

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İLETKENLİK DEDEKTÖRLÜ İYON KROMATOĞRAFİSİ İLE ALKOLLÜ
İÇECEKLERDE FLORÜR, ASETAT, FORMAT, KLORÜR, NİTRAT, SÜLFAT
ANYONLARININ BİRLİKTE TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Melike Güler ŞİMŞEK

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

HAZİRAN 2018

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İLETKENLİK DEDEKTÖRLÜ İYON KROMATOĞRAFİSİ İLE ALKOLLÜ
İÇECEKLERDE FLORÜR, ASETAT, FORMAT, KLORÜR, NİTRAT, SÜLFAT
ANYONLARININ BİRLİKTE TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Melike Güler ŞİMŞEK
(509111022)**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülçin YILMAZ

HAZİRAN 2018

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 509111022 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Melike Güler ŞİMŞEK, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “İLETKENLİK DEDEKTÖRLÜ İYON KROMATOĞRAFİSİ İLE ALKOLLÜ İÇECEKLERDE FLORÜR, ASETAT, FORMAT, KLORÜR, NİTRAT, SÜLFAT ANYONLARININ BİRLİKTE TAYİNİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

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

İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Birsen DEMİRATA**

İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Dr. Orhan DESTANOĞLU**

Adli Tıp Kurumu

Teslim Tarihi : **4 Mayıs 2018**

Savunma Tarihi : **7 Haziran 2018**





Eşime ve çocuklarıma,



ÖNSÖZ

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

Laboratuvar ve tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sayın Dr. Orhan Destanoğlu' na teşekkürü bir borç bilirim.

Eğitim süreçlerimde ve diğer tüm zamanlarda desteklerini hissettiren başta annem Fatma Cırcır ve babam Ertan Cırcır' a, canım ağabeyim Burak Türkoğlu' na, sevgili eşim Fatih Mehmet Şimşek' e, yavrularım Zeynep Mina ve Yavuz Selim' e sonsuz teşekkürler.

Mayıs 2018

Melike Güler Şimşek
(Kimyager)



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
SEMBOLLER	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ	xv
ŞEKİL LİSTESİ	xvii
ÖZET	xix
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. KROMATOĞRAFI	5
2.1 Kromatografinin Genel Tanımı	5
2.2 Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması	6
2.2.1 Sabit faz tipleri	6
2.2.2 Doğrusal kromatografi	7
2.2.3 Kolonlarda elüsyon kromatografi	9
2.3 Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması	12
2.4 Kromatografide Kantitatif Analizler	12
2.4.1 Pik yüksekliğine göre analiz	12
2.4.2 Pik alanlarına göre analiz	13
2.4.3 Standartlarla yapılan kalibrasyon	13
2.4.4 İç standart yöntemi	14
2.4.5 Alan normalizasyon yöntemi	14
3. İYON DEĞİŞİM KROMATOĞRAFİSİ	15
3.1 İyon Değişimi	16
3.2 Sabit Faz Türleri	18
3.3 Sabit Fazın Özellikleri	19
3.3.1 İyon kapasitesi	19
3.3.2 Şişme (swelling)	19
3.3.3 Seçicilik	19
3.3.4 İyon kromatografisinde kullanılan hareketli faz türleri	20
3.4 İyon Seçiciliği	22
3.5 Baskılayıcı (Supresör)	23
3.6 İyon Kromatografisi Dedektörleri	26
3.6.1 İletkenlik dedektörleri	26
3.6.2 UV – görünür belge dedektörleri	26
3.6.3 Amperometrik dedektörler	27
3.6.4 Optik dedektörler	27
3.6.5 Potansiyometrik dedektörler	27
3.6.6 Floresans dedektörleri	28
3.6.7 Kırılma indisi dedektörleri	28

3.6.8 Alevli atomik absorpsiyon ve atomik emisyon dedektörleri.....	28
3.6.9 İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma (ICP) dedektörü	29
3.7 İyon Kromatografisinin Kullanım Alanları	29
3.8 Deneyde Kullanılan IC Sisteminin Ana Bölümleri	30
3.8.1 ICS-3000 sistemi	30
3.8.2 IonPac AS20 anyon değiştirici kolon.....	35
3.8.3 AS20 kolonunun özellikleri	37
4. ALKOLLÜ İÇECEKLER.....	39
4.1 Rakı Üretimi	40
4.1.1 Suma Üretimi	40
4.1.2 Rakı Üretimi.....	43
5. ANYONLAR VE ANYON ANALİZLERİNİN ÖNEMİ.....	47
6. DENEYSEL KISIM.....	51
6.1 Kimyasallar ve Araçlar.....	51
6.2 Kullanılan Kromatografi Sistemi	51
6.3 Çözeltilerin Hazırlanması.....	52
6.3.1 Standart çözeltilerin hazırlanması	52
6.3.2 Rakı numunelerinin hazırlanması.....	53
6.4 Rakı Numunesinin Buharlaştırma Öncesi ve Sonrasına Ait Gaz Kromatografisi Analiz Sonuçları	53
6.5 Kalibrasyon Grafikleri.....	56
6.6 Geri Kazanma ve Tekrarlanabilirlik Çalışmaları	59
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
KAYNAKLAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	73

KISALTMALAR

GİSDER	: Geleneksel Alkollü İçki Üreticileri Derneği
TAPDK	: Tütün ve Alkol Piyasası Düzenleme Kurumu
TPE	: Türk Patent Enstitüsü
ADH	: Alkol Dehidrojenaz
FDH	: Formaldehit Dehidrojenaz
ÖTV	: Özel Tüketim Vergisi
WHO	: World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü
US EPA	: U.S. Environmental Protection Agency, A.B.D.Çevre Koruma Ajansı
CR-ATC	: Continously Regenerated-Anion Trap Column, Sürekli Rejenere-Anyon Tuzak Kolonu
EG	: Eluent Generator, Eluent Hazırlama Modülü
FIA	: Flow Injection Analysis, Akış Enjeksiyon Analizi
IC	: Ion Chromatography, İyon Kromatografisi
ISE	: Ion Selective Electrode, İyon Seçici Elektrot
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
MMS	: Micro Membran Suppressor, Mikro Membran Supresör
RFIC	: Reagent-Free Ion Chromatography, Reaktansız İyon Kromatografi
SRS	: Self-Regenerating Suppressor, Kendini Rejenere Edebilen Supresör
UP	: Ultra Pure, Ultra Saf
HS-GC-MS	: Head Space-Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Head Space-Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LOD	: Limit of Detection, Tespit Sınırı
LOQ	: Limit of Quantification, Tayin Sınırı
RSD	: Relative Standard Deviation, Bağlı Standart Sapma



SEMBOLLER

C	: Konsantrasyon
t	: Zaman
W	: Pik genişliği
L	: Kolon uzunluğu
F	: Akış hızı
V	: Hacim
K	: Dağılma katsayısı
k'	: Kapasite faktörü
N	: Plaka sayısı
R_s	: Resolüsyon



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Kromatografik ayırmaların sınıflandırılması.....	7
Çizelge 2.2 : Deneyle bulunan önemli kromatografik değerler.	11
Çizelge 2.3 : Hesaplanarak elde edilen kromatografik değerler ve diğer özelliklerle ilişkileri.	11
Çizelge 6.1 : Florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının bir arada bulunduğu standarda ait kalibrasyon grafiği için hazırlanan çözelti konsantrasyonları.	56
Çizelge 6.2 : 0,05-60 mg/L florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonları için metot performans parametreleri.	59
Çizelge 6.3 : Rakı numunesindeki; florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarına ait geri kazanım verileri (N=6).	62
Çizelge 6.4 : Rakı numunesindeki; florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının konsantrasyon tekrarlanabilirliğine ait istatistiksel veriler (N=6).	63
Çizelge 6.5 : Rakı numunesindeki; florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının ayrılma zamanı tekrarlanabilirliğine ait istatistiksel veriler (N=6).	64
Çizelge 6.6 : Marketlerde satılan rakı numunelerine ait analitik sonuçlar (N=3).	65



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Tipik dağılma eğrileri; C_s , maddenin sabit fazdaki konsantrasyonu, C_M , aynı maddenin hareketli fazdaki konsantrasyonu.	8
Şekil 2.2 : (a) Kolon elüsyon kromatografisi ile A ve B bileşenlerinin ayrılma diyagramı. (b) dedektör sinyali.	10
Şekil 2.3 : Döner bir örnek valfi; (a) örnek yuvası ABC' nin doldurulduğu valf konumu. (b) örneğin kolona verilmesi.	14
Şekil 3.1 : İyon kromatografisi cihazının ana bileşenleri.	16
Şekil 3.2 : Hidroksit sürükleyici ile bir anyonun iyon değişimi.	17
Şekil 3.3 : Karboksilik asit için iyon seçiciliğinin gösterimi.	23
Şekil 3.4 : Baskılayıcı ile sürüklenme.	24
Şekil 3.5 : A^- anyonunun bir anyon ayırma kolonundan gözenekli membran baskılayıcıya doğru akışı.	25
Şekil 3.6 : M^+ kationunun bir kation ayırma kolonundan kendiliğinden yenilenebilen membrana akışı.	25
Şekil 3.7 : Supresörde gerçekleşen iyon değişimi.	32
Şekil 3.8 : Supresörlü sistemde anyonların artan hassasiyeti.	33
Şekil 3.9 : Dedektörün sıcaklık kararlılığı.	33
Şekil 3.10 : İletkenlik dedektörü (siyah) ve Supresör (beyaz).	33
Şekil 3.11 : ICS- 3000 sisteminin AS oto örnekleyicisiyle aynı anda yürütülen iki analiz sonucu.	34
Şekil 3.12 : ICS-3000 sisteminin modül ve parçaları.	35
Şekil 3.13 : IonPac AS20 kolon dolgusunun yapısı.	36
Şekil 3.14 : AS20 kolonunda ayrımı yapılmış yirmi üç anyon.	36
Şekil 3.15 : Anyonların AS16 ile AS20 kolonlarında ayrılmaları.	37
Şekil 4.1 : Şeker oranı-fermantasyon eğrisi.	41
Şekil 4.2 : Suma üretimine ait proses akış şeması.	43
Şekil 4.3 : Rakı üretimine ait proses akış şeması.	45
Şekil 5.1 : Metanol metabolizması.	48
Şekil 6.1 : (a) Rakı numunesinin doğrudan enjeksiyonu (buharlaştırma yapılmaksızın) ile elde edilen HS-GC-MS sonuçlarının Origin programı ile çizilmiş kromatogramı. (b) Rakı numunesinin su banyosunda buharlaştırma işlemi sonrasında elde edilen HS-GC-MS sonuçlarının Origin programı ile çizilmiş kromatogramı.	54
Şekil 6.2 : (a) Rakı numunesinin doğrudan enjeksiyonu (buharlaştırma yapılmaksızın) ile elde edilen HS-GC-MS kromatogramı. (b) Rakı numunesinin su banyosunda buharlaştırma işlemi sonrasında elde edilen HS-GC-MS kromatogramı.	55
Şekil 6.3 : 0,05-60 mg/L florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat standart çözeltilerinin optimize edilmiş kromatografisi şartlarında üst üste alınan kromatogramları.	57

Şekil 6.4 : (a) 0,05-60 mg/L florür standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. (b) 0,05-60 mg/L asetat standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. (c) 0,05-60 mg/L format standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. (d) 0,05-60 mg/L klorür standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. (e) 0,05-60 mg/L nitrat standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. (f) 0,05-60 mg/L sülfat standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. **58**

Şekil 6.5 : Spikesız ve spikeli rakı numunelerinin optimize edilmiş kromatografi şartlarında alınan kromatogramlarının üst üste çakıştırılmış hali. **61**



İLETKENLİK DEDEKTÖRLÜ İYON KROMATOĞRAFİSİ İLE ALKOLLÜ İÇEKLERDE FLORÜR, ASETAT, FORMAT, KLORÜR, NİTRAT, SÜLFAT ANYONLARININ BİRLİKTE TAYİNİ

ÖZET

Alkollü içkiler yapım tekniği ve bileşimleri yönünden değerlendirildiğinde; fermente alkollü içkiler ve distile alkollü içkiler olmak üzere iki grupta incelenir.

Türkiye’ de üretimi yapılan damıtık alkollü içkilerin başında rakı gelmektedir. 2017 yılı TAPDK istatistik verilerine göre rakı 16.750.000 litre üretimi ile biradan (47.800.000 litre) sonra Türkiye’ nin en çok üretilen ve tüketilen alkollü içkisidir. Distile alkollü içkiler grubunda ise rakı birinci sıradadır.

Rakı; karakteristik özelliğini Türkiye Cumhuriyeti sınırları içinde yer alan doğal unsurlardan, özellikle Türkiye’ de yetişen üzüm, anason ve Türkiye’ de uygulanan geleneksel üretim yöntemlerinden alan, üretimi, işlenmesi ve diğer işlemleri tamamıyla Türkiye sınırları içinde yapılan kendine has, renksiz distile alkollü içkidir.

Geleneksel Alkollü İçki Üreticileri Derneği’ nin (GİSDER) Türk Patent Enstitüsü’ ne (TPE) yaptığı başvuru sonucunda “rakı” ibaresinin menşee adı kapsamında coğrafi işaret olarak tesciline 1999 yılında karar verilmiş ve karar Avrupa Birliği tarafından tanınmıştır.

Türk Gıda Kodeksi Distile Alkollü İçkiler Tebliği’ ne göre Türk rakısı, yalnızca suma veya tarımsal kökenli etil alkolle karıştırılmış sumanın 5.000 litre veya daha küçük hacimli geleneksel bakır imbiklerde anason tohumu (*Pimpinella anisum*) ile ikinci kez damıtılmasıyla Türkiye’ de üretilen ve alkol oranı en az %40 olan, distile alkollü bir içkidir. Üründeki toplam alkolün en az %65’ i sumadır. Hazırlanmasında rafine beyaz şeker kullanılır ve şeker miktarı en fazla 10 g/ L’ dir. Metil alkol içeriği hacmen, %100 alkolün litresinde 150 gramdan fazla olamaz. Anason tohumu kaynaklı eterik yağın anetol miktarı, üründe en az 800 mg / L olmalıdır.

Rakı damıtık bir alkollü içki olduğu için rakı kalitesini belirleyen temel unsurlar uçucu bileşiklerdir. Bunlar etanol, metanol, etanol ve metanol dışındaki uçucu bileşikler ve anasondan gelen eteri yağlar olmak üzere 4 grup altında toplanabilir. Uçucu bileşiklerin miktarları ve birbirlerine oranları alkollü içkilere karakteristik tat ve kokularını kazandırmakta ve aralarındaki ilişki kaliteyi etkilemektedir. Bu 4 gruptan anason eteri yağı dışındaki uçucu bileşikler çoğunlukla alkol fermantasyonu sırasında oluşmakta, kısmen de hammaddeden gelmektedir. Alkollü mayşenin damıtılması ile etil alkolle birlikte uçucu bileşikler damıtığa geçmekte ve bu bileşiklerin konsantrasyonları son üründe artmaktadır. Alkol fermantasyonu ile meydana gelen alkollü sıvının damıtığında bulunan su ve etil alkol dışındaki başlıca bileşikler; metanol, aldehitler (asetaldehit, asetal), esterler (etil asetat, metil asetat) ve yüksek alkollerdir (2-bütanol, n-propanol, izobütanol, n-bütanol, 2-metil-1-bütanol, 3-metil-1-bütanol). Bu bileşiklerin büyük bir kısmı belirli bir dozun üzerinde toksik ve sağlığa zararlı maddelerdir. Bunlardan en tehlikelisi metanol olup, metaboliti

formik asitin yükselen seviyesi; optik sınırlarda ciddi hasara, solunum yetmezliğine, karaciğer ve böbrek yetmezliği gibi ciddi ölümcül sonuçlara ve komaya neden olabilir. 10 mmol/ L' nin (0,5 mg/ mL) üzerindeki kan konsantrasyonları; metabolik asidozu indükleyebilir ve ölüme yol açabilir.

Metanol; alımından 2-24 saat sonra hızlıca ADH enzimi ile formaldehite ve ardından FDH enzimiyle, toksisitesi metanole göre oldukça yüksek olan formik aside hızlıca metabolize olur. Kanda bulunan format miktarı, metanol toksikasyonunun bir belirteçidir. Format iyonunun insan vücudundaki miktarının takip edilebilmesi, klinik olarak teşhis açısından çok önemlidir.

Bu nedenle rakı son ürününde uçucu bileşiklerin miktarları, sağlık açısından güvenli kabul edilen limitlerde tutulmalıdır. Üretim sırasında damıtma işlemiyle, bu bileşiklerin kaynama noktalarının farklı olmasından yararlanılarak, bileşiklerin birbirlerinden ayrılması hedeflenir. Bu amaçla damıtık baş, orta ve son ürün olarak adlandırılan 3 fraksiyona ayrılır. Etil alkole göre daha düşük sıcaklıklarda buharlaşan asetaldehit, asetal, metil asetat, etil asetat ve metanolün bulunduğu baş ürün ile daha yüksek sıcaklıklarda buharlaşan yüksek alkollerin (2-bütanol, n-propanol, izobütanol, n-bütanol, 2-metil-1-bütanol, 3-metil-1-bütanol) bulunduğu son ürün ayrılarak, etil alkolce zengin orta ürün alınıp rakıya işlenir. Ancak etil alkol dışındaki uçucu bileşikler, orta ürünün alınma zamanına bağlı olarak az veya çok miktarlarda rakıya geçer. Dolayısıyla hammadde özellikleri ve alkol fermantasyonu dışında suma damıtma, rakı damıtma sistemi ve yöntemi rakı kalitesi üzerinde etkili olmaktadır.

2003 yılında içki üretiminde devlet tekelinin kalkması ve yeni üretici firmaların pazara girmesi ile üretilen ve piyasaya sunulan Türk rakılarının kaliteleri ve Türk Gıda Kodeksi' ne uygunlukları konusu son derece büyük önem arz etmektedir.

Ayrıca son yıllarda sıklıkla karşımıza çıkan sahte rakı üretimi ve piyasaya sunulması sonucu metanol zehirlenmelerinin yaşanması rakı analizlerinin önemini göstermektedir. 2005 yılında öldürücü dozda metanol içeren sahte rakıdan 23 kişinin hayatını kaybetmesi ve onlarca insanın zehirlenip hastaneye kaldırılması alkollü içki üretiminde kontrollerin önemini gözler önüne sermiştir.

Bu olayların ardından, 2005 yılında Türk Gıda Kodeksi Damıtık Alkollü İçki Yönetmeliği, 1576/89 yönetmeliği ile Avrupa Birliği uyum çerçevesinde düzenlendi. Düzenleme; tüm distile alkollü içkilerin, tekniğine uygun ve hijyenik şekilde hazırlanması, işlenmesi, üretilmesi, analitik limitlere uygunluğu ve güvenilirliği, depolanması, taşınması, muhafaza edilmesi, piyasaya arzı ve coğrafi işaretlerinin korunmasına ilişkin usul ve esaslar içermektedir.

Bu çalışmada rakı numunelerinde, rakı üretim prosesi sırasında yan ürün olarak ortaya çıkan metanol metaboliti olan format tayini ve gıdalarda sıklıkla analizleri yapılan florür, asetat, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının tayini için seçici, güvenilir ve hassas bir yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla suppressörlü iletkenlik dedektörü, Dionex Ion Pac® AS20 analitik kolon (2x250 mm) ve Dionex Ion Pac® AG20 guard kolonu (2x50 mm) bulunan Dionex marka iyon kromatografi cihazında gradient ve isokratik NaOH eluenti kullanılarak methot geliştirilmiştir.

Florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarını içeren standart çözeltiler hazırlandı, kalibrasyon eğrisi 0,05- 60 mg/L konsantrasyon aralığında iyi bir lineerlik gösterdi, r² değerleri her bir anyon için 0,999 olarak bulundu. Spikeli ve spikesız rakı numunelerinin analizi ile anyonların % geri kazanım değerleri % 92,38 – 99,06 aralığında bulundu. Piyasada satılan farklı Türk rakı markaları ve Yunan rakısı

olarak bilinen uzo numunesi incelendi. Çoklu ölçümlerle tekrarlanabilirlik çalışması yapıldı.

Sonuç olarak yürütülen bu çalışma ile numune hazırlaması basit, ucuz; rutin analizler için hızlı, güvenilir ve hassas bir analiz metodu geliştirildi.





SIMULTANEOUS DETERMINATION OF FLUORIDE, ACETATE, FORMATE, CHLORIDE, NITRATE, SULPHATE IN ALCOHOLIC BEVERAGES WITH ION CHROMATOGRAPHY/ CONDUCTIVITY DETECTOR

SUMMARY

Alcoholic drinks when evaluated of manufacturing technique and composition are examined in two groups; fermented alcoholic beverages and distilled alcoholic beverages.

Raki is the most widely produced and consumed distilled alcoholic beverages in Turkey. According to statistical datas of TAPDK; raki (16,750,000 liters) is the second most produced alcoholic beverage after the beer (47,800,000 liters) in 2017.

Raki is characterized by natural factors within the borders of the Republic of Turkey. Grapes and anise which are grown in Turkey and conventional manufacturing method applied in Turkey are used. Production, processing and the other operations are also performed in Turkey.

As a result of the application made by the Turkish Alcoholic Beverage Makers Association (GİSDER) to the Turkish Patent Institute (TPE), the registration of the “raki” as a geographical indication under the name of origin was decided in 1999 and the decision was recognized by the European Union.

It is described in Turkish Food Codex (2005) as a spirit that must be produced in Turkey by double distillation of suma or suma mixed with agricultural-based ethanol and flavoured with aniseed (*Pimpinella anisum*). Suma is produced mainly from raisins, molasses and/or grape must and is a distillate with a maximum 94,5% ethanol content. Suma can be also mixed with ethanol from an agricultural origin and this final mixture must contain at least 65% suma. Suma or suma-ethanol mixture is distilled in copper alembics with a maximum capacity of 5000 L and three groups of distillates; light, intermediate and heavy are separated. Intermediate distillate is used for raki manufacture and diluted to 45% alcohol. After the addition of refined white sugar product is stored for at least one month before filling. During preparation, refined white sugar should be used and the amount of sugar should have a maximum of 10 g/L in the product. The methyl alcohol content of raki must not exceed 150 grams per hectoliter of 100% alcohol. The amount of anethole of the etheric oil originating from the anise seed should comprise a minimum of 800 mg/L in the product.

Because raki is a distilled alcoholic drink, the essential compounds that determine quality of raki are volatile compounds. These essential compounds can be grouped into four: ethanol, methanol, other volatile compounds except ethanol and methanol and etheric oils from the anethole. The quantities and proportions of volatile compounds give a characteristic taste and odor to alcoholic beverages and between the relationships of them affects quality. Except the etheric oil compounds, volatile

compounds are mostly formed during alcohol fermentation and partly coming from raw materials. During the distillation of the alcoholic beverage, the volatile compounds pass through the distillate with ethyl alcohol. So the concentrations of these compounds increase in the last product. Except water and ethanol, main compounds of the distillate of alcohol fermentation are; methanol, aldehydes, esters and high alcohols. These compounds are toxic and harmful over the limit doses.

Most dangerous of these compounds is methanol. Although methanol itself is harmless, its metabolites are toxic and its consumption causes methanol poisoning in both humans and animals. Methanol spreads rapidly into the body via all routes. After dispersion in body compartments, methanol is firstly digested into formaldehyde by alcohol dehydrogenase enzyme. Formaldehyde is thirtythree times more toxic than methanol, and it is speedily converted into formic acid by aldehyde dehydrogenase enzyme. Formic acid is six times more toxic than methanol. The elevated level of the acid occurring in the human body can cause significant fatal effects such as serious damage to optical nerve, respiratory failure, hepatic and renal failure, and coma. Blood concentrations above 10 mmol/L (0.5 mg/mL) can induce deep metabolic acidosis and lead to death.

For this reason, the amounts of volatile compounds in the final product of raki should be kept at health-safe limits. During the distillation of the product, it is aimed to separate the compounds from each other by exploiting the fact that these compounds have different boiling points. The light fraction containing acetaldehyde, acetal, methyl acetate, ethyl acetate and methanol which evaporate at low temperatures and heavy fraction containing high level alcohols (2-butanol, n-propanol, isobutanol, n-butanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol) which evaporate at high temperatures are not used. The intermediate fraction of distillate is termed the 'heart' of the distillate and this part is rich in ethanol. This intermediate fraction distilled in the presence of the anise is traditionally called the suma.

Until 2004, Raki was produced under licence of the Turkish monopoly with no competition. After privatization of the monopoly in 2004, with the increase of the private sector, several new brands and types of Raki have emerged, each with its own distinct composition and production method, although the overall qualities of the drink are generally consistent.

Many death cases related to methanol intoxication due to consumption of illegal raki have been reported in Turkey. In 2005, 23 people died in Turkey and dozens were hospitalised after drinking illegal raki containing lethal levels of methanol. Therefore, it became very important to control the quality of alcoholic beverages produced in Turkey.

The Turkish Food Codex Distilled Alcoholic Beverage Regulation of 2005, which allowed harmonization of Turkey with the European Community (EC) under the 1576/89 regulation, established the definition and production procedures for all distilled alcoholic beverages and fixed common analytical composition limits to control their quality and safety.

Suitable chromatographic conditions and pre-treatment method was developed for simultaneous analysis of fluoride, acetate, formate, chloride, nitrate and sulphate anions in raki on this study. Samples were analyzed by ion chromatography / conductivity detector equipped with a Dionex Ion Pac® AS20 analytical column (2x250 mm) and a Dionex Ion Pac® AG20 guard column (2x50 mm) using gradient and isocratic NaOH elution.

The calibration curves showed a good linearity in the ranges of 0.05-60 µg/L with the r^2 values of 0.999, for each anion. Significant results were obtained for various unspiked and spiked raki samples with % recovery in the range of 92.38 – 99.06 %. The method was applied to raki samples purchased from Turkey markets and the ouzo sample. Repeatability of the results were showed with the multiple measurements.

The advantages of the method described herein are: (i) it allows determining trace amount of formate and the other anions (fluoride, acetate, chloride, nitrate and sulphate) usually occurring in food products and giving IC signals under the applied conditions. (ii) the sample preparation is overly simple, inexpensive. (iii) the method is not time demanding and could be employed in routine analysis.





