer yöntemlerle ayrılamayan bileşenleri ve karmaşık karışımlardaki maddeleri birbirinden ayırıp tayin etmeye ve maddeleri saflaştırmaya olanak sağlayan gelişmiş modern bir tekniktir. [1]

2.1.2 Genel tanım

Kromatografi, birbirinden ayrılması mümkün olmayan bileşenler içeren maddelerin her birinin bileşenin saf olarak tayin edilmesi için kullanılan bir tekniktir. Kromatografik yöntemlerin tamamı, bir karışımda bulunan iki ya da daha fazla

bileşenin hareketli (taşıyıcı) bir faz yardımıyla sabit (durağan) bir faz arasından değişik hızlarla hareket etmesi esasına dayanır. Yani, ayırım karışım içerisindeki bileşenlerin hareketli ve sabit faz ilgilerine göre değişmektedir.

Analizde etkin olan mekanizmalara göre çeşitli kromatografik yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntemler birbirinden farklı olsalar bile, hepsinde bileşenlerine ayrılacak karışımı sabit ve hareketli fazla etkileştirilerek ayırım gerçekleştirilir. Bileşenlerine ayrılması istenen karışım katı veya katı bir destek üzerine emdirilmiş sıvı tabakası olan sabit faza konulur. Sabit faza konulan karışım üzerinden, sıvı veya gazdan oluşan sürükleyici olan hareketli bir sıvı geçirilir. Bileşenler, ilgisine göre hareketli ya da sabit faza tutunduğu hareketli ve sabit faz numuneye uygun olarak seçilir. Durgun faz tarafından daha çok tutulan madde hareketli faz tarafından daha az sürüklenirken; durgun faz tarafından daha az tutulan madde hareketli faz tarafından daha çok sürüklenir. Numunenin içerisindeki bileşenler sabit ve hareketli faza olan ilgisine göre sürükleneceği için bileşenler sabit fazı farklı sürelerde terk ederler ve birbirinden ayrılmış olurlar. [1]

2.2 İyon-Değiştirme Kromatografisi

2.2.1 Genel bilgi

Genellikle iyon kromatografisi olarak bilinen iyon-değiştirme kromatografisi, iyon değiştirici reçinelerde gerçekleşen iyon değişim mekanizmasına dayanarak maddelerin içinde bulunan pozitif ve negatif iyonlar olan anyon ve katyonların kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi sağlayan modern bir kromatografik tekniktir. İyon değişimi mekanizması benzer yüklü iyonların tersinir olarak yer değiştirmesi olarak tanımlanmaktadır.

İyon kromatografisi, uzun yıllar boyunca yapılan çalışmalarda elde edilen bilgi birikimi ile gelişmiş olan modern bir analiz yöntemidir. İyon değişim reçinelerinin kullanımına dayanan iyon kromatografisi için ilk adım 1935 yılında Holmes ve Adams tarafından organik iyon değiştirici reçinelerin sentezlenmesiyle atılmıştır. Spedding ve Powell iyon değişim kromatografisi yöntemini nadir toprak elementlerinden olan neodimiyum ve praseodimiyum elementlerini ayırmak için kullanarak 1947 yılında tekniğin kullanımını başlatmıştır. 1950 yıllarının başlarında Kraus ve Nelson klor, flor, nitrat ve sülfat iyonlarından oluşan kompleksleri anyon kromatografisine dayanarak

ayrılabilmesini göstermiştir. Stein, Moore ve Spackman iyon değişim kromatografisi tekniğini kullanarak 1958 yılında otomize aminoasitlerin ve Green 1966 yılında otomize karbonhidratların iyon değişimi kromatografi yöntemiyle analizlerini gerçekleştirmiştir. 1960'lı yılların sonuna doğru HPLC tekniğinde gelişim gözlenmeye başlamıştır fakat bu teknik iyonik türlerin tayininde yetersiz olduğu için daha gelişmiş yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur. Bunun üzerine, 1970'li yılların ortalarına doğru Dow Kimya Sanayi çalışanlarından Small, Stevens ve Bauman iletken dedektörlü iyon kromatografi cihazını tasarlamışlar ve ardından 1975'te yine katyon değişimli iyon kromatografisi keşfetmişler. İletkenlik dedektörlü iyon kromatografi yöntemi, anyon ve katyonların baskılanmış iletkenlik algılama sistemiyle ayrılmasına olanak sağlamıştır. Bulunan bu teknik sayesinde iyonik türlerin tayinindeki eksiklik giderilmiştir. 1985 yılında da, Dionex de çalışan bir araştırmacı olan Pohl iyon kromatografide mikromembran baskılayıcılarını bulmuştur. İyon kromatografi tekniği damıtma, adsorpsiyon ve filtrasyon dâhil kimya alanının birçok kısmında uygulanabildiği için hızlı bir şekilde en çok kullanılan tekniklerden biri olmuştur. [6] [7] [8] [9] [10].

2.2.2 İyon değişimi

İyon kromatografi tekniğiyle yapılan ayrımların dayandırıldığı iyon değişimi, yüksek molekül ağırlıklı bir katı madde tarafından çözeltide bulunan artı ve/veya eksi yüklü iyonları yapısına katıp bu iyonlar yerine katı maddenin yapısında bulunan eşdeğer miktarda başka bir iyonun çözeltiye geçtiği fizikokimyasal reaksiyondur. İyon değişim reaksiyonları denge reaksiyonu olduğundan geri dönüşlü olarak gerçekleşir ve bundan dolayı reçineye bağlanan iyonlar çözeltiye geri geçebilmektedir. [11]

2.2.3 İyon değiştiriciler

İyon değişim mekanizmasında kullanılan çözünmeyen yüksek molekül ağırlıklı katı maddeler iyon değiştiriciler olarak adlandırılır ve bu reçineler yapısal ayrımına göre inorganik ve organik ikiye ayrılmaktadır.

2.2.3.1 Organik iyon değiştiriciler

Günümüzde en çok kullanılan inorganik iyon değiştiriciler kil ve zeolittir. Kil ve zeolit doğal iyon değiştiricilerdir. Zeolitler, volkanik killerin su ortamında kimyasal

değişime uğraması sonucunda milyonlarca yıl öncesinde oluştuğu kabul edilen doğal minerallerdir ve oksijen atomlarıyla birbirine bağlanmış dörtyüzlü alümina silikatlardır. $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{12}$ kapalı formülüne sahiptirler.[12] İyon değişimi sırasında zeolitlerin yapısında bulunan sodyum iyonlarını Fe^{+2} , Mn^{+2} ve Mg^{+2} gibi iyonları ile değiştirirler.

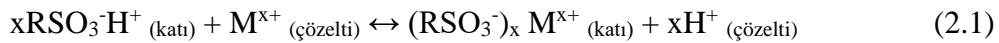
2.2.3.2 Sentetik iyon değiştiriciler

Yapılarında çok fazla sayıda anyon ve katyon bulunduran, su ve birçok organik çözücü sisteminde çözünmeyen büyük moleküllü maddeler organik iyon değiştiriciler ya da reçine olarak tanımlanmaktadır. Kullanılan organik iyon değiştiriciler, katı reçine ya da katı yüzeyine film halinde tutturulmuş sıvı halinde reçine olabilirler.

Organik iyon değiştirici reçineler; katyonik, anyonik ve amfoterik (selektif) iyon değiştirmede kullanılmaktadır. Katyon değişimi için katyon değiştirici, anyon değişimi için anyon değiştirici reçineler kullanılmaktadır. Amfoterik iyon değiştiriciler de, hem anyon hem de katyon değişimi yeteneğine sahip olan reçinelerdir.

Anyonik iyon değiştiriciler kuvvetli baz olarak bilinen ve $(-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{OH}^-)$ olarak gösterilen tersiyer amin fonksiyonel gruplarını veya zayıf baz olarak sınıflandırılan ve $(-\text{NH}_3^+\text{OH}^-)$ olarak gösterilen primer amin gruplarını içermektedir. Katyon değiştiriciler reçinelerin aktif kısımları ise, kuvvetli asit kategorisi olarak sınıflandırılan ve $(-\text{SO}_3^-\text{H}^+)$ ile ifade edilen sülfonik asit ve $(-\text{COO}^-\text{H}^+)$ ile gösterilen zayıf asit fonksiyonel grubunu içermektedir.

M^{x+} katyonunu içeren bir sulu çözeltinin en genel aktif bölge kısmı sülfonik asit $(-\text{SO}_3^-\text{H}^+)$ olan katyon değiştiriciyle reaksiyonu sonucunda gerçekleşen yer değiştirme tepkimesi denklem 2.1'de gösterilmiştir.



A^{x-} anyonunu içeren bir sulu çözeltinin en genel aktif bölge kısmı kuvvetli bazik tersiyer amin $(\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{OH}^-)$ olan anyon değiştirici reçineyle reaksiyonu sonucunda gerçekleşen yer değiştirme tepkimesi denklem 2.2'de gösterildiği gibidir.[12]



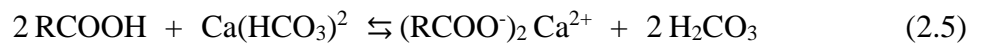
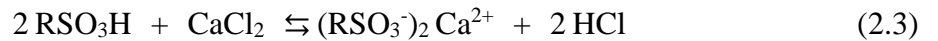
2.2.3.3 İyon değiştirici dolgular

İyon kromatografi tekniğinde kullanılmak üzere duyulan ihtiyaçtan dolayı 1935 yılında sülfonatlanmış kömür iyon değiştirici reçine olan ilk sentetik iyon değiştirici Leibknecht geliştirmiştir. Bu sırada, Adams ve Holmes de sentetik fenolformaldehit iyon değiştirici reçineyi üretmişlerdir. Sentetik iyon değiştiricilerin üretilme nedenlerinin en başında su yumuşatma, su deiyonizasyonu ve çözelti saflaştırma işlemleri gelmektedir. Sentetik reçineler, doğal reçinelere göre daha kararlı, yüksek kapasiteli ve rejenerasyona dirençlidir.

Sentetik iyon değiştiriciler yapısında bulundurduğu fonksiyonel grubun çeşidine göre kuvvetli asidik 4 farklı şekilde sınıflandırılmaktadır:

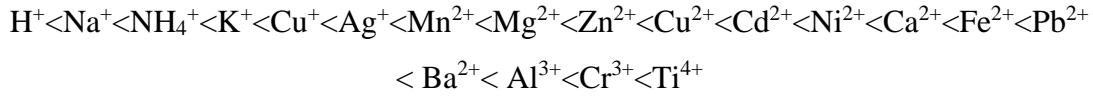
- ✓ Kuvvetli Asidik Katyon Değiştiriciler
- ✓ Zayıf Asidik Katyon Değiştiriciler
- ✓ Kuvvetli Bazik Anyon Değiştiriciler
- ✓ Zayıf Bazik Anyon Değiştiriciler

Sentetik katyon değiştiriciler yukarıda da görüldüğü gibi kuvvetli asidik ve zayıf asidik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Sülfonik fonksiyonel gruplarını içerenler kuvvetli asidik katyon değiştiriciler; karboksil gruplarını içerenler zayıf asidik katyon değiştiriciler ise olarak tanımlanmaktadır. Zayıf ve kuvvetli asidik katyon değiştiricilerde gerçekteşen reaksiyonlar tersinir reaksiyonlardır. denklem 2.3 ve denklem 2.4'te iki farklı kuvvetli asidik katyon değiştirici ve denklem 2.5 ve denklem 2.6'da zayıf asidik katyon değiştirici reaksiyonu gösterilmektedir.



Tükenmiş kuvvetli asidik katyon değiştiriciler asit rejenerasyonu ile hidrojen ya da sodyum, zayıf asidik katyon değiştiriciler ise hidrojen formuna dönüşebilmektedir.

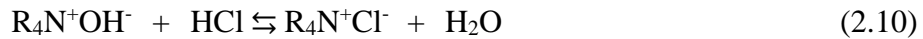
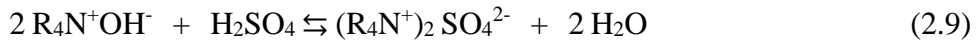
-SO₃H fonksiyonel grubuna sahip olan kuvvetli asidik katyon değiştirciler için iyon değişim kuvvetleri aşağıdaki gibidir:



Sentetik anyon değiştirciler yukarıda da görüldüğü gibi kuvvetli bazik ve zayıf bazik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Sulu çözeltilerde bulunan SO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻ gibi kuvvetli asit anyonlarını ve HCO₃⁻ ve SiO₃²⁻ gibi zayıf asit anyonlarını bulunduran anyon değiştirciler kuvvetli bazik olarak sınıflandırılırken; birincil, ikincil, üçüncül ve bazen de kuarterner amonyum gruplarını yapısında bulunduran anyon değiştirciler ise zayıf bazik anyon değiştirciler olarak sınıflandırılmaktadır. Kuvvetli bazik anyon değiştirciler, kuvvetli ve zayıf asitlerle tepkimeye girdiğinde nütürleşme gerçekleşir ve bu nütürleşme reaksiyonları denklem 2.7 ve denklem 2.8’de gösterilmektedir.



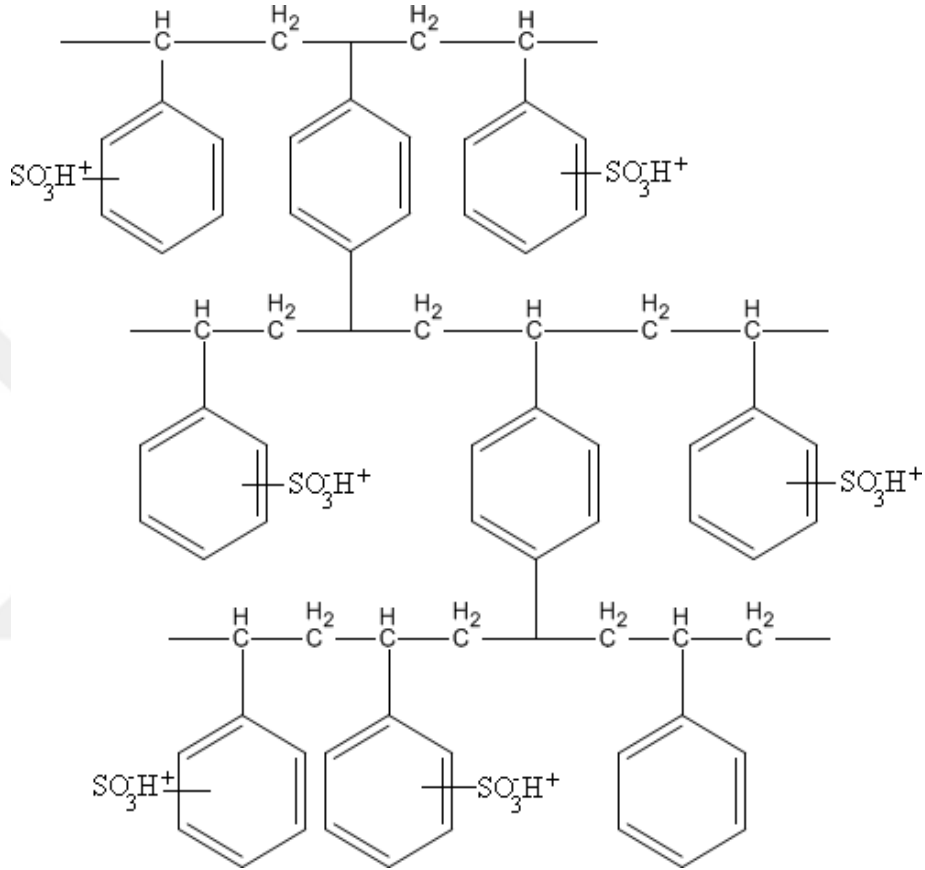
Kuvvetli bazik anyon değiştircilerin kapasiteleri, zayıf bazik anyon değiştircilerin kapasitelerinin yarısı kadardır. Bu yüzden organik kirlenmeye kadar maksimum düzeyde koruma sağlamak amacıyla zayıf bazik anyon değiştirciler kuvvetli bazik anyon değiştircilerden önce kullanılmaktadır. Ayrıca, zayıf bazik anyon değiştirciler Cl⁻, SO₄²⁻ ve NO₃⁻ gibi kuvvetli asit anyonlarının bulunduğu suların temizlenmesinde de kullanılmaktadır ve bu değiştircilerde gerçekleşen reaksiyonlar denklem 2.9 ve denklem 2.10’da verilmektedir:



2.2.3.4 İnorganik iyon değiştirciler

İyon değişim kromatografisinde kullanılmak üzere, çok sayıda farklı doğal ve sentetik iyon değiştirci bulunmasına rağmen divinilbenzenle çapraz bağlanmış polistiren ve fenol formaldehit reçineleri en çok kullanılan iki reçine tipidir. Kuvvetli bir asit reçinesi olan divinilbenzenle çapraz bağlanmış polistiren reçinesi, divinilbenzenin stiren ile emülsiyon kopolimerizasyonu tekniğiyle üretilmektedir. Bu polimerizasyon

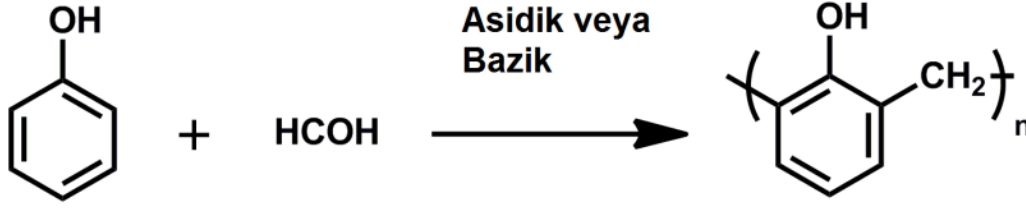
sonucunda küçük ve gözenekli polimerler oluşmaktadır. Bu polimerizasyonun çapraz bağlanarak yapılması, oluşan polimer taneciklerinin mekanik dayanıklılığını arttırmaktadır. Kuarterner aminler ve sülfonik asit gibi bazik ve asidik fonksiyonel gruplar polimerin yapısına kimyasal olarak bağlanarak oluşan polimer iyonlara karşı aktif hale getirilir. Divinilbenzenle çaprazlanarak oluşturulan polistiren reçinesinin yapısı Şekil 2.1’de gösterilmiştir. [1]



Şekil 2.1 : Çapraz-bağlı polistiren iyon değiştirici reçinenin yapısı [1].

Divinilbenzen çapraz bağlı polistiren reçinesinde bulunan $-\text{SO}_3^-\text{H}^+$ fonksiyonel grubu yerine, $-\text{COO}^-\text{H}^+$, $-\text{NH}_3^+\text{OH}^-$ ve $-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{OH}^-$ gibi fonksiyonel grupları bağlayarak benzer reçineler de elde edilebilmekte ve kullanılmaktadır.

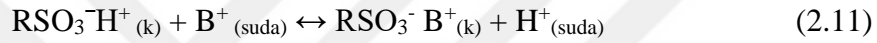
İlk ticari sentetik iyon değiştirici reçine olan fenol formaldehit reçineleri, fenol ve formaldehitin asidik veya bazik koşullarda zincir büyüme polimerizasyonu tekniğiyle sentezlenmesi sonucu elde edilir. Reçinenin özelliği ortamın asit ve baz olmasına göre değişir. Asidik koşulda gerçekleşen polimerizasyon sonucu elde edilen reçine novalak, bazik ortamda gerçekleşen polimerizasyon sonucu elde edilen reçine ise rezol olarak adlandırılır. Asidik veya bazik koşulda gerçekleşen polimerizasyon reaksiyonu Şekil 2.2’de gösterilmektedir: [13]



Şekil 2.2 : Fenol formaldehit reçinelerin sentez reaksiyonu ve yapısı [13].