1. GİRİŞ

Kromatografi; bir karışımda bulunan maddelerin, biri sabit diğeri hareketli faz olmak üzere birbirleriyle karışmayan iki fazlı bir sistemde ayrılması ve saflaştırılması yöntemidir. Süratli, basit ve etkili bir ayırma yöntemi olması nedeniyle son yıllarda büyük bir uygulama alanı bulmuştur [1].

Kromatografi, bir karışımı oluşturan türlerin ayrı ayrı belirlenmesi (nitel analiz) ve karışımı oluşturan bileşenlerin miktar tayini (nicel analiz) amacıyla günümüzde en çok kullanılan analiz yöntemlerindedir. Kromatografinin uygulandığı sistem ve yöntemler çok çeşitlidir.

İyonların ve iyonlaşan türlerin, iyon değişimi mekanizması ile analizlenebildiği kromatografik yöntem iyon değişim kromatografisi denilmektedir. Bu yöntemde; sabit fazı oluşturan iyon değiştiriciye kimyasal bağlarla bağlı yüklü gruplar, hareketli fazdaki benzer iyonlarla yer değiştirirler. Bu yer değiştirme istenildiğinde geri döndürülebilmektedir. Böylece değiştirilebilir iyon taşıyan maddelerin (asitler, antibiyotikler, aminoasitler, alkaloidler vb.) ayrılması sağlanmış olmaktadır.

İyon değiştirme kromatografisiyle, ayrılmaları çok güç olan nadir toprak metal kationları birbirlerinden ayrılırlar. Özellikleri birbirlerine çok yakın olan amino asitler de iyon değiştirme kromatografisiyle birbirlerinden ayrılırlar.

İyon kromatografisinin; yüksek hassasiyete sahip olması, birçok inorganik iyon için tayin sınırının düşük olması, diğer yöntemlerde karışıklığa yol açan matriks sorunlarının iyon kromatografisinde görülmemesi, rutin analizler için uygun olması, yöntemi diğer kromatografik yöntemlere göre üstün kılar. İyon kromatografisi, çeşitli malzemelerin iyonik bileşenlerinin incelenmesinde yaygın olarak kullanılan bir tekniktir [2].

Kullanılan katı maddeler, çözelti ortamında hiç çözünmeyen büyük molekülü doğal ve yapay maddelerdir. Bunlar inorganik ve organik olmak üzere ikiye ayrılırlar. İnorganik olanlar yaklaşık bir asırdır kullanılan kil ve zeolitlerdir. Organik olanlar

1937' den beri kullanılmaktadır. Günümüzde organik iyon değiştiriciler inorganik olanlardan çok daha fazla kullanılmaktadırlar [3].

İyon kromatografisi; toksikolojide, adli tıpta, içme suyu ve atık su analizlerinde, hava kirliliğinin ölçülmesinde, endüstriyel atık analizlerinde, biyolojik çözeltilerdeki iyonik türlerin belirlenmesinde, gıda ve içecek analizlerinde, kütle spektrometresi veya diğer spektroskopik 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.

Her dönem analizleri insan ve toplum sağlığı açısından önem teşkil eden alkollü ve alkolsüz içeceklerin analizleri, kromatografinin ve spektroskopinin uygulama alanlarından olmuştur.

Dünya Sağlık Örgütü' nün 2010 yılında 185 ülkeyi kapsayan, dünyadaki yıllık alkol tüketimini belirlediği raporun verilerine göre ülkemizdeki alkollü içki tüketimi dünya ortalamasının yaklaşık olarak üçte biri kadardır.

2017 yılı TAPDK istatistik verilerine göre fermente ve distile alkollü içkilere genel olarak bakıldığında rakı, biradan sonra en çok tüketilen alkollü içkidir. Distile alkollü içkiler grubunda ise rakı yüksek tüketim hacmiyle birinci sıradadır.

Türk Patent Enstitüsü'ne (TPE) yapılan başvuru sonucunda "rakı" ibaresinin menşe adı kapsamında coğrafi işaret olarak tesciline 1999 yılında karar verilmiştir. Böylelikle rakı milli alkollü ikimiz olarak kayıtlara geçmiştir. Tüketim hacminin yüksek olması ve milli bir değer olması sebebiyle rakı analizleri önem arz etmektedir.

Bandrol uygulaması, kayıt dışılık anlamında olumlu sonuçlar vermişse de ÖTV artışları ile birlikte ikilerdeki kayıt dışılık yeniden gündeme gelmiştir [4]. Sınırlarımızdan çok sayıda ucuz içki kaçak olarak girebilmektedir. Sahte içki yapımı ve piyasaya sunulması da tüketici sağlığını tehdit etmektedir.

Kaçak, sahte rakıların tespiti ve rakı üretim proseslerinde yan ürün olarak oluşan metanol seviyesinin uygunluk kontrolünün yapılması açısından rakı analizlerinin önemi büyüktür. Özellikle son yıllarda sıklıkla karşımıza çıkan, yüksek dozda metanol içeren sahte rakıların tüketilmesi ile metanol metaboliti formik asit sebebiyle körlük, solunum yetmezliği, karaciğer ve böbrek yetmezliği, koma ve ölüm meydana

gelmektedir. Formik asitin, yüksek biyolojik aktivitesinden dolayı kaynaklarının incelenmesi genel gıda endüstrisi için büyük önem taşımaktadır. Kandaki formatın artan miktarları, metanol zehirlenmesinin bir göstergesidir [5].

Florür; iskelet sistemi ve diş sağlığı için oldukça önemlidir ancak fazlası dişlerde florozize sebep olmaktadır [6, 7, 8].

Asetatlar çeşitli gıdalarda antimikrobiyal gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır [9]. Etil asetatın, şarapların ve damıtıkların organoleptik özellikleri üzerinde önemli bir etkisi vardır. Düşük konsantrasyonlarda, etil asetat şarabın meyveli özelliklerine katkıda bulunur. Alkollü içkilerin uygun olmayan koşullar altında saklanması, bakteriyel bozulma riskine sebep olur. Bu durum etil asetat artışa neden olabilir. Ayrıca yıllandırma sırasında etanolün asetik aside sürekli oksidasyonu ve bu asidin esterleşmesi nedeniyle asetat miktarı artar. Bu bileşiklerin seviyeleri, üzüm çeşidi, fermantasyon koşulları ve damıtma teknikleri gibi çeşitli faktörlerden etkilenir [10, 11, 12].

Klorür; gıdalarda en sık bulunan anyonlardandır. Metabolizmada asit-baz dengesinde önemli rol oynar. Buna karşın yüksek konsantrasyonlarda alımı oldukça fazla yan etkiye sahiptir [6, 13].

Nitratlar; azotlu gübrelerin yaygın kullanımından dolayı sulara ve gıdalarda bulunmaktadır. Nitratlar yüksek toksisiteye sahip olmamasına rağmen metaboliti olan nitritlerin karsinojenik nitrozaminlere dönüşmesi sebebiyle insan vücudu için oldukça toksiktir [6, 14].

Sülfat; insanlar ve hayvanların vücutlarında bulunan doğal ve gerekli bir bileşendir. WHO ve US EPA tarafından sulara bulunmasına izin verilen limit değer olmamasına karşın, gastrointestinal sisteme olan katartik etkisinden dolayı sağlık otoriteleri tarafından içme sularında 500 mg/ dm³ ü aşmaması tavsiye edilmektedir [6, 15].

Ülkemizdeki alkollü içki tüketiminin dünya ortalamasına göre oldukça düşük olmasına karşın, tüketici halk sağlığı açısından piyasadaki alkollü içkilerin uygun ve etkin denetim mekanizmalarından geçmesi son derece önemli bir konudur.

Bu çalışmada iyon kromatografisi cihazı ile; rakı numunelerinde, rakı üretim prosesi sırasında yan ürün olarak ortaya çıkan metanol metaboliti format tayini ve içme sularında ve gıdalarda sıklıkla analizleri yapılan florür, asetat, klorür, nitrat ve sülfat

anyonlarının birlikte tayini için seçici, güvenilir ve hassas bir yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır.



2. KROMATOGRAFI

2.1 Kromatografinin Genel Tanımı

Yirminci yüzyılın ortalarına kadar analitik ayırmalarda damıtma, ekstraksiyon gibi klasik yöntemler kullanılırken günümüzde analitik ayırmalar için genellikle kromatografi ve elektroforez teknikleri tercih edilmektedir.

Kromatografi, Yunanca chroma (renk) ve graphein (yazmak) sözcüklerinin birleşmesiyle oluşmuş olup, ilk kez 1903 yılında Rus botanikçi Michael Tswett tarafından renkli bitki pigmentlerini ayırma amaçlı kullanılmıştır. Daha sonraları çeşitli çok bileşenli numunelerdeki bileşenlerin ayrılması ve saflaştırılmasında kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde kromatografik analiz yöntemleri, bir karışımı oluşturan türlerin ayrı ayrı belirlenmesi (nitel analiz) ve karışımı oluşturan bileşenlerin miktarlarının tayini (nicel analiz) işlemlerini hayata geçiren ve en çok kullanılan aletli analiz yöntemlerinden olmuştur. Bu yöntemler yardımıyla başka metotlarla birbirinden ayrılmaları çok zor olan maddeleri saf olarak ayırmak mümkündür. Kromatografik yöntemler, günümüze kadar çok hızlı bir gelişme göstererek, son yıllarda özellikle ucuzluğu, basitliği ve güvenilirliği açısından oldukça fazla kullanım alanı bulmaktadır. Kromatografinin uygulandığı sistem ve yöntemler çok çeşitlidir. Bu sistem ve yöntemlerin tamamının ortak özelliği, ayırmada bir “hareketli faz” ile bir de “sabit faz” kullanılmasıdır. Kromatografide, bir kolon içerisine veya düz bir yüzeye tutturulmuş faza, sabit faz (durgun faz; hareketsiz faz), sabit fazın üzerinden veya arasından geçen analiti de içeren faza ise hareketli faz (sürükleyici faz; mobil faz) adı verilmektedir [1].

Kromatografik yöntemlerde karışımdaki bileşenler, sabit fazın içerisinden hareketli fazın geçirilmesiyle birbirinden ayrılırlar. Bu ayrışma sırasında her iki faz birbiriyle etkileşime girmektedir. Fiziksel ve kimyasal özellikleri farklı olan bileşenlerin her iki faza olan etkileşimleri de farklı ölçüde olmaktadır. Böylece hareketli faz tarafından yürütülen bileşenler, sabit faz tarafından farklı ölçüde tutulduklarından, sabit fazı farklı zamanlarda terk etmektedirler. Ayırma ortamında en az tutulan bileşen

ortamdan ilk önce, en fazla tutulan bileşen ise en son ayrılmaktadır. Bu hareket hızlarının, alıkonma sürelerinin farklılığı sonucu numune bileşenleri birbirlerinden kalitatif ve kantitatif olarak analizlenebilen farklı bantlar veya bölgeler şeklinde ayrılırlar [3].

2.2 Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması

A. Ayırma Mekanizmasına Göre Sınıflandırma

1. Adsorbsiyon Kromatografi
2. Dağılma (Partition) Kromatografi
3. İyon-değiştirme kromatografi (veya iyon kromatografi)
4. Jel geçirgenlik veya Jel süzme
5. Zone Elektroforez
6. Afinite (veya Bioafinite) Kromatografi
7. Kiral Kromatografi

B. Hareketli Faza Göre Sınıflandırma

1. Sıvı Kromatografisi (LC)
2. Gaz Kromatografisi (GC)

C. Uygulanan Tekniğe Göre Sınıflandırma

1. Kolon Kromatografisi
2. Tabaka Kromatografisi (İnce Tabaka Kromatografi, TLC; Kağıt Kromatografi,PC)

D. Kullanım Amacına Göre Sınıflandırma

1. Analitik Kromatografi (Kalitatif Kromatografi; Kantitatif Kromatografi)
2. Preparatif Uygulamalar (Karışımlardan Saf madde Elde Etme)

2.2.1 Sabit faz tipleri

Kromatografide, ayrılacak maddeler hareketli fazda çözünebilmeli ve sabit faz ile de bazı etkileşimlerde bulunabilmelidir (sabit fazda çözünme, adsorblanma veya kimyasal reaksiyona girme gibi). Ayırma işlemi süresince maddeler iki faz arasında dağılırlar. Bazı uygulamalarda sabit faz, ince bir cam veya metal çubuk içine

doldurulmuş toz halinde katı bir maddedir. Gaz veya sıvı haldeki hareketli faz, basınç altında (veya kendi ağırlığı ile) katı içinden geçirilir. Bu yöntem “kolon kromatografisi” denir. Bir de “düzlemsel kromatografisi” vardır; bunda sabit faz poröz bir kağıt veya bir cam levha üzerine yayılmış ince toz halinde katı bir maddedir. Düzlem kromatografisinde hareketli faz kapiler etkisi veya kendi ağırlığı ile sabit faz üzerinde ilerler. Sabit faz, hareketli fazla karışmayan ve akıcı olmayan bir sıvı da olabilir. Bu durumda sabit sıvı fazı bir yerde tutabilmek için çeşitli yöntemler uygulanır. Örneğin, toz halindeki bir katının üzerine bir sabit faz sıvısından ince bir tabaka kaplanır ve kaplanmış katı madde bir cam veya metal tüpe doldurulur; hareketli faz bu tüpten geçirilir. Burada katı maddenin ayırma işleminde herhangi bir rolü yoktur, sadece faz sıvısını tutma (adsorblama) görevi yapar. Başka bir yöntemde sabit sıvı faz bir kapiler tüpün cidarlarına kaplanarak tutulur, gaz hareketli faz bu tüpten geçirilir. Bir diğer yöntemde ise sabit sıvı fazı tutmak için kağıt lifleri veya üzerinde çok ince öğütülmüş katı tanecikler bulunan bir cam levha kullanılır. Çizelge 2.1’ de, sabit ve hareketli fazların yapılarına göre uygulanan çeşitli kromatografik yöntemler verilmiştir.

Çizelge 2.1 : Kromatografik ayırmaların sınıflandırılması.

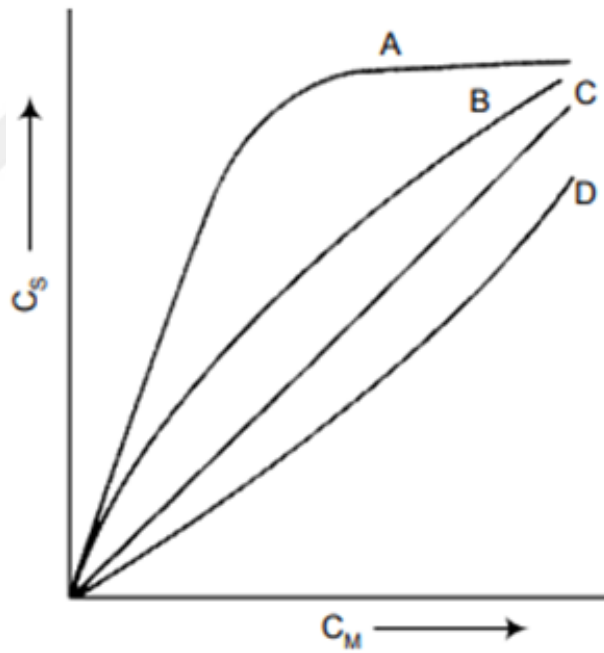
Adı	Hareketli faz tipi	Sabit faz tipi	Sabit fazı tutma yöntemi
Gaz-sıvı	Gaz	Sıvı	Bir tüp içindeki poröz katı üzerinde veya kapiler bir tüpün iç cidarı üzerinde adsorplanır.
Gaz-katı	Gaz	Katı	Bir kolon (tüp) içinde tutulur.
Dağıtma	Sıvı	Sıvı	Bir kolon (tüp) içindeki poröz bir katı üzerinde adsorplanır.
Adsorbsiyon	Sıvı	Katı	Bir kolon (tüp) içinde tutulur.
Kağıt	Sıvı	Sıvı	Kalın bir kağıdın gözenekleri içinde tutulur.
İnce Tabaka	Sıvı	Sıvı-katı	Bir cam levhadaki ince toz halindeki katı üzerinde tutulur.
Jel	Sıvı	Sıvı	Polimerik bir katının lifleri arasında tutulur.
İyon değişirme	Sıvı	Katı	Bir kolon (tüp) iyon değiştirici reçine üzerinde tutulur.

2.2.2 Doğrusal kromatografi

Tüm kromatografik ayırmalar hareketli ve sabit fazlar arasında dağılan maddelerin değişik yayılma (hareket) özelliklerine dayanır. “Dağılma katsayısı, K” denilen ve sıcaklığa bağımlı bir sabit ile kantitatif bir denklem verilebilir.

$K = C_S / C_M$ Burada C_S maddenin sabit fazdaki analitik konsantrasyonu, C_M aynı maddenin hareketli fazdaki konsantrasyonudur. İdeal halde, geniş bir madde konsantrasyonu aralığında dağılma katsayısı sabittir; yani C_S , C_M ile doğru orantılıdır. Çok sık olmasa da C_S ile C_M arasında doğrusal olmayan bir ilişkiyle karşılaşılabilir.

Şekil 2.1’ de bazı tipik dağılma eğrileri verilmiştir. Şekil 2.1’ de görülen C eğrisi ideal bir hali gösterir. Bu eğri ayrışma (disosiyasyon) veya birleşme (asosiyasyon) reaksiyonları bulunmayan ve birbirleriyle karışmayan iki sıvı arasındaki dağılma dengesine yaklaşır.



Şekil 2.1 : Tipik dağılma eğrileri; C_S , maddenin sabit fazdaki konsantrasyonu, C_M , aynı maddenin hareketli fazdaki konsantrasyonu.

B ve D eğrileri böyle bir dengenin bulunduğu hale daha çok benzerlik gösterirler. Örneğin, eğer sabit faz su, hareketli faz da benzen ise zayıf bir organik asit içeren bir madde için B’ de görülen şekilde bir eğri elde edilir. Burada benzen içinde sadece disosiyasyon olmayan asit çözünürken, sulu çözeltide bir miktar disosiyasyon olmayan asit ile onun konjuge bazı da bulunur; asit ve konjuge baz arasındaki oran konsantrasyona

bağımlı değildir. Bu nedenle düşük konsantrasyonlarda, toplam asitin az bir miktarının iki solvent arasında dağılması yeterlidir ve dağılma katsayısı büyüktür. Diğer taraftan, eğer hareketli faz benzen değil de su ise D' deki gibi bir eğri elde edilir. Buharın hareketli fazı olduğu buhar-sıvı dengelerinde de eğriler B şeklindedir. A eğrisi tipik bir "adsorbsiyon izotermi" dir ve bir katı yüzey üzerinde adsorblanan madde miktarının, katının temasta olduğu çözeltideki madde konsantrasyonu ile olan ilişkisini gösterir. Madde konsantrasyonu arttıkça katı yüzeyde adsorbsiyon da artar ve bu durum yüzeyin adsorblama kapasitesi doluncaya kadar devam eder; sonra madde konsantrasyonundan bağımsız hale gelir. Bu tip eğriler k ve n sabit olmak üzere,

$C_s = k C M^n$ eşitliğiyle tanımlanır.

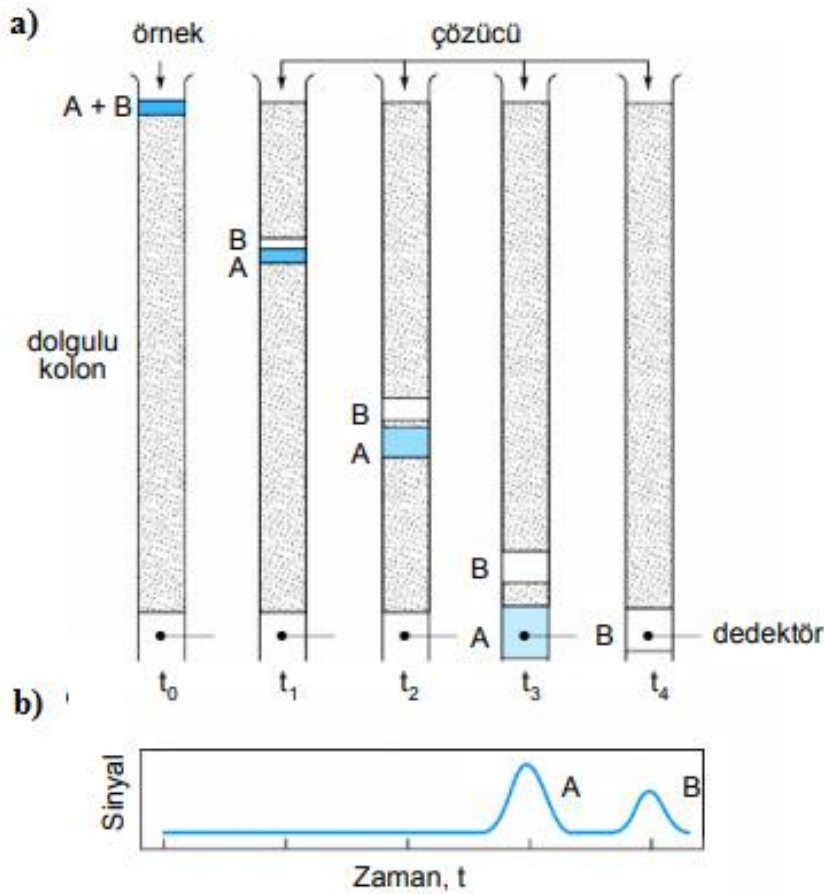
Fraksiyonlama proseslerinde uygulanabilir bir denklem elde edebilmek için yaklaşık bir K sabiti kullanılır. Şekil 2.1' deki dört eğrinin de düşük konsantrasyonlar aralığında doğrusal olması, sınırlı bir bölgede yaklaşık K değerinin kullanılmasının önemli hatalara neden olmayacağını gösterir. Geniş konsantrasyon aralıklarında ise yukarıdaki denklem, madde konsantrasyonunun K' da yapacağı değişiklikler dikkate alınarak değiştirilir. Bir kromatografik kolondaki konsantrasyon, çoğunlukla düşüktür. K' nın sabit olduğu bu koşullarda alınan kromatograflara "doğrusal kromatografi" denir.

2.2.3 Kolonlarda elüsyon kromatografisi

Şekil 2.2, bir kolonda sıvı hareketli faz kullanarak A ve B gibi iki maddenin elüsyon kromatografisi ile nasıl ayrılabilirliğini göstermektedir. Elüsyonda, madde kolondan taze çözücünün sürekli ilavesi ile yıkanarak alınır. Şekilde görüldüğü gibi, bir miktar numune kolona konur (Şekil 2.2' deki t_0 zamanı) ve numunenin bileşenleri kolonun iki fazı arasında dağılır. Kolona katılan hareketli faz (eluent), numunenin bir bölümünü içeren çözücüyü kolonda ilerlemeye zorlar ve bu arada hareketli fazla durgun fazın yeni bölümleri arasında numune tekrar bölüşülür (t_1 zamanı). Aynı anda, numunenin kolona giriş tarafında, taze çözücü ile durgun faz arasında da dağılım gerçekleşir.

Kolona çözücünün sürekli olarak verilmesi, hareketli ve durgun faz arasında sürekli madde aktarımı yaparak, çözünen madde moleküllerini kolonda aşağıya doğru taşır. Fakat, çözünen madde hareketi sadece hareketli fazda olduğu için, çözünen

maddenin kolonda göç ettiği ortalama hızı, onun hareketli fazda geçirdiği zaman kesri ile orantılıdır. Durgun fazın kuvvetli tuttuğu maddeler için, bu kesir küçük (Şekilde 2.2' deki B maddesi) ve hareketli fazda bulunma olasılığı daha fazla olan maddeler için (A bileşeni) ise büyüktür. İdeal olarak, hızlarda oluşan bu fark sonucu, karışımdaki bileşenler kolon boyunca bant veya bölgeler şeklinde ayrılırlar (Şekil 2.2' de t_2 zamanı). Ayrılan bileşenler, kolondan yeterli miktarda hareketli faz geçirilerek izole edilir. Bu sırada her bir bileşen için, onların tayin edilebileceği veya ayrı ayrı toplanabileceği bölgeler elde edilir (Şekil 2.2' de t_3 ve t_4 zamanı).



Şekil 2.2 : (a) Kolon elüsyon kromatografisi ile A ve B bileşenlerinin ayrılma diyagramı. (b) dedektör sinyali.

Zaman eksenindeki piklerin yerleri, numune bileşenlerini tanımda kullanılabilir. Pik alanları her bir bileşenin miktarının bir ölçüsüdür.

Kromatografik analizlerde; deney ile bulunan değerler Çizelge 2.2' de verilmiştir.

Çizelge 2.2 : Deneyle bulunan önemli kromatografik değerler.

Adı	Sembölü	Nereden bulunduğu
Alıkonma zamanı, hareketli faz	t_M	Kromatogramdan
Alıkonma zamanı, A ve B' nin	$(t_R)_A, (t_R)_B$	Kromatogramdan
Pik genişlikleri, A ve B'nin	W_A, W_B	Kromatogramdan
Kolon dolgu maddesinin uzunluğu	L	Doğrudan ölçme
Akış hızı	F	Doğrudan ölçme
Sabit fazın hacmi	V_S	Doğru hazırlama verisi
Maddenin sabit ve hareketli fazlardaki konsantrasyonları	C_M, C_S	Analiz ve hazırlama verileri

Kromatografik analizlerde; hesaplanan değerler ise Çizelge 2.3' de verilmiştir.

Çizelge 2.3 : Hesaplanarak elde edilen kromatografik değerler ve diğer özelliklerle ilişkileri.

Adı	Hesaplama değerleri	Diğer özelliklerle ilişkileri
Hareketli fazın hızı	$u = L / t_M$	
Hareketli fazın hacmi	$V_M = t_M F$	
Kapasite faktörü	$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M}$	$k' = \frac{K V_S}{V_M}$
Dağılma katsayısı	$K = \frac{k' V_M}{V_S}$	$K = \frac{C_S}{C_M}$
Seçicilik faktörü	$\alpha = \frac{(t_R)_Y - t_M}{(t_R)_X - t_M}$	$\alpha = \frac{k'_Y}{k'_X} = \frac{K_Y}{K_X}$
Resolüsyon	$R_S = \frac{2 [(t_R)_Y - (t_R)_X]}{W_X + W_Y}$	$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'_Y}{1 + k'_Y} \right)$
Teorik tabaka sayısı	$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$	$N = \frac{L}{H} = 16 R_S^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1 + k'_Y}{k'_Y} \right)^2$
Alıkonma zamanı	$(t_R)_Y = \frac{16 R_S^2 H}{u} \frac{\alpha^2}{(\alpha - 1)^2} \frac{(1 + k'_Y)}{(k'_Y)^2}$	

2.3 Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması

Bir kromatogram, örnekteki her bir madde hakkında çok az bilgi verir; bunlar maddenin alıkonma zamanı veya bir sıyırma periyodu süresince maddenin sabit fazdaki konumunu gösteren bilgilerdir. İlave bilgiler elde edilebilmesi için hareketli ve sabit fazlar değiştirilip çeşitli sıyırma sıcaklıkları uygulanabilir.

Yine de bir madde için kromatografide alınan veriler, IR, NMR veya kütle spektrumunda alınanlara göre oldukça azdır. Spektral apsislerdeki veriler (λ , σ veya m/z) kromatografik apsisde alınana (t_R) kıyasla daha hassastır. Bu gerçekler kromatografinin kalitatif analizlerde başarısız bir yöntem olduğunu göstermez. İsimleri bilinen ve çoğunlukla bir arada bulunan madde karışımlarının tanımlanması yapılabilir.

2.4 Kromatografide Kantitatif Analizler

Kromatografi süratli, basit, ve iyi bir ayırma yöntemi olması nedeniyle son 30 yılda büyük bir alana yayılmıştır. Bunda kromatografinin kantitatif analizlerde sıklıkla kullanılması en önemli etken olmuştur.

Kantitatif kromatografide analit pikinin yüksekliği veya alanı bir veya daha çok sayıdaki standartla kıyaslanır. Çalışma koşulları kontrol edilebiliyorsa bu iki parametre de konsantrasyonla doğrusal olarak değişir.

2.4.1 Pik yüksekliğine göre analiz

Bir kromatografik pikin yüksekliğini ölçmek için pikin iki yanındaki taban çizgileri düz bir doğru ile birleştirilir ve pik tepesinden bu doğruya bir dik inilir; dikin uzunluğu, pik yüksekliğidir. Yükseklik çok hassas olarak ölçülebilir.

Kolon koşullarını etkileyen değişkenler, örnek ve standartların kromatogramlarının alındığı süre boyunca sabit tutulmalıdır.

Çok iyi kontrol edilmesi gereken değişkenler kolon sıcaklığı, çözücünün akış hızı ve örneğin enjeksiyon hızıdır. Ayrıca kolonun aşırı yüklenmemesine de dikkat edilmelidir. Örnek enjeksiyon hızı bir kromatogramda ilk çıkan pikler için önemlidir ve % 5-10' a kadar ulaşan bağıl hatalara yol açar [3].

2.4.2 Pik alanlarına göre analiz

Yukarıda belirtilen değişkenler pik alanında genişleme etkisi yapmazlar. Bu bakımdan alana göre yapılan analizler yüksekliğe göre yapılanlara kıyasla daha yeterlidir. Diğer yönden pik yüksekliklerin ölçülmesi daha kolaydır ve dar piklerde bu yöntemle daha doğru sonuçlar alınır.

Modern kromatografi cihazlarında pik alanları hassas olarak ölçülebilir. Bu tip sistemlerin olmaması durumunda hesaplamalar el ile yapılır. Uygun genişlikteki simetrik piklerde alan basit bir yöntemle hesaplanır; pikin yüksekliği, yüksekliğin tam ortasından çizilen yatay doğrunun uzunluğu (o noktadaki pik genişliği) ile çarpılır. Pik alanı pikin bir planimetre ile taranmasıyla da bulunabilir.

Bir başka yöntem de pikin kesilerek tartılması ve tartımın, aynı kaydedici kağıdın alanı bilinen bir parçasının ağırlığı ile kıyaslanmasıdır [3].

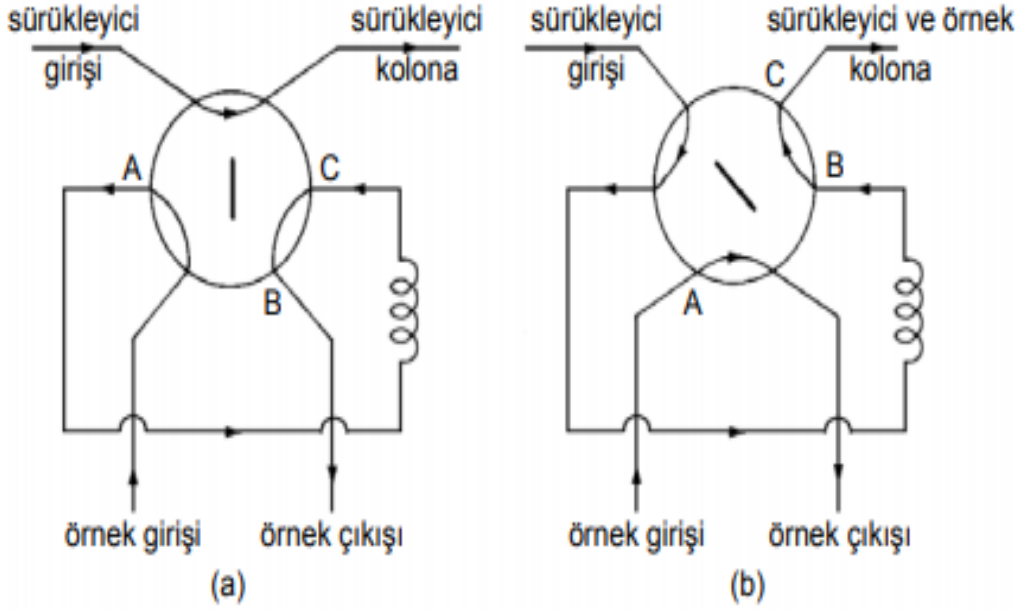
2.4.3 Standartlarla yapılan kalibrasyon

Nicel kromatografik analizde en çok uygulanan yöntem, örnekteki maddelerin bileşimine yakın bileşimlerdeki bir seri standart çözelti ile çalışılmasıdır. Standartların kromatogramları alınarak pik yüksekliklerinin veya alanlarının, madde konsantrasyonlarına göre “kalibrasyon grafiği” çizilir; grafik orijinden geçen bir doğru şeklindedir. Örneğin analizi bu grafiğe göre yapılır.

Yüksek hassasiyet alınabilmesi için standart çözeltilerin ve kalibrasyon grafiğinin sık sık kontrol edilmesi gerekir. Analizdeki en önemli hata kaynağı, enjekte edilen standart ve analit örnek hacminin tam sabit olamayışıdır; ayrıca enjeksiyon hızı da hataya neden olan bir faktördür.

Örnek miktarı çoğunlukla 1 mikrolitre gibi çok az miktarlardır ve her defasında aynı hacimde madde verebilmek için bir mikro şırınga kullanılarak bağlıl hata % birkaç seviyesine kadar düşürülebilir. Bu hata gaz-sıvı kromatografisinde daha da büyüktür; örnek sıcak bir uçtan enjekte edildiğinde, şırınga ucundaki buharlaşma kolona verilen madde hacminde büyük farklılıklar olmasına yol açar.

Örnek hacmindeki hatalar, Şekil 2.3’ de görülen bir döner gaz örnek valfi ile verilen miktarın % 1-2’ sine kadar düşürülebilir. (a)’ daki örnek yuvası örnekle doldurulur; valfin 45⁰ döndürülmesiyle yuvadaki örnekten belirli bir miktarı hareketli faz akımı içine verilir [3].



Şekil 2.3 : Döner bir örnek valfi; (a) örnek yuvası ABC' nin doldurulduğu valf konumu. (b) örneğin kolona verilmesi.

2.4.4 İç standart yöntemi

Nicel kromatografide en hassas sonuçlar örnek enjeksiyonundan kaynaklanan hataların bulunmadığı iç standart yöntemi ile elde edilir.

Bu yöntemde örnek ve standartlara çok hassas tartılmış bir iç standart maddesi ilave edilir; analit pik alanının (veya yüksekliğinin) iç standart pik alanına (veya yüksekliğine) oranı analitik parametre olarak kullanılır.

Yöntemin başarılı olabilmesi için iç standart pikinin örnekteki diğer maddelerin piklerinden uzakta, analit pikinin yakınında olması gerekir. Uygun bir iç standart kullanıldığında bağıl hata % 0.5-1 civarındadır [3].

2.4.5 Alan normalizasyon yöntemi

Örnek enjeksiyonundaki düzensizliğin yarattığı hata alan normalizasyonu ile de giderilebilir. Bu yöntemde örnekteki tüm maddelerin kolondan çıkması gerekir.

Kromatogramdaki tüm piklerin alanları hesaplanır ve her madde için bilinen dedektör algılama faktörü ile çarpılarak düzeltilir. Analitin konsantrasyonu, analit pikine ait alanın toplam pik alanlarına bölünmesiyle hesaplanır [3].

3. İYON DEĞİŞİM KROMATOĞRAFİSİ

İyon değişim kromatografisi olarak bilinen iyon kromatografisi, sıvı kromatografisinin iyonlara uygulanan türü olarak sınıflandırılabilir. Yöntem genel olarak, iyonların ve iyonlaşan türlerin ayrılmasında, oligomerik iyon karışımlarının kalitatif dağılımlarının belirlenmesinde, karışımdaki birkaç iyonun aynı anda (eş zamanlı) ve düşük derişimli ve özellikle girişim yapan matrikslerin bulunduğu örneklerdeki iyonik türlerin deriştirilmesinde (ön deriştirme) ve belirlenmesinde kullanılmaktadır.

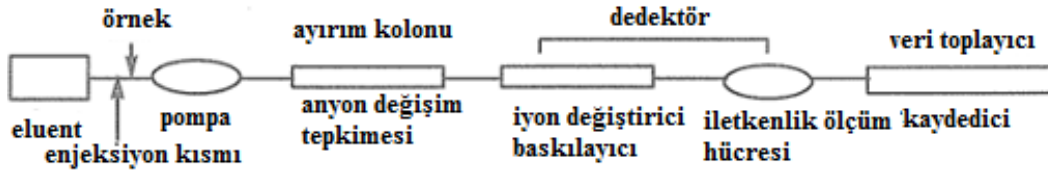
İyon kromatografisi, birbiriyle çok benzer olan nadir toprak katyonlarının katyon değiştirici reçinelerle ayrılması için geliştirilen Manhattan projesi sırasında ortaya çıkan iyon-değiştirme kromatografisinin gelişmişidir. İyon-değiştirme ayırmaları için teorik temelleri ortaya koyan bu çalışma, II. Dünya savaşından sonra, başka pek çok maddelere uygulanabilecek şekilde genişletildi; sonunda karmaşık karışımlardaki amino asitler ve diğer iyonik türlerin ayrılması ve belirlenmesi için otomatikleştirilmiş yöntemlere kadar yayıldı [1].

Modern iyon kromatografisi ilk defa Small ve arkadaşları tarafından ortaya atılmıştır. Bu yöntemde Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- ve PO_4^{3-} gibi anyonlar ve Na^+ , NH_4^+ , K^+ ve Ca^{2+} gibi katyonların belirlenmesi için iyon kromatografisi cihazına eş zamanlı olarak iletkenlik dedektörü bağlanmıştır. Daha sonraları hareketli fazdan veya eluentten gelebilecek iletkenlik sinyallerini azaltmak ve analit sinyalini arttırmak için baskılayıcı kolon kullanılarak sistem geliştirilmiştir.

İyon kromatografisi ile iyonik türlerin ayrılmasında, iyon değiştirici reçineler kullanılmaktadır. Sentetik iyon değiştirici reçineler uzun yıllardır bilinmektedir. İdeal iyon değişim malzemelerinin yükleri kalıcı ve bu yük pH ile değişmemektedir. İlk kullanılan anyon değişim reçinelerinde kuaterner alki amonyum grupları, katyon değişim reçinelerinde ise sülfonik asit grupları bulunmaktaydı. Modern iyon kromatografisi uygulamalarında kullanılan ilk reçinelerin yüzeyi stiren divinilbenzen ile kaplanmıştır.

İletkenlik dedektörü, iyon kromatografisinde en çok kullanılan dedektör türüdür. Hücre sıcaklığının denetimi ve elektronikteki gelişmelere paralel olarak bu tür dedektörlerde kromatogramlardaki gürültü azalmıştır. Yeni hücre tasarımları ve sürükleyici iyonlarının iletkenliğini baskılayan “supresör” teknolojisinin gelişmesiyle birçok iyon için düşük derişimlerde bile analiz gerçekleştirilebilmektedir. 25 µL enjeksiyonda 0,1 ng veya 10 µg^L⁻¹(ppb)’ den daha düşük derişimler belirlenebilmektedir. Bir iyon kromatografisi cihazının ana bileşenleri beş bölümde incelenebilir (Şekil 3.1). Bunlar;

- Hareketli faz pompası ve sıvı kapları,
- Enjeksiyon kısmı,
- İyon değiştirici ayırım kolonu,
- Baskılayıcı kolonu ile beraber iletkenlik dedektörü ve veri toplayıcı,
- Rejenerasyon pompasıdır.



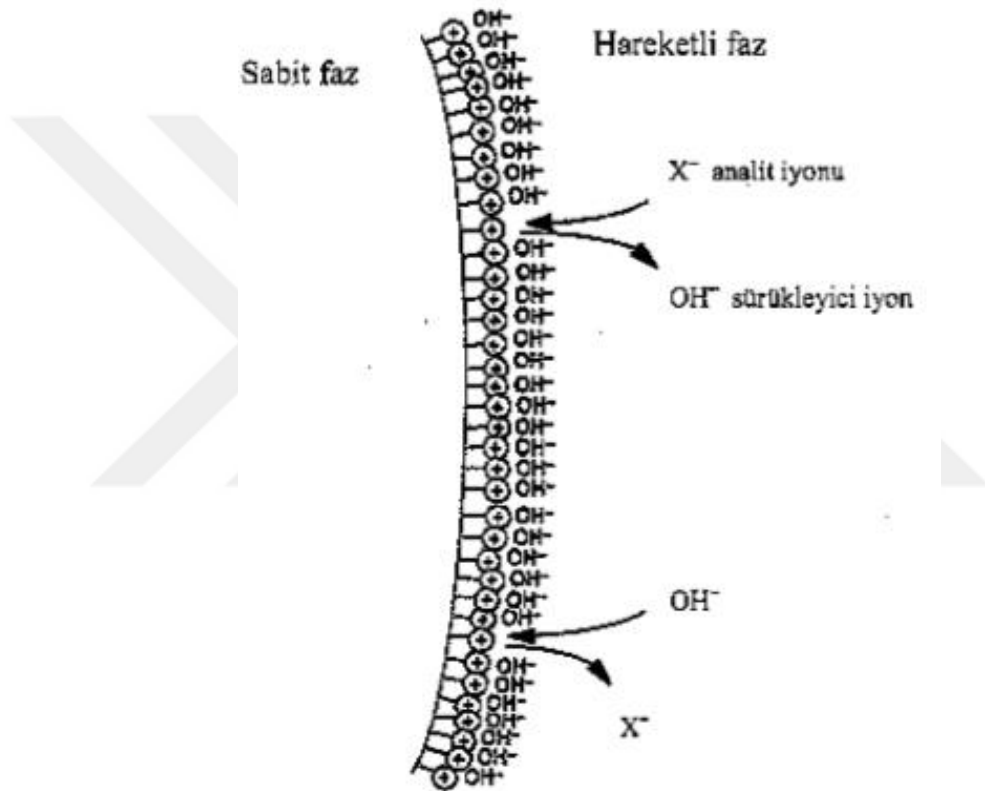
Şekil 3.1 : İyon kromatografisi cihazının ana bileşenleri.

Tüm iyon kromatografisi sistemlerinde, bir sürükleyici ve pompası, enjeksiyon kısmı, iyon ayırımlarının gerçekleştiği bir ayırma kolonu ve dedektör bulunmaktadır. Bazı iyon kromatografisi sistemlerinde ayırma kolonu ile dedektör arasında, sürükleyici iyonlarının zemin iletkenliğini azaltıp, örnek iyonlarının tek ve daha iletken forma dönüşmesini sağlamak amacıyla bir baskılayıcı kolon kullanılmaktadır. Bu tür sistemlere baskılanmış iyon kromatografisi, buna karşın baskılayıcının kullanılmadığı, dolayısıyla ayırma kolonundan çıkan örnek iyonlarının doğrudan dedektöre ulaştığı sistemlere ise baskılanmamış iyon kromatografisi adı verilmektedir.

3.1 İyon Değişimi

İyon değişimi; yüklü bir analit, sabit bir faz ve sabit fazın zıt yüküne sahip bir sürükleyici varlığında gerçekleşmektedir (Şekil 3.2). Zıt yüklü bölgeler fonksiyonel

gruplar olarak adlandırılmaktadır. Analit iyonlarını sisteme vermeden (enjeksiyondan) önce, sabit fazdaki elektriksel nötralliği sağlamak için sürükleyici sisteme verilmektedir. Numune enjekte edildiğinde yeni iyonlar sabit fazın fonksiyonel gruplarıyla etkileşmek için bir yarışa girmektedir. Bu yarış tüm kromatografi kolonu boyunca iki faz arasında gerçekleşmektedir. Sabit faz iyonları ise hareket etmemektedir. İyonlar, yalnızca hareketli faz içinde kolonda hareket halindedirler. Bir iyon sabit fazla ne kadar fazla etkileşirse, kolonda o kadar yavaş ilerler [3].



Şekil 3.2 : Hidroksit sürükleyici ile bir anyonun iyon değişimi.

Analit iyonlarının ayrılması, farklı analit iyonlarının bir fonksiyonel gruba olan ilgilerinin farklı olmasıyla gerçekleşmektedir. Örneğin; A analitinin sabit faza olan ilgisi B analitinden fazla ise A, sürükleyici iyonlarıyla daha iyi yarışacak ve daha uzun süre alıkonacaktır. Bu nedenle A, B' den daha sonra kolondan sürüklenecektir. Analitlerin sabit faza olan bağlı ilgileri seçicilik olarak bilinmektedir.

Seçicilik; içerdiği fonksiyonel grubun türüne, sabit fazın çevresine yakın fonksiyonel gruba, sürükleyici iyonların özelliklerine, sürükleyici iyonunun derişimine, çözücülere veya iyon-paylaşım ajanları gibi iyonik olmayan veya zıt yüklü

sürükleyici eklemelerine ve sıcaklık gibi birçok ayırma parametrelerine bağlıdır. İlk iki parametre, iyon-değişim kolonunun tasarımı ile belirlenmekte ve birçok inorganik anyon, organik asit veya inorganik katyonları içeren analitler için optimize edilmektedir.

Sabit fazdaki fonksiyonel grupların miktarı kapasite olarak tanımlanmaktadır. Kapasite genellikle 1 g reçinenin eşdeğeri veya bir kolonun eşdeğer katsayısı olarak bilinmektedir.

Kapasitenin yüksek olması, analit iyonlarının kolonda daha uzun süre alıkonmalarına yol açmaktadır. Kapasite, seçicilik değişmeksizin artırılabilmekte veya azaltılabilmektedir [3].

3.2 Sabit Faz Türleri

İyon değiştiriciler, yüzeydeki iyonik fonksiyonel grupların ve destek olarak kullanılan matriksin yapısıyla tanımlanmaktadır. İyon kromatografisinde yaygın olarak kullanılan fonksiyonel gruplar; sülfonik, karboksilik, fosfonik, fosfinik, arsenik, selenoik asitler, fenoller gibi katyon değiştiriciler ve kuaterner amonyum, tersiyer, sekonder ve primer aminler gibi anyon dğiştiricilerdir.

Katyon değiştiricilerin fonksiyonel grupları kuvvetli asit ve zayıf asit tipine göre sınıflandırılırlar, kuvvetli asidik fonksiyonel gruplar, geniş pH aralığında; bunun tersine zayıf asidik fonksiyonel gruplar, sınırlı pH aralıklarında iyonlaşırlar. Sülfonik asit gibi katyon değiştiriciler kuvvetli asit türü iyon değiştiricilerdir. Diğer katyon değiştiricilerin çoğunun fonksiyonel grupları zayıftır. Zayıf asidik fonksiyonel gruplar pKa değerlerinden daha yüksek pH değerlerinin kullanılmasını gerektirmektedir. Örneğin; -COOH gibi bir karboksilik asit fonksiyonel grubu içeren reçine, pKa değerinden daha büyük pH değerinde, -COO⁻ formunda sadece katyon tutabilmektedir.

Benzer şekilde, anyon değiştiriciler de kuvvetli baz ve zayıf baz değiştiriciler olarak sınıflandırılabilirler. Kuaterner amonyum fonksiyonel grupları, kuvvetli anyon değiştirici gruplar olarak bilinmektedirler. Kuvvetli baz, geniş bir pH aralığında pozitif yüklü olacak ve bu nedenle zayıf anyon değiştiricilerin aksine bir anyon değiştirici olarak davranacaktır [3].

3.3 Sabit Fazın Özellikleri

3.3.1 İyon kapasitesi

İyon değiştiricinin iyon kapasitesi, sabit fazın kütlesi başına düşen fonksiyonel grubun sayısıyla belirlenmektedir. En yaygın olarak kullanılan birim, yükün milieşdeğeri başına kuru yükün gramı (meq g^{-1}) veya milieşdeğeri başına ıslak yükün mililitresidir (meq L^{-1}). İkinci durumda, sabit fazda var olan karşıt iyon tipine göre yükün şişme derecesi ve hacmi belirlenmektedir.

Bir sabit fazın iyon değişim kapasitesi, sürüklenme içi hareketli fazda kullanılan yarışan iyonların derişimlerinin belirlenmesinde çok önemli rol oynamaktadır.

Yüksek kapasiteli sabit fazlarda, genellikle daha derişik hareketli fazların kullanımı gerekmektedir. Bu durum HPLC ile iletkenlik dedektörlerinin kullanımında sorun yaratmaktadır. İyon kromatografisinde genelde iyon değişim kapasitesi 10-100 meq g^{-1} değerleri arasındadır [3].

3.3.2 Şişme (swelling)

Organik sabit fazlar, çapraz bağlı polimerik zincirler içeren iyonik fonksiyonel gruplardan oluşmaktadır. Bu tip materyaller suyla etkileşiğinde şişerler. Şişmeyle 300 atm basınca çıkarlar.

İyonik kapasitesi ne kadar yüksek ve iyonun çapraz bağlanması ne kadar düşük ise polimer şişmeye o kadar duyarlıdır. Hareketli fazın içeriği, şişme etkisinde çok önemlidir.

Yüksek çapraz bağlı makro gözenekli reçineler genellikle yüksek performanslı iyon kromatografisi için sabit faz olarak kullanılır [3].

3.3.3 Seçicilik

Sabit faza farklı karşıt iyonların bağlı ilgisi, kullanılan koşullar ve iyon değiştiricinin türüne göre değişim göstermektedir. Basit bir iyon değişiminde tek bir alıkonna mekanizması geçerli olmayabilir. Böyle durumlarda fonksiyonel gruplardan sabit faz matrigisine adsorpsiyon veya iyon-seçicilik etkisi vardır. Buna karşın, farklı iyonlar için iyon değiştiricilerin yaklaşık davranışları belirlenmiştir.

İyon etkileşimleri etkileyen çözünen iyon, hareketli faz iyonu ve karşıt iyonların özellikleri aşağıda verilmiştir:

- Çözünen iyonun yükü,
- Solvatize iyonun büyüklüğü,
- İyon değişim polimerlerinin çapraz bağlanma derecesi,
- Çözünen iyonun polarlığı,
- Sabit fazın iyon değişim kapasitesi,
- Sabit faz üzerindeki fonksiyonel grupların türü,
- Desteğin sabit faz matriksiyle etkileşiminin boyutudur [3].

3.3.4 İyon kromatografisinde kullanılan hareketli faz türleri

Baskılanmış ve baskılanmamış iyon değişim kromatografisi için birbirinden farklı hareketli fazlar kullanılmaktadır.

Baskılanmamış iyon kromatografisi için hareketli fazlar ikiye ayrılır.

Anyonlar için sürükleyiciler: Baskılanmamış iyon kromatografisinde anyonlar için en çok kullanılan hareketli fazlar (eluentler, sürükleyiciler); aromatik karboksilik asitler ve tuzlar, alifatik karboksilik asitler, aromatik ve alifatik sülfonik asitler, potasyum hidroksit, borat kompleksleri, Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve inorganik tuzlardır.

Katyonlar için sürükleyiciler: Baskılanmamış iyon kromatografisinde katyonlar için en çok kullanılan hareketli fazlar (eluentler), inorganik asitler ve organik bazlardır.

Baskılanmış iyon kromatografisi için hareketli fazlar;

Baskılayıcı, iletkenlik dedektörü ve kromatografik kolon arasına yerleştirilen bir alettir. Amaç, hareketli fazın zemin iletkenliğini azaltmak ve eğer mümkünse analit iyonlarının iletkenliğini artırmaktır. Baskılayıcılar aşağıdaki mekanizmalara göre çalışırlar:

- Hidronyum iyonlarıyla hareketli faz katyonları yer değiştirirler. Bu amaçla zayıf asitlerin sodyum tuzlarını içeren hareketli fazlar (karbonat, borat) kullanılabilir.
- Hidroksit iyonlarıyla hareketli faz anyonları yer değiştirirler. Bu amaçla Cl^- ve NO_3^- tuzları kullanılabilir.

- Hareketli faz iyonları çöktürmeyle tamamen uzaklaştırılır. Buna bir örnek olarak Ba^{+2} ve Pb^{+2} iyonlarının SO_4^{-2} ile çöktürülerek ayrılması verilebilir.
- Cu^{+2} veya diğer kompleks oluşturabilen iyonlarla kompleksleşerek hareketli fazdaki yüklü iyonlar indirgenir. Bu tür baskılayıcılar için hareketli fazlar uygun şelat içermelidir.