2.2.4 Kütlelerin etkimesi kanununun iyon değişim dengesine etkisi

Katyon iyon değiştirici kolonu olan sülfonik asit reçinesi ile tek yüklü B^+ katyonu arasında gerçekleşen reaksiyon ele alınarak Kütlelerin Etkimesi Kanunu'nun iyon-değiştirme dengesine etkisini inceleyelim. Kolona verilmiş olan nötral bir çözeltide bulunan B^+ iyonunun denklem 2.11'deki reaksiyonu nedeniyle kolonun üst kısmında tutulduğu görülür:



Yukarıdaki reaksiyonda k sembolü, yanına yazılmış olan maddenin katı olduğunu ifade etmektedir. Kolonda gerçekleşen elüsyon hidroklorik asitle gerçekleşeceğinden dolayı, durgun fazda bulunan B^+ iyonu hareketli faza aktarılır ve bu yüzden tepkimede denge tepkenlere doğru kayacaktır. Daha sonra sabit ve mobil faz arasında gerçekleşen hızlı aktarım sonucunda buradaki iyonlar kolondan aşağı doğru hareket eder. Yukarıdaki reaksiyon için $K_{değ}$ olarak tanımlanan denge sabiti yazılacak olursa denklem 2.12'deki gibi ifade edilir:

$$K_{değ} = ([RSO_3^- B^+]_k [H^+]_{suda}) / ([RSO_3^- H^+]_k [B^+]_{suda}) \quad (2.12)$$

Denge sabitini bulmak için oluşturulan formülde yer alan $[RSO_3^- B^+]_k$ ve $[RSO_3^- H^+]_k$, B^+ ve H^+ ifadeleri bu maddelerin/iyonların katı fazdaki derişimlerini ifade etmektedir (en doğru anlamda aktivitelidir). Denge sabiti formülünde yer alan ifadeler düzenlenecek olursa denklem 2.13'teki hale dönüşecektir:

$$K_{değ} = [RSO_3^- B^+]_k / [B^+]_{suda} = [RSO_3^- H^+]_k / [H^+]_{suda} \quad (2.13)$$

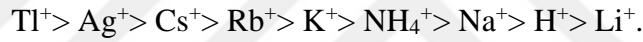
Hidrojen iyonlarının sulu fazdaki derişimleri elüsyon sırasında B^+ iyonlarının derişimleri hidrojen iyonlarının sulu fazdaki derişimlerine göre çok daha azdır. Ayrıca, B^+ sayısı yanında, reçinedeki yer değiştirme bölgesi sayısı çok daha yüksektir. Bundan dolayı, $[H^+]_{suda}$ ve $[RSO_3^- H^+]_k$ derişimleri denklem 2.13'teki kaymalardan fazla etkilenmeyecektir ve bu durum göz önünde bulundurulduğunda $[RSO_3^- H^+]_k$ ve $[H^+]_{suda} \gg [B^+]_{suda}$ olacaktır ve denklem 2.14'ün sağ tarafı hemen hemen sabit olur.

$$K = \frac{[\text{RSO}_3^- \text{B}^+]_k}{[\text{B}^+]_{\text{suda}}} = C_s / C_m \quad (2.14)$$

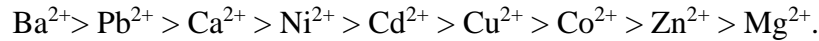
şeklinde ifade edilebilir. Yukarıda verilen ifadede yer alan K sembolü dağılma katsayısı sabiti olarak tanımlanmaktadır.

Katı faz açısından denge sabitinin durumunu incelediğimizde; $K_{\text{değ.}}$ 'in büyük olmasının nedeni B^+ iyonunu reaksiyon ortamından alıkoymak için yüksek bir meyil içerisinde olmasıdır. $K_{\text{değ.}}$ 'in küçük olduğunda ise, bu durumun tam tersi geçerli olduğu ifade edilir.

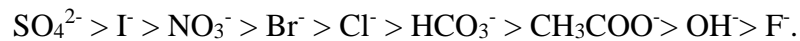
Referans iyon seçerken H^+ gibi genel bir iyon seçilirse verilen tipteki reçinede farklı iyonlar için dağılma oranları deneysel olarak karşılaştırmak mümkün olacaktır. Bu tür deneyler, çok yüklü iyonları tek yüklü iyon türleriyle karşılaştırdığımızda çok daha kuvvetli olduğu göstermektedir. Fakat hidratlaşmış iyonun diğer özellikleri kadar boyutundan kaynaklı olarak bazı farklılıklar olur. Sonuç olarak, alışılmış bir sülfolanmış katyon değiştirici reçine için, tek yüklü katyonlar için denge sabiti ($K_{\text{değ}}$) değerleri büyükten küçüğe doğru aşağıda verildiği gibi sıralanmaktadır.



Denge sabiti değerleri iki yüklü katyonlar için büyükten küçüğe doğru sıralaması şöyledir:



Anyonlarda, kuvvetli bazik reçineler için $K_{\text{değ}}$ değerleri büyükten küçüğe sıralaması aşağıdaki gibidir:



Anyon ve katyonların denge sabiti sıralamaları, bazı durumlarda reçinenin tipine ve reaksiyon şartlarına bağlı olduğundan, sadece bir varsayım olarak kabul edilmelidir.[1]

2.2.5 İyon kromatografi etkinliğini etkileyen parametreler

2.2.5.1 pH

Mobil fazın türüne göre pH değerinde farklılık olacaktır ve bu farklılık mobil fazın iyon sayısı ve kimyasal özelliğinden kaynaklanmaktadır. Anyon değiştirici ve katyon değiştirici reçinelerde pH alıkonma zamanını etkilemektedir. Mobil faz pH artışı, katyon değiştirici reçinelerde alıkonma süresini azaltırken; anyon değiştirici reçinelerde artırmaktadır. [14]

2.2.5.2 İyonik güç

Mobil fazın iyonik gücü çözücü kuvvetini önemli ölçüde etkilemektedir. İyonik gücün artmasıyla çözücü kuvveti de artacaktır. Çözücü kuvvetinin artışı optimum düzeyde tutabilmek için kapasite faktörünün 2-20 aralığındaki bir değerle optimize edilmesi gerekir. [14]

2.2.5.3 Sıcaklık

İyon değişim sistemindeki sıcaklık değişimi mobil fazın viskozitesini etkiler ve buna bağlı olarak sabit ve hareketli faz arasında gerçekleşen iyon değişim miktarını ve alıkonma süresini değiştirir. Sıcaklığın artmasıyla hareketli faz çözücüsünün viskozitesini artırır. Viskozite artışı, hareketli ve sabit faz arasındaki iyon değişim oranını artırır. Ayrıca, sıcaklık artmasıyla artan viskozite iyonların alıkonma süresini azaltacaktır. [14]

2.2.5.4 Akış hızı

İyon kromatografi tekniğinden iyonların ayırma etkinliğini değiştiren parametrelerden biri hareketli fazın akış hızıdır. Akış hızının fazla olması, temas süresini azaltır ve bu yüzden, iyon aktarımı yeterli düzeyde gerçekleşmez. Akış hızının az olduğu durumda ise, yeterli yüzey teması sağlanamaz ve kanallaşmaların oluşumu gözlenir.

İyon kromatografide mobil fazın akış hızının diğer yüksek performanslı/basınçlı sıvı kromatografi türlerindeki akış hızına kıyasla daha düşük olması tercih edilir. Maksimum kütle transferi gerçekleşmesine olanak sağlayacak düzeyde düşük akış hızı sağlanarak verimli bir ayırma gerçekleştirilmelidir. [14]

2.2.5.5 Organik modifiye ediciler

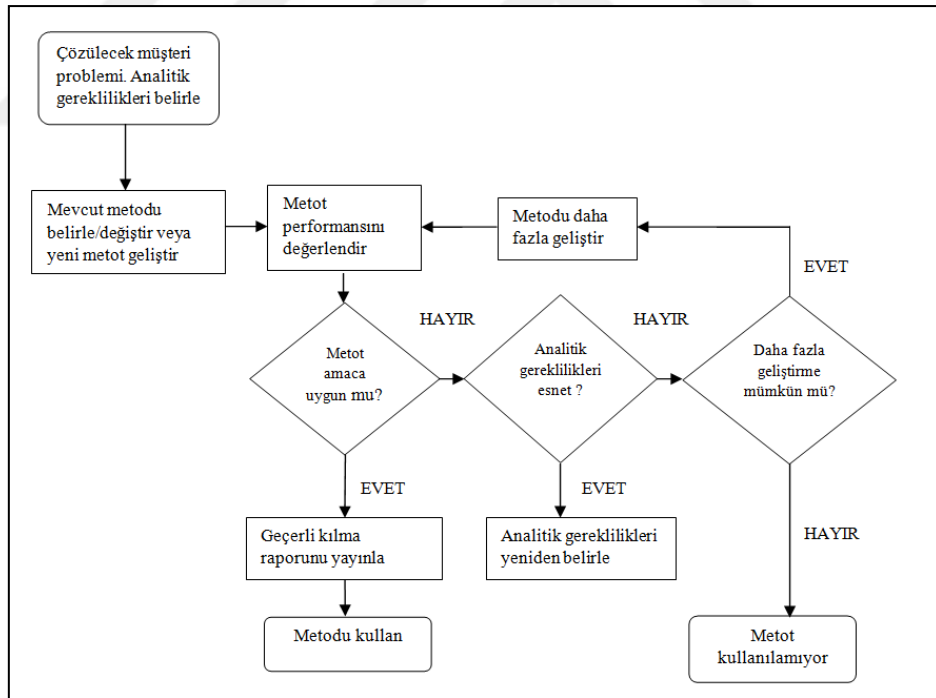
Hareketli fazın yapısına katılan organik yapılar olarak tanımlanan organik modifiye ediciler mobil fazın viskozitesini azaltarak kütle transfer kinetiğinin artırılırlar. [14]

2.2.5.6 Tuz

İyon değişim sistemi içerisinde yer alan her tür iyonik türden hareketli fazın çözücü kuvvetinin etkileyecektir. Çözücüye tuz eklenmesi, pH değerinde değişmesine neden olur ve pH değerinin artış ya da azalışına bağlı olarak reçine türüne göre alıkonma sürelerinde değişiklik gerçekleşir. [14]

2.2.6 Metot validasyonu

Metodun geçerli kılınması olarak tanımlanan metot validasyonu, belirli bir amaç doğrultusunda uygulanan metodun performans kriterlerine uygunluğunu saptamak için metot parametrelerinin belirlenerek incelendiği ve metodun bilimsel olarak her koşulda uygulanabileceğini gösterme amacıyla yapılan geçerlilik çalışmasıdır. Validasyon çalışmaları, tek bir laboratuvar veya pek çok laboratuvarın katılmış olduğu laboratuvarlar arası çalışma ile gerçekleştirilebilir. Tek laboratuvar tarafından yapılan validasyon iç validasyon olarak tanımlanmaktadır. İç validasyon ve laboratuvarlar arası validasyona ek olarak dış validasyon da yapılmaktadır ve bu validasyon türünde, kapsamlı geçerli kılma çalışmaları söz konusudur. Kapsamlı geçerli kılma çalışmalarının yapıldığı dış validasyonda, rutin kullanım öncesi metot performans kriterlerinin tümü veya belirli bir kısmının incelenir ve dokümantasyon işlemi yapılarak tüm performans kriterleri değerlendirilir. Gerçekleştirilecek olan çalışmada yapılması belirlenen metodun amaca uygun olup olmadığını belirlenen süreç olarak tanımlanan metodun geçerli kılınma süreci Şekil 2.3’de gösterilmektedir.[15]



Şekil 2.3 : Metodun geçerli kılınca süreci.

Bir metodun validasyonunu gerçekleştirmek için yapılması gereken metot performans parametreleri sırasıyla; seçicilik (spesifiklik), algılama sınırı (LOD) ve tayin limit (LOQ), lineerlik ve çalışma aralığı, analitik duyarlılık, doğruluk, kesinlik, ölçüm belirsizliği ve sağlamlık olmak üzere sekiz adımdan oluşmaktadır.

2.2.6.1 Seçicilik (Spesifiklik)

Seçicilik, metodun matris içerisinde girişim oluşturabilecek diğer bileşenlerin varlığında hedef analiti ayırabilme ve doğru olarak tanımlayabilme olarak ifade edilmektedir. Bir metodun seçiciliğini incelemek için kullanılan matristeki hedef analitle benzer özellik gösteren bileşen olup olmadığı eğer varsa bu bileşenin etkisi incelenir. Bu doğrultuda, genellikle önce kör matrisin ölçümü alınır; sonrasında hedef analitle girişim yapacak madde bilinen konsantrasyonda eklenip ölçüm yapılır. Ekleme öncesi ve sonrası ölçümler karşılaştırılarak, kullanılan matrisin analit için seçiciliğinin ne kadar olduğu belirlenir. Girişim olup olmadığının açık olmadığı durumlarda ise; metodun seçiciliği, ilgilenilen analiti ölçebilme yeteneğinin diğer bağımsız metotlarla kıyaslanmasıyla incelenebilir. [15]

2.2.6.2 Algılama sınırı ve ölçüm limiti

Cihaz kullanılarak yapılan çalışmalarda cihazın algılama sınırı ile metodun algılama sınırını olmak üzere iki farklı algılama sınırı terimi bulunmaktadır ve bu ifadeleri birbirleriyle karıştırmamak gerekir. Cihazın algılama sınırı, doğrudan cihaza verilen bir örneğin analizin ya da analiz sonucu elde edilen bir kromatogramın sinyal/gürültü oranı ile elde edilebilir. Bir metodun algılama/gözlenebilirlik sınırı ise, analiz edilen matris içinde bulunan hedef analitin en küçük konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır ve genellikle LOD olarak ifade edilmektedir. Metot algılama sınırı, çok düşük konsantrasyonlarda yapılan analizler için büyük önem taşıyan metot validasyon parametresidir.

Ölçüm limiti, analizi yapılan örneğin kabul edilebilir düzeyde kesin ve doğru olarak miktarının tayin edilebileceği doğrusallık sınırları içerisinde girmeyen veya doğrusallığın en alt derişimini oluşturan düzeyi olarak tanımlanan metot validasyon parametresidir ve LOQ ile ifade edilmektedir.

EUROCHEM tarafından hazırlanan kılavuzda verilen ve denklem 2.15 ve denklem 2.16'da gösterilen eşitlikler kullanılarak metodun algılama sınırı (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) elde edilir. Bu kılavuza göre, LOD ve LOQ değerleri tekrarlanabilirlik koşulları altında elde edilen boş numune ölçümlerinden elde edilen ilgili değerler kullanılarak hesaplanır. [15] [16]

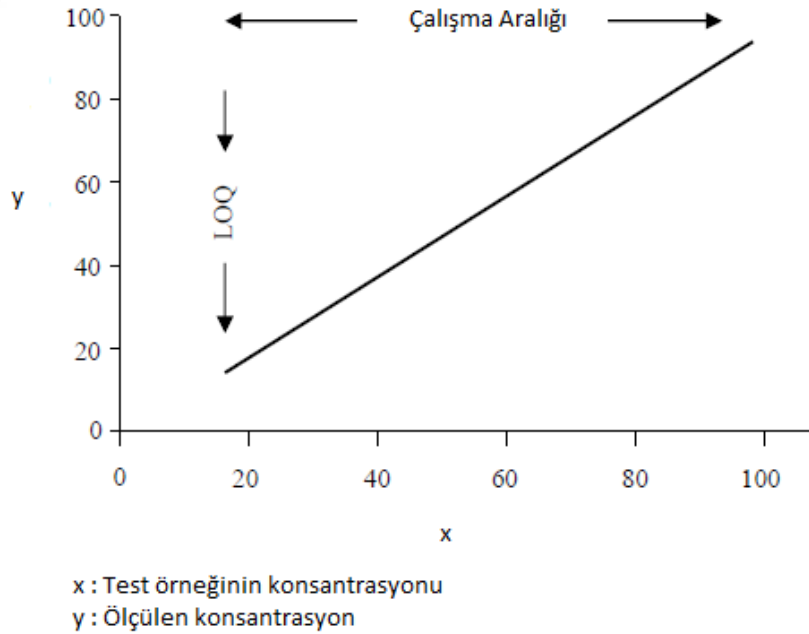
$$\text{Algılama Sınırı (LOD)} = X + 3 \times \text{Standart Sapma.} \quad (2.15)$$

$$\text{Ölçüm Limiti (LOQ)} = X + 10 \times \text{Standart Sapma.} \quad (2.16)$$

2.2.6.3 Doğrusallık ve çalışma aralığı

Belirli bir konsantrasyon aralığında analitten alınan cevabın analit konsantrasyonu ile orantılı olması metodun doğrusallığı olarak tanımlanmaktadır. Eurochem kılavuzuna göre, metod doğrusallığı alt sınırı LOQ değeri olan kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasıyla gerçekleştirilir. Analitin bilinen konsantrasyonu ile analiz yapılarak kalibrasyon eğrisi oluşturulur. EUROCHEM kılavuzuna göre, çizilen kalibrasyon eğrisi kör nokta hariç en az 6 farklı konsantrasyon noktasını içermelidir ve her noktadaki tekrar sayısı 3 olmalıdır. ISO 11095'e göre, kalibrasyon eğrisi en az 3 farklı konsantrasyonda referans örnek noktası bulundurmalıdır ve her noktadaki analiz tekrar sayısı en az 2 olması gerektiği belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrisi sonucunda $y=ax+b$ şeklinde grafik formülü ve R^2 olarak ifade edilen kolerasyon sayısı elde edilir. Metodun doğrusal olması için, kolerasyon sayısı 0,99'a eşit ya da 1'e yakın olması gerekmektedir.

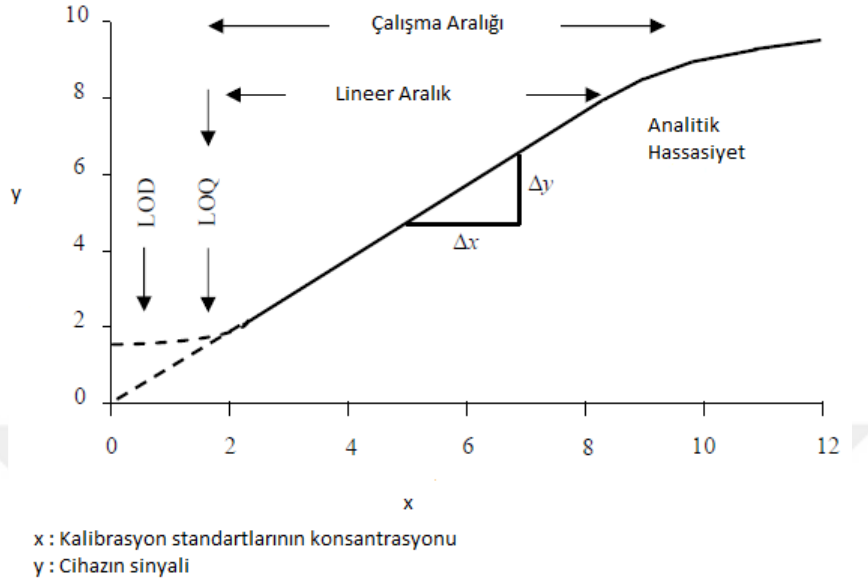
Metot çalışma aralığı, alt limiti ölçüm limiti ve üst limiti analitik duyarlılıkta belirgin bir bozulmanın gözlemlendiği derişim olup doğrusal aralıkta bulunan farklı derişimlerdeki noktaları içeren aralık olarak tanımlanmaktadır. Metot çalışma aralığı grafiği örneği Şekil 2.4'de gösterilmektedir. [15] [16]



Şekil 2.4 : Metot çalışma aralığı [16].

Cihaz kullanılarak yapılan çalışmalarda, metod çalışma aralığının dışında cihaz çalışma aralığı terimi de bulunmaktadır. Cihaz çalışma aralığı, kör ve seri seyreltmeler halinde hazırlanan standart çözeltiler en az ikişer kere cihazda okutulması sonucu elde

edilen aralıktır. Bu aralığın \pm %10-%20'si de çalışmaya dahil edilebilir. Cihaz çalışma aralığı için elde edilen grafik ve belirlenen aralık örneği Şekil 2.5'de gösterildiği gibidir:[15] [16]



Şekil 2.5 : Cihaz çalışma aralığı [16].

2.2.6.4 Doğruluk

Doğruluk, bir ölçüm sonucunun referans değere yakınlığı gösteren validasyon parametresidir. Doğruluk; kesinlik ve gerçeklik parametrelerinden oluşmaktadır.