Hareketli fazın özellikleri;

Hareketli fazın sürüklenme şiddeti; iyonik şiddetin, pH'nın veya anyonun türünün değiştirilmesi ile denetlenebilir. İyon kromatografisinde kullanılan hareketli fazlar, aşağıdaki gibi benzer özelliklere sahip olanların sınıflandırıldığı sulu tuz çözeltileridir. Bunlar;

- Teşhis moduyla uygunluk
- Yarışan iyonun yapısı
- Yarışan iyonun derişimi
- Hareketli fazın pH' sı
- Hareketli fazın tampon kapasitesi,
- İyonik örnek birleşiklerinin kompleks oluşturma yeteneği,
- Organik modifiye edicilerdir.

➤ Hareketli fazın pH' sı

Fazın özelliklerini belirlemede önemli bir parametredir. Çünkü bu pH, hem çözünen iyonlarının hem de hareketli faz iyonlarının yükünü etkilemektedir. pH' nın etkisi özellikle anyonların ayrılmasında anyonların iyonlaşmasını etkilediğinden dolayı önem kazanmaktadır. Çünkü asit anyonunun yükü pH ile artmakta, böylece zayıf asit hareketli fazlarının sürüklenme gücü, asit tamamen ayrışmaya kadar pH ile artmaktadır. Hareketli fazdaki zayıf bazlar için tam tersi bir etki gözlemlenmektedir. pH' sının azalmasıyla, daha yüksek protonlanma derecesi oluşmakta ve hareketli faz kuvvetli bir sürükleyici gibi davranmaktadır. Benzer şekilde, zayıf asit ya da bazlardan türetilmiş çözünen iyonların iyonlaşma derecesi pH' ya bağlıdır. Bu durumda, artan çözünen yükü, onun sabit fazdaki fonksiyonel gruplara olan ilgisiyle artmakta, böylece alıkonma süreleri uzamaktadır.

➤ Hareketli fazın tampon kapasitesi

Hem çözünen iyonlar hem de hareketli faz pH' dan etkilendiğinden, hareketli fazın tampon kapasitesi çok önemlidir ve yüksek değerde olmalıdır. Poliprotik çözünen iyonların alıkonması pH ile belirgin şekilde değişebilmekte ve tek değerli yükten iki veya üç değerlikli yüke kadar artmaktadır. Bu durumda, hareketli fazın pH değerinin sabit bir değerde tutulması çok önemlidir ve bu nedenle yüksek kapasiteli tamponlar kullanılmaktadır.

➤ İyonik örnek bileşenlerinin kompleks oluşturma yetenekleri

Metalik iyon ayırmaları düşünüldüğünde, hareketli fazın tuzlarının kompleks oluşturmaya yatkınlıkları çok önemlidir. Burada kompleksleştirici reaktifler metal iyonlarıyla kompleks oluştururlar. Yeni oluşan türler farklı alıkonma zamanlarına sahip olmakta ve bundan dolayı da ayırma işlemi etkilenmektedir. Kompleksleşme derecesi, hareketli fazın pH' sı kadar kompleksleştiricinin derişimine de bağlıdır.

➤ Organik modifiye ediciler

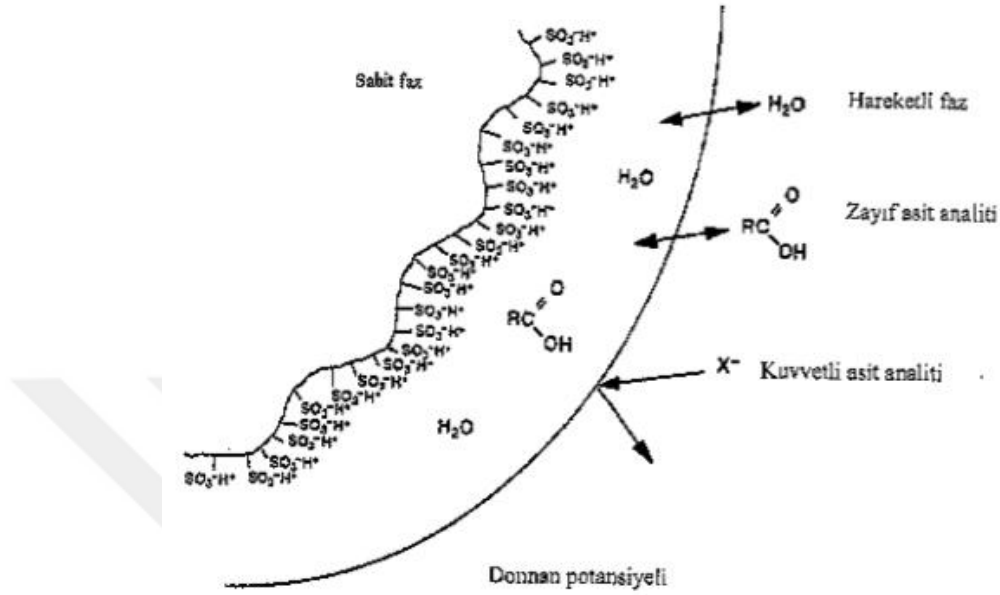
Suyla karışabilen organik çözücüler; CH₃OH, C₂H₅OH, gliserol, CH₃CN ve (CH₃)CO iyon değişim ayırmaları için hareketli faza bazen modifiye edici olarak eklenmektedirler. Organik çözücülerdeki alkali metallerin iyon kromatografik ayırımında bu çözücüler, ayırma işlemiyle ilgili parametrelerin değişimini etkileyebilmektedir. Örneğin; sabit faza organik iyonların ilgisinin, dolayısıyla kompleksleşme derecesinin değişimi, örnekte veya sabit fazda ya da hareketli fazdaki zayıf asit ve bazların iyonlaşma derecelerinin değişimine yol açmaktadır [3].

3.4 İyon Seçiciliği

İyon seçiciliği, birçok yönden iyon değişiminin bir tamamlayıcısıdır. İyon değişim reçinesi, analit iyonlarıyla genelde aynı yüke ve yüksek iyon değişim kapasitesine sahip olmasına karşın, iyon değişiminde olduğu gibi, sabit faz, bir iyon değişim reçinesidir. İyon seçiciliği işlemi (Şekil 3.3), yüksek derişimli iyon değişim bölgesi içeren bir sabit faz ve seyreltik bir hareketli faz arasında bir elektriksel potansiyelin kurulması prensibine dayanmaktadır.

Reçinedeki iyon değişimi bölgelerinin yüksek derişimi, elektriksel nötralliği sağlamak için, sabit fazdaki karşıt yüklü iyonların yüksek derişimde olmasını gerektirmektedir. Difüzyon kuvvetleri, hareketli ve sabit fazlardaki karşıt iyonların derişimini eşitlemeye çalışmasına karşın, bu sırada sabit fazla aynı yüklü olan analit

iyonları ayrılmaktadır. Bu yüksek potansiyel enerjisine Donnan potansiyeli denilmektedir. Donnan potansiyeli, nötral moleküllerin sabit faza geçmesine izin verirken, analit iyonlarını ise itmektedir.



Şekil 3.3 : Karboksilik asit için iyon seçiciliğinin gösterimi.

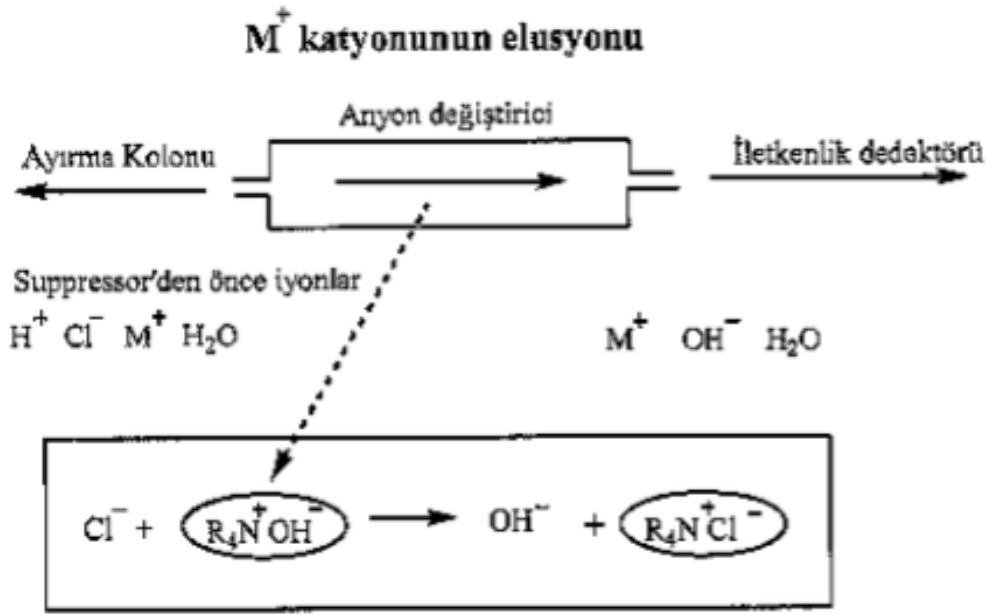
İyon seçiciliği yönteminin en yaygın uygulaması H_3O^+ formunda sülfolanmış makro gözenekli katyon değişim reçinesiyle organik asitlerin ayrılmasıdır. Makro gözenekli anyon değişim reçinesi kullanılarak zayıf bazların ayrılması da olasıdır fakat çok yaygın değildir [3].

3.5 Baskılayıcı (Supresör)

Baskılayıcılar, hareketli fazın oldukça iyonik olması durumunda kullanılmakta ve iletkenliğini azaltmaktadırlar. Baskılayıcı olmadığında çok yüksek iletkenliğe sahip tayin edilemeyen türler, baskılayıcı kullanımıyla belirlenebilmektedir.

Ayırma kolonlarında karşıt yüklü fonksiyonel gruplar içeren iyon değişim tipi kolonlar baskılayıcı olarak kullanılmaktadır. Örneğin; Na^+ ve K^+ katyonlarını içeren bir karışımın ayırımında, katyon değiştirici reçine ve HCl den oluşmuş bir hareketli faz kullanıldığında, kolonun sonundaki asidik ortam içinde, Na^+ ve K^+ katyonları, Cl^- anyonlarına eşlik edecekler ve böylece elektronötrallik korunacaktır.

Ayırma kolonundan sonra hareketli faz, hareketli iyonları OH^- olan bir anyon değiştiricinin yer aldığı ikinci bir kolona doğru akacaktır. Klorür iyonları bu kolonda tutunacak ve böylece yer değiştirdiği OH^- iyonları ile H^+ iyonları reaksiyona girerek suyu oluşturacaktır. Baskılayıcıdan sonra sadece Na^+OH^- ve K^+OH^- türleri ortamda bulunacaktır ve bunların iletkenlikleri NaCl ve KCl ' den daha yüksektir. H^+ ve Cl^- türleri ise gözden kaybolacaktır. Bu durum, Na^+ ve K^+ türlerinin analizini kolaylaştıracaktır (Şekil 3.4).

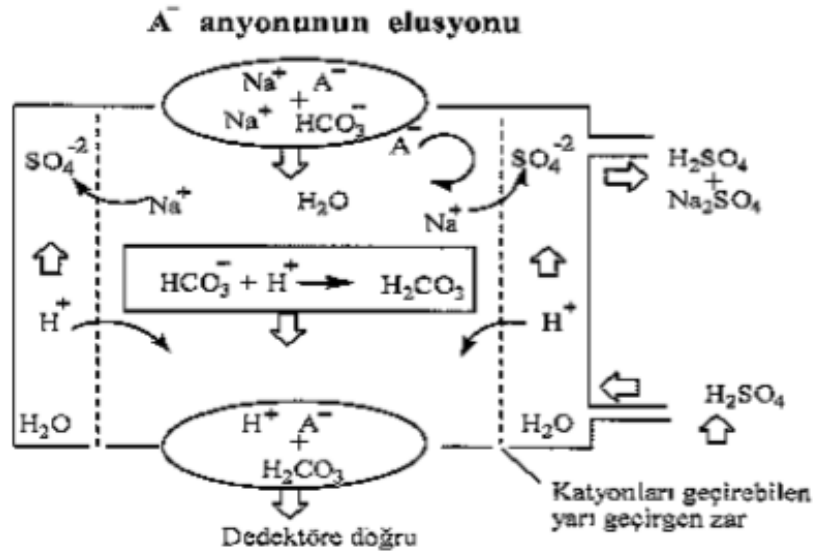


Şekil 3.4 : Baskılayıcı ile sürüklenme.

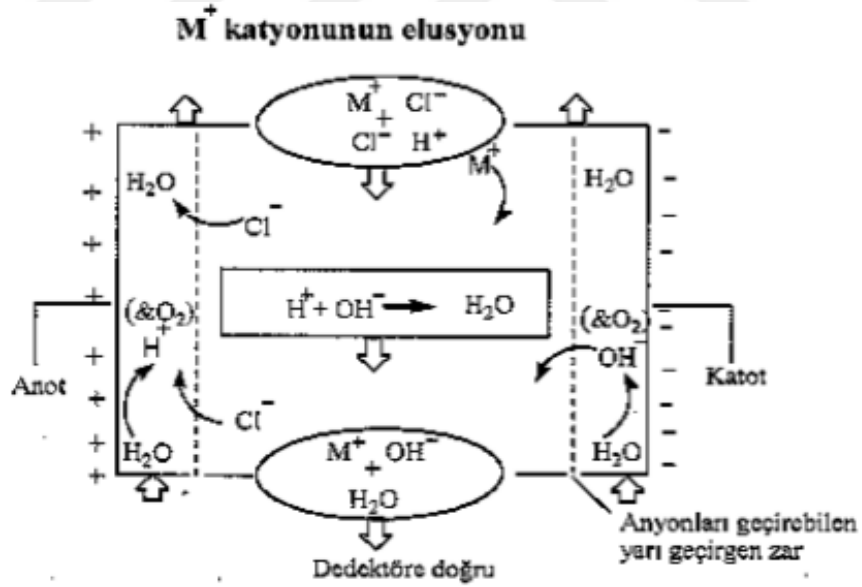
Özet olarak; bir baskılayıcı içeren anyonik reçine $[\text{ArCH}_2(\text{NR})_3\text{OH}]$ hareketli fazı nötralleştirmek amacıyla bir katyonik ayırma kolonuyla (ArSO_3H) ile etkileşecektir.

Yüksek iyonik kapasiteli fiber veya mikromembran baskılayıcılar řu anda klasik baskılayıcıların yerini almıştır. Şekil 3.5, anyonik kolonlarda kullanılan tipik bir elektrolit çözeltisindeki A^- anyonunun membran baskılayıcıya doğru geçişini göstermektedir.

Son zamanlarda elektrolitik reaksiyonlar için kendiliğinden yenilenebilen (autogenerating) baskılayıcılar kullanılmaktadır. Bunlar hem elektroliz ile yenilenebilen reçinenin yer aldığı özel bir kolon hem de suyun elektrolizi ile yenilenen iyonların üretildiği bir membran baskılayıcıdan oluşmaktadır (Şekil 3.6). Burada HCl çözeltisi içindeki bir katyonun baskılayıcıya doğru geçişi gösterilmiş ve baskılayıcı olarak da anyon geçişine izin veren bir membran kullanılmıştır [3].



Şekil 3.5 : A⁻ anyonunun bir anyon ayırma kolonundan gözenekli membran baskılayıcıya doğru akışı.



Şekil 3.6 : M⁺ katyonunun bir kation ayırma kolonundan kendiliğinden yenilenebilen membrana akışı.

3.6 İyon Kromatografisi Dedektörleri

3.6.1 İletkenlik dedektörleri

İletkenlik ölçümlerinde; L , iki elektrot arasında ölçülen iletkenliği, A elektrotların alanını ve R iletken alandaki karşılıklı direnci gösterir [$L=1/R$ (Siemens)]. Verilen iyonlar için çözeltilerin iletkenlikleri elektrolitin derişimine bağı olarak değışecektir. Bu ilişki, birçok seyreltik çözelti için doğrusaldır.

Spesifik iletkenlik κ ($S \text{ mol}^{-1}$), hücre sabiti K_{cell} ' in ölçülmesine izin vermektedir.

$$\kappa = L K_{cell} \quad (1)$$

Buradaki K_{cell} ;

$$K_{cell} = d/A \quad (2)$$

Eşitliği ile verilir. Bu eşitlikte d , elektrotlar arasındaki uzaklıktır.

Eşdeğer iyonik iletkenlik (A_0) ise, 25°C ' de ve molar derişim sıfıra giderken iyonların iletkenliğini göstermektedir.

$$A_0 = 1000 \kappa / Cz \quad (3)$$

Burada C , molar derişim, z ise çözeltideki iyonun yüküdür.

Çözeltinin iletkenliğindeki değışiklik (ΔL), ΔA 'ya bağıdır. ΔA , X^- iyonunun eşdeğer iletkenliği ile sürüklenen iyonun (E 'nin) eşdeğer iletkenliği arasındaki farkın derişimle çarpımına eşittir.

$$\Delta A = C_x (A_x - A_E) \quad (4)$$

Dedektör hücresi kolondan sonra yer alır ve küçük bir hacme sahiptir. Tayin yönteminin duyarlılığını arttırmak için kolon ve dedektör arasına elektrolitteki iyonları nötralize eden bir alet yerleştirilir. Bu alet, baskılanmış olarak adlandırılır ve ilk defa 1975'de kullanılmaya başlanmıştır. İletkenlik dedektörleri de kendi arasında baskılanmış ve baskılanmamış olarak ikiye ayrılırlar [3].

3.6.2 UV – görünür belge dedektörleri

İyon değışim ayırmalarında, seçiciliğı oldukça yüksek olan spektrofotometrik dedektörler sıklıkla kullanılmaktadır. İyon kromatografisinde spektrofotometrik dedektör kullanımı YPSK'daki organik bileşiklerin ayırımından daha farklıdır. Bir UV-görünür bölge dedektörü Lambert-Beer yasasına göre davranır.

Lambert-Beer eşitliği, iyonların ayrılması ve belirlenmesi için koşulların seçilmesinde son derece önemlidir. İyon değişim sürükleyicilerde, iyon düşük absorptiviteye, örnek iyonları ise yüksek absorptiviteye sahip, fakat bunun tersi de doğrudur. Belirli bir dalga boyu için bir iyonun absorptivitesi bilinmiyorsa iyonun bilinen derişiminden bir spektrofotometre aracılığıyla dalga boyu ölçülebilir [3].

3.6.3 Amperometrik dedektörler

İndirgenebilen veya yükseltgenebilen herhangi bir analit amperometrik dedeksiyon ile belirlenebilir. İşlem sırasında kolon dışındaki iki elektrot arasına bir potansiyel uygulanmakta ve elektroaktif analitin anotta yükseltgenmesi veya katotta indirgenmesi sırasındaki akım değişimi ölçülmektedir [3].

3.6.4 Optik dedektörler

En yaygın olarak kullanılan optik dedektörler, absorbans ve floresans dedektörleridir. Floresans dedektörleri iyon kromatografisinde nadir olarak kullanılırken, absorbans dedektörlerinin kullanımı oldukça yaygındır. Absorbans tayininde, post kolon türevlendirmesinden sonra fotometrik tayin ve dolaylı fotometrik tayin kullanılabilir. İyon değişim işlemi sırasında, sabit fazdaki fonksiyonel grupların iyonik derişimi sabit kalmaktadır. Analit iyonlarının dedektörde belirlenebilmesi için sürükleyici iyonlarının kromofor grup içermemesi gerekmektedir [3].

3.6.5 Potansiyometrik dedektörler

İyon seçici elektrotlar, iyon kromatografisinde sürüklenen iyonların doğrudan ve dolaylı tayininde kullanılmaktadır. Potansiyometrik yöntemler, analit iyonlarının(genellikle anyon ve kation) iç elektrolit çözeltisine difüzenerek oluşturduğu potansiyel (mV) değişikliklerinin ölçümünü içermektedir. Referans elektrodu ile indikatör (çalışma) elektrodu arasında ölçülen bu potansiyel farkı analit iyon derişimi ile orantılı olmaktadır. Referans elektrodun bulunduğu hücrenin derişimi ve potansiyeli bilindiği için ölçülen potansiyel farkından analitin derişimi hesaplanmaktadır. Bu yöntemde analit iyonu hiçbir değişikliğe (bozunmaya, kompleksleşme vb.) uğramadan dedektörün içerisine difüzenmekte ve aynı şekilde tekrar dışarı çıkmaktadır.

Genel olarak referans elektrodunun yanında iyon seçici elektrotlar (ISE) kullanılmaktadır. Yöntemin temeli Nernst eşitliğine dayanmaktadır.

Yöntemin duyarlılığı genel olarak 10^{-3} – 10^{-5} M arasında değişir ve tayin sınırı amperometrik dedektörden daha düşüktür. Çok küçük derişimlere inmek için duyarlılığı arttıran özel sistemler gerekmektedir. Potansiyometrik dedektörler iyon kromatografisine bağlandığında akışkan (flow) sisteme benzerler. Akış hızı sistemin duyarlılığına göre ayarlanmaktadır. Elde edilen pikin yüksekliği ve alanı kullanılarak derişimi bilinmeyen iyonun derişimi bulunmaktadır. Burada y ekseninde potansiyel (mV) bulunmaktadır. Bu değer, referans elektrodu ile indikatör elektrot arasındaki potansiyel farkıdır. Bu potansiyel farkı iyon derişimiyle ilgili olduğu için nicel analizde kullanılabilir [3].

3.6.6 Floresans dedektörleri

Floresans tayin yüksek duyarlılığa sahiptir. Birçok iyonik türün iyon kromatografisi ile analizinde floresans özelliği gözlenmediği için, doğrudan tayin modu sadece sınırlı alanda kullanılmaktadır. Genelde hareketli faz, floresans dedektöründe bir sinyal üreten iyonlarla bir tür oluşturan iyon çifti reaktifi veya bir kelat içermektedir.

3.6.7 Kırılma indisi dedektörleri

İyon kromatografisiyle, çözünenlerin çoğu kırılma indisi dedektörüyle doğrudan belirlenemezler, fakat polikarboksilik asitler, polifosfonatlar veya sülfonyum iyonları gibi büyük moleküller ve bazı inorganik iyonlar bu tip dedektörlerle belirlenebilirler. Kırılma indisi dedektörüyle doğrudan tayini yapılamayan iyonlar için dolaylı tayin modu kullanılmaktadır. Buna karşın kırılma indisi dedektörü ile yapılan çalışmalarda bu dedektörün duyarlı olduğu fakat biraz karışıklığa neden olduğu bulunmuştur [3].

3.6.8 Alevli atomik absorpsiyon ve atomik emisyon dedektörleri

Bir HPLC sistemiyle atomik absorpsiyon spektroskopisinin doğrudan birleştirilmesi iki yöntemin akış hızlarının karşılaştırılmasını gerektirmektedir. İyon kromatografisi sisteminin çıkışına atomik absorpsiyon veya atomik emisyon cihazı bağlanmaktadır. Bu nedenle bazen saf su, çözücü olarak kullanılmaktadır [3].

3.6.9 İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma (ICP) dedektörü

Emisyon spektroskopisiyle ICP veya kütle spektrometresiyle ICP, son yıllarda iyon kromatografisi için dedektör olarak ve alev emisyon spektrometresiyle yer değiştirme olarak ortaya çıkmıştır. İyon kromatografisiyle ICP-KS' in birleştirilmesi bir anyonik forma dönüştürülebilen durumlarda matriksin gram miktarının eliminasyonuna olanak tanımaktadır. Bu nedenle eser miktardaki katyonik safsızlıklar belirlenebilmektedir. Bu tür analizler Mo, W, Re, As ve P matriksleri üzerinde uygulanmaktadır [3].

3.7 İyon Kromatografisinin Kullanım Alanları

İyon kromatografisi; toksikolojide, adli tıpta, içme suyu ve atık sulardaki kirliliklerin, hava kirliliğinin, endüstriyel atıkların, biyolojik çözeltilerdeki iyonik türlerin belirlenmesinde, endüstriyel proseslerdeki ara ürünlerin kalite kontrollerinin yapılmasında, gıda ve içecek analizlerinde, kütle spektrometresi veya diğer spektroskopik yöntemlerden önce karışımlardaki bileşenlerin ayrılmasında, iyonik safsızlıkların tanımlanmasında, karışımlardaki bileşenlerin saflaştırılmasında, değişik numunelerdeki inorganik anyonların ve katyonların, organik asitlerin, aminlerin, amino asitlerin, karbonhidratların veya nükleik asitlerin belirlenmesinde kullanılmaktadır.

İyon kromatografisi ile bilinen inorganik anyonların dışında en çok belirlenen anyonlar; halojenürler, sülfür ve oksitleri, organik asitler, fenoller, fosfor ve metal oksitleri, bor bileşikleri ve kloro fenollerdir.

İyon kromatografisi ile en çok belirlenen katyonlar ise; alkali metaller, toprak alkali metaller ve geçiş metalleridir. Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} , NO_3^- ve PO_4^{3-} gibi anyonlar ile Li^+ , NH_4^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} gibi katyonlar ve poliprotik zayıf asit ve zayıf bazların iyonları pH' ları ayarlanarak iyon kromatografisiyle kolaylıkla belirlenebilmektedir. Aminler pH yaklaşık 9' un altında iken katyoniktir. Karboksilik asitler ise pH 3' ün üzerinde anyoniktir. Amino asitler yüksek pH' larda anyonik veya düşük pH' larda katyonik olabilmektedir. Şeker ve benzeri karbonhidratlar pH 12-13' ün üzerinde çok zayıf asit olarak davranmakta ve anyon olarak kromatografik analizleri yapabilmektedir [3].

3.8 Deneyde Kullanılan IC Sisteminin Ana Bölümleri

3.8.1 ICS-3000 sistemi

Dionex marka ICS-3000 cihazı, verimi, üretkenliği ve öncesine göre on kat daha yüksek performansı ile tamamıyla bütünleştirilmiş bir sistemdir. ICS-3000 sistemi bütün modüllerinde, bileşenlerine kolayca ulaşılabilmesi için özel olarak dizayn edilmiştir böylelikle cihaz ile ilgili ayarlamaların yapılması kolaylaşmıştır. Akış yollarının kimyasal olarak inert olması sayesinde değişken pH değerlerine karşı dayanıklıdır. ICS-3000 sistemlerinin komple çiftli çalıştırılabilme özelliğinden dolayı ayrı bir cihaz ve otoörnekleyiciye gerek kalmadan cihaz daha uygun şekilde güncellenebilir. Yani aynı anda iki analiz tek bir otoörnekleyiciden tek bir uygulama ile yapılabilir. Cihazda isokratik pompadan ultra saf su Eluent Üretici' ye gelir ve burada gradient olarak hidroksit veya karbonat/bikarbonat mobil faz elde edilir. Ayrıca pompa hem isokratik hem de gradient olarak çalışabilir. Yeni çıkan gelişmiş otoörnekleyiciler örnekleri kromatografik sisteme sırayla veya eşzamanlı gönderebilir böylelikle örnek prekonsantasyonu ve matriks eliminasyonu iyi bir şekilde gerçekleştirilmiş olur.

Çiftli sistemlerde üretimlilik, esneklik, hassasiyet ve seçicilik artar ve ekonomik avantajlar önemli ölçüde göze çarpar. Bir otoörnekleyici ile örnekteki anyonlar ve kationlar aynı anda analizlenebilirler. Bu durum çift kolon ve çift dedektör özel yazılımı sayesinde kolayca kontrol edilebilmektedir.

RFIC (Reagent-Free Ion Chromatography) sistemlerinin performansı eluent yapıcı, safsızlık tuzağı ve baskılayıcı kısımlarından ileri gelir. Ayrıca pompa kısmında da bir modülde iki pompadan faydalanılabilmektedir. Böylelikle örnek hazırlama, kolon temizliği veya şartlandırma ve reaktif ulaştırılması sürekli olarak herhangi bir zamanda yapılabilir. Tüm bunlar göz önüne alındığında; ekstra bir benç yeri işgal edilmeden ikili çalışma aynı anda tek bir cihazda gerçekleştirilir.

Pompalar son teknoloji ve inert olduklarından yüksek derecede doğru ve tekrarlanır bilgiler elde edilir. Piston sealleri sistemde sürekli olarak yıkandığından ömürleri uzundur.

ICS-3000 EG (Eluent Generator) modülü RFIC sisteminin kalbidir. Bu modül ile eluentleri artık hazırlamaya gerek kalmamıştır. Burada UP (Ultra Pure) su ile isteğe bağlı yüksek kalitede ve kesin konsantrasyonda eluent sistem tarafından otomatik

olarak hazırlanır. Bu opsiyon manuel eluent hazırlanması ile oluşabilecek hataları ortadan kaldırır. Tekrarlanabilir sonuçlar haftadan haftaya, aydan aya ve laboratuvaradan laboratuvara elde edilir. Ayrıca bu sistem eluenti dereceli olarak otomatik ayarlayabildiğinden anyon analizlerinde optimum zamanın daha kısa sürede bulunabilmesi için avantaj sağlar. Gradient elusyon ile daha iyi ayırım, daha yüksek hassasiyet ve daha düşük tespit sınırları elde edilir. RFIC sistem sayesinde isokratik elusyona gradient elusyon kolaylıkla uygulanır. Gereken şey sadece UP sudur. EG modülü de ikili olduğundan bir kartuşta hidroksit diğesinde de karbonat/bikarbonat eluentleri ile herhangi bir zamanda istenilen kartuş istenilen konsantrasyonda ayarlanıp kullanılabilir.

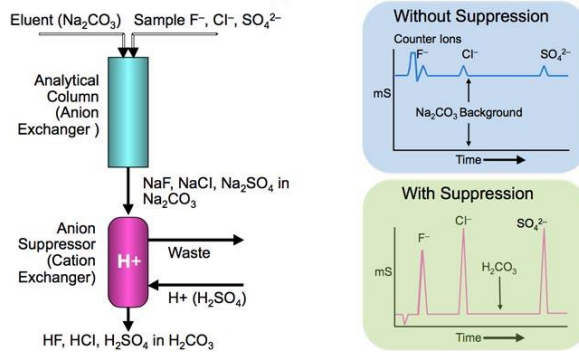
CR-ATC (Continuously Regenerated-Anion Trap Column), eluent generatör ile degas modülü arasına yerleştirilerek eluentten gelebilecek anyonik kontaminasyonlar engellenir. Bunlar periyodik olarak 2 M Hidroksit eluenti ile rejenere edilmelidirler.

Dionex 1975' te packed-bed kimyasal supresyonu tanıtarak modern iyon kromatografinin kurucusu oldu. Supresyon; arkaplan (background) iletkenliğini azaltırken iyonun iletkenliğini artırması sebebiyle devrim yarattı. Packed-bed kimyasal supresyonun geliştirilmesi ile analizlerde $\mu\text{g/L}$ seviyelerine inilebilmektedir.

Dionex, supresyonun lideri olarak 1981' de oyuk fiber supresörler (baskılayıcı) üretti. Bu supresörler sürekli yani online çalışabilmektedirler. Dionex, 1985' de MikroMembran Supresör (MMS) üretti. Bunlar dinamik kapasiteye ve gradient elusyon kullanımına daha çok izin vermektedirler. 1992' de ise kendini rejenere edebilen Supresörler (Self-Regenerating Supresör (SRS)) otomatik geliştirildi. Bunlar, rejenerant kaynağı olarak elektroliz kullanan korozif rejenerantların hazırlanmasını gerektirmeyen supresörlerdir.

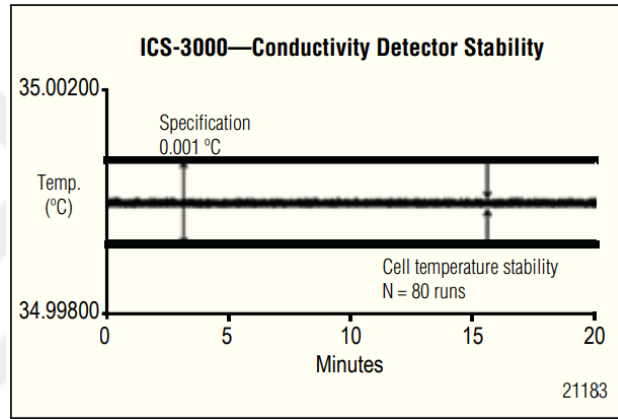
SRS ULTRA II Supresörü ile Dionex, 2003' te Supresör teknolojisini bir adım daha öne aldı. Bu adım ultra düşük gürültü, düşük ve kararlı zemin (background), üstün dinamik kapasite ve geniş dinamik aralık sundu.

SRS' ler MMS' lere yapı olarak çok benzerler. Ancak elektrotlar rejenerant odalarına yerleştirilmiştir. Elektrotlara bir güç kaynağı bağlanıp supresörden akım geçirildiğinde rejenerant iyonları supresörde sudan üretilir. Buna otomatik supresyon denir. Bu işlem için suyun odalardan sabit bir hızda geçmesi şarttır. Şekil 3.7' de



Şekil 3.8 : Supresörlü sistemde anyonların artan hassasiyeti.

ICS-3000 sisteminin elektronik kısımları ve dizaynı değişen sıcaklıklarda dedektörün kararlı çalışmasını sağlar (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 : Dedektörün sıcaklık kararlılığı.

Kesin sıcaklık kontrolü kaymaları (drift) elimine eder ve gürültüyü minimize eder. Ayrıca tespit hassasiyetini artırır ve kararlılık sağlar.

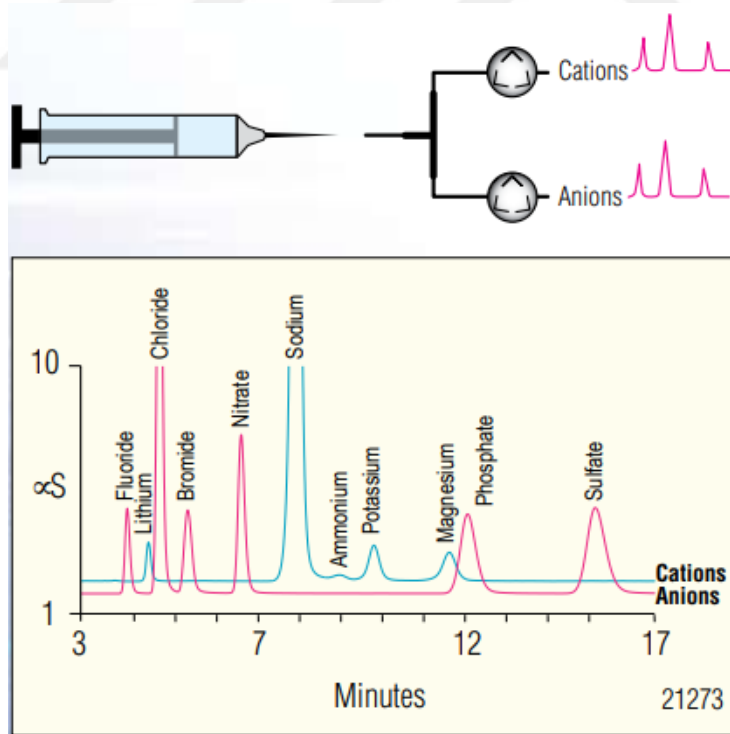
Şekil 3.10' da beyaz kısım supresör ve üstündeki siyah kısım ise iletkenlik dedektörüdür. Şekilde de görüldüğü gibi ara yollar kısadır.



Şekil 3.10 : İletkenlik dedektörü (siyah) ve Supresör (beyaz).

Kolon ve dedektör arası da derli toplu biçimde dizayn edildiği için parça değişimi ve güncellemeler kolayca yapılır. Ayrıca kısa tubingler (borular) ve bağlantılar sayesinde ölü hacim minimize edilir. Bu sayede dağınık bir sistem ortaya çıkmaz.

ICS-3000, biyomolekül analizleri ve iyon kromatografi için optimum seviyede bir sıvı kromatografisidir. %100 metalsiz sistem ile (otoörnekleyici, pompa, akış yolu ve dedektör) korozif mobil faz kullanan diğer paslanmaz çelik veya metal içeren kromatografi sistemlerinin sınırlamalarının üstesinden gelir. Metal akış yolları, bazı analitlerde denatürasyon veya adsorpsiyon gibi etkilere neden olabilir. Termal kompartmanda ise sıcaklık kesin bir şekilde 5 ile 85°C arasında ayarlanabilir. Opsiyonel eluent sıcaklık stabilizeri eluent sıcaklığının fırın ve kolonda kararlı kalmasına yardım eder ve kolonda daha kesin ayrımlar yapılır. Kompleks analizlerin daha basit yapılabilmesi için cihazın Chromeleon yazılımı üzerinden bazı özel teknikler kolayca uygulanabilir. Bu özel teknikler yüksek hacim ve yüksek basınç, örnek önderiştirme, matriks eliminasyonu, kolon temizliği ve ön kolon iyileştirmesi gibi işlemlerdir. Bilgi analizi için Chromeleon TabletStation bütünleşik olarak dünyanın en iyi kromatografi sistemidir. Otoörnekleyicinin yolları ve vialleri inert olduğu için ve hazne bölmesinin sıcağa duyarlı örnekleri belli sıcaklıkta saklayabildiği için örnekler bileşimi korunmaktadır. Şekil 3.11’ de görüldüğü gibi aynı anda iki analiz takibi yapılabilmektedir [16].



Şekil 3.11 : ICS- 3000 sisteminin AS oto örnekleyicisiyle aynı anda yürütülen iki analiz sonucu.

Şekil 3.12’ de ise sistemin parçalarının nasıl yerleştirildiği açıkça görülmektedir.



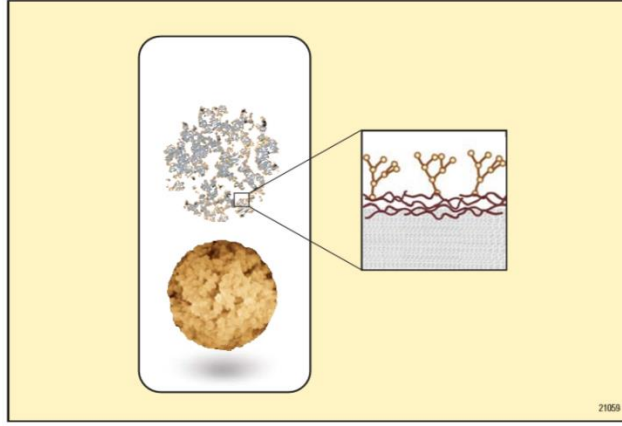
Şekil 3.12 : ICS-3000 sisteminin modül ve parçaları.

3.8.2 IonPac AS20 anyon değiştirici kolon

IonPac AS20 kolonu yüksek kapasitede, hidroksit seçici, anyon değiştirici bir kolon olarak su örneklerinde çok yüksek konsantrasyonlardaki klorür, sülfat ve karbonat anyonları varlığında bile $\mu\text{g/L}$ seviyesinde perkloratın tayini için oldukça kullanışlıdır. Hatta sularda eser miktar perklorat anyonu analizi için U.S. EPA 314.1 metodu olarak özelleştirilmiştir. Aynı metotta Cryptand C1 konsantrator kolon perkloratın prekonsantrasyonu için yer almaktadır. AS 20 kolonu $310 \mu\text{eq/kolon}$ değerinde yüksek bir kapasiteye sahiptir (4×250 mm kolon). Bu kolonun seğiciliği 35°C ' ye optimize edilmiştir.

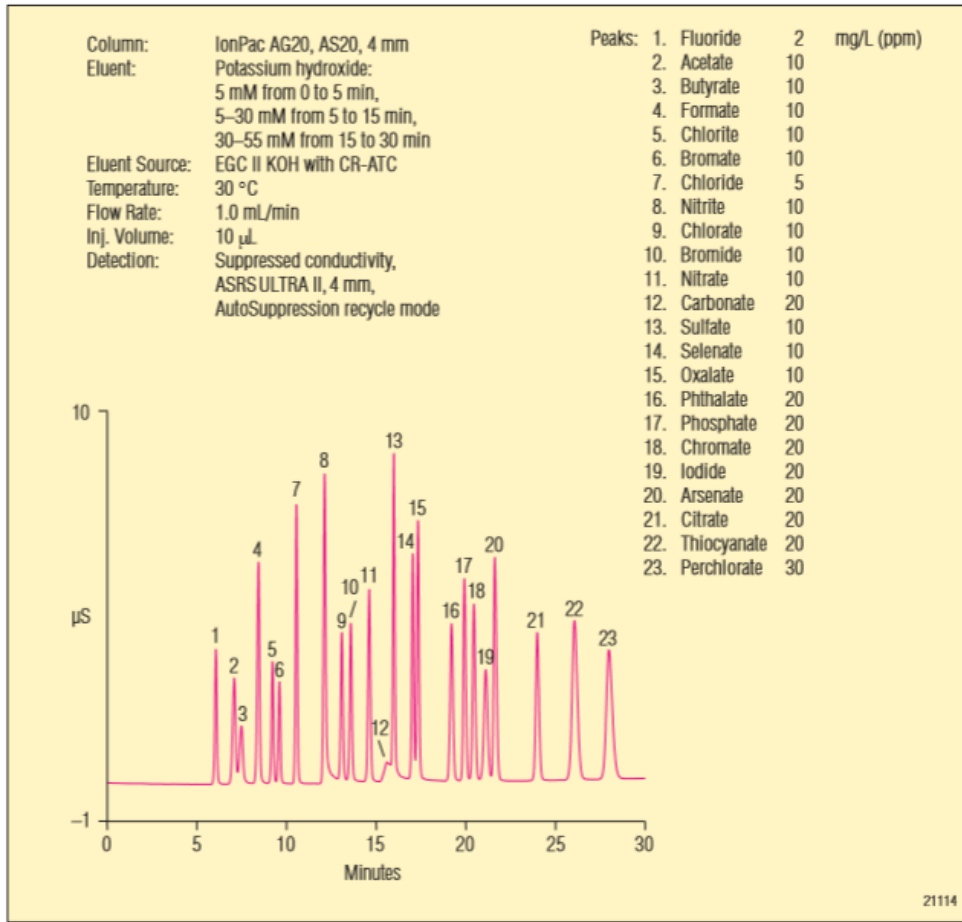
IonPac AS20 kolonu eşsiz bir polimer bağlama teknolojisi ile geliştirilmiş ve üretilmiştir. Bu polimer oldukça hidrofildir ve hidroksit eluentlerinde çok seğicidir. Eluent konsantrasyonunun yüksek olmasına gerek duymaz. IonPac AS20 kolon dolgusunun yapısı Şekil 3.14' de görölmektedir.

AS20 kolonunun RFIC sistemlerinde kullanılması tavsiye edilir. Ultra saf su ile yüksek saflıkta hidroksit eluenti hazırlayan EGC-NaOH ile bu kartuşu sürekli saflaştıran CR-ATC' den kolona gelen eluent karbonatsız bir hidroksit eluentidir. Karbonat varlığı, zeminde kaymaya ve analit iletkenliğini düşürmeye sebep olur. CR-ATC kendini sürekli olarak rejenere ettiğinden uzun süre kullanılabilir. Kullanılan ultra saf suyun direnci ve bileşimi kontrol edilerek CR-ATC' nin ömrü uzatılabilir ve daha uzun süre kesin sonuçlar elde edilir [16].



Şekil 3.13 : IonPac AS20 kolon dolgusunun yapısı.

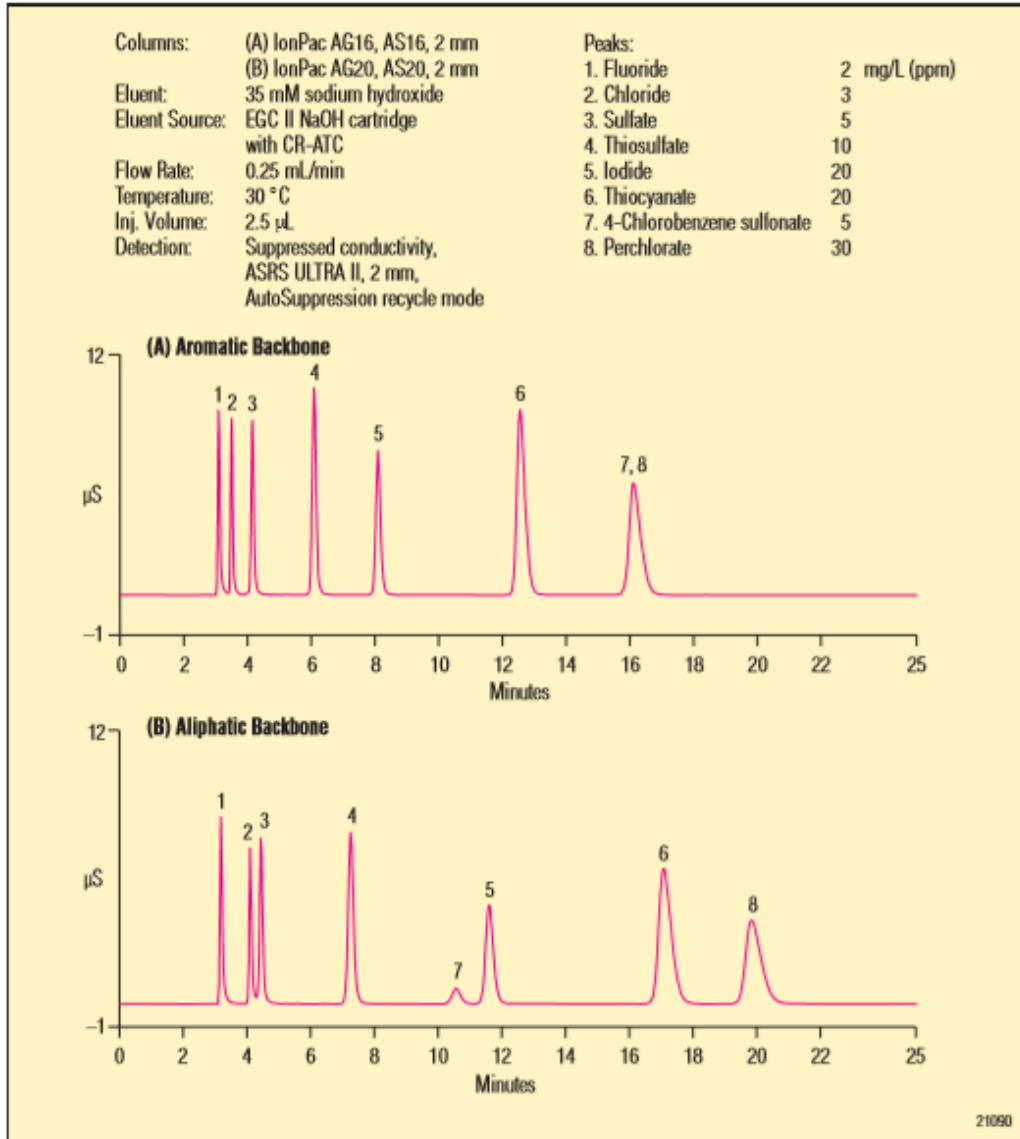
Şekil 3.14' de AS20 kolonunda ayrılmış yirmi üç anyonun kromatogramı ve verileri verilmiştir.



Şekil 3.14 : AS20 kolonunda ayrımı yapılmış yirmi üç anyon.

Şekil 3.15'de ise (A) kromatogramında AS16 kolonunda perklorat pikinin 4-klorobenzen sülfonat anyonundan ayrılamadığı halde (B) kromatogramında AS20 kolonunda ayrıldığı net bir biçimde görülmektedir. Baseline düzgün olduğu sürece

bu sonuçlar elde edilmektedir. Fakat kompleks matriksli örneklerde düzgün baseline elde etmek pek kolay değildir [16].



Şekil 3.15 : Anyonların AS16 ile AS20 kolonlarında ayrılımları.

3.8.3 AS20 kolonunun özellikleri

Boyutları:

IonPac AS20 Analitik kolon : 4x250 mm

IonPac AG20 Guard kolon : 4x50 mm

IonPac AS20 Analitik kolon : 2x250 mm

IonPac AG20 Guard kolon : 2x50 mm

Uygulanabilen maksimum basınç: 3000 psi

Mobil Faz Uyumu : pH 0-14; % 0-100 HPLC solventleri

Substrat Karakteristikleri (Analitik kolon için):

Süpermakropor reçine

Tanecik çapı : 7,5 µm

Por büyüklüğü : 2000 Å

Çapraz bağlanma (%DVB) : % 55

Substrat Karakteristikleri (Guard kolon için):

Mikropor reçine

Boncuk çapı : 11 µm

Por büyüklüğü : < 1 Å

Çapraz bağlanma (%DVB) : % 55

İyon Değiştirici Grup:

Fonksiyonel grup : Alkanol kuaterner amonyum iyon

Fonksiyonel Grup Karakteristikleri:

Hidrofobikliği çok düşük

Kapasite:

77,5 µeq (2x250 mm kolon); 1,5 µeq (2x50 mm kolon); 310 µeq (4x250 mm kolon);
6 µeq (4x50 mm kolon).

Kolon Yapılışı:

PEEK ile 10-32 dişli çember stilinde son bağlanma. Hiçbir bileşen metal değildir.

AS20 kolonları ekonomi ve kullanımda kolaylık bakımından ASRS ULTRA II supresörleri ile kullanılmalıdır.

Kolon sıcaklığı tekrarlanabilirlik açısından kontrollü olmalıdır [16].

4. ALKOLLÜ İÇECEKLER

Alkollü içkiler; yapım tekniği ve bileşimleri yönünden değerlendirildiğinde; fermente alkollü içkiler ve distile alkollü içkiler olmak üzere iki grupta incelenir. Fermente olanların alkol içerikleri daha düşüktür. Bira ve şarap fermente içkilerdir. Her ikisinin de farklı alkol içeriklerinde hazırlanmış çeşitleri vardır. Şaraplar alkolle zenginleştirilerek şeri, port; şeker eklenip ikinci kez fermente edilerek şampanya; alkolle zenginleştirilip baharat ve lezzet vericiler katılarak vermut elde edilir. Rakı, brendi, viski, rom, cin, votka, konyak, likör distile içkilerdir. İçki şişeleri üzerinde alkol yüzdelerini gösteren rakamlar vardır. Distilasyon bakır imbiklerde yapılır. Diğer bir adı da damıtma olan bu işlem sayesinde sıvının içerisindeki alkol, %5-15, den %70-80 oranına kadar çıkartılabilir. Distile içkiler genelde % 40 civarı alkol içerir. Distilasyon işleminden sonra sıvı rengini kaybeder. Sert alkol olarak da kategorilendirilen distile içkilerin yapımında ana amaç, daha yoğun, daha konsantre bir içki elde etmektir.

Türkiye’ de üretimi yapılan damıtık alkollü içkilerin başında rakı gelmektedir. Rakı; karakteristik özelliğini Türkiye Cumhuriyeti sınırları içinde yer alan doğal unsurlardan, özellikle Türkiye’de yetişen üzüm, anason ve Türkiye’de uygulanan geleneksel üretim yöntemlerinden alan, üretimi, işlenmesi ve diğer işlemleri tamamıyla Türkiye sınırları içinde yapılan kendine has, renksiz distile alkollü içkidir.

Rakı üretiminde kullanılan anason, Umbelliferae familyasından Pimpinella anisum bitkisinin tohumları olup, baharatlı tohumları için yetiştirilen bir bitkidir. Bileşiminde bulunan % 1,3- 3,7 oranındaki uçucu yağın (anason esansı) % 80- 95’ ini trans-anetol, kalanı metilkavikol ve anis ketondur (p- metoksi benzil metil keton).

Anasondan rakıya trans-anetol ve estragol uçucu bileşikleri geçer. Rakının aromatize edilmesinde esas rol oynayan anason eteri yağı, başlıca iki izomer bileşikten yani normal sıcaklıkta katı olan anetol (p-metoksi profenil benzen) ve sıvı olan metilkavikolden (p-alyanizol, estragol) oluşur. Anason eteri yağının % 80-95’ ini oluşturan trans-anetol, bir fenol esteri olup baharatımsı ve karakteristik anason

kokusunda, şekerli bir tattadır. Diğer komponentler ise anisketon, anason asidi, anisaldehyt ve camphendir. Eteri yağda bulunan diğer bileşikler rakıda ya iz miktarlarda bulunur ya da hiç bulunmazlar.