Gerçeklik, bir analiz sonucu elde edilen sonuçların kalitesini ifade etmek için kullanılan performans özelliklerinden biri olan gerçeklik, sistematik hata hesaplanarak belirlenir. Sistematik hata, analiz metodunun gerçek sonuç verebilme yeteneğini ortaya çıkarır. Sistematik hatanın hesaplanabilmesi için öncelikle, doğru olduğu kabul edilen referans yani gerçek değer bilinmesi gerekir. Bu gerçek değeri elde etmek için bir çok farklı yöntem bulunmaktadır. Sertifikalı referans madde kullanımı, geçerli kılınmış metodun ölçüm sonucunun veya yeterlilik testleri sonucunun kullanımı bu yöntemlerden üç tanesidir. Bu yöntemlerin ortak özelliği, gerçek değerlerin bir çok laboratuvarında gerçekleştirilmiş analizler sonucunda elde edilmesidir. Sistematik hata, gerçek değer ile numunenin analiz sonucu elde edilen değer arasındaki farkın hesaplanmasıyla bulunur. Bu hatanın kabul edilebilecek düzeyde olup olmadığı t-testi veya z-skoru yapılarak belirlenebilir. [15] [16]

Sertifikalı referans materyal, referans metot ve yeterlilik testinin bulunmadığı durumlarda geri kazanım çalışmaları yapılarak da gerçeklik parametresi belirlenebilmektedir. Geri kazanım sonuçlarının %80-110 aralığında bulunması

yapılan analizin başarılı olarak gerçekleştiğini göstermektedir. Eurochem tarafından hazırlanan kılavuza göre, geri kazanım çalışmasının en az 6 tekrarla ve birkaç farklı derişimde yapılması önerilmektedir. Geri kazanım çalışması için gerçekleştirilen analizler sonucu elde edilen veriler kullanılarak %geri kazanım denklem 2.17'de verilen formülle hesaplanmaktadır:

$$\% \text{Geri Kazanım (\%RSD)} = (Q_z - Q_o) / Q_{zk} \quad (2.17)$$

%RSD olarak ifade edilen %geri kazanım formülünde, Q_z zenginleştirilmiş numune derişimini, Q_o orjinal örnek derişimini ve Q_{zk} zenginleştirme konsantrasyonunu ifade etmektedir.

Kesinlik, ölçüm sonuçlarının birbirine ne kadar yakın olduğunu ifade eden metot performans özelliklerini güvenilir bir şekilde tespiti için önemli olan parametredir ve bu parameter doğruluğun bileşenlerinden biridir. Bağımsız analiz sonuçları arasındaki tutarlılığı ve buna ek olarak, rastgele hataların dağılımını göstermektedir. Kesinlik ölçümünü değişkenliğine neden olan dört faktör aşığıdaki gibidir:

- ✓ Zaman (kısa ve uzun zaman aralığı),
- ✓ Kalibrasyon (aynı ekipmanda dahi ölçümler arasında yeniden kalibrasyon yapıp yapılmadığı),
- ✓ Operatör (aynı veya değişik operatörler),
- ✓ Ekipman (ölçümlerde aynı veya farklı ekipmanların kullanılıp kullanılmadığı)

Metodun kesinliği, metodun tekrarlanabilirliği ve metodun tekrarüretebilirlik olmak üzere iki bileşene bağıdır. Tekrarlanabilirlik; bir metodun aynı laboratuvarda, aynı cihazla veya metotla, aynı uygulama koşulları altında, analist değiştirilmeksizin çok uzun zaman aralığı olmadan aynı ya da benzer matrislerde elde edilen ölçüm sonuçlarının birbirlerine ne kadar yakın olduğunu gösteren ölçüdür. Tekrarüretebilirlik ise, tekrarlanabilirlik çalışmasında izlenen yolun tam zıttı olacak şekilde bir metodun; farklı laboratuvarda, farklı cihaz ve kimyasallar kullanılarak, farklı kişi tarafından ve farklı günlerde yapılan ölçüm sonuçlarının birbirine ne kadar yakın olduğunu gösteren ölçüdür. [15] [16]

2.2.6.5 Ölçüm belirsizliği

Ölçüm belirsizliği ölçülen büyüklük ile anlamlı olarak ilişkilendirilebilen değerlerin dağılımını göstermektedir. Tüm materyal ve koşullar aynı olsa bile, tekrar analiz

yapıldığında tamamen aynı sonuçlar elde edilmeyeceği için ölçüm belirsizliği aralığı belirlenmesi gerekir. Belirsizlik aralığı ne kadar dar olursa metot daha iyi olur. Numune alma, örnek hazırlama, sertifikalı materyal kullanımı, cihaz kalibrasyonu, analiz, verilerin işlenmesi(hesaplanması), sonuçların raporlanması ve sonuçların sunumu belirsizlik bileşenleridir. Birleşik ve genişletilmiş olmak üzere iki farklı belirsizlik türü mevcuttur. Tüm belirsizlik bileşenlerinin bileşkesinden elde edilen belirsizlik birleşik belirsizlik olarak tanımlanırken; bileşik belirsizliğin k faktörü ile çarpılmasıyla elde edilen belirsizlik genişletilmiş belirsizlik olarak tanımlanmaktadır.[15]

2.2.6.6 Sağlık

Bir metodun veya analiz prosedürünün sağlamlığı, laboratuvar ortamından kaynaklanabilecek olan sapmaların öngörmek için belli faktörlerin değiştirilerek bu değişimin etkisinin incelendiği metot validasyon çalışmasıdır. Örnek kompozisyonu, üretim tarihi farklı kimyasallar, pH, ekstraksiyon süresi, sıcaklık, basınç, akış hızı, uçuculuk, kolon sıcaklığı gibi faktörler değiştirilerek bu çalışmaları yapılır. Sonuçları önemli ölçüde etkileyen faktörlerin metot açıklamasında açık bir şekilde tanımlanmalıdır. Metot parametrelerinde rutin işlem sırasında yapılan değişikliklerin analiz sonucuna etkisi ne kadar az ise metot da o kadar sağlam olacaktır.[15]

2.2.7 İyon kromatografi uygulama alanları

İyon kromatografi giriş kısmında anlatıldığı gibi iyon değiştirme kromatografisi, ayrılmaları çok güç olan bazı iyonları içeren çözeltilerin iyonlarını birbirlerinden ayırmayı ve kompleks bir numune içindeki maddelerin kalitatif ve kantitatif olarak tayin edebilmeyi mümkün kılmaktadır. Bu olanaklarından kaynaklı olarak iyon değişim kromatografi birçok farklı alanda kullanılmaktadır. Bunlar;

- ✓ Toksikolojide,
- ✓ Adli tıpta,
- ✓ İçme suyu ve atık sulardaki kirliliklerin, hava kirliliğinin, endüstriyel atıkların, biyolojik çözeltilerdeki iyonik türlerin belirlenmesinde
- ✓ Gıda ve içecek analizlerinde,
- ✓ Kütle spektrometresi veya diğer spektroskopi yöntemlerden önce karışımlardaki bileşenlerin ayrılmasında, iyonik safsızlıkların tanımlanmasında,

- ✓ Değişik numunelerdeki inorganik anyonların ve katyonların, organik asitlerin, aminlerin, amino asitlerin, karbonhidratların veya nükleik asitlerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. [5] [17]



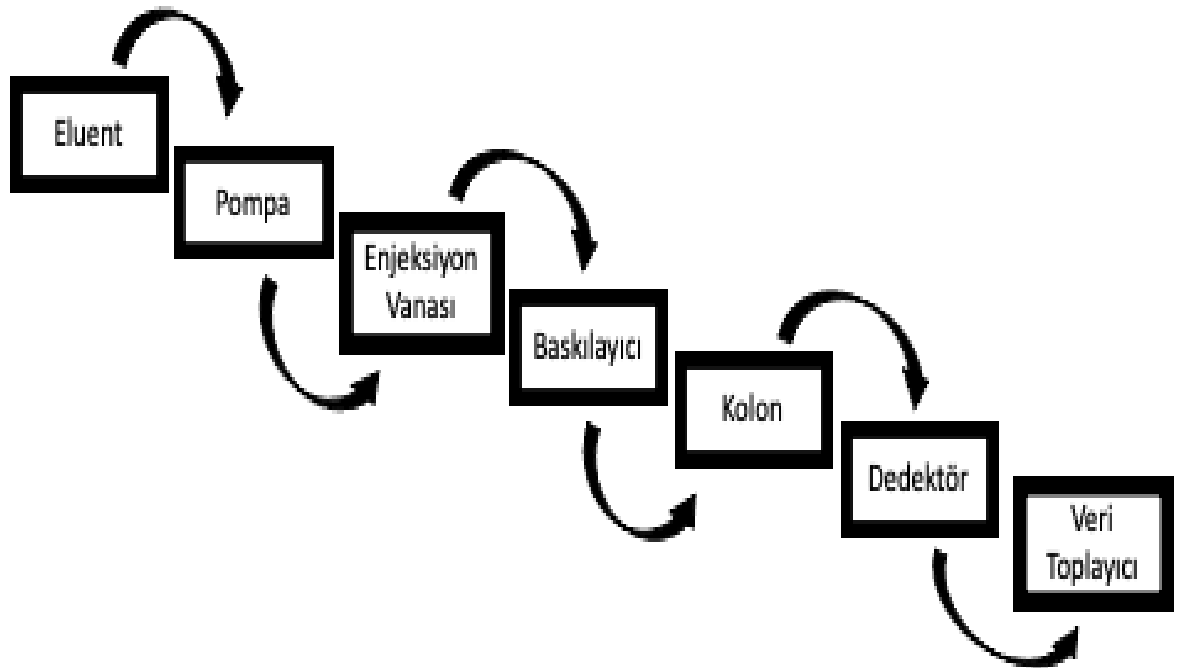


3. ICS-3000 Sistemi

3.1 ICS-3000 Sistemi ve Parçaları

Dionex marka ICS-3000 cihazı, anyon ve katyonların kalitatif ve kantitatif tayinini verimli ve yüksek performanslı olarak gerçekleştiren bir sistemdir. Dionex ICS-3000 cihazı daha önce üretilen Dionex markalı iyon kromatografi cihazlarıyla karşılaştırıldığında, analiz için gereken ayarlamaların daha kolay yapıldığı görülmektedir. Bu kolaylık ise, yeni sistemin içerdiği tüm modüllerin bileşenlere kolay bir şekilde ulaşılabilmesine yönelik tasarım sayesinde sağlanmıştır.

ICS-3000 İyon Kromatografi cihazında, izokratik pompadan eluent üreticiye gelen ultra saf su gradient olarak hidroksit veya karbonat/bikarbonat mobil faza dönüştürülür. Cihazda bulunan pompa çift pompa olduğu için hem izokratik hem de gradient pompa bulundurur ve istenilen pompa çalıştırılabilir. Otoörnekleyici, örnekleri kromatografik sisteme sırayla ya da istenirse eşzamanlı gönderir. Otoörnekleyiciden çıkan örneklerin kromatografik sistemde ilerleme aşamaları Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 : Örneklerin kromatografi sisteminde ilerleme aşamaları.

ICS-3000 sistemi ana bileşenleri; otoörnekleyici, dedektör, eluent üretici, ikili pompa, eluent düzenleyici ve Chromeleon bilgi ekranından oluşmaktadır ve sistem parçalarının yerleşimi Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

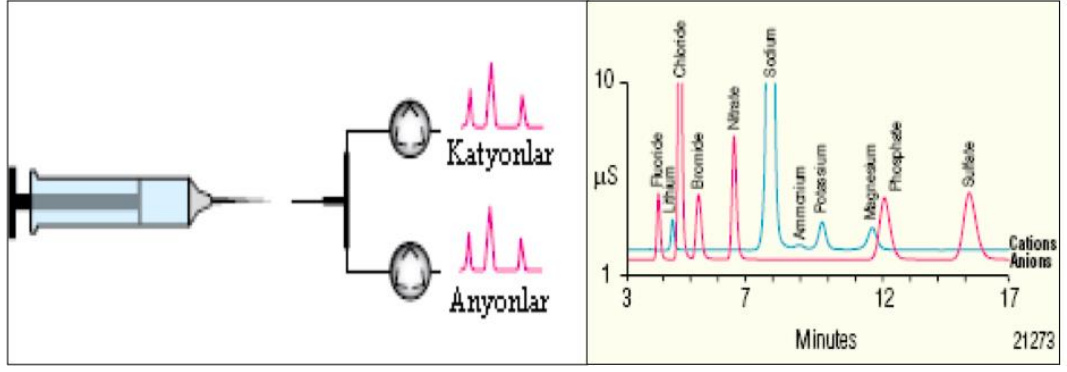


Şekil 3.2 : ICS-3000 sisteminin ana parçaları.

3.1.1 ICS-3000-AS otoörnekleyici

Tam özellikli güçlü bir olan ICS-3000 otoörnekleyici, 0,1 μL 'lik artışlarda 1,0-99,9 μL veya 1 μL 'lik artışlarda 100-1000 μL örneğin injeksiyon kapağına kesin olarak taşınmasını sağlar. Otoörnekleyici yolları ve örneklerin konulduğu vialler inert ve hazne bölmesi ısıya karşı duyarlı özellikte oldukları için örnek bileşimleri belli bir sıcaklığa kadar korunabilmektedir.

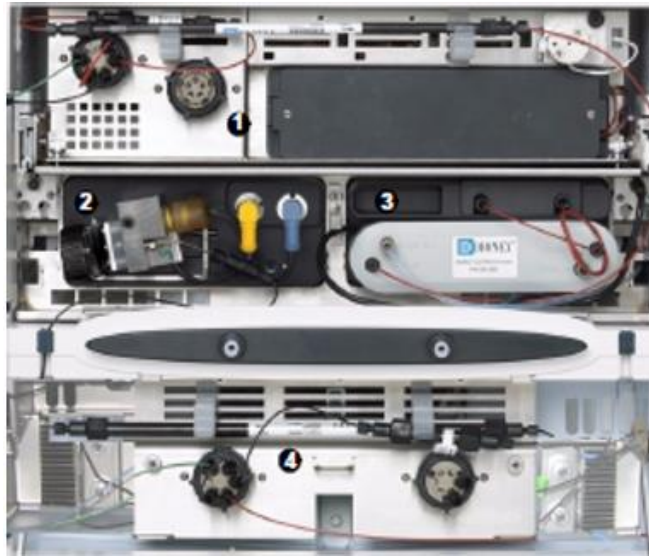
ICS-3000 otoörnekleyicisi, derişik, eş zamanlı, ardışık, ardışık derişik gibi farklı mod kullanılarak çalışılabilmektedir. Eş zamanlı mod otoörnekleyici modlarından en çok kullanılanlardan biridir. Eş zamanlı mod sayesinde Şekil 3.3’de gösterildiği gibi aynı anda iki analiz takibi yapılabilmektedir. [18]



Şekil 3.3 : Otoörnekleyiciden eş zamanlı yapılan iki analiz takibi.

3.1.2 ICS-3000-DC dedektör/kromatografi modülü

Dedektör/Kromatografi Modülü, ICS-3000 kromatografi bileşenleri için sıcaklık kontrollü ortam oluşturur. İletkenlik dedektörü, elektrokimyasal dedektörü, enjeksiyon kapağı, koruma ve ayırım kolonu, baskılayıcı ve ICS-3000 otomasyon yöneticisi dedektöre yüklenebilen bileşenlerdir. Dedektör/Kromatografi modülünün iç kısmı üst ve alt olmak üzere ikiye bölünmüştür. Üst bölmede, otomatik yönetici bileşenleri, iletkenlik dedektörü ve baskılayıcı veya elektrokimyasal dedektör ve hücreler; alt kısımda ise, kolon ve enjektör kapakları bulunmaktadır ve bu kısımlar Şekil 3.4’de gösterilmiştir. [18]



Üst Bölme:

- 1) Otomasyon Yönetici Bileşenleri
- 2) Elektrokimyasal Dedektör ve Hücreler
- 3) İletkenlik Dedektörü ve Baskılayıcı

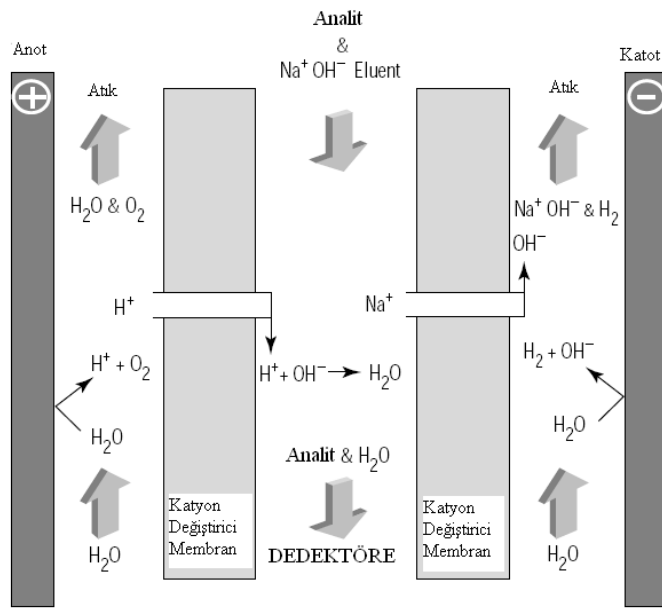
Alt Bölme:

- 4) Kolon ve Enjeksiyon Kapakları

Şekil 3.4 : Dedektör/Kromatografi modülünün iç kısmındaki bileşenleri [18].

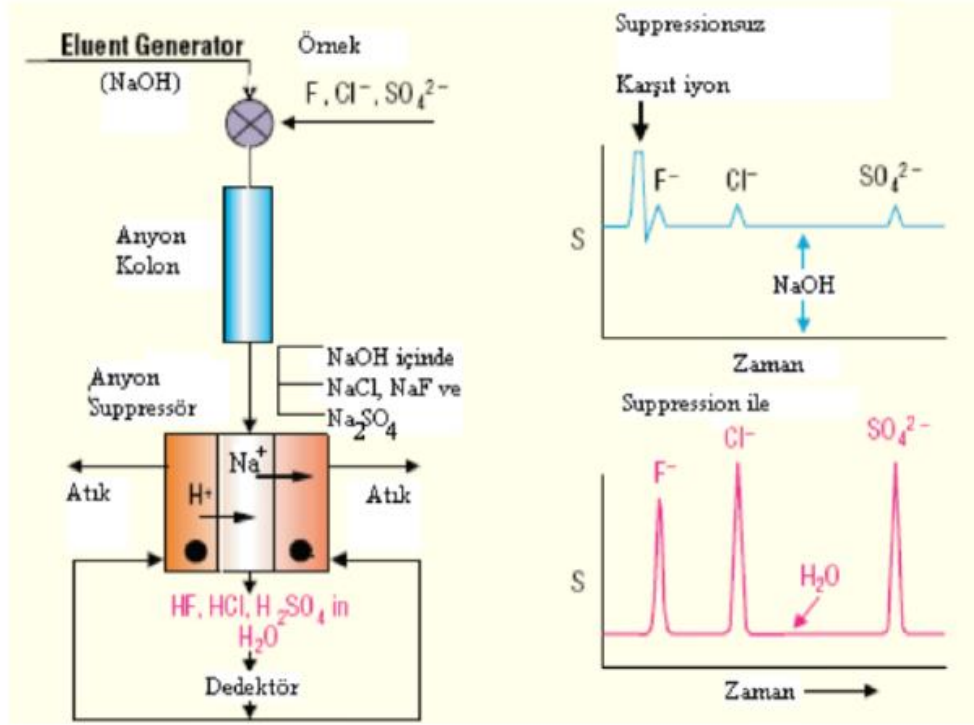
Dedektörün üst kısmının ilk bileşeni olan otomasyon yöneticisi bileşenleri, matriks eliminasyonu, konsantrasyon öncesi büyük hacmi ve kolon sonrası reaktif ekleme uygulama ve diğer fonksiyonlar için gerekli bileşenleri içerir. Otomasyon yöneticisi bileşenin alt kısmında bir veya iki dedektör bulunur. Bu dedektörler iletkenlik ve/veya

elektrokimyasal dedektörleridir. Deneyde kullandığımız ICS-3000 cihazında sadece iletkenlik dedektörü bulunmaktadır. İletkenlik dedektörü çift sinyal algılama yeteneği sağlayan entegre hücreye sahip modüler bir dedektördür. İletkenlik dedektörü 15,000 μS 'e kadar sinyal algılama kapasitesine sahiptir. İletkenlik dedektörü bulunan ICS-3000 cihazlarına baskılayıcı bileşeni eklenmektedir ve bu bileşen iletkenlik dedektörünün bulunduğu bölmede hemen altında yer almaktadır. Kendini rejenere edebilen baskılayıcılar olan SRS baskılayıcıları, elektrolitik baskılayıcı olan AES baskılayıcıları ve mikromembran baskılayıcılar olan MMS baskılayıcıları kullanılabilen baskılayıcı türleridir. Dinamik kapasiteye ve gradient elüsyon için daha elverişli olan mikromembran baskılayıcılar (MMS) 1985 yılında Dionex tarafından üretilmiştir. 1992 yılında ise kendini rejenere edebilen baskılayıcılar (SRS) geliştirilmiştir ve SRS baskılayıcılar sayesinde rejenerant kaynağı olarak elektroliz kullanana korozif rejenerantların hazırlanmasına ihtiyaç duyulmamaya başlanmıştır. SRS ve MMS baskılayıcıları yapısal olarak birbirine çok benzemektedirler. Lakin SRS baskılayıcılarda elektrotlar rejenerant odalarına yerleştirilmiştir. Rejenerant odalardan sabit hızla su geçirilir ve buradaki elektrotlara bir güç kaynağı bağlanıp akım geçirilir. Böylelikle baskılayıcıda sudan rejenerant iyonları üretilir. Sudan rejenerant iyonlarının üretildiği bu sistem otomatik baskılama olarak adlandırılmaktadır. Baskılayıcının kimyasal olarak çalışma süreci Şekil 3.5'de gösterilmiştir. Bu süreçte ilk olarak kolondan ayrılan anyonlar eluentin içinde bulunan Na^+ veya K^+ gibi katyonu ile tuz halinde baskılayıcıya ulaşır ve burada katyon değişimi gerçekleşir.



Şekil 3.5 : Baskılayıcıda kimyasal olarak gerçekleşen iyon değişimi.

Baskılayıcıda bulunan anyonlar ise yüksek iletkenliğe sahip asit formuna dönüşürler ve NaOH ile tepkimeye girerek su oluştururlar ve dedektöre geçerler. NaOH'dan gelen iletkenlik sinyalleri oluşan su tarafında önlenir ve anyonların asidik formlarının iletkenlikleri artmış olur. Bunun sonucunda da ilgili anyonun pikinde artış görülür. Bu yüzden de baskılayıcı olmayan ve baskılayıcıya sahip iyon kromatografi sonucundan elde edilen kromatogramlarda farklılık oluşacaktır ve bu farklılık Şekil 3.6'da görüldüğü gibidir:



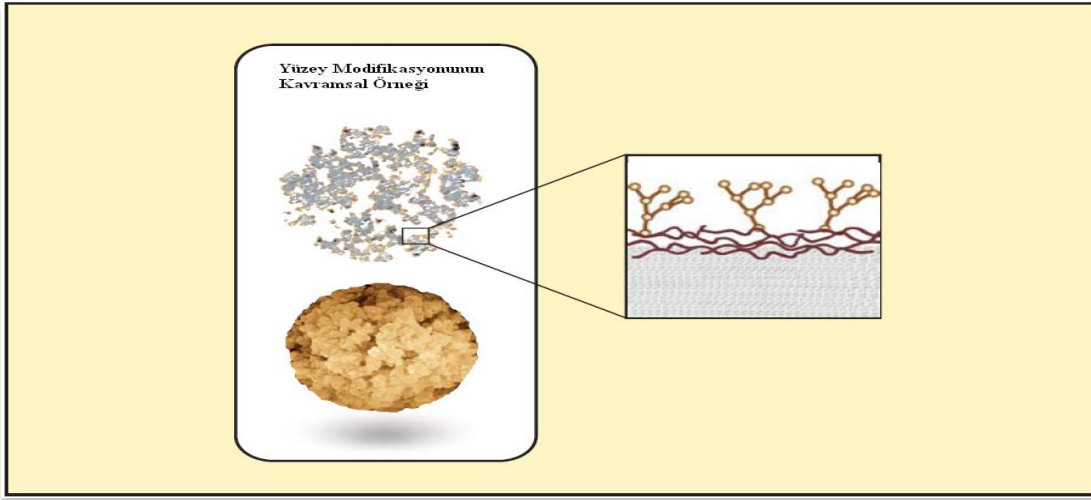
Şekil 3.6 : Baskılayıcı ve baskılayıcısız iyon kromatografi sisteminden alınan kromatogramların karşılaştırılması.

İyon kromatografi ile yapılan anyon ve katyon analizlerinde sinyal/gürültü oranı önem arz etmektedir ve baskılama yöntemi sinyal/gürültü oranının önemli ölçüde arttıran bir tekniktir. Analizi yapılacak türe göre baskılayıcı seçimi yapmak gereklidir. Baskılayıcı seçimi yapılırken göz önünde bulundurulması gereken bazı parametreler vardır. Bunlar; eluentin organik bir çözücü olup olmadığı ve analit ve matriks derişimleridir.

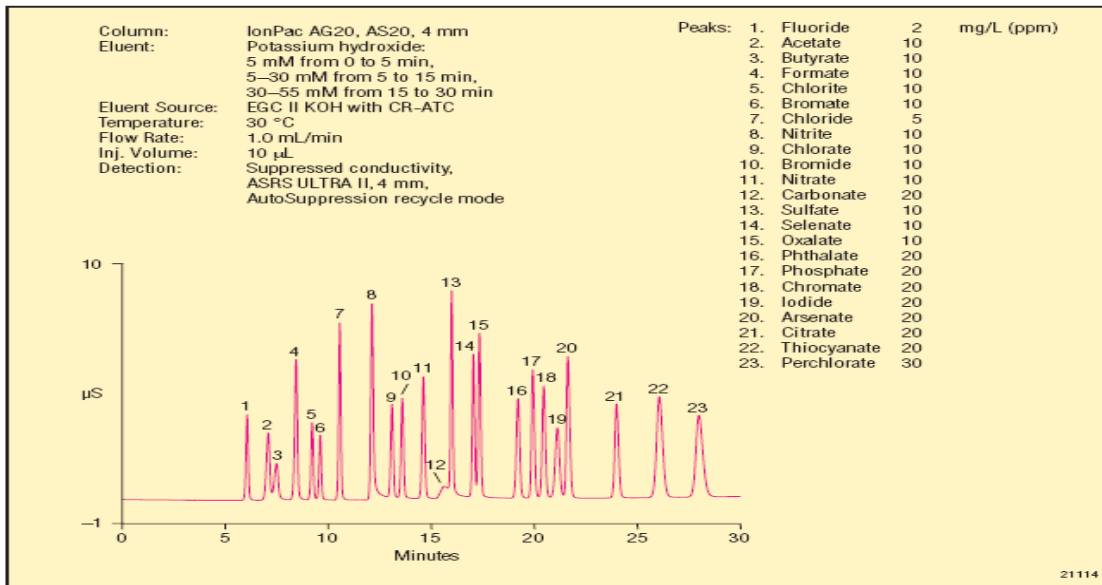
Dedektörün alt kısmında dört kolondan oluşan iki kolon seti vardır. Bu kolonlar 1-9 mm genişliğinde ve 100-250 mm uzunluğundadır. Kolonlara ek olarak bir ya da iki enjeksiyon kapağı vardır ve bu iki enjeksiyon kapağı altı veya on girişe sahiptir. Kolonlar anyon ve katyon analizlerine göre özelleştirilmektedir. Anyon analizleri için ICS-3000 iyon kromatografi cihazlarında IonPac AS20 kolonu kullanılmaktadır ve bu

kolon yüksek kapasitede seçici anyon değiştirici kolondur. AS20 anyon değiştirici kolonu su ve benzeri örneklerde çok yüksek konsantrasyonlardaki klorür, florür, sülfat, fosfat, karbonat gibi anyonların tayini için kullanılıştır. AS20 anyon değiştirici kolonunun seçiciliği 35 °C'ye optimize edilmiş olup 310 µeq/kolon değerinde yüksek bir kapasiteye sahiptir.

IonPac AS20 kolonu oldukça hidrofilik ve hidroksit eluentlerinde seçici bir polimer bağlama teknolojisi ile geliştirilmiş ve üretilmiştir. Bu teknoloji sayesinde eluent deşişiminin yüksek olması gereksinimi ortadan kalkmıştır. IonPac AS20 kolonunu yapısı Şekil 3.7'de, IonPac AS20 kolonu kullanılarak yapılan anyon analizi sonucu elde edilen kromatogram Şekil 3.8'de gösterilmektedir:



Şekil 3.7 : IonPac AS20 kolon dolgusunun yapısı.

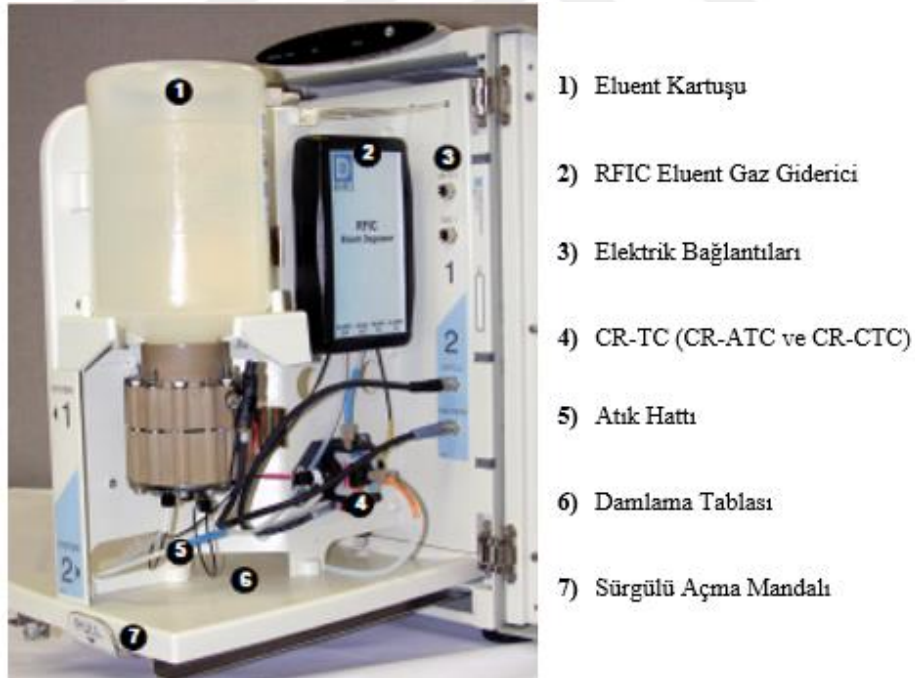


Şekil 3.8 : AS20 kolonunda ayrıımı yapılmış yirmi üç anyon kromatogramı.

3.1.3 ICS-3000-EG eluent üretici

ICS-3000 EG olarak gösterilen eluent üretici modülü RFIC sisteminin en önemli bileşenidir. Eluent üretici, deiyonize sudan yüksek saflığa sahip asit ve baz eluent otomatik olarak hazırlar. Böylelikle manuel olarak hazırlandığında oluşabilecek hatalar ortadan kalkmış olur. Eluent üretici, elüsyonu gradient ve izokratik olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleştirebilmektedir. Eluent üretici, eluenti dereceli olarak otomatik ayarlayabilmektedir ve buna gradient elüsyon adı verilir. Gradient elüsyon sayesinde, daha iyi ayrımı daha yüksek hassasiyet, daha düşük tespit sınırları ve anyon analizlerinde optimum analiz süresine daha kısa sürede elde edilir. Eluent üretici sabit bileşimli bir eluent hazırlayarak izokratik elüsyonu gerçekleştirir. İzokratik elüsyon gradient elüsyona uygulanmak istenirse bu işlem RFIC sistemi sayesinde kolaylıkla gerçekleştirir. Elüsyon için gerekli tek şey ultra saf sudur.

Eluent kartuşu, RFIC eluent gaz giderici, elektrik bağlantıları, CR-TC (CR-ATC ve CR-CTC), atık hattı, damlama tablası ve sürgülü açma mandalı bileşenleri eluent üreticinin iç bileşenleridir ve bu kısımlar Şekil 3.9'da gösterilmiştir:



Şekil 3.9 : Eluent üreticinin iç bileşenleri [18].

Eluent üretici, iki kartuştan oluşmaktadır ve bu kartuşlarında birinde hidroksit; diğerinde karbonat/bikarbonat eluentleri bulunmaktadır. Bu kartuşlardaki eluentler, istenilen zaman ve derişimde ayarlanarak kullanılabilir. RFIC Eluent Gaz Giderici, elektroliz gazından taze üretilen eluentin ayırıcı kolona yönlendirilmeden

önce temizlenmesini sağlayan tüpü içeren bileşendir. Elektrik bağlantıları, eluent gidericiye yüklenmiş bileşenlerden eluent üretici güç kaynağına bağlanmasını sağlar. CR-TC olarak kısaltılan sürekli rejenere edilmiş tuzak kolonu, yüksek basınçlı elektrolitik olarak rejenere edilen tuzak kolonudur. Sürekli rejenere edilen tuzak kolonu eluent ve deiyonize suda bulunan anyonik ve katyonik safsızlıkları yok eder ve gradient ayırma boyunca sürüklenmeyi azaltır. CR-TC için kullanabilecek iki farklı tür bulunmaktadır. Bu türlerden biri, sürekli rejenere edilmiş anyon tuzak kolonu; diğeri ise sürekli rejenere edilmiş katyon tuzak kolonudur. Atık hattı, RFIC eluent gaz gidericiden gelen sıvı ve gaz atıkların boşaltımını sağlar.

3.1.4 ICS-3000-DP çift pompa ve ICS-3000-SP tekli pompa

ICS-3000 iyon kromatografi sistemlerinde bulunan tek ve çift pompa, standart delik ve mikro delik uygulamalarında 0,001 – 10,0 mL/dk aralığında değişen akış hızlarında ve 35 MPa (5000 psi)'lik basınca kadar çalışabilecek şekilde tasarlanmıştır. Tekli pompa, bir izokratik pompa veya bir gradient pompa içerir. Çift pompa ise, iki izokratik pompa, iki gradient pompa ya da bir gradient ve bir izokratik pompa içerir. İzokratik pompa, bir eluent sağlarken; gradient pompa dört adede kadar eluent bileşenden oluşan gradient karışım sağlayabilmektedir. Çift pompa bulunduran DP bölmesinin iç kısmı alt ve üst olmak üzere iki bölmeye ayrılmıştır ve alt kısmı gradient üst kısmı izokratik pompadır. Gradient ve izokratik pompa içeren çift pompanın mekanik bileşenleri Şekil 3.10'da gösterilmektedir. [18]



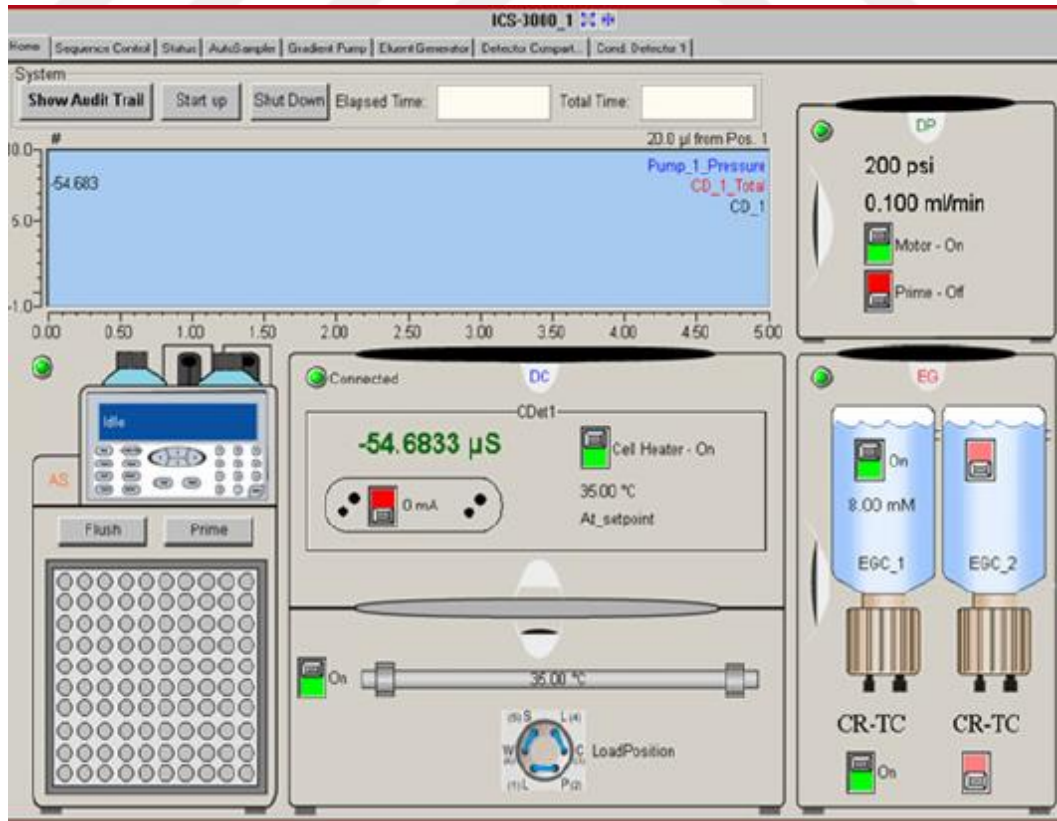
Şekil 3.10 : Çift pompanın iç bölmesinde bulunan mekanik bileşenler [18].

3.1.5 ICS-3000-EO eluent düzenleyici

Eluent düzenleyici, dökülmeleri ve sızıntıları içeren eluent rezervuarlarını tutar. İki adede kadar eluent düzenleyici DC'nin üzerine konumlandırılabilir. Her eluent düzenleyici dört adede kadar bir veya iki litrelik rezervuarı ya da iki adede kadar dört litrelik rezervuarı barındırır. Eluent düzenleyicilerin tuttukları eluent rezervuarlar, tek/çift pompa ile kullanmak için basınçlandırılabilir fakat bu basınçlandırma için eluent düzenleyici, düzenleyici aksesuarı ve sehpası gereklidir. [18]

3.1.6 Chromelon-Chromelon Express ekranı

ICS-3000 sistem kontrolü bilgisayara Chromelon Chromatography Management System veya Chromelon Xpress kurulur ve tüm işlemler bu program üzerinden gerçekleştirilir. Chromelon Chromatography Management Sistemi, tüm cihaz kontrolünü, veri toplama ve yönetiminin yapılmasını sağlar. Chromelon Xpress ise, gerçek-zaman kontrolünü ve Dionex kromatografi cihazını kontrol etmeyi sağlar fakat veri yönetiminin kontrolünü gerçekleştiremez. Pompa, eluent üretici, dedektör/kromatografi modülü, otoörnekleyici ve iletkenlik değeri panelleri Şekil 3.11'deki gibi Chromelon'un ana ekranında görülmektedir. [18]



Şekil 3.11 : ICS-3000 Chromelon Ana Ekran Paneli [18].