Anason eteri yağında bulunan bu bileşiklerden rakıya anason kokusunu veren trans-anetol miktarı rakı kalitesinde etkilidir. Rakıdaki trans-anetol miktarının, ürün litresinde 800 miligramdan az olması duyuşal kalitenin azalmasında etkindir. Ayrıca içim sırasında kadehte içme suyu ilavesiyle oluşacak beyazlanma süresinin gecikmesine, dolayısıyla içim alkol derecesinin fazlasıyla düşmesine neden olur.

Yukarıda belirtilen nedenle Türkiye’ de yaygın olarak Pimpinella anisum türünün tarımının yapılması ve rakı üretiminde kullanılması gelenek haline gelmiştir.

4.1 Rakı Üretimi

Rakı üretiminin birinci aşaması, yaş veya kuru üzümde suma eldesidir. Suma, Türkiye’de yetiştirilen yöresel üzümde hammadde olarak kullanılması ve üzümün tat ve kokusunu korumak amacıyla ayrımsal distilasyonla hacmen alkol miktarı en fazla % 94,5’ e kadar distile edilmesi ile elde edilen üzüm distilatıdır. Dünyada; distile alkollü içkilerin üretiminde kullanılmak üzere tamamen üzüm meyvesinden işlenerek % 94,5 hacmen alkol derecesine kadar distile edilmesiyle elde edilen ve suma olarak adlandırılan başka bir ürün yoktur. Sumalık yaş üzüm alımı, genellikle şaraplık üzüm hasadının hemen ardından, üzümlerde şeker oranının biraz daha yükselmesi beklenerek yapılır.

Fermantasyonda koruyucu madde kullanılmayacağından; üzümlerin sağlıklı olması, nakliye sırasında hırpalanmaması ve bekletilmeden sıkılarak şıranın hemen fermantasyona verilmesi gerekir [16].

4.1.1 Suma Üretimi

Mayşe hazırlama: Kuru üzümler, bir dizi fiziksel işlemlerden geçtikten sonra bıçaklarda kıyılır. Kıyılma sırasında bir miktar su verilerek değirmenlere üzümün bulaşması ve topaklanması önlenir. Kıyılma işlemi ile mayşeleme sırasında şekerin suya geçişi kolaylaşır. Bu aşamada % 28-30 civarında şeker ihtiva eden mayşe elde edilmiş olur. Dengeleme tankında toplanan kıyılmış üzümün şeker oranı % 15-17 olacak şekilde su ile karıştırılır. Mayşe, pastörize edilmek üzere pastörizasyon

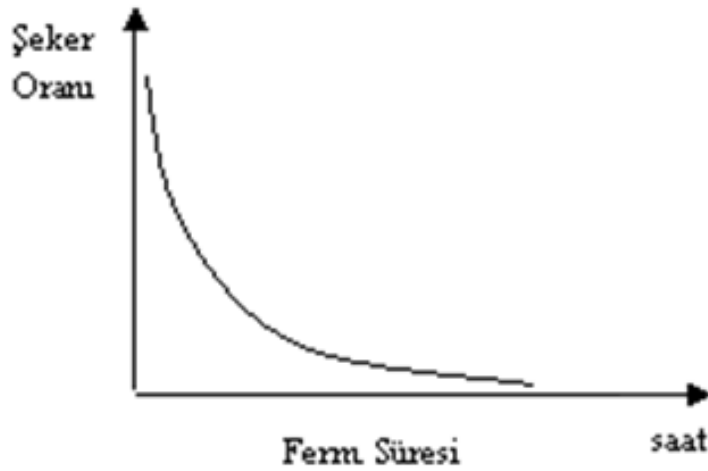
tanklarına gönderilir. Eğer yaş üzüm işlenmek isteniyorsa; saplarından ayrılan yaş üzüm maserasyon tanklarına gönderilir. Yaş üzüm maserasyon tanklarında bir gün bekletildikten sonra posasından ayrılan şıra pastörizasyon tanklarına alınır. Eşanjör çıkışında sürekli sıcaklık kontrolü yapılarak mayşenin sıcaklığının 70-72°C' nin altına düşmemesi sağlanır.

Fermantasyon: Temizlenmiş ve sterilize edilmiş fermantasyon tankına, laboratuvar koşullarında üzüm şırası içinde belirli bir miktara kadar çoğaltılarak hazırlanmış yüksek alkol üretme yeteneğine sahip maya (*Saccharomyces cerevisiae*) alınır. Üzerine % 14-15 şeker içeren pastörize mayşe gönderilerek fermantasyon başlatılır. Her iki saatte bir yapılan ölçümlerle fermantasyonun gidişi kontrol edilir.

Fermantasyon sırasında sıcaklık, şeker ve pH kontrolleri yapılarak karıştırma işlemi uygulanır. Alkol fermantasyonunun asıl ürünü etil alkol, ikinci asıl ürünü ise CO₂' dir. Fermantasyonun yan ürünleri olarak gliserin, asetaldehit, fuzel yağı (yüksek alkoller), asit ve esterler ile metil alkol meydana gelir.



Fermantasyonda sıcaklık takibi çok önemlidir. Reaksiyon egzotermik olduğundan soğutucu ve karıştırıcılar kullanılarak sıcaklığın 30-33°C' de kalması sağlanır. Fermantasyon süresi yaklaşık 36 saat olup, belirli periyotlarda yapılan şeker ve alkol ölçümleriyle oluşturulan şeker oranı – fermantasyon süresi eğrisi Şekil 4.1' deki gibi olmalıdır.



Şekil 4.1 : Şeker oranı-fermantasyon eğrisi.

Fermentasyon sırasında oluşan CO₂ ortamdan uzaklaştırılarak CO₂ yıkama kolonuna gönderilir.

Fermentasyon tankındaki mayşenin şeker miktarı sıfır olduğu zaman fermentasyon işlemi tamamlanır. Alkol yüzdesi kontrol edilen ürün distilasyon ünitesine gitmek üzere denge tankında toplanır.

Distilasyon: Geleneksel ve düzgün ilerlemiş bir fermentasyon süreci geçirmiş mayşenin distilasyonu sonucu elde edilen kaliteli suma, kaliteli rakı üretiminin vazgeçilmezidir. Bu durumun önemi 2005/11 sayılı Distile Alkollü İçkiler Tebliği' nin 5. maddesinde sumanın tanımında “ayrimsal distilasyon” ifadesiyle de açıkça vurgulanmıştır.

Fermentasyonu biten mayşe distile edilmek üzere suma distilasyon ünitesine alınır. Distilasyon ünitesi; gazdan arıtma ve mayşe kolonu, pürifikasyon kolonu, rektifikasyon kolonu ve dimetilizasyon kolonu olmak üzere dört kolondan oluşan bir sistemdir. Kolonların içerisinde alkol ile buharın etkileşimini arttırmak amacıyla yerleştirilmiş delikli yapıda platolar bulunmaktadır. Ters akım prensibine göre çalışan sistem su ve enerji kaybını minimize edecek şekilde tasarlanmıştır. Bu üniteye yer alan kolonların işlevi aşağıda yer almaktadır.

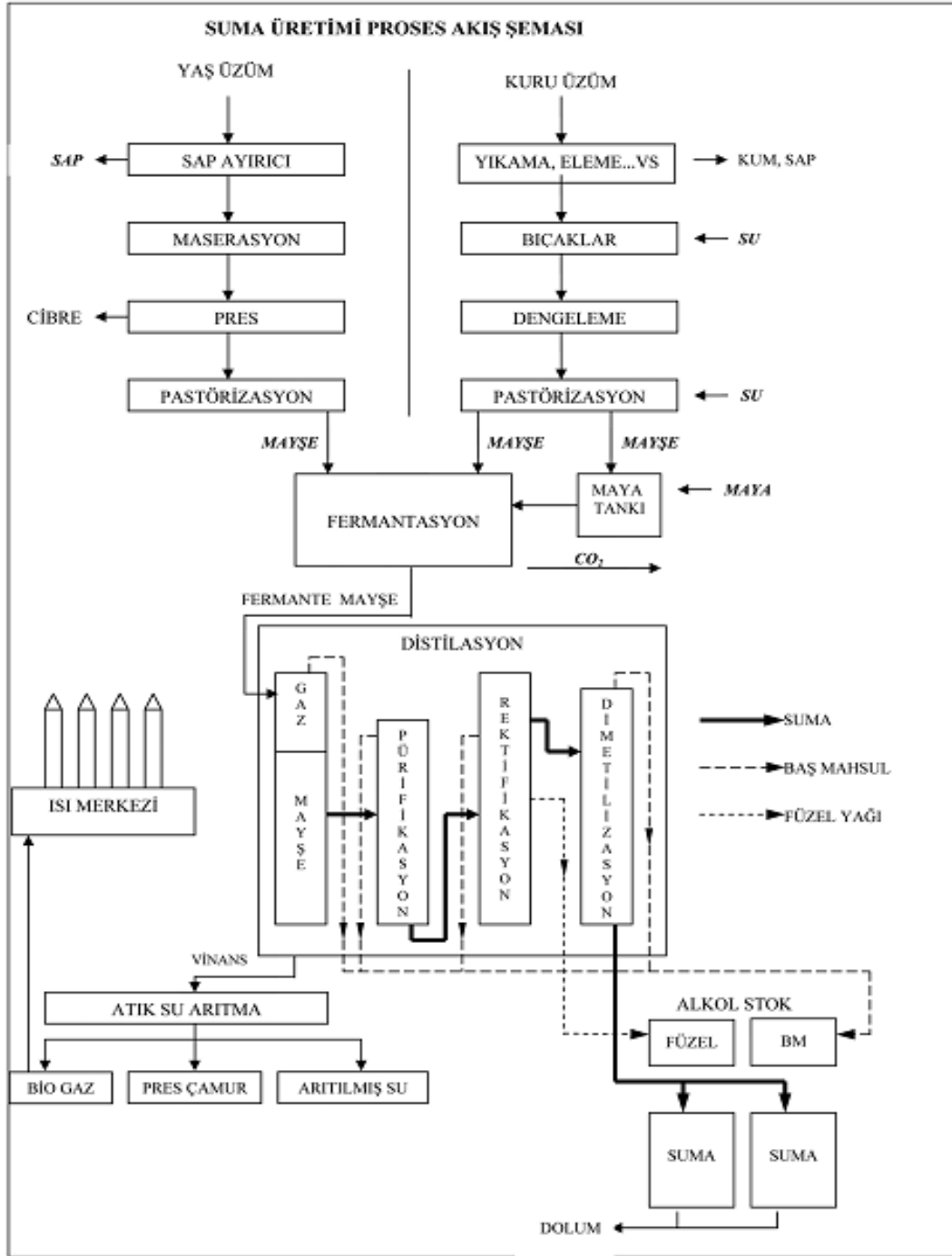
- Gazdan arıtma kolonu ve mayşe kolonu: Gazdan arıtma kolonundan fermentasyondan sonraki atık gazlar ve distilasyon kalitesi üzerinde negatif etkisi olan uçucu sülfür bileşikler atılır. Gazdan arıtma işleminden sonra mayşe kolonundan elde edilen alkol % 50-60 arasındadır.

- Pürifikasyon (aldehit ve baş ürün saflaştırma) kolonu: Bu kolona gelen alkolden ester ve aldehit gibi hafif ve uçucu bileşenler ile baş mahsul ayrılır. Kolon tabanında toplanan 15°- 20° lik alkol rektifikasyon kolonuna gönderilir.

- Rektifikasyon (düzeltme) kolonu: İstenilen oranda fuzel yağı ve yüksek alkollerin ayrılması bu kolonda olur. Elde edilen 92°-94° lik alkol dimetilizasyon kolonuna gönderilir.

- Dimetilizasyon kolonu: Bu kolonda 92°-94° lik alkol metil alkolden arıtılarak kuru üzümün kendine özgü aromasını taşıyan suma olarak depolama tanklarına gönderilir.

Suma üretim prosesine ait akım şeması Şekil 4.2' de verilmiştir [16].



Şekil 4.2 : Suma üretimine ait proses akış şeması.

4.1.2 Rakı Üretimi

Rakıdaki toplam alkolün en az % 65' i sumadan gelecek şekilde tarım kökenli alkol ile karıştırılmış suma veya sadece suma bakır imbiklere alınır. Bir önceki distilasyon işleminden kalan baş ve son ürünler (aporak) kullanılacak durumda ise kazana ilave edilir. En az hacmen % 40 alkol içerecek

şekilde demineralize su ile seyreltilerek 5.000 litre veya daha küçük hacimli geleneksel bakır imbiklerde, anason tohumu ile ikinci kez distile edilir.

5000 litrelik bir imbiğin doldurulup distile edilmesi yaklaşık 48 saat sürer. Bu distilasyon süresi içinde rakı içinde bulunması istenmeyen bileşenler aşağıda yer alan fraksiyonlar halinde ayrılır.

- Baş mahsul (imalat harici)
- Baş mahsul
- Orta mahsul (rakı)
- Son mahsul
- Son mahsul (imalat harici)

Baş mahsul ester, aldehit gibi alkole göre daha düşük derecelerde kaynayan maddeleri içerir. Bu ürün keskin kokulu, süt gibi beyaz renktedir. Akışı distilasyon başlangıcından iki saat sonra başlar. Anasonun patlayıp uçucu eteri yağını vermesi distilasyonun sekizinci saatinde olduğu için baş mahsulde anason bulunmaz.

Baş ürün alımı bitince alınan rakıya işlenen temiz alkoldür. Orta ürünün alımına akan ispirtonun kokusu ağırlaşır, ısı derecesi yükselmeye başlayınca son verilir. Son mahsul kaynama dereceleri alkole göre daha yüksek olan fuzel yağları, furfurool gibi maddeleri kapsar.

İmbiklerden orta ürün olarak alınan alkol derecesi yaklaşık % 78-80 olan orta ürün demineralize su ilavesiyle seyreltilir. Bu işleme “söndürme” denir. Söndürülmüş ürüne rafine beyaz şeker ilave edilerek bileşimindeki maddelerin tat harmonizasyonu için en az bir ay içki sanayinde kullanılan meşe fiçılarda veya paslanmaz tanklarda dinlendirilir. Dinlendirme sonrası geleneksel tadına ulaşan rakı, filtrelerden geçirilerek kalite kontrol işlemlerinden sonra şişelenir.

Özet olarak “rakı” aşağıdaki özelliklere sahip olan bir içkidir.

- Alkol miktarı hacmen en az % 40' tır.
- Anason tohumdan gelen uçucu yağın anetol miktarı, ürünün litresinde en az 800 miligramdır.

- Rakının hazırlanmasında rafine beyaz şeker kullanılır ve şeker miktarı ürün litresinde en fazla 10 gramdır.

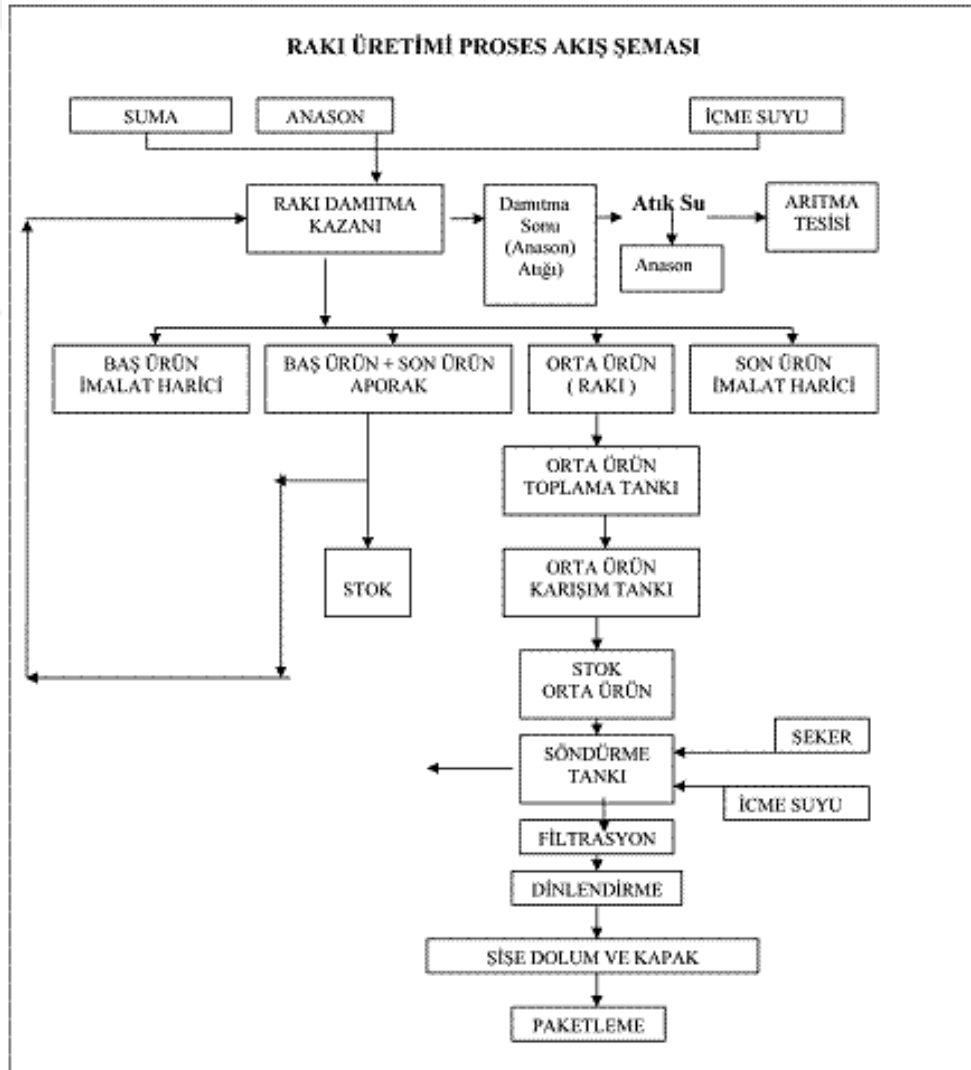
- Rakı üretiminde renklendirici kullanılmaz.

- Uçucu madde içeriği, hacmen % 100 alkolün hektolitresinde 100 grama eşit veya daha fazladır (Metanol ve etil alkol dışındaki uçucu asitlik de dahil aldehit, ester ve yüksek alkoller toplamı).

- Metil alkol içeriği, hacmen, %100 alkolün hektolitresinde 150 gramdan fazla olamaz.

- Rakı, dolum öncesinde en az bir ay dinlendirilir.

Rakı üretim prosesine ait akım şeması Şekil 4.3' de verilmiştir [16].



Şekil 4.3 : Rakı üretimine ait proses akış şeması.

Tekel Yönetimi Türk ulusu ile bütünleşmiş olan damıtık alkollü içki üretimimizin öncüsü rakı için, 25 Aralık 1997 tarih ve 555 sayılı Coğrafi İşaretlerin Korunması Hakkında Kanun Hükmünde Kararname' ye dayanarak, "Menşe İşareti" tescili için başvuruda bulunmuştur. Yasal işlemler 1998 yılı sonunda tamamlanarak, Türk rakısının "Menşe İşareti" tescili 1999 yılının ilk günlerinde Resmi Gazetede yayınlanmış ve coğrafi işaret siciline kaydedilmiştir. Avrupa Birliği bu kararı tanımış ve böylece içki alanında ilk olarak menşe adı ilk kez rakıya verilmiştir. Böylelikle rakı milli içki olarak tescillenmiştir.

Ülkemizdeki toplam damıtık alkollü içki tüketiminin yaklaşık %85' ini karşılayan rakının, gerek üzüm ve anason girdileri nedeniyle ülkenin tarım ekonomisindeki rolü, gerekse ülkemizin dünya pazarına özgün ve geleneksel ürün olarak sunabildiği nadir ticari değerlerden biri olması nedeniyle, "geleneksel üretim tekniği" nin korunması 4250 Sayılı Kanun ile sağlanmıştır.

21 Ekim 1995 tarih ve 22440 sayılı Resmi Gazete' de yayımlanarak uygulamaya konulan Türk Gıda Kodeksi Distile Alkollü İçkiler Bölümü' nde belirtildiği gibi Türk Rakısı sadece Türkiye' de üretilir.

2001 yılında özelleştirme programına alınan ve bu amaçla 2003 yılında yeniden yapılandırılan Tekel, beş iş ünitesine ayrılmıştır. Bu dönemde Alkollü İçkiler Sanayii Müessesesi de, tüm hak ve yükümlülükleriyle birlikte, Alkollü İçkiler Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi' ne dönüştürülmüştür. Söz konusu şirketin 27 Şubat 2004 tarihli devir sözleşmesi ile özelleştirilmesinin ardından da alkollü içkilerde devlet tekeli dönemi sona ermiştir.

2003 yılındaki alkollü içki sektöründe yapılan bu özelleşme ile rekabet ortamı gelişmiş ve yeni üretici firmalar pazara dahil olmuştur. Bu durumun alkollü içki sektöründe bir devrim olarak algılanmasının yanı sıra sektöre katılan firmaların çeşitliliği göz önünde bulundurularak, üretilen rakı tiplerinin kalitelerine ve Gıda Kodeksine uygunluğuna dikkat edilmelidir. Bu sebeple alkollü içkilerde yapılacak olan analizler oldukça önemlidir.

5. ANYONLAR VE ANYON ANALİZLERİNİN ÖNEMİ

Anyonlar, asitler ve tuzların iyonlaşmaları sonucu oluşan eksi yüklü iyonlardır. Tek atomlu (F^- , Cl^- gibi) veya çok atomlu (NO_3^- , PO_4^{3-} gibi) olabilirler. Bazı anyonlar vücut için gerekli iken bazıları ise vücut için oldukça zehirlidirler. Vücuda alınan anyonların miktarı metabolizma tarafından farklı seviyelerde tolare edilir. Bu sebeple anyonların güvenilir şekilde tayini son derece önemli bir konudur.

Formik asitin, metabolizmadaki yüksek biyolojik aktivitesinden dolayı kaynaklarının incelenmesi önem arz eder. İnsan vücudunda yükselen formik asit seviyesi, optik sınırlarda ciddi hasara, solunum yetmezliğine, karaciğer ve böbrek yetmezliği gibi ciddi ölümcül sonuçlara ve komaya neden olabilir. 10 mmol / L' nin (0,5 mg / mL) üzerindeki kan konsantrasyonları; metabolik asidozu indükleyebilir ve ölüme yol açabilir [5]. Formik asit vücuda; besinler yoluyla, bağırsak mikroflorası üretimiyle, metanol sindirimi sonucu veya metanol buharlarının solunması yoluyla girebilir. Vücut sıvıları ve dokularındaki yüksek konsantrasyonlu formatın en önemli kaynağı metanol alımıdır [18, 19].

Metanol, en basit yapılı, alifatik bir alkoldür. Molekül formülü CH_3OH 'dır. Saf durumda renksiz bir sıvı olan metanolün molekül ağırlığı 32,04 ve özgül ağırlığı 0 °C' de 0,8142 olup, donma noktası -94 °C, kaynama noktası +64,7 °C' dir. Su, alkol ve eterle her oranda karışır. Endüstride, solvent şeklinde yaygın olarak kullanılmakta ve çok kolay bulunabilmektedir. Diğer alkollere göre, daha ucuzdur [20].

Metanol, pektik maddelerden pektinin parçalanması sonucu oluşan ve fermantasyon ürünlerinde belli oranlarda mutlaka bulunan doğal bir üründür. Dolayısıyla alkol fermantasyonunda metil alkolün oluşumu hem hammaddedeki pektin miktarına hem de pektolitik enzimlerin miktar ve aktivitelerine bağlıdır [21].

Ayrıca ticari alkollü içki üretiminde; fermantasyon ve distilasyon sırasında düşük miktarlarda metanol yan ürün olarak oluşmaktadır [22]. Dolayısıyla alkollü içkilerin fazlaca tüketilmesi de insan vücudunda formik asit kaynağı oluşturabilir [23].

Metanol; alımından 2-24 saat sonra hızlıca ADH enzimi ile formaldehite ve ardından FDH enzimi ile toksisitesi metanole göre oldukça yüksek olan formik asite hızlıca metabolize olur (Şekil 5.1). Kanda bulunan formik asit, format miktarı, metanol toksikasyonunun bir belirteçidir. Formik asitin insan vücudundaki miktarının takip edilebilmesi, klinik olarak teşhis açısından çok önemlidir. Ölümcül metanol zehirlenmelerine bağlı olarak ölüm öncesi fizyolojik sıvılarda; bakteriyel etki ve lipidlerin, karbonhidratların ve proteinlerin dekompozisyonundan dolayı yüksek formik asit konsantrasyonu bulunabilir [18, 24, 25, 26].



Şekil 5.1 : Metanol metabolizması.

Metanolün bu olumsuzlukları göz önünde bulundurularak yüksek alkollü damıtık içkilerin üretiminde damıtma işleminin, özellikle ikinci damıtmanın sağlıklı şekilde gerçekleştirilmesi sağlanmalıdır. Yani baş, orta ve son ürün bilinçli bir şekilde ayrılmalıdır. Aksi takdirde metanol baş üründen orta ürüne geçmekte ve yukarıda belirtilen sakıncalar ortaya çıkmaktadır [27]. Türk Gıda Kodeksi' ne göre, rakıda bulunmasına izin verilen metil alkol miktarı en fazla 1500 mg/ L' dir. Bu miktardan daha yüksek oranlarda metil alkol içeren ürünler insan sağlığı açısından riskli olarak değerlendirilir [28].

İnsan vücudu için gerekli eser elementlerden biri olan flor, özellikle kemik ve diş gelişiminde, diş yüzeylerinde mineral kaybının önlenmesinde, hücrel aktivasyon ve bakteriyel enzim aktivitesinin azaltılmasında önemli bir role sahiptir [29, 30, 31, 32, 33]. Flor, endüstriyel kullanımı yanında biyolojik önemi de olan bir elementtir. İnsan kanında 0,5 ppm, kemikte 2000-12000 ppm arasında, akciğerlerde 0,227 ppm ve kas dokusunda 0,005 ppm florür bulunurken, yer kabuğunda 950 ppm, deniz suyunda ise 1,3 ppm civarındadır [32, 34]. Sularda bulunan florür, miktarına bağlı olarak faydalı veya zararlı olabilir. Sularda florür iyonu için izin verilen derişim 1,0 mg/L'dir ve yetişkinler için öldürücü doz 0.20-0.35 g/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. Sulu çözeltilerde ve sularda florür tayini için, kromatografik, spektrofotometrik, potansiyometrik yöntemler gibi birçok yöntem geliştirilmiştir [35].