4. GAZLI İÇECEKLER

Su, karbondioksit, şeker, asitlik düzenleyici, aroma, meyve özütü ya da konsantresi ve koruyucu maddeler içeren ferahlık verici ve serinletici özellikte olan içecekler gazlı içecekler olarak sınıflandırılmaktadır. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği'ne göre gazlı içecekler aromalı gazlı içecek, aromalı doğal mineralli gazlı içecek kolalı içecek, meyveli gazlı içecek, meyveli doğal mineralli gazlı içecek tonik, yapay soda olmak üzere farklı çeşitlere ayrılmaktadır. Bu çalışmada, Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği kapsamına giren gazlı içeceklerden meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecekler incelenmiştir. Bileşiminde meyve içermeyip meyve kokusu veren aroma maddeleri içeren doğal mineralli su kullanılarak yapılmış gazlı içecekler meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecekler olarak tanımlanırken; meyve suyu, meyve püresi gibi direkt meyve bileşeni ya da karışımı içeren doğal mineralli su kullanılarak yapılmış gazlı içecekler meyveli gazlı içecekler olarak tanımlanmaktadır. Bu maddelere ek olarak, meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerin üretim esnasında yardımcı bileşenlerde eklenmektedir. [4]

4.1 Meyveli ve Meyve Aromalı Doğal Mineralli Gazlı İçecek Hammaddeleri

Meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerin üretiminde kullanılan ana hammaddeler sırasıyla doğal mineralli su, şeker, karbondioksittir. Ana hammaddelerin yanında yardımcı bileşenler olarak asitlik düzenleyici, aroma verici, renklendirici, koruyucu, antioksidan ve tatlandırıcı kullanılmaktadır. Meyveli doğal mineralli gazlı içeceklerde meyve aromalı gazlı içeceklerden farklı olarak meyve suyu, meyve püresi veya meyve konsantresi kullanılmaktadır.[4]

4.1.1 Su

Gazlı içeceklerin üretiminde kullanılan başlıca bileşenlerden biri sudur. Meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerin üretiminde su olarak doğal mineralli

su kullanılmaktadır. Su/mineral suyu, üretilen gazlı içeceğin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. [20]

Gazlı içecek kullanımında kullanılan su/maden sularında bulunan anyonların miktarlarına göre sular sınıflandırılmaktadır. Bikarbonat derişimi 600 mg/L'de fazla olduğunda bikarbonatlı su, sülfat derişimi 200 mg/L'de fazla olduğunda sülfatlı su, klor derişimi 150 mg/L'de fazla olduğunda klorlu su, florür derişimi 1 mg/L'de fazla olduğunda florürlü su, kalsiyum derişimi 150 mg/L'den fazla olduğunda kalsiyumlu su, magnezyum derişimi 50 mg/L'den fazla olduğunda magnezyumlu su, +2 yüklü demir derişimi 1 mg/L'den fazla olduğunda demirli su ve sodyum derişimi 200 mg/L'den fazla olduğunda sodyum suyu olarak adlandırılır. Sodyum miktarı 20 mg/L'den düşük olduğunda ise, düşük sodyum suyu olarak isimlendirilir. [21]

4.1.2 Şeker

Şeker, gazlı içeceklerin üretiminde kullanılan başlıca bileşenler olup meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerde en çok kullanılan şeker sakkarozdur. Sakkaroz dışında glikoz, fruktoz, laktoz ve maltoz gibi doğal şekerler ya da şeker pancarından elde edilmiş şeker de bu tür gazlı içeceklerin üretiminde kullanılmaktadır. [19] [20]

4.1.3 Karbondioksit

Renksiz, kokusuz ve havadan ağır bir gaz olan karbondioksit gazı tüm gazlı içeceklerin yapımında kullanılan ana hammaddelerden biridir. Sulu ortamda karbonik asit oluşturan karbondioksit gazı karbonik asidin susuz formu olarak tanımlanmaktadır. Gazlı içeceklerin tüketimi esnasında hissedilen serinlenme karbondioksit gaz kabarcıklarının genilerken çevreden ısı almasından kaynaklanmaktadır. Karbondioksit gazının serinletici etkisine ek olarak, kapalı kaplarda karbondioksit gaz basıncı mikroorganizma gelişmesini durdurucu etki yapmaktadır. Bu sayede 7 atm basınç altında içeceklerde en çok bulunan fermantasyona yol açan mikroorganizmaların çoğalmasını önemli oranda engelleyerek gazlı içeceklerin dayanıklılığını artırır ve raf ömrü uzamış olur. [20]

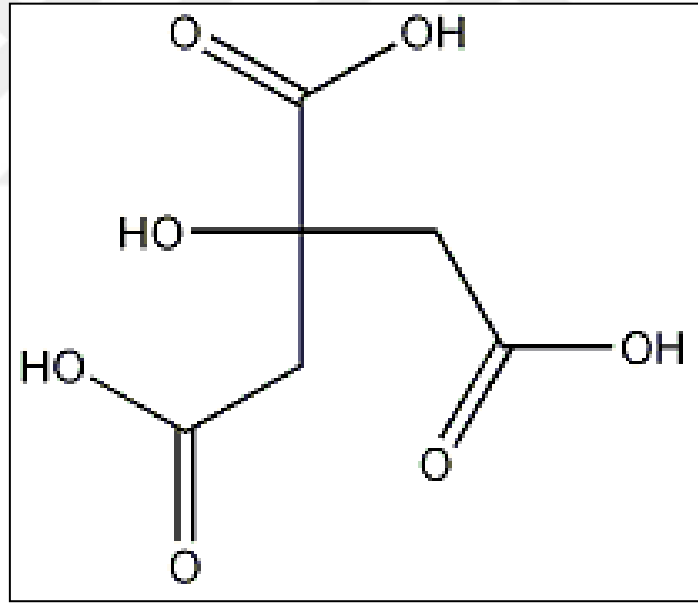
Gazlı içeceklerin üretiminde kullanılan karbondioksit gazı TS 2603'de tanımlanmış olan saflık koşullarına uygun olması gerekmektedir. Bu standarda göre, gazlı içecek üretiminde kullanılacak karbondioksit gazı; maksimum 10 mg/L konsantrasyonunda

karbon monoksit, 5 mg/L konsantrasyonunda kükürt, 0,5 mg/m³ konsantrasyonunda arsenik, 5 mg/L konsantrasyonunda yağ ve en az %99 karbondioksit içermeli ve hacimce en fazla %0,015 su oranına sahip olmalıdır. [20]

4.1.4 Asit düzenleyiciler

Gazlı içeceklerde asit düzenleyici olarak en çok sitrik asit kullanılmaktadır. Tartarik asit, fumarik asit, laktik asit ve ortofosforik asit de asitliği düzenleyici olarak kullanılan asitlerdir.

Asit düzenleyici olarak kullanılan sitrik asit, renksiz, karboksilik asitler grubunda bulunan kristal yapılı organik bir bileşiktir ve limon tuzu olarak da adlandırılmaktadır. Kimyasal yapısı Şekil 4.1’de verilmiştir. Meyveler ve özellikle turunçgiller çok fazla miktarlarda sitrik asit içerir. Gazlı içeceklerle eklenerek pH kontrol sağlar ve antioksidan içeren gazlı içeceklerde antioksidanın çalışmasını güçlendirir. Ayrıca, sitrik asit şekerleri stabilize ederek şekerin kristalleşmesini önler. [20]



Şekil 4.1 : Sitrik Asit Yapısı [20].

4.1.5 Aroma vericiler

Aroma vericiler doğrudan tüketilemeyen maddeler olup gazlı içecek üretiminde kullanılan yardımcı bileşenlerden biridir. Eklendiği ürüne tat ve koku kazandırmak, mevcut tadı ve kokuyu kuvvetlendirmek amacıyla kullanılan maddeler veya karışımlar aroma verici maddeler olarak tanımlanmaktadır. İstenmeyen koku ve tadı elimine etmek için de aroma verici maddelere başvurulmaktadır. Aroma vericiler; aroma verme özelliğine sahip tanımlanmış kimyasal maddeler olan aroma maddeleri, aroma

verici preperatlar, ısıtılma işlemi aroma vericileri, tütü aroma vericileri, aroma öncülleri, diğeri aroma vericiler ya da bunların karışımlarından oluşmaktadır. [20]

Aroma maddeleri elde edilme yöntemlerine göre sınıflandırıldığında doğal aroma maddeleri, doğal aroma maddelerine özdeş aroma maddeleri ve yapay aroma maddeleri olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Uygun fiziksel, enzimatik ve/veya mikrobiyolojik yöntemlerden yararlanılarak bitkisel ya da hayvansal kaynaklardan elde edilen aroma maddeleri doğal aroma maddeleri sınıfına girmektedir. Kimyasal yollarla sentezlenerek doğal aroma maddeleri ile aynı olan maddelere doğal aroma maddelerine özdeş aroma maddeleri adı verilmektedir. Yapay aroma maddeleri ise, doğal aroma maddeleriyle benzer kimyasal yapısı olmayan kimyasal yollarla sentezlenen aroma maddeleridir. [20]

Meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecekler meyve tat ve kokusunu veren aroma vericiler içerirler. Meyveli doğal mineralli gazlı içeceklerin bazılarında aroma vericiler eklenmektedir fakat burada aroma vericilerin ilave edilmesinin amacı koku ve tat kazandırmak değil mevcut meyve koku ve tadını kuvvetlendirmektir. [20]

4.1.6 Renklendiriciler

Gazlı içecek üretiminde yardımcı madde olarak kullanılan renklendiriciler ürüne renk artırıcı veya renk düzenleyici olarak katılan madde olarak tanımlanır. Renklendiriciler tek başına gıda olarak tüketilmez. Gazlı içecekler kapsamında yer alan meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerin üretiminde renklendiriciler Resmî Gazete’de yayımlanan "Türk Gıda Kodeksi-Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği" ne uygun olarak ürüne eklenmelidir.[22]

Meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerde en çok kullanılan renklendirici beta-karotendir. Karamel renklendiriciler de gazlı içeceklerde bazen kullanılan renklendiricilerdendir. A vitaminin öncü maddesi olan beta-karoten meyve ve sebzelerde bulunur ve serbest radikallerin nötrale edilmesini sağlayan güçlü bir antioksidandır. Karamel renklendiriciler, alkali, amonyak, sülfat veya bunların karışımı varlığında şekerin kuru ıslatılması ve yakılması sonucu oluşmaktadır. [20]

4.1.7 Koruyucular

Meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerin üretiminde kullanılan yardımcı bileşenlerden biri de koruyuculardır. Koruyucu olarak en çok sodyum

benzoat ve potasyum sorbat kullanılmaktadır. Sorbik asidin potasyum tuzu olan potasyum sorbat, Avrupa dağ ağacının meyvesinde doğal olarak bulunan koruyucudur. Potasyum sorbat farklı kimyasal yollarla üretilir. Potasyum sorbat, mantar ve mayalara karşı koruyucu olup bakterilere karşı etkili değildir. Sodyum benzoat ise, benzoik asidin sodyum tuzu olup meyvelerin çoğunda, mantarlarda, tarçında, karanfilde ve bakteriyel fermantasyon sonucu bazı süt ürünlerinde doğal olarak bulunan koruyucudur. Sodyum benzoat da potasyum sorbat gibi mantar ve mayalara karşı koruyucudurlar. [20]

4.1.8 Antioksidanlar

Yağların acılaşması ve renk değişikliği gibi oksidasyonun neden olduğu bozulmaları önleyerek, gıdaların raf ömürlerinin uzatılmasını sağlayan maddeler olan antioksidanlar gazlı içecekler sınıfında yer alan meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerin üretilmesinde kullanılan yardımcı bileşenlerden biridir. En çok kullanılan antioksidan olan askorbik asit yeşil sebze ve turunçgillerde doğal olarak bol miktarda bulunan, suda eriyebilen bir vitamindir. Oksijen tutma özelliği sayesinde askorbik asit gazlı içeceklerin raf ömrünü uzatır. [20]

4.1.9 Tatlandırıcılar

Tüketilen yiyecek ve içeceklerin içerisindeki şeker miktarının fazla olması tüketicilerden bazı hastalıklara yol atığından dolayı doğal şeker kullanımı sınırlandırıldığı için tatlı tat ihtiyacını gidermek amacıyla besin değerı olmayan tatlandırıcılar kullanılmaktadır. Bu tatlandırıcılar yapay tatlandırıcılar olarak nitelendirilmektedir ve aynı miktardaki şekerden daha tatlı olup daha az enerji içeren kimyasal bileşiklerdir. Asesülfam-K, Aspartam, Aspartam-Acesülfam Tuz, Siklamat, Neohesperidin dihidroklikon, Neotam, Sakarin, Sükraloz, Steviosid ve Taumatin yiyecek ve içeceklerde kullanımı onaylanmış yapay tatlandırıcılardır. Bu yapay tatlandırıcılardan sakkarin ve aspartam en çok kullanılanlarıdır. [20] [23]

4.2 Meyveli ve Meyve Aromalı Doğal Mineralli Gazlı İçeceklerin Üretimi

Meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerin üretimi; şekil 4.2’de gösterildiği gibi karıştırma, gazlama, dolum, pastörizasyon, etiketleme, kasalama ve depolama olmak üzere yedi aşamadan oluşmaktadır. [20]



Şekil 4.2 : Meyve ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerin üretimi.

4.2.1 Karıştırma

Meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecek hazırlamada kullanılan şeker, aroma verici, sitrik asit, renklendirici, koruyucu, doğal mineralli su değişik tekniklerdeki karıştırma tanklarından biri kullanılarak yapılmaktadır. Meyveli doğal mineralli gazlı içecek hazırlamada meyve aromalı doğal mineralli gazlı içekte eklenen maddelere ek olarak meyve suyu, püresi ya da konsantresi eklenerek karıştırma işlemi gerçekleştirilir. [19] [20]

4.2.2 Gazlama

Meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecekler üretiminin bu aşamasında ürünü gazlı hale getirmek amacıyla gazlama cihazları kullanılır. Gazlama işlemine başlanmadan önce karbondioksit gazıyla gazlanacak içeceklerin mikrobiyel özelliklere uygun olup olmadığı ilgili değerlere bakılarak kontrol edilir. Eğer uygun olduğu görülmüşse gazlama işlemi yapılır. Karıştırma aşamasında hazırlanan karışıma gazlama aygıtlarıyla belirlenen miktardaki karbondioksit gazı verilir.

Gazlı içeceklerin gazlama işlemini gerçekleştirmede farklı gazlama aygıtları kullanılmaktadır. Bunlar; kolon tip, püskürtmeli ve plakalı olarak üçe ayrılmaktadır. Kolon tip ya da Valora tip olarak bilinen gazlama aygıtları basınç altında ve gaz alıcı sistemle çalışan cihazdır. Gazlama işlemine tabi tutulacak karışıma yüksek basınçlı enjektör yardımıyla ön gazlama yapılır ve ardından gaz alıcı sistem içerisinden

geçirilir. Bu işlem sırasında %0,4 CO₂ kaybolmaktadır. Gazı alınan sıvı karışım bir püskürtme başlığıyla altından CO₂ gazı giren bir kolona alınarak gazlama işlemi gerçekleştirilmiş olur. Püskürtmeli gazlama aygıtlarında, hazırlanmış karışım vakum bölmesine püskürtülerek vakum hücresinden geniş bir yüzeye yayılması sağlanır ve böylelikle gazlama işlemi gerçekleştirilmiş olur. Son olarak, plakalı gazlama aygıtlarında ise, karıştırma aşaması sonucunda elde edilen sıvı karışım ve CO₂ gazı birbirine paralel olan gaz değiştirici plakalar arasından geçirilerek sıvı karışım ve CO₂ gazının iyice karışması sağlanır. Bu işlemin tamamlanması sonucunda gazlama işlemi gerçekleştirilmiş olur.

Kolon, püskürtmeli ve plakalı gazlama sistemlerinden farklı işleyişe sahip ve birbirlerinden de farklı olan iki gazlama sistemi bulunmaktadır. Bunlardan biri premix gazlama sistemi olarak adlandırılmaktadır. Premix gazlama sistemlerinde üretilecek gazlı içeceğin içerisinde bulunan karbondioksit de dâhil olmak üzere tüm bileşenler önceden bir araya getirilerek şişeye doldurularak gazlama işlemi gerçekleştirilir. Diğer gazlama sistemi ise Postmix gazlama aygıtıdır. Postmix, daha çok eskiden kullanılmakta olan bir gazlama aygıtıdır. Bu teknikte, CO₂ ve su (meyve ve meyve aromalı gazlı içeceklerde doğal mineralli su) hariç bileşenlerin tamamı karıştırılıp hesaplanan miktarı şişe içerisinde şişeye doldurulur ve üzerine CO₂ gazı ile gazlanmış su/doğal mineralli su konularak kapatılır. Kapatılan şişeler, şişe içerisindeki fazların birbirine karışması için döndürücü aygıttan geçirilir ve bu işlem sonunda içecek gazlanmış hale gelir. [19] [20] [24]

4.2.3 Dolum

Gazlı içeceklerin dolumu diğer sıvı içeceklerin dolumuna göre farklılık göstermektedir. Gazlı içeceklerin içerisinde bulunan karbondioksit miktarı basınç azaldığında azaldığından içeceğin niteliği değişecektir ve bu yüzden de gazlı içeceklerin dolumu sürekli basınç altında çalışan dolum makinaları kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Gazlı içeceklerin dolumu sırasıyla karşı basıncın sağlanması, dolum, son akış, dengeleme ve basınç kaldırma olmak üzere beş aşamadan oluşur ve bu işlemlerin yapılmasıyla tamamlanır. [19] [20]

4.2.4 Pastörizasyon

Sıvı gıdaların üretiminde uygulanan bir ön işlem olan pastörizasyon gıdaların raf ömrünü uzattığı gazlı içecekler üretiminin en önemli aşamalarından biridir. Gazlı

İçeceklerde pastörizasyon işlemi genellikle karbondioksitle koruyucu madde katılarak gerçekleştirilir. Koruyucu madde olarak, sorbik asit, benzoik asit, benzoik asit ya da sorbik asidin sodyum ve potasyum tuzları veya sorbik ve benzoik asidin karışımları kullanılmaktadır. Ayrıca pastörizasyon işlemleri koruyucu madde kullanılmadan da gerçekleştirilebilmektedir.

Gazlı içeceklerin pastörizasyon işlemi için genellikle tünel tipi pastörizatörler kullanılmaktadır. Isıtma ve soğutma işlemi aynı tünel içerisinde farklı sıcaklıktaki suyun püskürtülmesiyle gerçekleştirilir. Pastörizasyon için çıkış, kalış ve iniş süreleri sırasıyla, 20 dakika, 20-30 dakika ve 15 dakikadır. Pastörizasyon sıcaklığı yaklaşık olarak 75 °C'dir. Gazlı içeceklerde içinde gaz bulundurduğu için genellikle %3-4 civarında boşluk bırakılmaktadır. Oda sıcaklığındaki içeceğin sıcaklığı yaklaşık 20 °C'dir ve pastörizasyon işlemi sırasında 75 °C'ye ısıtılması durumunda sıcaklığın fazla artışı nedeniyle %4 oranında boşluğa sahip şişenin içi basıncı 7.5 kg/cm²'ye ulaşmaktadır. Bu basınç %3,3 şişe boşluğuna sahip şişelerde 11,7 kg/cm² olmaktadır. İç basınç artışı göz önünde bulundurularak yaklaşık 12 kg/cm²'lik basınca dayanıklı olan cam kullanılmalıdır ve kapama işlemi de bu basınca karşı dayanıklı olacak şekilde gerçekleştirilmelidir.[20]

4.2.5 Etiketleme

Karıştırma, gazlama ve dolum aşamalarından geçen içecekler kapatıldıktan sonra dolum makinasında ilerleme hızıyla kendi etraflarında dönerek etiketleme makinasına gelmektedirler. Etiket bulunduğu bölgeden hava emiş gücü ya da tutkal yardımıyla alınır ve bir vals yardımıyla çizgi şeklinde veya noktalı olarak tutkal kullanılarak yapıştırılır. Şişeye etiket yapıştırılırken sünger veya fırça basıncı kullanılır. [20]

4.2.6 Kasalama

Büyük işletmelerde gerçekleştirilen kasalama işlemi, şişeleme işleminin ardından vakum emişli cihazlarla otomatik olarak yapılır. [20]

4.2.7 Depolama

Şişelerin kasalama işlemi tamamlandıktan sonra kasalar depoya alınır ve depoda ortalama 3-5 gün bekletilir. Bu bekleme süreci sırasında mikrobiyolojik, kimyasal ve fiziksel analizleri tamamlanır. Ardından ürünlerin çıkış işlemi yapılır. [20]

5. ANYONLAR VE ANYON ANALİZLERİNİN ÖNEMİ

Anyonlar, negatif yüklü iyonlar olmakla beraber asitlerin veya tuzların iyonlaşmaları sonucu oluşurlar. Anyonlar içerdikleri atom sayılarına göre tek atomlu ve çok atomlu olmak üzere iki gruba ayrılırlar. F^- , Cl^- , Br^- gibi anyonlar tek atomlu anyonlar; NO_3 , SO_4^{2-} ve $HCOO^-$ gibi anyonlarda çok atomlu anyonlar grubunda yer alırlar. Bazı anyonlar vücut için faydalı bu yüzden de gerekli iken; bazı anyonlar ise, vücut için oldukça zehirli olduğundan dolayı zararlıdır. Vücuda alınan her anyonun metabolizma tarafından tolere edilme düzeyi birbirinden farklıdır ve bu yüzden anyonların doğru ve güvenilir olarak analiz edilmesi oldukça önem arz eden bir husustur.