İçme sularında insan sağlığı açısından belirli bir konsantrasyon aralığında bulunması gerekliliği sebebiyle, sulardan fazla florür iyonunun giderimi, dünyada araştırılan

önemli çevre sorunlarından birisi olmuştur. İçme sularında bulunması istenen florür derişimi 0,8-1,7 ppm aralığında olmalıdır [32]. Bu düzeylerde flor bulunması diş çürümelerine karşı koruyucu özellik göstermektedir. 1,5 mg/L' den fazla florür iyonu içeren bir içme suyunun uzun süre tüketilmesi, dişlerde ve iskelet sisteminde florozis hastalığına neden olmakta, 4 mg/L' den fazla konsantrasyona maruz kalındığında nörolojik hasarlar ve daha ileri boyutta toksik etkiler görülmektedir [36].

Asetatlar çeşitli gıdalarda antimikrobiyal gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır [9]. Etil asetatın, şarapların ve damıtıkların organoleptik özellikleri üzerinde önemli bir etkisi vardır. Düşük konsantrasyonlarda, etil asetat şarabın meyveli özelliklerine katkıda bulunur. Alkollü içkilerin uygun olmayan koşullar altında saklanması, bakteriyel bozulma riskine sebep olur. Bu durum etil asetat artışa neden olabilir. Ayrıca yıllandırma sırasında etanolün asetik aside sürekli oksidasyonu ve bu asidin esterleşmesi nedeniyle asetat miktarı artar. Bu bileşiklerin seviyeleri, üzüm çeşidi, fermentasyon koşulları ve damıtma teknikleri gibi çeşitli faktörlerden etkilenir [10, 11, 12].

Klorür; gıdalarda en sık bulunan anyonlardandır. Metabolizmada asit-baz dengesinde önemli rol oynar. Buna karşın yüksek konsantrasyonlarda alımı oldukça fazla yan etkiye sahiptir [6, 13].

Nitritler ve nitratlar; lezzetlendirici, renklendirici ve botulizime karşı antimikrobiyal ajan olarak et ve balık ürünlerinde sıklıkla kullanılır. Bununla birlikte, nitritler ve nitratlar methemoglobinemi ve diğer hastalıklara neden olabilir. Sekonder aminlerle tepkimeye girerek nitrozaminlerin oluşumuna neden olurlar ve bu bileşikler potansiyel olarak kanserojen, mutajen ve/veya teratojendir kanserojen nitrozaminler oluşturmak üzere belirli aminler ile reaksiyona girebilirler [37].

Nitrat ve nitritin gıdalarda ve içeceklerde artmasının nedeni topraktaki organik maddelerden, azotlu gübrelerin ve böcek ilaçlarının kullanılmasından ve kimyasal endüstri atıklarından kaynaklanmaktadır. Sulardaki nitrat ve nitrit düzeyleri su kalitesinin önemli indikatörleridir [38]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, içme sularında nitrat ve nitrit için maksimum izin verilebilir düzeyler 50 mg/L ve 0,1 mg/L' dir [39].

Nitratın akut toksisitesi çok seyrek görülmektedir. Çoğu olguda meydana gelen bulgular nitratın nitrite indirgenmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Yetişkinlerde 8-15 g

sodyum veya potasyum nitrat alınmasını takiben aniden ortaya çıkan şiddetli gastroenterit, karın ağrısı, idrar ve gaitada kan ve halsizlik görülebilir. Nitratın aksine nitritin akut toksisitesi sıktır ve buna bağlı çok sayıda ölüm bildirilmiştir. Bu genellikle sodyum nitritin yanlışlıkla alımına veya gıdalarda kontrolsüz kullanımına bağlı olarak gelişmektedir. Nitrit insanlar tarafından kullanılmasına izin verilen ve ürün formülasyonuna giren tek toksik maddedir. Nitrit kullanımı oldukça sıkı kurallara bağlıdır [40, 41].

Sülfat; insanlar ve hayvanların vücutlarında bulunan doğal ve gerekli bir bileşendir. İnsan serumunda sülfat seviyesi 0,25 ile 0,38 mmol / L arasındadır. Sülfat, kondroitin sülfat üretimi ve eksojen kimyasalların sülfasyonu dahil olmak üzere bir dizi biyokimyasal faaliyete katılır.

WHO ve US EPA tarafından sularda bulunmasına izin verilen limit değer olmamasına karşın, gastrointestinal sisteme olan katartik etkisinden dolayı sağlık otoriteleri tarafından içme sularında 500 mg/ dm³ ü aşmaması tavsiye edilmektedir [6, 15].

İnsanların ve hayvanların sülfata kısa ve uzun vadeli maruz kalmaları sonucunda ortaya çıkan çeşitli etkiler araştırılmıştır. Sülfatın insanlar üzerinde toksik etkisini belirlemek için pek çok çalışma yapılmıştır. Yüksek seviyede sülfat (630–1150 mg/L) içeren suya maruz kalan üç bebekte ishal rapor edilmiştir ancak, ishale yol açabilecek muhtemel diğer sebepler (yüksek çözünmüş maddelere sahip bebek mamaları ya da mikrobiyal patojen gibi) olabileceğinden doğrudan suyun sülfat içeriği ile ilişkilendirilememiştir. North Dakota’ da yapılan bir araştırmada, 500–1500 mg/L sülfat içeren içme suyu kullanımında, müshil etkisinin gözlenmesinde küçük bir artış gözlenmiştir. Aynı çalışmada, sülfat içeriği 500 mg/L’ den az olan su kullanımında halkın %21’ inde müshil etkisine rastlanırken, sülfatın 500 ile 1500 mg/L olması durumunda bu oran %28’ e ulaşmıştır. İshalin insanlar üzerindeki etkileri konusunda yapılan çalışmalarda tek dozluk 8 g sodyum sülfatın ishale sebep olduğu belirlenmiştir [42].

Rakı üzerine yapılan literatür çalışmaları incelendiğinde çoğunlukla GC-MS, GC-FID, FT-IR teknikleri ile rakı analizlerinin yapıldığını görmekteyiz [43, 44, 45]. Bu çalışmada ise iletkenlik dedektörlü iyon kromatografisi cihazı ile anyon analizleri üzerine yeni bir method geliştirilmiştir.

6. DENEYSEL KISIM

6.1 Kimyasallar ve Araçlar

Eluent (NaOH), sistemde on-line olarak EG (DIONEX, USA) elektrolitik eluent üreteç modülünde multigradient biçimde oluşturulmuştur.

1000 mg/L' lik sertifikalı standart florür, klorür, bromür, nitrat, sülfat çözeltileri Dionex' den satın alınmıştır.

Sodyum asetat (99,5%) Sigma Aldrich' den, Amonyum format (99,5%) Fluka' dan (Fluka, Bioultra) temin edilmiştir.

Katı kimyasalların tartımları, virgülden sonra dördüncü haneye kadar tartım yapabilen Precisa marka elektronik hassas terazide (Precisa XB 220A, Swiss) yapıldı.

Çözeltilerin homojen olarak karıştırılması için Wisemix marka vorteks cihazı kullanılmıştır.

Alkol numunesindeki uçucu bileşenlerin gaz kromatografisi ile incelenmesi; Perkin Elmer Clarus 500 HS-GC-MS marka cihaz ile yapılmıştır.

Stok çözeltiler, seyreltmeler ve eluent için kullanılan; direnci 18 MΩ' dan az olmayan ultra saf su, New Human Power I Scholar UV (Human Corporation, Seoul, Korea) su saflaştırma sisteminden temin edilmiştir.

6.2 Kullanılan Kromatografi Sistemi

Bu çalışmada DIONEX ICS-3000 (Dionex Corporation, USA) İyon Kromatografi Sistemi kullanılmıştır. Bu sistem, DP çiftli pompa (çalışmada isocratic pompa kullanıldı), tek ve çift pompa sistemlerine uygun EG eluent üreteç, DC Dedektör-Kromatografi Modülü ve otomatik örnekleyici AS kısımlarından oluşmaktadır. Otoörnekleyicinin örnek alma hacmi 40 µL, sample loop hacmi 10 µL' dir. Eluent üreteç kartuşu, RFIC-Eluent gaz giderici ve devamlı

rejenere olan anyon tuzak kolonu CR-ATC kısımlarını içeren EG eluent üretici istenilen zamanda istenilen konsantrasyonda NaOH' i hazırlayarak eluenti kolona gazı giderilmiş ve anyonlardan arındırılmış olarak verir. DC modülünde kromatografik ayırım bölümünde RFIC TM IonPac® AS20 Analitik (2 x 250 mm) anyon değiştirici kolon ve ön-koruma kolonu RFIC TM IonPac® AG20 Guard (2 x 50 mm) ile dedektör bölümünde ASRS ULTRA II mm supresör ile CD iletkenlik dedektörü bulunmaktadır. AS20 kolonunun reçinesi 7,5 µm partikül çapında, fonksiyonel grubu kuaterner amonyum grubu olan divinilbenzen ile çapraz-bağlı süpermakroporöz polivinilbenzil amonyum polimeridir. AS20, polarize olabilen anyonları kısa sürede ayırabilen hidroksit seçici bir anyon değiştirici kolondur. AG20 ise 11 µm partikül çapında reçine bileşimi mikroporöz polivinilbenzen ve fonksiyonel grubu kuaterner amonyum grubu olan, kolonun ön kısmına takılan ve kolonun kirlenmesini önleyen koruyucu (Guard) kolondur. AG20 mikroporöz yapılı olduğundan uzun süre optimum performans göstermektedir. Dedektör olarak CD iletkenlik dedektörü ve supresör olarak da kendini rejenere edebilen ASRS ULTRA II mm kullanılmıştır.

6.3 Çözeltilerin Hazırlanması

6.3.1 Standart çözeltilerin hazırlanması

Yaklaşık olarak 0,01414 g Amonyum format UP su ile 100 mL' lik balonjojede çözülerek 100 mg/L' lik format stok çözeltisi hazırlandı.

Yaklaşık olarak 0,01396 g Sodyum asetat UP su ile 100 mL' lik balonjojede çözülerek 100 mg/L' lik asetat stok çözeltisi hazırlandı.

1000 mg/L' lik sertifikalı florür, klorür, bromür, nitrat, sülfat standartları hazır olarak temin edildi.

Hazırlanan ve temin edilen ana stok çözeltilerden gerektiğinde ara stok çözeltiler hazırlandı.

İnternal standart olarak, her bir çözeltide 2 mg/L konsantrasyonunda bromür iyonu içeren; 0,05, 0,1, 0,25, 0,5, 1, 2, 8, 12, 20, 25, 30, 60 mg/L' lik standart çözeltiler hazırlanır. Vorteks cihazı ile karıştırılıp viallere alınır. IC cihazının oto örnekleyicisine yüklenir.

Hazırlanan çözeltiler; NaOH eluent konsantrasyonu 0-7 dakikalar arasında 5 mM; 17-22,5 dakikalar arasında 23 mM; 23. dakikada 50 mM ve 28-33 dakikalar arasında 5 mM, supresor akımı 31 mA, kolon sıcaklığı 35°C, dedektör hücre sıcaklığı 40°C, mobil faz akış hızı 0,250 mL/dk ve sample loop hacminin 10 µL olduğu kromatografi şartlarında analizlenir.

Hazırlanan standart çözeltilerin fazlası 4°C' de muhafaza edildi.

6.3.2 Rakı numunelerinin hazırlanması

4990 µL rakı numunesine, 1000 mg/L' lik sertifikalı bromür çözeltisinden 10 µL ilave edilir. Böylelikle internal standart olarak 2 mg/L konsantrasyonunda bromür iyonu içeren 5 ml rakı numunesi hazırlanmış olur. Hazırlanan çözelti 40-50°C su banyosunda yaklaşık olarak 0,5 ml' ye kadar buharlaştırılır (~ 2 saat). Rakı numunesi su banyosundan alınır ve oda sıcaklığına gelmesi beklenir. Ardından 2 ml' ye UP su ile tamamlanır. Vorteks cihazı ile karıştırılıp PES filtreden süzülerek viallere alınır. IC cihazının oto örnekleyicisine yüklenir ve analiz yapılır.

İnternal standart olarak 2 mg/L bromür iyonu içerecek şekilde 5 ml Yeni Rakı numunesine bilinen miktarlarda florür, asetat, format, klorür, nitrat, sülfat iyonlarından 2 aşamalı spike yapılır. 40-50°C su banyosunda yaklaşık olarak 0,5 ml' ye kadar buharlaştırılır (~ 2 saat). Spikeli rakı numuneleri su banyosundan alınır oda sıcaklığına gelmesi beklenir. Ardından 2 ml' ye UP su ile tamamlanır. Vorteks cihazı ile karıştırılıp, PES filtreden süzülerek viallere alınır. IC cihazının oto örnekleyicisine yüklenir ve analiz yapılır.

Hazırlanan numuneler; NaOH eluent konsantrasyonu 0-7 dakikalar arasında 5 mM; 17-22,5 dakikalar arasında 23 mM; 23. dakikada 50 mM ve 28-33 dakikalar arasında 5 mM, supresor akımı 31 mA, kolon sıcaklığı 35°C, dedektör hücre sıcaklığı 40°C, mobil faz akış hızı 0,250 mL/dk ve sample loop hacminin 10 µL olduğu kromatografi şartlarında analizlenir.

6.4 Rakı Numunesinin Buharlaştırma Öncesi ve Sonrasına Ait Gaz

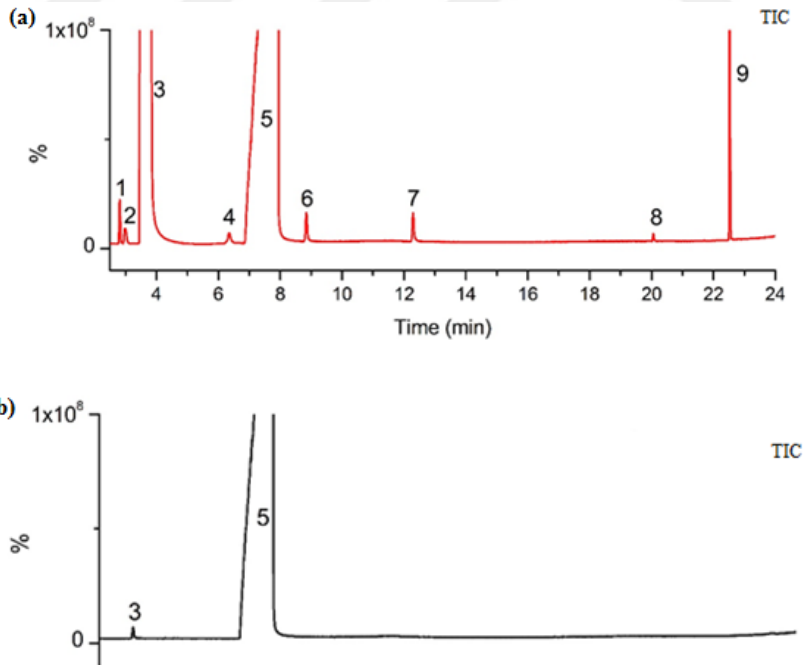
Kromatografisi Analiz Sonuçları

4990 µL rakı numunesine, 1000 mg/L' lik sertifikalı bromür çözeltisinden 10 µL ilave edilir. Vorteks cihazı ile karıştırılır. Böylelikle internal standart olarak 2 mg/L

konsantrasyonunda bromür iyonu içeren 5 ml rakı numunesi hazırlanmış olur. Numune, buharlaştırma öncesi rakı numunesi olarak gaz kromatografisi cihazında analizlenir.

4990 µL rakı numunesine, 1000 mg/L' lik sertifikalı bromür çözeltisinden 10 µL ilave edilir. Vorteks cihazı ile iyice karıştırılır. Böylelikle internal standart olarak 2 mg/L konsantrasyonunda bromür iyonu içeren 5 ml rakı numunesi hazırlanmış olur. Hazırlanan numune 40-50°C su banyosunda yaklaşık olarak 0,5 ml' ye kadar buharlaştırılır (~ 2 saat). Rakı numunesi su banyosundan alınır oda sıcaklığına gelmesi beklenir. Ardından 2 ml' ye UP su ile tamamlanır. Vorteks cihazı ile karıştırılır. Numune, buharlaştırma sonrası rakı numunesi olarak gaz kromatografisi cihazında analizlenir.

Kromatograma ait detaylı bilgilerin verilmesi ve görüntü kalitesini artırmak amacıyla analiz sonuçları Origin veri analiz programına aktarılarak kromatogramlar tekrar çizdirilmiştir. Rakı numunesinin buharlaştırma öncesi ve sonrasına ait gaz kromatografisi analiz sonuçlarının, Origin veri analiz programı ile çizilen kromatogramları Şekil 6.1' de görülmektedir.

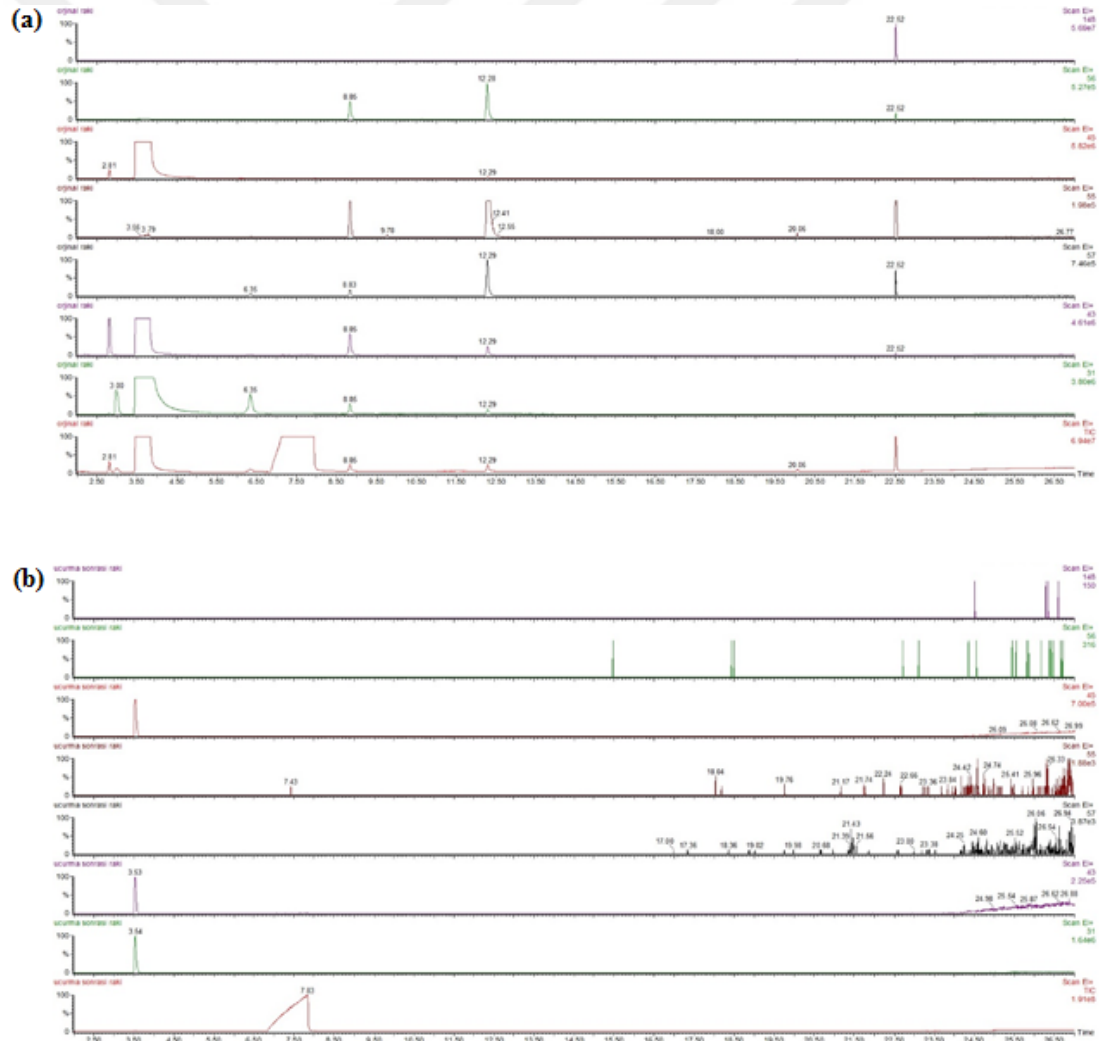


Şekil 6.1 : (a) Rakı numunesinin doğrudan enjeksiyonu (buharlaştırma yapılmaksızın) ile elde edilen HS-GC-MS sonuçlarının Origin programı ile çizilmiş kromatogramı. (b) Rakı numunesinin su banyosunda buharlaştırma işlemi sonrasında elde edilen HS-GC-MS sonuçlarının Origin programı ile çizilmiş kromatogramı.

Şekil 6.1' deki rakı kromatogramlarında; 1: Etil asetat, 2: Metanol, 3: Etanol, 4: 1-Propanol, 5: Su, 6: 2-metil-1-propanol, 7: 3-metil-1-bütanol, 8: Estragol, 9: Anetol bileşiklerine ait piklerdir.

Kromatogramdan anlaşıldığı üzere uçurma sonrası numune önemli derecede alkollerden temizlenmiştir. Sadece oldukça küçük bir etanol piki gözlenmiştir. Kromatogramdaki etanol alanları karşılaştırıldığında 401 kat düşüş olduğu hesaplanmıştır. Yani alkol oranı % 45' ten yaklaşık olarak % 0,1' e düşmüştür. Böylelikle numune matrisindeki alkoller ortamdaki uzaklaştırılmış oldu.

Buharlaştırma işlemi ile; rakıda etanol dışındaki diğer bileşenler çözüldüden tamamen uzaklaşmıştır. Bu maddelerin Şekil 6.2' de görüldüğü gibi ana fragmentleri zoom yapılarak incelendiğinde de çözeltide etanol dışında kalan madde gözlenmedi.



Şekil 6.2 : (a) Rakı numunesinin doğrudan enjeksiyonu (buharlaştırma yapılmaksızın) ile elde edilen HS-GC-MS kromatogramı. (b) Rakı numunesinin su banyosunda buharlaştırma işlemi sonrasında elde edilen HS-GC-MS kromatogramı.

6.5 Kalibrasyon Grafikleri

Florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonları için hazırlanan standart kalibrasyon çözeltilerindeki konsantrasyonlar Çizelge 6.1’ de verilmiştir.

Kalibrasyon çözeltilerinin her biri 2 mg/L internal bromür iyonu içermektedir.

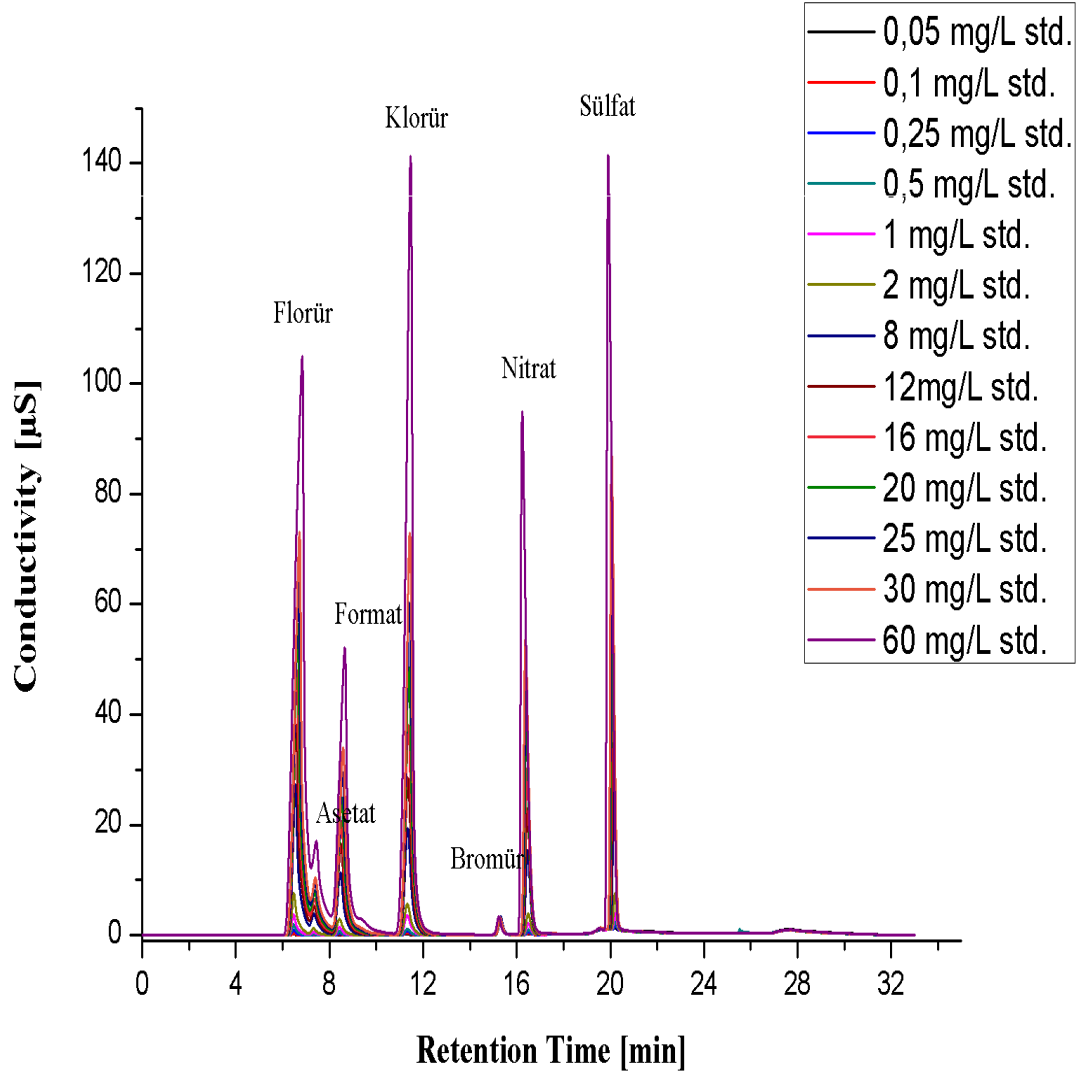
Çizelge 6.1 : Florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının bir arada bulunduğu standarda ait kalibrasyon grafiği için hazırlanan çözelti konsantrasyonları.