Gazlı içecekler içerisinde bulunan florür anyonu, kemiklerin oluşumu ve katılaşması için önemli olup diş çürümelerini engellediği için insan vücudu tarafından alınması gereken bir mineraldir. Florür anyonunun, alınan düşük konsantrasyonları insan vücudu için faydalıyken; yüksek konsantrasyonları dişlerin çürümesi, osteoporoz ve böbrek, kemik, kas, sinir ve üretici oranlara hasar verme gibi ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir.[25]

Gazlı içeceklerde bulunan ve birbirine dönüşebilen nitrat ve nitrit anyonlarının düşük konsantrasyonlarında vücuda alımı insan sağlığını olumlu yönde etkilemektedir. Ağız içerisinde bulunan bazı bakteriler, daha çok sebze tüketimiyle alınan nitrat ve nitrit anyonlarını nitrit ve nitrik okside dönüştürerek kardiyovasküler sisteminin korunmasına katkıda bulunur. Anne sütünde önemli oranda bulunan nitrat anyonları, bebeğin immünolojik ve sindirim sisteminin korunmasında önemli besleyici unsur olarak bilinmektedir. Nitratın su ile reaksiyonu sonucu oluşan azotmonooksit hipertansiyonun düşmesini sağlar. Tükürük sıvısında bulunan nitrit anyonları ise, mide asidinin anti-bakteriyel etkisini büyük ölçüde arttırmaktadır. İnsan vücuduna yararlı etkileri olan nitrat ve nitrit anyonlarının yüksek konsantrasyonları çok ciddi hasarlara neden olabilmektedir. Bu yüzden, vücuda alınan nitrit ve nitrat düzeyleri büyük önem arz etmektedir. Nitrat, nitrit ve metabolitlerinin insan sağlığına olumsuz etkileri kanserojen olmayan ve kanserojen etkiler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Nitratın

indirgenmesi sonucu oluşan ya da nitritin vücuda fazla alımı sonucu vücutta bulunan nitritten N-nitrozo bileşiklerinin oluşumu mide kanserine neden olabilmektedir. Nitrit ve nitratın vücuda fazla alınmasının kanserojen olmayan olumsuz etkilerden biri, hemoglobin yapısında bulunan demirin oksitlenmesi olarak tanımlanan methemoglobin oluşumuna neden olarak methemoglobinemi adı verilen zehirlenmedir. Bu zehirlenme, genellikle nefes alma ve daha da yüksek miktarları ölüme sebep olmaktadır. Nitrit ve nitrat miktarının vücutta fazla bulunması venöz basıncının düşmesine neden olur ve bu düşüş, hipotansiyona ve hipertansiyona neden olur. [26][27][28]

Sülfür kaynakları olarak bilinen sülfat ve sülfid anyonlarının düşük konsantrasyonları insan vücudu tarafından ihtiyaç duyulan minerallerdir. Sülfat, safra kesesini çalıştırıcı ve safra yapımını arttırdığı için sindirim sisteminin çalışmasında olumlu katkı sağlamaktadır. Sülfat ve sülfid anyonlarının yüksek konsantrasyonları insan vücuduna negatif etki göstermektedir. Yüksek miktarda sülfat ve sülfid anyonlarının alımı sonucunda ozmotik su kaybı ve ülseratif kolit olan ishale neden olmaktadır. Sülfid anyonlarının fazla alımı astıma da sebep olmaktadır.[29] [30]

Gazlı içeceklerin içinde bulunan oksalat anyonunun vücut için çok gerekli olmamasına rağmen yüksek miktarlarda alımı insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Oksalat anyonunun vücuda fazla konsantrasyonda alımı kalsiyuma bağlanarak diğer minerallerin emilimini engelleyerek böbrek taşı oluşumuna neden olur. Vücutta yüksek konsantrasyonda oksalat anyonunun bulunmasından kaynaklanan oksalat zehirlenmesi, iştah kaybı baş ağrısı ve mide bulantısı gibi belirtilerle kendini göstermektedir [31]

Kemik ve dişlerinde yapısında bulunan, oluşumunda gerekli ve RNA ve DNA üretiminde enerjiyi sağlayan fosfat anyonu insan vücudu için en önemli minerallerden biridir. Fosfor kaynaklarından biri olan fosfat anyonunun kanda fazla bulunması hiperfosfatemi hastalığına neden olmaktadır. Buna ek olarak, fosfat mineralinin fazla alımı yorgunluk, nefes darlığı, mide bulantısı, kusma, uyku bozukluğu ve bazı bireylerde anoreksiya gibi rahatsızlıklara yol açmaktadır. [32] [33]

Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği'nde anyon limit değerleri bulunmamaktadır. Bu çalışmada incelenen meyveli ve meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecekler mineralli su kullanarak yapıldığı için bu içeceklerin içerisinde bulunan

anyon limit değerleri “Doğal Mineralli Sular Hakkında Yönetmelik” ten alınmıştır. Bu yönetmeliğe göre florür, nitrit, nitrat, anyonlarının maksimum konsantrasyonları sırasıyla; 5,0 mg/L, 0,1 mg/L, 50 mg/L’dir. Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği’nde, doğal mineralli su içeren ürünler için florür anyon limitiyle ilgili ek bir uyarı yer almaktadır. Bu maddeye göre; içecek 1,0 mg/L’den fazla florür içeriyorsa "Florür ihtiva eder"; 1,5 mg/L’den fazla florür içeriyorsa "0-7 yaş grubundaki çocuklar için uygun değildir." ifadesi ürünün altında görünür bir şekilde yer almalıdır. Türk Gıda Kodeksi, WHO veya USEPA tarafından sülfat anyonu için maksimum kabul edilebilir limit belirlenmemiştir; fakat sülfat anyonunun gastrointestinal sisteme olan katartik etkisinden dolayı sağlık yetkilileri tarafından içme sularında 500 mg/dm³ konsantrasyonunun üzerine çıkmaması gerektiği belirtilmektedir. FAO tarafından belirlenen alkollü olmayan içecekler kodeksine göre; su bazlı aromalı gazlı içeceklerde sülfat ve fosfat anyonlarının maksimum kabul edilebilir konsantrasyonları sırasıyla 70 mg/kg ve 1000 mg/kg olarak belirtilmektedir. Türk Gıda Kodeksi içme suyu, maden suyu, alkolsüz ve alkollü içecek tebliğinde, WHO, USEPA veya FAO’da mg/L ya da mg/kg cinsinden oksalat anyonu için limit değeri belirtilmemiştir. [34] [35] [36]

5.1 Anyon Analizinde Kullanılan Cihazlar

Alkollü, alkolsüz, gazlı ve gazsız olmak üzere tüm içecek grubuna yapılan anyon analizlerinde birbirinden farklı birçok yöntem ve cihaz kullanılmaktadır. Doğal mineralli gazlı içeceklerde yapılan anyon analizlerinde ise yapılan çalışmalar incelendiğinde genel olarak kapiler elektroforez ve ICP-MS gibi cihazlar kullanıldığı görülmüştür. Bu çalışmada anyon analizinde kullanılan diğer bir teknik olan, İletkenlik Dedektörlü İyon Kromatografisi cihazı ile aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerde bulunan anyonların kalitatif ve kantitatif olarak tayini üzerine yeni bir metod geliştirilmiştir.



6. DENEYSEL KISIM

6.1 Kullanılan Kromatografi Sistemi

Bu çalışmada giriş kısmında parçaları anlatılmış olan DIONEX ICS-3000 (Dionex Corporation, USA) İyon Kromatografi Sistemi kullanılmıştır. Bu sistem, DP-1 çiftli pompa (çalışmada izokratik ve gradient pompa kullanıldı), tek ve çift pompa sistemlerine uygun EG-2 eluent üreteç, DC-2 Dedektör-Kromatografi Modülü ve AS otomatik örnekleyici kısımlarından oluşmaktadır. Yapılan optimizasyon denemeleri sonucunda kolon sıcaklığı, dedektör hücre sıcaklığı, baskılayıcı (suppresor) akımı, mobil faz akış hızı ve enjeksiyon hacmi aşağıdaki değerler olarak belirlenmiştir:

- ✓ Kolon Sıcaklığı: 35 °C
- ✓ Dedektör Hücre Sıcaklığı: 40 °C
- ✓ Baskılayıcı (Supressor) Akımı: 8 mA
- ✓ Mobil Fazın Akış Hızı: 0,25 mL/min.
- ✓ Enjeksiyon Hacmi: 40 µL
- ✓ Sample Loop Hacmi: 10 µL

Eluent üretici kartuşu, RFIC-Eluent gaz giderici ve sürekli rejeneren olan anyon tuzak kolonu CR-ATC bileşenlerine sahip EG yani eluent üretici istenilen zamanda ve konsantrasyonda eluenti hazırlayarak gazı giderilmiş ve anyonlarından arındırılmış şekilde kolona verir. Bu çalışmada eluent olarak NaOH kullanılmakta olup cihaz tarafından gradient elüsyon yapılmıştır. Eluent programı; 0-7. dakikalar arasında 5 mM, 7-7,1. dakikalar arasında 5 mM'dan 12 mM'a, 7,1-30. dakikalar arasında 12 mM, 30-30,1. dakikalar arasında 12 mM'dan 5 mM'a ve en son 30,1-35. dakikalar arasında dengeye ulaşmış olup 5mM NaOH şeklindedir.

Dedektör/Kromatografi Sistemi modülünün kromatografik ayırım bölümünde, 2x250 mm ölçülerine sahip anyon değiştirici kolon olan RFIC TM IonPac®AS20 Analitik kolonu ve 2x50 mm ölçülerine sahip ön-koruma kolonu olan kolonu RFIC TM IonPac® olan AG20 Guard kolonu bulunmaktadır. AS20 kolonunun reçinesi por

büyükliğü 7,5 µm olup, kuarterner amonyum grubu fonksiyonel grubuna sahip divinilbenzen ile çapraz-bağlı süpermakroporöz polivinilbenzil amonyum polimeridir. AG20 kolonunun reçinesi por büyükliğü 11 µm olup mikroporöz polivinilbenzen ve fonksiyonel grubu kuarterner amonyum grubundan üretilmiştir.

AG20 kolonu, AS20 analitik kolonun ön kısmına takılarak kolonun kirlenmesini önlemektedir ve mikroporöz yapısı sayesinde uzun süre optimum performans gösterebilmektedir. Dedektör bölümünde ise, kendini rejenere edebilme özelliğine sahip ASRS ULTRA II MM baskılayıcı (suppresor) ve iletkenlik dedektörü bulunmaktadır.

6.2 Kullanılan Kimyasallar ve Araçlar

Eluent olarak kullanılan NaOH, sistemde çevrimiçi durumda bulunan EG-2 (DIONEX, USA) elektrolitik eluent üreteç modülünde çok eğimli bir biçimde oluşturulmuştur. Merck (Darmstadt, Germany) firmasından alınan 1000 mg/L konsantrasyonlarına sahip florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfat, oksalat ve fosfat sertifikalı standart sıvı çözeltileri kullanılmıştir. Kullanılan standart çözeltilerin hepsi hava almayacak şekilde kapatılmış polipropilen şişelerde +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Kullanılan tüm kimyasallar analitik kaliteye sahiptir.

Katı kimyasal tartımı virgülden sonra dördüncü haneye kadar tartım yapabilme özelliğine sahip Precise marka elektronik hassas terazide (Precisa XB 220A, Swiss) yapıldı. Standart çözeltiler hazırlandıktan ve numuneler NaOH ile muamele edildikten sonra homojen olarak karışımı elde edebilmek için Wisd marka vorteks (Wisd Laboratory Instruments, Wisemix VM-10) kullanılmıştir.

Analizi yapılacak olan gazlı içecek numuneleri içerisinde asılı olarak bulunan tanecikleri eliminasyonu için WiseSpin (Wisd Laboratory Instruments) markalı santrifüj cihazı kullanılmıştir. Örnek hazırlama işleminde kullanılmak üzere, Agilent Technology (USA) firmasında C18 katı faz ekstraksiyonu kartuşları (500 mg, 3 mL) ve Analytical Columns (New Addington, Croydon, CR0 9UG, England) firmasından 0,2 µm por büyükliğüne sahip 17 mm çapı olan Polieter Sülfon (PES) filtre alınmıştir.

Standart çözeltiler ve eluent için kullanılmakta olan ve direnci 18,2 MΩ/cm'dan az olmayan ultra saf su, New Human Power I Scholar UV (Human Corporation, Seoul, Korea) su saflaştırma sisteminden elde edilmiştir.

6.3 Çözeltilerin Hazırlanması

6.3.1 Ana stok çözeltinin hazırlanması

Hazır çözelti olarak temin edilmiş olan 1000 mg/L'lik sertifikalı florür, nitrit, nitrat, sülfid, sülfat, oksalat ve fosfat standartları kullanılarak kalibrasyon çözeltilerini hazırlamak için 20 mg/L'lik ana stok çözelti hazırlanır. Bu ara stok çözeltiyi hazırlamak için 1000 mg/L'lik 7 standardın her birinden 200 µL alınır ve 8600 µL ultra saf su eklenerek 10 mL'ye tamamlanır.

6.3.2 Standart çözeltilerin hazırlanması

Florür, nitrit, nitrat, sülfid, sülfat, oksalat ve fosfat karışımlarından oluşan 20 mg/L'lik ana stok çözeltisi kullanılarak 9 adet kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin derişimleri sırasıyla 0,01 mg/L, 0,05 mg/L, 0,1 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, 5 mg/L ve 10 mg/L'dir. Her bir standart çözelti cihaza ikişer kez enjekte edilmiştir. 10 mg/L'lik standart çözeltiyi hazırlamak için; 2500 µL 20 mg/L'lik standart karışımı ve 2500 µL ultra saf su; 5 mg/L'lik standart çözeltiyi hazırlamak için; 1250 µL 20 mg/L'lik standart karışımı ve 3750 µL ultra saf su; 4 mg/L'lik standart çözeltiyi hazırlamak için 1000 µL 20 mg/L'lik standart karışımı ve 4000 µL ultra saf su; 2 mg/L'lik standart çözeltiyi hazırlamak için 500 µL 20 mg/L'lik standart karışımı ve 4500 µL ultra saf su; 1 mg/L'lik standart çözeltiyi hazırlamak için 250 µL 20 mg/L'lik standart karışımı ve 4750 µL ultra saf su; 0,5 mg/L'lik standart çözeltiyi hazırlamak için 125 µL 20 mg/L'lik standart karışımı ve 4875 µL ultra saf su; 0,1 mg/L'lik standart çözeltiyi hazırlamak için 25 µL 20 mg/L'lik standart karışımı ve 4975 µL ultra saf su; 0,05 mg/L'lik standart çözeltiyi hazırlamak için ise, 12,5 µL 20 mg/L'lik standart karışımı ve 4987,5 µL ultra saf su eklenir. 0,01 mg/L konsantrasyonuna sahip kalibrasyon çözeltisinin derişimi ana stok çözeltinin derişimine göre çok küçük olduğu için ana stok çözeltiden 5 mg/L'lik ara stok hazırlanır ve bu 5 mg/L'lik ara stok çözeltiden 10 µL alınıp 4990 µL ultra saf su eklenerek 0,01 mg/L'lik standart çözelti hazırlanır. Hazırlanan çözeltiler viallere konulup vorteks kullanılarak karıştırılır ve 4 °C' de muhafaza edilir.

6.3.3 Gazlı içecek numunelerinin hazırlanması

18 adet çeşitli aromalar içeren doğal mineralli gazlı içecek örneklerinin ICS-3000 iyon kromatografı cihazıyla gerçekleştirilecek anyon analize uygun hale getirilmek üzere

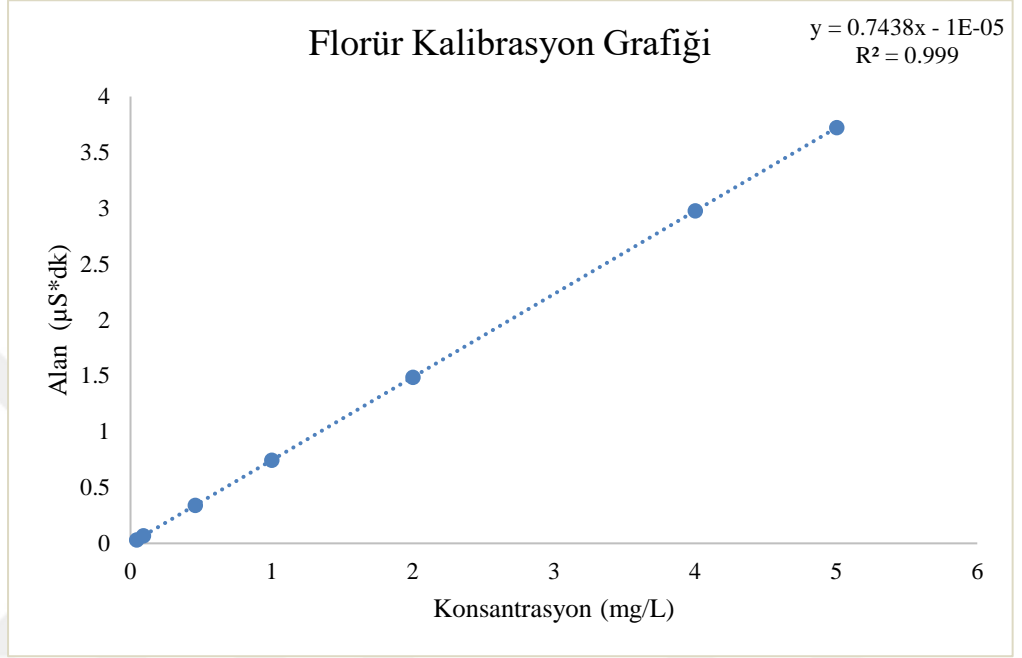
bazı işlemlere tabi tutulmuştur. Öncelikle numuneler plastik kısa tüpe konulup içerisinde bulunan gazın giderilmesi için ultrasonik banyoda 15 dakika boyunca bekletilmiştir. Bu sırada numunelerin muamele edileceği 5 mM NaOH çözeltisini hazırlamak için öncelikle ultra saf su cihazından temin edilen saf su kaynatılır. Kaynamış saf su soğumaya bırakılır ve 250 mL'lik balon jojeye 5 mM NaOH çözelti hazırlamak için NaOH katısı tartılır. Su soğuduktan sonra bir miktar su ve tartılan NaOH katısı balon jojeye aktarılıp tamamen çözünme elde edilen kadar iyice karıştırılır. Sonrasında balon jojenin çizgisine kadar saf suyla tamamlanır. Ultrasonik banyodan alınan gazlı içecek numuneleri oda sıcaklığına gelene kadar bekletilir ve 5 mM NaOH ile 20 ve 50 kat seyreltilir. Seyreltme işlemi gerçekleştirildikten sonra vorteks cihazıyla karıştırılarak homojen bir çözelti elde edilir ve oda sıcaklığında 5 dakika boyunca bekletilir. Ardından numuneler, 1350 rpm hızıyla 3 dakika boyunca santrifüjlenir. Santrifüleme işleme tamamlandıktan sonra dibe çöken kalıntılardan kurtulmak için dekante edilir. Vakum sistemiyle donanımlandırılmış C18 katı faz ekstraksiyon sistemi kullanılarak numunelerin renk, aroma ve bunun gibi bileşenlerin elimine edilmesi sağlanır. Bu işlemden önce katı faz ekstraksiyon kartuşları sırasıyla 3 mL metanol, 3 mL hekzan ve 3 mL deiyonize su ile şartlandırılırlar. Şartlandırma bittikten sonra, tüm numuneler katı faz ekstraksiyona tabi tutulur ve her numune için farklı katı faz ekstraksiyonu kartuşu kullanılır. Eğer yeterli kartuş yoksa kartuşlar temizlenerek diğer numune için kullanılır. Tüm numunelerin katı faz ekstraksiyon işlemi bittikten sonra PES filtreden geçirilir ve viallere konulara analiz için hazır hale getirilmiş olur. Numuneler analiz uygun hale getirilirken yapılan ön işlemler Şekil 6.1'de özetlenmektedir.

1	• Ultrasonik banyoda numunelerin 15 dakika boyunca degaze edilmesi
2	• Ultra saf su kaynatılması ve oda sıcaklığına soğutulması
3	• 5 mm NaOH çözeltisi hazırlanması
4	• NaOH çözeltisiyle numunelerin seyreltilmesi
5	• Vorteks cihazıyla karıştırılması
6	• Bekletilen numunelerin santrifüjlenmesi
7	• Dekantasyon
8	• C18 katı faz ekstraksiyonu
9	• PES filtreyle filtrasyon işlemi
10	• Viallere doldurma
11	• Analiz için örneklerin cihaza verilmesi

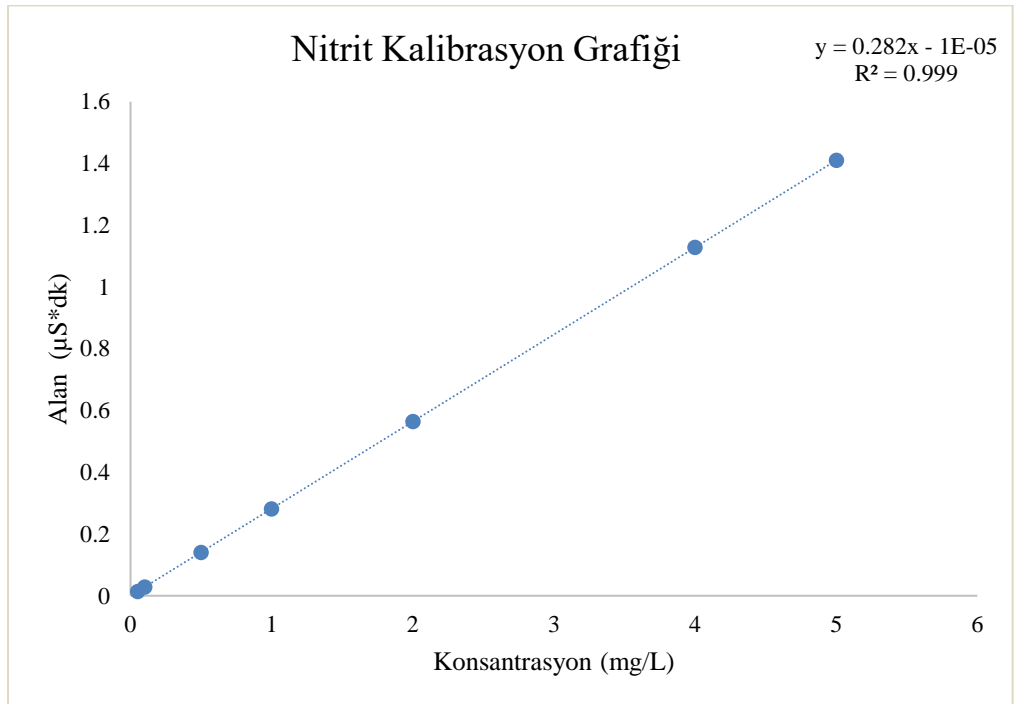
Şekil 6.1 : Numunelerin analize uygun hale getirilmesi için yapılan ön işlemler.

6.4 Kalibrasyon Grafikleri

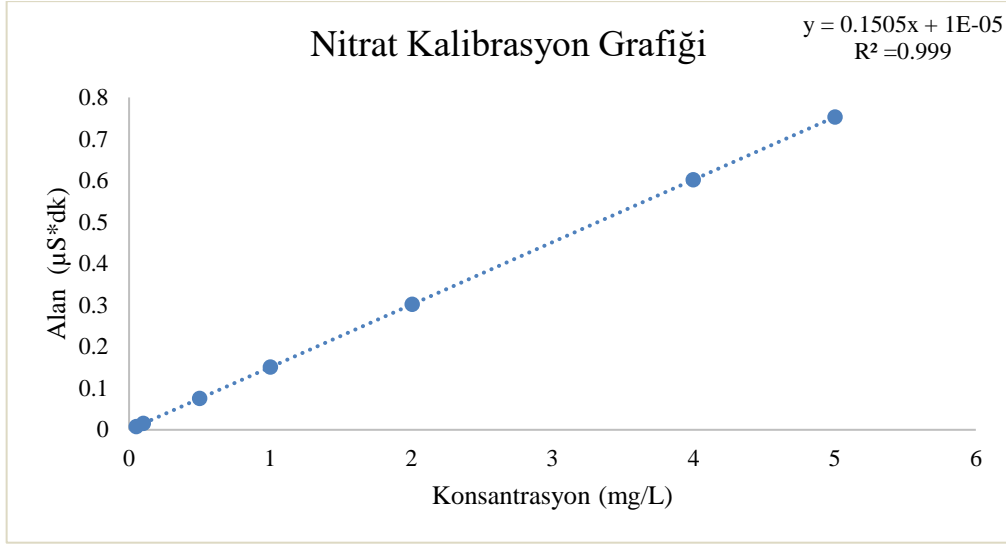
7 adet standart çözeltinin iyon kromatografi cihazında yapılan analizinden elde edilen sonuçlar kalibrasyon grafiklerinde değerlendirilmiştir. Cihazdan çıkan sonuçlardan flor, nitrat, nitrit, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfata anyonlarına ait kalibrasyon grafikleri Şekil 6.2 - Şekil 6.8 gösterilmektedir:



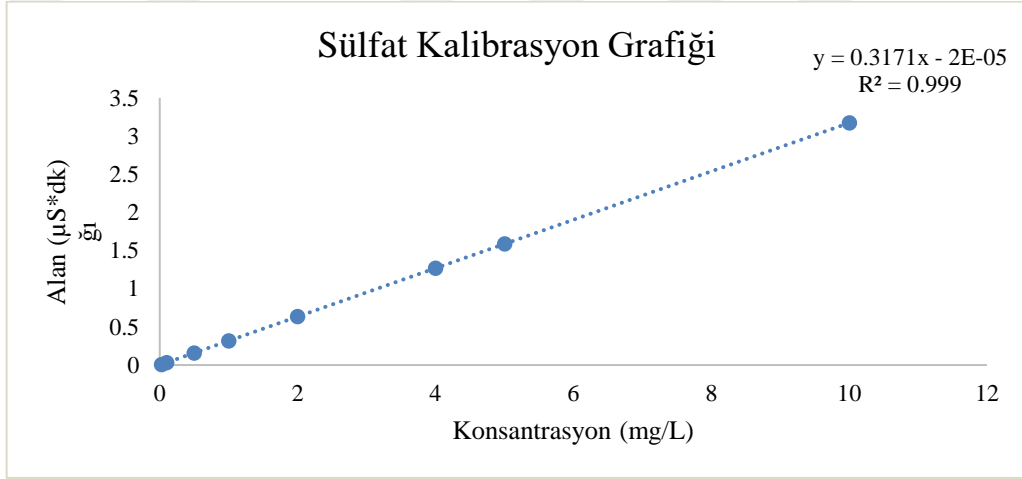
Şekil 6.2 : 0,01-5,0 mg/L florür kalibrasyon grafiği.



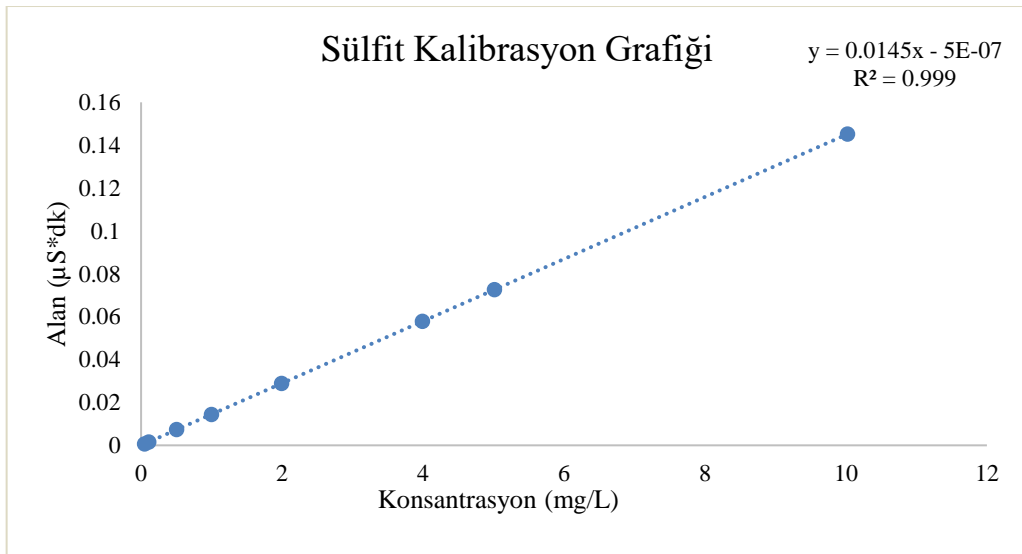
Şekil 6.3 : 0,01-5,0 mg/L nitrit kalibrasyon grafiği.



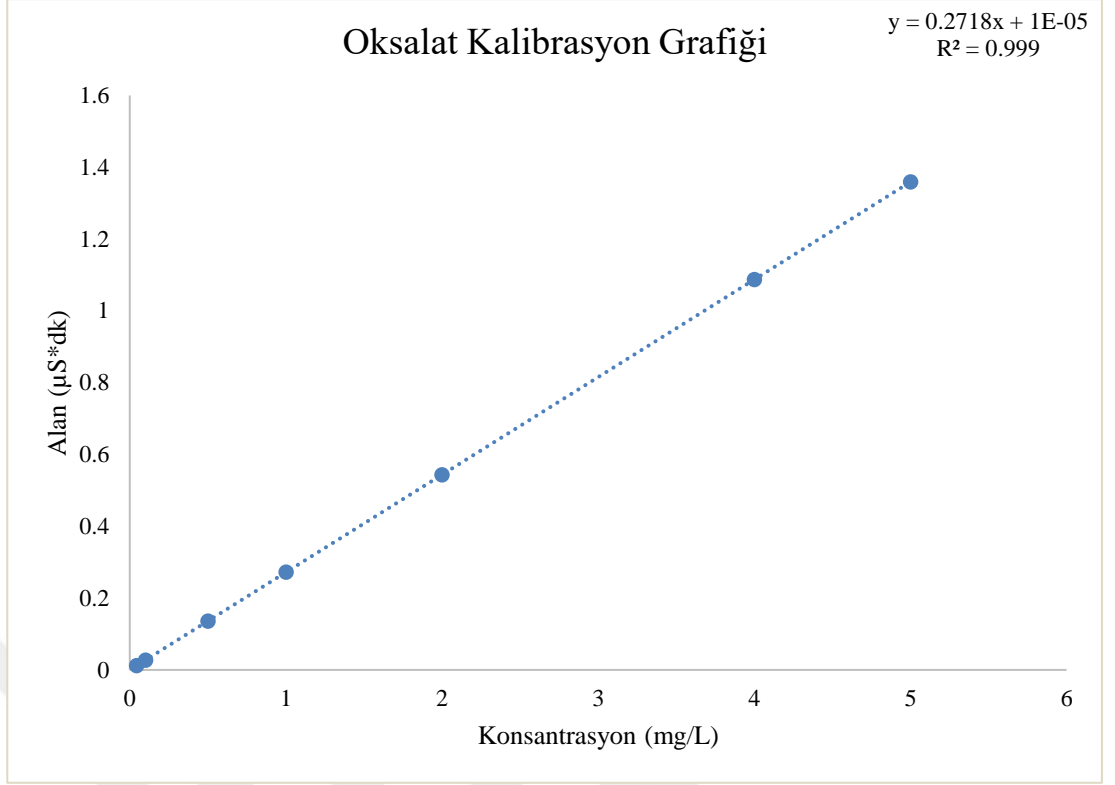
Şekil 6.4 : 0,05-5,0 mg/L nitrat kalibrasyon grafiği.



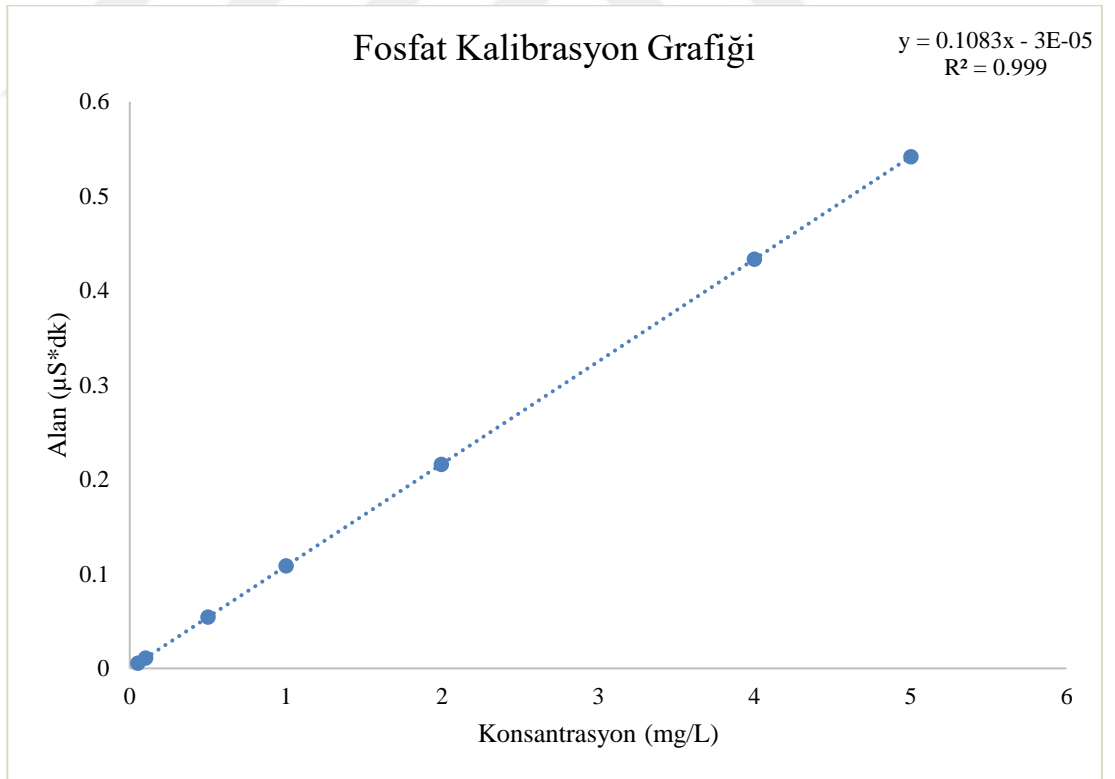
Şekil 6.5 : 0,05-10,0 mg/L sülfat kalibrasyon grafiği.



Şekil 6.6 : 0,05-10,0 mg/L sülfid kalibrasyon grafiği.

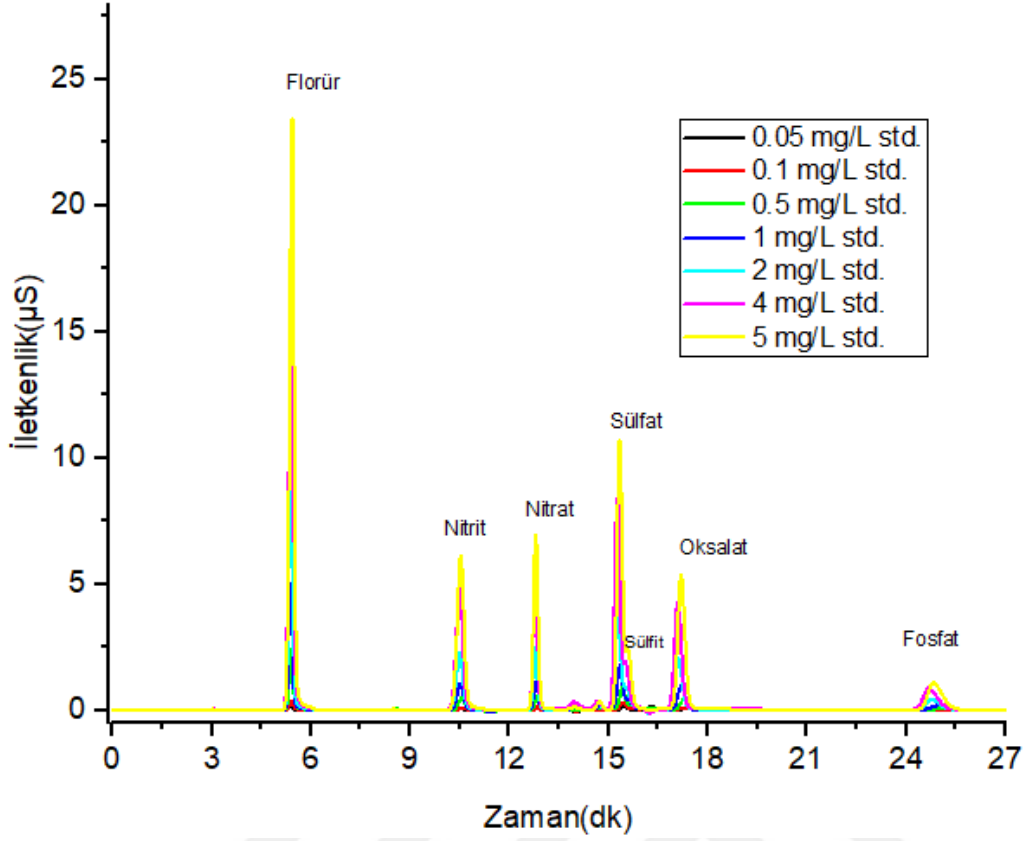


Şekil 6.7 : 0,05-5,0 mg/L oksalat kalibrasyon grafiği.



Şekil 6.8 : 0,03-5,0 mg/L fosfat kalibrasyon grafiği.

Standart çözeltilerinin 5mM'dan 50 mM'a NaOH eluent kullanılarak 35 °C' de alınan kromatogramları üst üste konulmuş hali Şekil 6.9'da görülmektedir.



Şekil 6.9 : 0,05-5 mg/L flor, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat içeren standart çözeltilerinin multistep gradient 5 mM'dan 12 mM'a NaOH eluenti ile üst üste alınan kromatogramları.

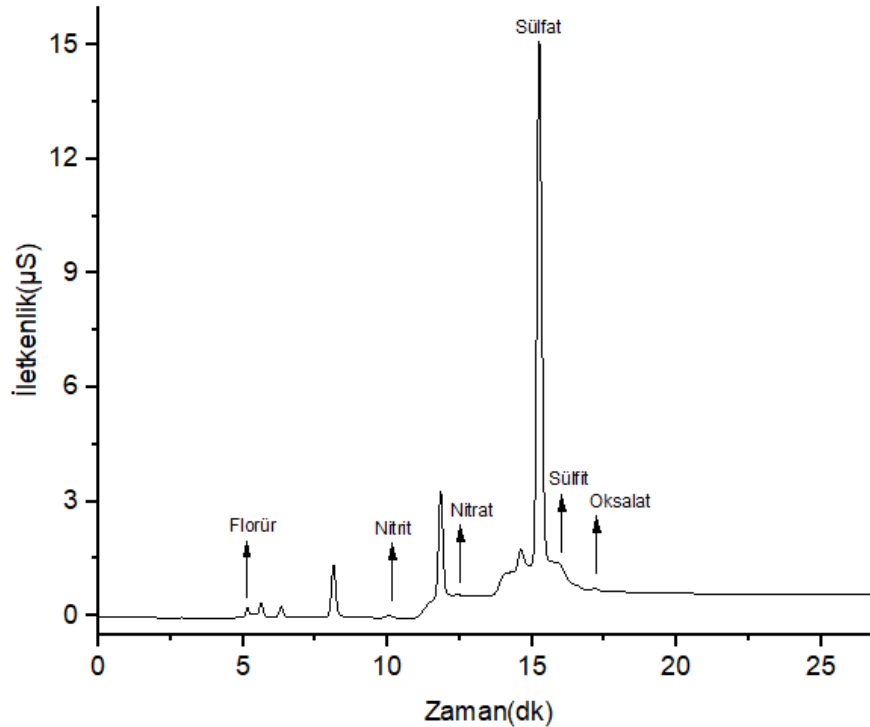
Kalibrasyon çalışması sonucunda grafik çizilmesine ek olarak, standartlardan alınan değerler olan LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır. LOD; makul istatistiksel kesinlik içerisinde deneysel çalışmada ölçüm yapılan cihazın dedekte edilebildiği en küçük derişim olarak tanımlanmaktadır. LOD hesabını yaptığımız ölçümler içerisinde doğruluk açısından en küçük ve en büyük değerlerden seçmek yerine yapılan ölçümdeki ara değerler tercih edilerek hesaplanmalıdır. [11,12] LOQ; kabul edilebilir düzeyde tekrarlanabilirlik ve doğruluk ile ölçüm yapılan cihaz tarafından saptanabilen en küçük derişimdir. LOQ hesabını yapacağımız derişim seçilirken LOD değerini hesaplariken de seçtiğimiz gibi doğruluk açısından deneysel çalışmada yapılan ölçüm değerlerinden aradaki değerlerden tercih edilmelidir.[11,12] LOD ve LOQ parametreleri hesaplanırken standart kalibrasyon çözeltilerindeki mg/L ve S/N (Signal-to-Noise Ratio) değerleri baz alınmıştır. LOD değerinde S/N değeri 3, LOQ değerinde ise S/N değeri 10 olur ve buna göre hesaplama yapılmıştır.

Kalibrasyon grafikleri ve kromatogramlardan elde edilen verilerle bulunan metot performans parametreleri Çizelge 6.1'de verilmiştir

Çizelge 6.1 : Standart çözeltideki ayonların metot performans parametreleri.

Analit	Lineer		R ²	LOD (µg L ⁻¹)	LOQ (µg L ⁻¹)
	Aralık (mg L ⁻¹)	Regresyon Denklemi			
Florür	0,01-5,0	$y = 0,7438x - 10^{-5}$	0,999	2,99	9,97
Nitrit	0,01-5,0	$y = 0,2820x - 10^{-5}$	0,999	2,99	9,97
Nitrat	0,05-5,0	$y = 0,1505x + 10^{-5}$	0,999	15,90	53,00
Sülfat	0,05-10,0	$y = 0,3171x - 2 \times 10^{-5}$	0,999	14,94	49,80
Sülfid	0,05-10,0	$y = 0,0145x - 5 \times 10^{-7}$	0,999	14,98	49,93
Oksalat	0,05-5,0	$y = 0,2718x + 10^{-5}$	0,999	15,00	50,00
Fosfat	0,03-5,0	$y = 0,1083x - 3 \times 10^{-5}$	0,999	9,93	33,10

Hazırlanan standart çözeltilerin analizleri sonucunda elde edilen kalibrasyon grafikleri ve kromatogramları kullanılarak meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecek numunelerinde bulunan flor, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonları kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilmiştir. Analiz edilen numunelerden 1:20 oranında seyreltilmeye tabi tutulmuş 10 numaralı örneğe ait kromatogram Şekil 6.10'da verilmiştir:



Şekil 6.10 : 1:20 oranda seyreltilmiş 10 nolu örneğin kromatogramı.

Analiz edilen meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecek numunelerine yapılan kantitatif analizler sonucunda numunelerde bulunan flor, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonların miktarları mg/L cinsinden Çizelge 6.2’de verilmektedir. Analiz sonucu numunelerde bulunmayan anyonlar çizelgede dedekte edilememiş anlamına gelen ND ifadesiyle belirtilmiştir.

Çizelge 6.2 : İyon kromatografi ile analizleri yapılan meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerdeki florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonlarının konsantrasyonları.

	Analit						
	Florür (mg/L)	Nitrit (mg/L)	Nitrat (mg/L)	Sülfat (mg/L)	Sülfid (mg/L)	Oksalat (mg/L)	Fosfat (mg/L)
1	3,85	2,56	4,78	13,38	0,46	12,94	ND
2	3,9	2,66	11,35	20,66	0,76	1,5	ND
3	2,7	1,92	5,18	80	1,65	19,1	ND
4	2,76	1,98	5,4	15,48	0,4	21,75	ND
5	2,72	2,44	5,44	69,5	3	16,45	ND
6	0,42	2,28	8,05	24,95	2	4,8	ND
7	0,9	2,65	3,45	109,05	1,45	ND	ND
8	1,66	1,9	1,26	152	0,6	1,64	ND
9	2,48	2,6	2,9	150,6	0,7	0,98	ND
10	1,46	3,55	2,55	157,6	1,3	5,8	ND
11	0,32	2,2	4,84	25	1	5,16	ND
12	2,3	2,6	4,6	35,2	1,75	5	ND
13	2,1	3,6	5,34	29,3	1,55	2,86	ND
14	2,3	2,24	4,3	33,72	0,96	0,96	ND
15	2,92	2,4	14,04	106	0,8	5,64	ND
16	ND	2,5	7,6	146,75	1,65	15,12	ND
17	0,62	0,92	7,44	53,84	1,32	2,12	ND
18	1,12	1,92	8,7	58,36	1,04	12,94	ND
19	3,15	2,7	12,85	125,05	1,65	5,3	ND
20	3,76	2,78	8,7	54,26	0,62	11,2	ND
21	1,3	2,85	17,4	36,3	ND	16,55	ND
22	0,94	0,68	7,34	56,18	ND	3,12	ND
23	4,98	ND	14,2	38,85	ND	5,94	ND
24	1,5	ND	8,66	12,1	ND	9,4	ND
25	ND	ND	5,06	98,78	ND	16	ND
26	ND	ND	16,5	68,55	ND	13,92	ND
27	ND	ND	17	99,15	ND	14,95	ND
28	1,82	ND	5,24	56,6	ND	14,5	ND
29	4,6	ND	13,34	36	ND	13,05	ND
30	4,16	2,1	14,4	56,7	ND	16,04	ND

6.5 Tekrarlanabilirlik Çalışmaları

Tekrarlanabilirlik, aynı laboratuvarında, aynı metotla, aynı cihazla, aynı numune üzerinde, aynı analizci tarafından alınan deney sonuçlarından (olabildiğince homojen şartlarda yapılan analizler için) herhangi ikisi arasındaki farkın %95 ihtimalle en fazla r kadar olacağını ifade eder. Yani aynı metotla aynı maddeden alınan analiz sonuçlarından herhangi ikisi arasında, %95 ihtimalle en az veya en çok ne kadar fark olacağını gösterir.

Yöntem geçerliliği denetiminin en önemli ayaklarından bir tanesi de hiç şüphesiz tekrarlanabilirlik çalışmasıdır. Burada aynı laboratuvarında, aynı kişi, aynı örneği kullanarak istatistiksel sonuç yaratacak kadar, yani kez deneyi tekrarlamalıdır. Elde edilen sonuçlar belli bir matematiksel anlam içermeli, sonuçlar mantık yoluyla değil, doğrudan matematik kuralları açısından değerlendirilmelidir.

Tekrarlanabilirliği kontrol edebilmek için ise, rölatif standart sapma hesabı yapılması gerekmektedir ve bu hesap aşağıdaki gibidir:

$$\%RSD = (\text{Standart Sapma} / \text{Ortalama}) * 100$$

Her örnek için üç tekrar yapılmıştır ve t derişimine sahip örnek için rölatif standart sapma hesabı yapılırsa sonuç Çizelge 6.3'deki gibidir.

Çizelge 6.3 : İyon kromatografi ile analizleri yapılan meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerdeki florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonlarının %rölatif standart sapma (%RSD) sonuçları.

	Florür (mg/L)	Nitrit (mg/L)	Nitrat (mg/L)	Sülfat (mg/L)	Sülfid (mg/L)	Oksalat (mg/L)	Fosfat (mg/L)
	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%
	(n =3)	(n =3)	(n =3)	(n =3)	(n =3)	(n =3)	(n =3)
1	0,78	0,78	0,32	0,28	1,26	0,47	-
2	0,65	0,57	0,22	0,22	1,32	1,68	-
3	1,13	0,79	0,3	0,25	0,93	0,42	-
4	1,27	0,77	0,28	0,16	1,46	0,28	-
5	1,1	0,82	0,74	0,27	0,51	0,33	-
6	1,36	0,67	0,62	0,76	0,76	1,67	-
7	1,11	0,99	1,16	0,52	0,69	-	-
8	1,52	1,33	2,79	1	0,83	2,15	-

Çizelge 6.3 (devam): İyon kromatografisi ile analizleri yapılan meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerdeki florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonlarının % rölatif standart sapma (%RSD) sonuçları.

	Florür (mg/L)	Nitrit (mg/L)	Nitrat (mg/L)	Sülfat (mg/L)	Sülfid (mg/L)	Oksalat (mg/L)	Fosfat (mg/L)
	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%
	(n =3)	(n =3)	(n =3)	(n =3)	(n =3)	(n =3)	(n =3)
9	1,02	0,59	1,21	1,06	0,82	1,55	-
10	1,05	1,13	1,38	0,22	1,17	0,7	-
11	0,63	0,94	0,52	1,44	2,07	0,68	-
12	1,32	0,59	0,33	0,58	0,87	0,5	-
13	0,73	0,97	0,94	0,86	0,49	0,53	-
14	0,67	0,68	0,58	0,43	0,38	2,08	-
15	0,86	0,86	0,39	1,89	0,72	0,53	-
16	ND	0,83	0,59	0,58	0,35	0,26	-
17	1,61	2,17	0,27	0,18	1,15	1,19	-
18	1,79	1,31	0,37	0,75	0,28	0,23	-
19	0,49	0,74	0,51	0,28	0,3	0,76	-
20	0,41	0,55	0,24	0,49	1,61	0,4	-
21	1,17	0,7	0,55	0,54	-	0,21	-
22	1,62	0,88	0,48	0,55	-	1,12	-
23	0,2	-	0,63	0,37	-	0,34	-
24	1,02	-	0,66	0,79	-	0,37	-
25	-	-	0,91	0,32	-	0,39	-
26	-	-	0,51	0,44	-	0,25	-
27	-	-	0,44	0,22	-	0,17	-
28	0,84	-	0,95	0,31	-	0,28	-
29	0,43	-	0,34	0,57	-	0,35	-
30	0,24	0,67	0,31	0,28	-	0,28	-

7. TARTIŞMA VE YORUM

Meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerde bulunan anyonlar insan vücudu tarafından ihtiyaç duyulurken, belli bir konsantrasyondan fazla alındığında insan sağlığını olumsuz yönde etkiledikleri için meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerde yapılan anyon analizlerinin doğru ve hızlı ölçümü önemlidir. Bu çalışmada, meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecek numunelerinde florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat tayini için güvenilir, hızlı ve basit bir kromatografik yöntem geliştirilmiştir. Literatürdeki diğer kromatografik yöntemlerle karşılaştırıldığında; geliştirilen yöntem uzun örnek hazırlama ve matriks temizleme gibi işlemlerine ihtiyaç duymaz. Ayrıca mobil faz olarak organik çözücü içermemektedir ve bu yüzden cihazdan ölçümler sonunda çıkan atıklar çevreye zararlı değildir. Geliştirilen yöntem, kolay olması, yüksek hassasiyete sahip olması ve doğruluğa uygun olması açısından avantajlara sahiptir. Metot meyve aromalı doğal mineralli gazlı içeceklerde; florür, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonların analizleri için uygundur.

Yapılan bu çalışmada, gradient ve isokratik elüsyon kullanılan farklı kromatografik şartlar denenmiştir. Kromatografik şartlar en iyi ayrımın gözlenebildiği ve en kısa sürede cevap veren analiz gerçekleştirilene kadar geliştirilmiştir. Sonuç olarak; Eluent konsantrasyonu 0-7. dakikalar arasında 5 mM NaOH, 7-7.1. dakikalar arasında 5 mM NaOH'dan 12 mM NaOH'a, 7.1-30. dakikalar arasında 12 mM NaOH, 30-30.1. dakikalar arasında 5 mM NaOH'dan 12 mM NaOH'a ve en son 30.1-35. dakikalar arasında dengeye ulaşmış olup 5mM NaOH şeklinde olup, baskılayıcı (suppresor) akımı 8 mA, kolon sıcaklığı 35 °C, dedektör hücre sıcaklığı 40 °C, akış hızı 0,25 mL/dk, enjeksiyon hacminin 40 µL ve sample loop hacminin 10 µL olduğu 5 mM'dan 12 mM' a multigradient elüsyon yöntemi en uygun metot olarak belirlenmiştir. Bu yöntemle, meyve aromalı ve meyveli doğal mineralli gazlı içeceklerde kalitatif ve kantitatif analizler yapılmıştır.

Flor, nitrit, nitrat, sülfat, sülfid, oksalat ve fosfat anyonlarını içeren standart çözeltiler kullanılarak kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Bu standartların ölçümünden elde

edilen kalibrasyon eğrileri değişen konsantrasyonlarda lineer aralık göstermiştir. Florür, 0,01-5,0 mg/L; nitrit 0,01-5,0 mg/L; nitrat 0,05-5,0 mg/L; sülfat 0,05-10,0 mg/L; sülfid 0,05-10,0 mg/L; oksalat 0,05-5,0 mg/L ve fosfat 0,03-5,0 mg/L konsantrasyon aralığında iyi bir lineerlik göstermiştir ve R^2 değeri ise, her bir anyon için 0,999 olarak elde edilmiştir. Yapılan bu analizde farklı meyve aromalı doğal mineralli gazlı içecek numunelerinin ile tekrarlanabilirlik çalışması yapıp yasal limitlere uygunluğu değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmada örneğin hazırlanması oldukça kolay, ucuz ve basit rutin olarak gerçekleştirilen analizler için hızlı, hassas olarak yapılan ve güvenilir bir analiz yöntemi geliştirilmiştir.



KAYNAKLAR

- [1] **Skoog, A.D., Holler, F.J. & Nieman, T.A.** (1997). *Enstrümantal Analiz İlkeleri* (E. Kılıç, F. Köseoğlu & H. Yılmaz, Çev.). Ankara: Bilim Yayıncılık.
- [2] **Unger, K. K., Tanaka, N., & Machtejevas, E.** (2010). Monolithic Silicas In Separation Science. In K. K. Unger, N. Tanaka & E. Machtejevas (Eds.), *Monolithic Stationary Phases for Fast Ion Chromatography*. (Chapter. 14, pp. 207-203). Erişim Adresi <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527633241>
- [3] **Acikara, Ö. B.** (2013). Ion exchange chromatography and its applications. *Column chromatography*, 10, 55744.
- [4] **Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği**, 2007/26.
- [5] **Eser, B. & Dinçel, A.** (2018). Kromatografiye Giriş, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Kullanımında Basit İpuçları. *Sağlık Hizmetleri ve Eğitimi Dergisi*, 2(2), 51-57.
- [6] **Walton, H. F.** (1999). Ion Exchange-Reaction. *Britannica Online Encyclopedia*. Erişim Tarihi January 3, 2021, Adresi <https://www.britannica.com/science/ion-exchange-reaction>
- [7] **Spedding, F. H., Voigt, A. F., Gladrow, E. M., Sleight, N. R., Powell, J. E., Wright, J. M., Butler, T.A. & Figard, P.** (1947). The Separation of Rare Earths by Ion Exchange II. Neodymium and Praseodymium. *Journal of the American Chemical Society*, 69(11), 2786-2792.
- [8] **Fritz, J. S.** (2004). Early Milestones in the Development of Ion-Exchange Chromatography: A Personal Account. *Journal of Chromatography A*, 1039(1-2), 3-12.
- [9] **Moore, S., Spackman, D. H., & Stein, W. H.** (1958). Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. An improved system. *Analytical Chemistry*, 30(7), 1185-1190.
- [10] **Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı.** (2003). Kromatografi Notu.
- [11] **Helferich, F. G.** (1995). Ion Exchange. New York, Dower Publication, INC.
- [12] **Gao, D., Heimann, R.B., Williams, M.C., Wardhaugh, L.T. & Muhammad, M.** (1999). *J Mater Sci* 34:1543–52.
- [13] **Alexandratos, S. D.** (2009). Ion-Exchange Resins: A Retrospective from Industrial and Engineering Chemistry Research *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48(1), 388-398.

- [14] **Güven, G. Ö.** (2016). *İyon Kromatografisi Yöntemi ile Şaraplarda Anyon Analizi ve Metot Validasyonu* (Yüksek Lisans Tezi). Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [15] **Yılmaz, A.** (2012). Kimyasal Analizlerde Metot Validasyon ve Verifikasyon Rehberi. *TURKLAB Rehber*, (01).
- [16] **Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü.** (2018). Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi.
- [17] **Kromatografik Sistemler.** (2011). Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi Yayınları, Yayın No: 2209, 141-155, Eskişehir.
- [18] **Dionex ICS-3000 Ion Chromatography System Operator's Manual.** (2008).
- [19] **Yaralı, E.,** (2017). Alkollü ve Alkolsüz Ürünler Teknolojisi Ders Notu.
- [20] <<https://www.foodelphi.com/gazli-icecek-sektoru/>>, Erişim tarihi 19.01.2020.
- [21] **Oruç, Y., & İzgi, B.** (2020). Çeşitli Maden Sularında Anyon ve Katyon Miktarlarının Belirlenmesi. *The Journal of Food*, 45(2).
- [22] **Türk Gıda Kodeksi - Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği.**
- [23] **İşgören, A., & Sungur, S.** Tatlandırıcılar. *Lectio Scientifc*, 3(1), 19-33.
- [24] **Ashurst, P. R.** (2016). *Carbonated beverages*.
- [25] **Dey, S., & Giri, B.** (2016). Fluoride Fact on Human Health and Health Problems: A Review. *Med Clin Rev*, 2(1), 11.
- [26] **Bryan, N. S., & Van Grinsven, H.** (2013). Advances in Agronomy. In N. S. Bryan & J. Loscalzo (Eds.), *The Role of Nitrate in Human Health* (Vol. 119, pp. 153-182). Academic Press. Erişim Adresi https://www.researchgate.net/publication/236278904_The_Role_of_Nitrate_in_Human_Health
- [27] **Ardıç, C.** (2013). *İçme Suyundaki Nitrat Konsantrasyonunun İnsan Sağlığı Üzerine Oluşturduğu Risklerin Belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [28] **Ward, M. H., Jones, R. R., Brender, J. D., De Kok, T. M., Weyer, P. J., Nolan, B. T., ... & Van Breda, S. G.** (2018). Drinking Water Nitrate and Human Health: An Updated Review. *International Journal Of Environmental Research and Public Health*, 15(7), 1557.
- [29] **Institute of Medicine of the National Academies.** (2005). *Consensus Study Report: Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate*. Washington DC. Institute of Medicine of the National Academies.
- [30] **Lester, M. R.** (1995). Sulfite sensitivity: significance in human health. *Journal of the American College of Nutrition*, 14(3), 229-232.
- [31] **Noonan, S.C. & Savage, G. P.** (1999). Oxalate content of foods and its effect on humans. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 8(1), 64-74.
- [32] **Razzaque, M. S.** (2011). Phosphate Toxicity: New Insights into an Old Problem. *Clinical Science*, 120(3), 91-97.

- [33] **Takeda, E., Taketani, Y., Sawada, N., Sato, T., & Yamamoto, H.** (2004). The Regulation and Function of Phosphate in the Human Body. *Biofactors*, 21(1-4), 345-355.
- [34] **Doğal Mineralli Sular Hakkında Yönetmelik.** (2004).
- [35] **Silva, M. M., Pereira, K. S., & Coelho, M. A. Z.** (2019). Food Additives Used in Non-Alcoholic Water-Based Beverages—A Review. *J. Nutr. Health Food Eng*, 9, 212540717.
- [36] **Daraei, H., Maleki, A., Mahvi, A. H., Alaei, L., Rezaee, R., Ghahremani, E., & Mirzaei, N.** (2015). Simultaneous Determination of Inorganic Anions in Bottled Drinking Water by the Ion Chromatography Method. *Journal of Water Chemistry and Technology*, 37(5), 253-257.





ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Büşra İpek

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2018, İTÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya
- **Yükseklisans** : Halen, İTÜ, Kimya Anabilim Dalı, Kimya