	Standart Konsantrasyonları (mg/L)											
Florür	0,05	0,1	0,25	0,5	1	2	8	12	20	25	30	60
Asetat	0,05	0,1	0,25	0,5	1	2	8	12	20	25	30	60
Format	0,05	0,1	0,25	0,5	1	2	8	12	20	25	30	60
Klorür	0,05	0,1	0,25	0,5	1	2	8	12	20	25	30	60
Nitrat	0,05	0,1	0,25	0,5	1	2	8	12	20	25	30	60
Sülfat	0,05	0,1	0,25	0,5	1	2	8	12	20	25	30	60

Standart kalibrasyon çözeltilerinin; NaOH eluent konsantrasyonu 0-7 dakikalar arasında 5 mM; 17-22,5 dakikalar arasında 23 mM; 23. dakikada 50 mM ve 28-33 dakikalar arasında 5 mM, supresor akımı 31 mA, kolon sıcaklığı 35°C, dedektör hücre sıcaklığı 40°C, akış hızı 0,250 mL/dk ve sample loop hacminin 10 µL olduğu kromatografi şartlarında analiz edilmek üzere IC cihazının oto örnekleyicisine yüklenir ve analiz yapılır.

Kromatograma ait detaylı bilgilerin verilmesi ve görüntü kalitesini artırmak amacıyla analiz sonuçları Origin veri analiz programına aktarılarak kromatogramlar tekrar çizdirilmiştir.

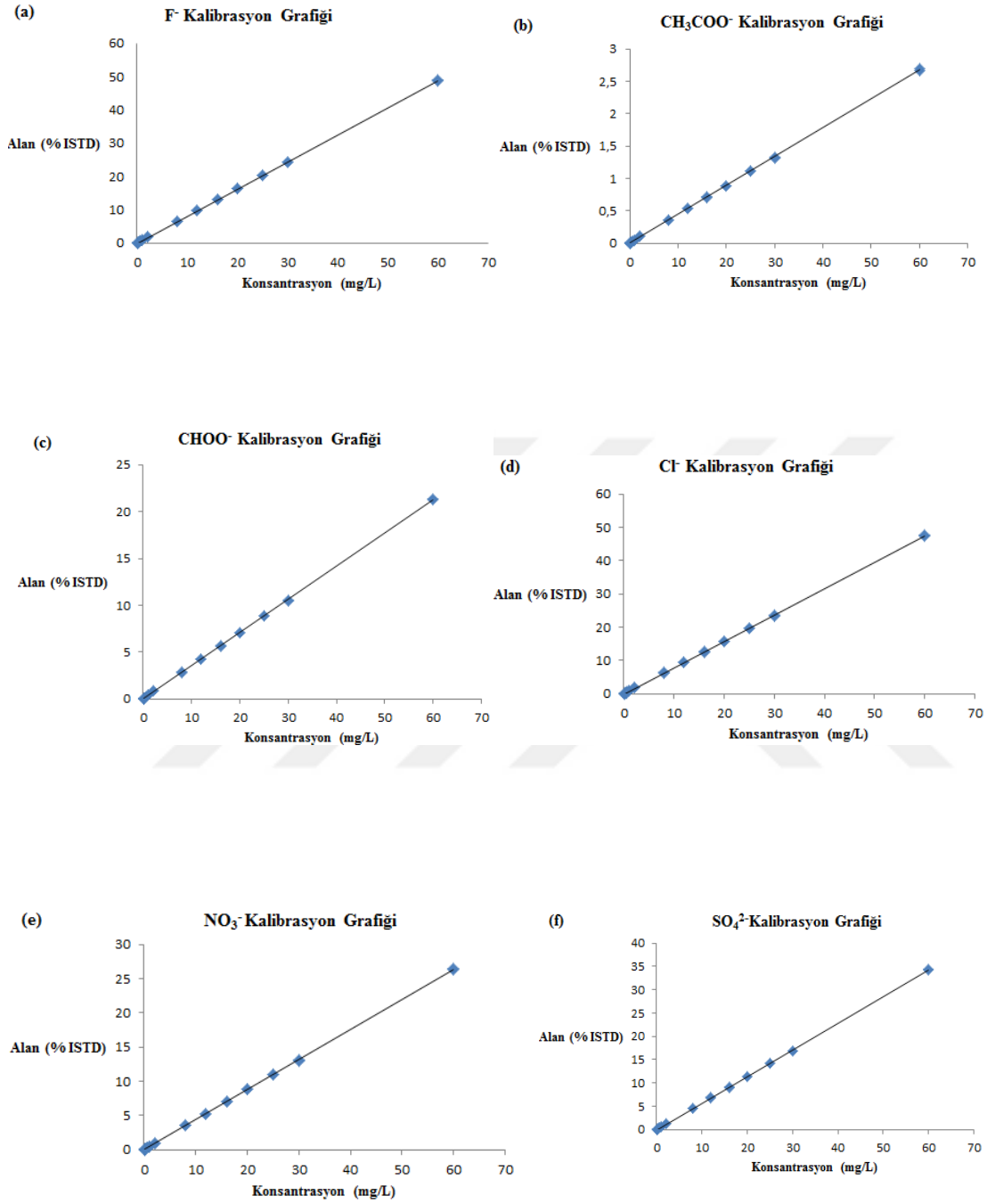
0,05-60 mg/L florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat standart çözeltilerinin optimize edilmiş kromatografi şartlarında üst üste alınan kromatogramları Şekil 6.3’ de görülmektedir.



Şekil 6.3 : 0,05-60 mg/L florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat standart çözeltilerinin optimize edilmiş kromatografi şartlarında üst üste alınan kromatogramları.

0,05-60 mg/L konsantrasyonlarındaki florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat standart çözeltilerinin Excel’ de çizilmiş kalibrasyon eğrileri ise Şekil 6.4’ de verilmiştir.

Çizelge 6.2’ de 0,05-60 mg/L florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarına ait metot performans parametreleri verilmiştir.



Şekil 6.4 : (a) 0,05-60 mg/L florür standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. (b) 0,05-60 mg/L asetat standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. (c) 0,05-60 mg/L format standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. (d) 0,05-60 mg/L klorür standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. (e) 0,05-60 mg/L nitrat standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi. (f) 0,05-60 mg/L sülfat standart çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi.

Çizelge 6.2 : 0,05-60 mg/L florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonları için metot performans parametreleri.

Anyon	Alıkonma zamanı (dk)	Kalibrasyon Aralığı (mg/L)	Regresyon Denklemi (n = 6)	r ²	Teorik Plaka Sayısı	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
F ⁻	6,56	0,05-60	y = 0,813x + 0,037	0,999	6467	0,005	0,018
CH ₃ COO ⁻	7,35	0,05-60	y = 0,044x + 0,002	0,999	13353	0,01	0,036
HCOO ⁻	8,48	0,05-60	y = 0,353x + 0,016	0,999	9585	0,005	0,016
Cl ⁻	11,35	0,05-60	y = 0,79x + 0,036	0,999	12700	0,006	0,02
NO ₃ ⁻	16,45	0,05-60	y = 0,439x + 0,02	0,999	45029	0,002	0,006
SO ₄ ²⁻	20,14	0,05-60	y = 0,568x + 0,026	0,999	102366	0,013	0,04

6.6 Geri Kazanma ve Tekrarlanabilirlik Çalışmaları

1000 mg/L standart bromür çözeltisinden 10 µL alınarak 5 mL' ye rakı numunesi ile tamamlandı ve çalkalanarak 2 mg/L internal bromür iyonu içeren spikesız rakı numunesi hazırlandı. Rakı numunesi 40-50°C su banyosunda yaklaşık olarak 0,5 ml' ye kadar buharlaştırıldı. Rakı numunesi su banyosundan alınıp oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Ardından 2 ml'ye UP su ile tamamlandı. Vorteks cihazı ile karıştırılıp, PES filtreden süzülerek viallere alındı.

Analizlenen spikesız rakı numunesindeki anyon miktarları göz önüne alınarak uygun oranlarda iki aşamalı spike yapıldı.

1000 mg/L standart bromür çözeltisinden 10 µL; 10 mg/L florür çözeltisinden 13 µL; 100 mg/L asetat çözeltisinden 700 µL; 100 mg/L format çözeltisinden 70 µL; 100 mg/L klorür çözeltisinden 70 µL; 100 mg/L nitrat çözeltisinden 12 µL; 100 mg/L sülfat çözeltisinden 87,5 µL alındı ve 4037,5 µL rakı numunesi ilave edilerek toplam hacim 5 mL' ye tamamlandı ve çalkalandı. Böylelikle 2 mg/L internal bromür iyonu içeren birinci aşama spikeli rakı numunesi hazırlandı.

1000 mg/L standart bromür çözeltisinden 10 µL; 10 mg/L florür çözeltisinden 26 µL; 100 mg/L asetat çözeltisinden 1400 µL; 100 mg/L format çözeltisinden 140 µL; 100

mg/L klorür çözeltisinden 140 µL; 100 mg/L nitrat çözeltisinden 24 µL; 100 mg/L sülfat çözeltisinden 180 µL alındı ve 3080 µL rakı numunesi ilave edilerek toplam hacim 5 mL' ye tamamlandı ve çalkalandı. Böylelikle 2 mg/L internal bromür iyonu içeren ikinci aşama spikeli rakı numunesi hazırlandı.

Spikeli rakı numuneleri 40-50°C su banyosunda yaklaşık olarak 0,5 ml' ye kadar buharlaştırıldı. Rakı numuneleri su banyosundan alınıp oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Ardından 2 ml' ye UP su ile tamamlandı. Vorteks cihazı ile karıştırılıp, PES filtreden süzülerek viallere alındı.

Hazırlanan örnekler, NaOH eluent konsantrasyonu 0-7 dakikalar arasında 5 mM; 17-22,5 dakikalar arasında 23 mM; 23. dakikada 50 mM ve 28-33 dakikalar arasında 5 mM, supresor akımı 31 mA, kolon sıcaklığı 35°C, dedektör hücre sıcaklığı 40°C, akış hızı 0,250 mL/dk ve sample loop hacminin 10 µL olduğu kromatografi şartlarında analiz edilmek üzere IC cihazının oto örnekleycisine yüklenir ve analiz yapılır.

Analiz sonuçları değerlendirilip, gerekli hesaplamalar yapılarak geri kazanım verileri elde edildi.

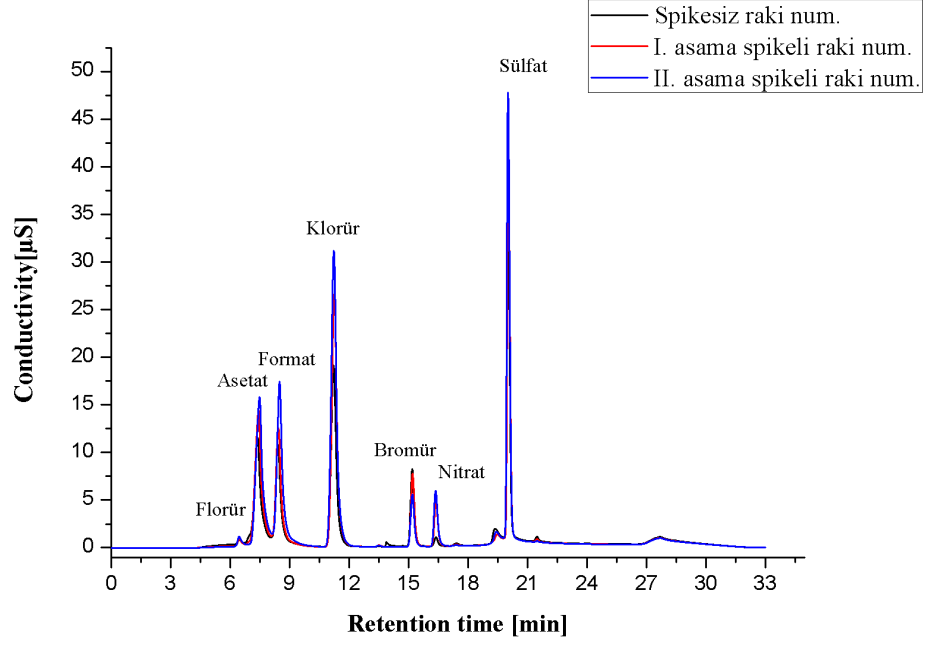
Spikeli ve spikesız rakı numuneleri ile alınan çoklu ölçümlerle tekrarlanabilirlik verileri elde edildi.

Tekrarlanabilirlik; konsantrasyon ve ayrılma zamanı parametrelerinin tekrarlanabilirliği olarak ayrı ayrı incelendi.

Kromatograma ait detaylı bilgilerin verilmesi ve görüntü kalitesini artırmak amacıyla analiz sonuçları Origin veri analiz programına aktarılarak kromatogramlar çizdirilmiştir.

Spikesız ve spikeli rakı numunelerinin optimize edilmiş kromatografi şartlarında alınan kromatogramlarının Origin programında üst üste çakıştırılmış hali Şekil 6.5' de görülmektedir.

Rakı numunesine yapılan iki aşamalı spike ile florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarına ait geri kazanım değerleri Çizelge 6.3' de verilmiştir. Spikeli numunelerde rakının kendisinden gelen mevcut anyon miktarları için, spikesız rakı numunesinin sonuçları göz önüne alınarak oransal hesaplamalar yapılmış ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 6.5 : Spikesız ve spikeli rakı numunelerinin optimize edilmiş kromatografi şartlarında alınan kromatogramlarının üst üste çakıştırılmış hali.

Spikeli ve spikesız rakı numeleri ile yapılan, rakı numunesindeki; florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının konsantrasyon tekrarlanabilirliğine ait istatistiksel veriler Çizelge 6.4' de verilmiştir.

Spikeli ve spikesız rakı numeleri ile yapılan, rakı numunesindeki; florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının ayrılma zamanı tekrarlanabilirliğine ait istatistiksel veriler Çizelge 6.5' de verilmiştir.

Marketlerde satılan rakı numunelerindeki anyon miktarlarının incelenmesi için 3 farklı Türk rakı markası ve Yunan rakısı olarak bilinen uzo ile analizler yapılmıştır. Numune hazırlama sırasında rakı numunelerine 2,5 kat deriştirme (buharlaştırma) yapıldığından, kromatogramlardan elde edilen sayısal veriler 0,4 ile çarpılarak numune içerisindeki anyonların gerçek miktarları belirlenmiştir. Marketlerde satılan rakı numunelerine ait analitik sonuçlar Çizelge 6.6' da verilmiştir. Çizelge 6.6' da verileri bulunan rakı markaları;

Numune 1: Yeni Rakı

Numune 2: İzmir Rakı

Numune 3 : Tekirdağ Rakı

Numune 4: Oyo marka uzodur.

Çizelge 6.3 : Rakı numunesindeki; florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarına ait geri kazanım verileri (N=6).

Anyon miktarı (mg/L)	Spike miktarı (mg/L)	% Geri kazanım (n=6)	%RSD (n=6)
F ⁻ : 0,05	Aşama I : 0,026	97,32	1,42
	Aşama II: 0,052	94,65	0,72
CH ₃ COO ⁻ : 27,02	Aşama I : 14	98,88	0,20
	Aşama II: 28	96,97	0,08
HCOO ⁻ : 2,68	Aşama I : 1,40	97,28	0,52
	Aşama II: 2,80	99,06	0,08
Cl ⁻ : 2,64	Aşama I : 1,40	96,79	0,25
	Aşama II: 2,80	96,69	0,17
NO ₃ ⁻ : 0,54	Aşama I : 0,24	97,83	0,61
	Aşama II: 0,48	97,81	0,55
SO ₄ ²⁻ : 3,50	Aşama I : 1,75	92,38	0,25
	Aşama II: 3,60	94,17	0,17

Çizelge 6.4 : Rakı numunesindeki; florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının konsantrasyon tekrarlanabilirliğine ait istatistiksel veriler (N=6).

Anyon	İstatistiksel parametre	Spikesız rakı num.	I. aşama spikeli rakı num.	II. aşama spikeli rakı num.
F ⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	0,05	0,07	0,08
	Std. Sapma	0,0003	0,0003	0,0004
	RSD %	0,71	0,50	0,44
CH ₃ COO ⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	27,02	35,73	43,91
	Std. Sapma	0,034	0,012	0,006
	RSD %	0,12	0,03	0,01
HCOO ⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	2,68	3,53	4,44
	Std. Sapma	0,003	0,005	0,001
	RSD %	0,11	0,14	0,03
Cl ⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	2,64	3,49	4,35
	Std. Sapma	0,005	0,003	0,003
	RSD %	0,19	0,08	0,06
NO ₃ ⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	0,54	0,67	0,80
	Std. Sapma	0,003	0,002	0,001
	RSD %	0,57	0,24	0,16
SO ₄ ²⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	3,49	4,45	5,56
	Std. Sapma	0,005	0,001	0,003
	RSD %	0,15	0,03	0,06

Çizelge 6.5 : Rakı numunesindeki; florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının ayrılma zamanı tekrarlanabilirliğine ait istatistiksel veriler (N=6).

Anyon	İstatistiksel parametre	Spikesız rakı num.	I. aşama spikeli rakı num.	II. aşama spikeli rakı num.
F ⁻	Zaman(dk)	6,44	6,45	6,43
	Std. Sapma	0,013	0,002	0,008
	RSD %	0,21	0,03	0,12
CH ₃ COO ⁻	Zaman(dk)	7,37	7,43	7,45
	Std. Sapma	0,017	0,002	0,02
	RSD %	0,23	0,03	0,23
HCOO ⁻	Zaman(dk)	8,39	8,43	8,45
	Std. Sapma	0,018	0,003	0,02
	RSD %	0,21	0,04	0,23
Cl ⁻	Zaman(dk)	11,19	11,25	11,24
	Std. Sapma	0,024	0,003	0,008
	RSD %	0,22	0,02	0,07
NO ₃ ⁻	Zaman(dk)	16,37	16,38	16,38
	Std. Sapma	0,012	0,001	0,005
	RSD %	0,08	0,01	0,03
SO ₄ ²⁻	Zaman(dk)	20,02	20,03	20,02
	Std. Sapma	0,01	0,002	0,003
	RSD %	0,05	0,01	0,02

Çizelge 6.6 : Marketlerde satılan rakı numunelerine ait analitik sonuçlar (N=3).

Anyon	İstatistiksel parametre	Numune 1	Numune 2	Numune 3	Numune 4
F ⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	0,02	-	0,01	-
	Std. Sapma	0,0001	-	0,0004	-
	RSD %	0,71	-	4,22	-
CH ₃ COO ⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	10,81	3,01	3,65	-
	Std. Sapma	0,014	0,001	0,0006	-
	RSD %	0,13	0,04	0,016	-
HCOO ⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	1,07	0,56	1,03	0,23
	Std. Sapma	0,001	0,001	0,001	0,0005
	RSD %	0,11	0,17	0,12	0,24
Cl ⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	1,06	0,16	0,69	24,17
	Std. Sapma	0,002	0,0002	0,00024	0,002
	RSD %	0,195	0,13	0,034	0,009
NO ₃ ⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	0,21	0,01	0,07	5,4
	Std. Sapma	0,0012	0,0001	0,0008	0,0013
	RSD %	0,57	0,96	1,22	0,024
SO ₄ ²⁻	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	1,4	0,12	1,26	8,93
	Std. Sapma	0,002	0,0002	0,0007	0,003
	RSD %	0,145	0,21	0,06	0,035



7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Alkollü içecekler ile birlikte vücuda alınan anyonlar, metabolizma tarafından farklı seviyelerde tolare edilir. Bu nedenle tüketici sağlığı açısından anyonların güvenilir şekilde tayini ve hızlı ölçümü son derece önemli bir konudur.

Bu çalışmada, rakı numunelerinde florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat tayini için güvenilir, hızlı ve basit bir kromatografik yöntem geliştirilmiştir. Literatürdeki diğer kromatografik yöntemlerle kıyaslandığında; geliştirilen yöntem uzun örnek hazırlama ya da matriks temizleme işlemlerine ihtiyaç duymaz. Ayrıca mobil faz olarak organik çözücü içermediğinden, atıklar çevreye zararlı değildir. Geliştirilen yöntem; kolay olması, yüksek hassasiyete sahip olması ve doğruluk açısından avantajlara sahiptir. Methot rakıda; florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfatın rutin gıda analizleri için uygundur.

Çalışmada gradient ve izokritik elüsyon kullanılan farklı kromatografik şartlar denenmiştir. Kromatografik şartlar en iyi ayırımın gözlenebildiği ve en kısa sürede cevap veren analiz gerçekleştirilene kadar geliştirilmiştir. Sonuç olarak; NaOH eluent konsantrasyonu 0-7 dakikalar arasında 5 mM; 17-22,5 dakikalar arasında 23 mM; 23. dakikada 50 mM ve 28-33 dakikalar arasında 5 mM, supresor akımı 31 mA, kolon sıcaklığı 35°C, dedektör hücre sıcaklığı 40°C, akış hızı 0,250 mL/dk ve sample loop hacminin 10 µL olduğu program en uygun kromatografik koşullar olarak belirlenmiştir. Bu yöntem ile rakıda kalitatif ve kantitatif analizler yapılmıştır.

Florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarını içeren standart çözeltiler hazırlandı, kalibrasyon eğrisi 0,05-60 mg/L konsantrasyon aralığında iyi bir lineerlik gösterdi, r^2 değerleri her bir anyon için 0,999 olarak bulundu. Spikeli ve spikesız rakı numunelerinin analizi ile anyonların % geri kazanım değerleri % 92,38 - 99,06 aralığında bulundu. Spikeli ve spikesız rakı numuneleri ile konsantrasyon ve ayrılma zamanları için tekrarlanabilirlik çalışması yapılmıştır. Çalışmada, marketlerde satılan farklı Türk rakı markaları (Yeni Rakı, İzmir Rakı, Tekirdağ Rakı) ve Yunan rakısı olarak bilinen uzo numunesi (Oyzo) ile analizler yapılmıştır.

Sonuç olarak yürütülen bu çalışmada, iletkenlik dedektörlü iyon kromatografisi ile rakı numunelerinde florür, asetat, format, klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının birlikte tayini için numune hazırlaması basit, ucuz, rutin analizler için hızlı, güvenilir ve hassas bir analiz metodu geliştirilmiştir.



KAYNAKLAR

- [1] **Skoog, A.D., Holler, F.J., Nieman, T.A.** (1997). Enstrümantal Analiz İlkeleri, 674-758.
- [2] **Weiss, J.** (2004). Handbook of ion chromatography, Weinheim, WileyVCH.
- [3] **Kromatografik Sistemler.** (2011). Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi Yayınları, Yayın No: 2209, 141-155, Eskişehir.
- [4] **Buzrul, S.** (2016). Türkiye’ de Alkollü İçki Tüketimi, Tütün ve Alkol Piyasası Düzenleme Kurumu (TAPDK), 2(3), 112-122, Ankara.
- [5] **Balcerzak, M., Kapica, D.** (2017). Fast ion chromatographic method for the determination of formates in alcoholic drinks, *Food Anal. Methods*, 10, 2358-2364.
- [6] **Lemos, M.A.T., Casella, R. J., Jesus, D.P.** (2015). A simple analytical method for determining inorganic anions and formate in virgin olive oils by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection, *Food Control*, 57, 327-332.
- [7] **Jackson, R. D., Brizendine, E. J., Kelly, S. A., Hinesley, R., Stookey, G. K., Dunipace, A. J.** (2002). The fluoride content of foods and beverages from negligibly and optimally fluoridated communities, *Community Dentistry and Oral Epidermology*, 30(5), 382-391.
- [8] **Ozsvath, D. I.** (2008). Fluoride and Environmental Health: a Review, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 8(1), 59-79.
- [9] **Öztürkcan, S.A., Acar, S.** (2017). Yaygın Olarak Kullanılan Antimikrobiyal Gıda Katkı Maddeleri ile İlgili Genel Bir Değerlendirme, IGUSABDER, 1-17.
- [10] **Osobamiro, T.** (2013). Analysis of Some Contaminants Commonly Found in Alcoholic Beverages, *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 8 (1), 53-56.
- [11] **Apostolopoulou, A.A., Flouros, A.I., Demertzis P.G., Akrida-Demertzi K.** (2005). Differences in concentration of principal volatile constituents in traditional Greek distillates, *Food Control*, 16(2), 157-164.
- [12] **Cortes, S., Gil, L., Fernandez, E.** (2005). Volatile composition of traditional and industrial Orujo spirits, *Food Control*, 16, 383-388.
- [13] **Buldini, P. L., Cavalli, S., & Trifiro, A.** (1997). State of the Art Ion Chromatographic Determination of İnorganic Ions in Food, *Journal of Chromatography A*, 789 (1-2), 529-548.

- [14] **Jakszyn, P., Gonzalez, J. A.** (2006), Nitrosamine and Related Food Intake and Gastric and Oesophageal Cancer Risk: a Systematic Review of the Epidemiological Evidence, *World Journal of Gastroenterology*, 12(27), 4296-4303.
- [15] **Daraei, H., Maleki, A., Mahvi, A. H., Alaei, L., Rezaee, R., Ghahremani, E., Mirzaei, N.** (2012). Simultaneous Determination of Inorganic Anions in Bottled Drinking Water by the Ion Chromatography Method, *Journal of Water Chemistry and Technology*, 37(5), 253-257.
- [16] **Dionex Reference Library, Manuals & Support.** (2007). (CD-ROM).
- [17] **555 Sayılı Kanun Hükmünde Kararname Gereği Coğrafi İşaretlerin Korunmasına İlişkin Rakı Tescil Talebi İlanı.** (2009). *T. C. Resmi Gazete*, 27426, 8 Aralık 2009.
- [18] **Kinoshita H., Ijiri I., Ameno S., Tanaka N., Kubota T., Tsujinaka M., Watanabe R., Ameno K.** (1998). Combined toxicity of methanol and formic acid: two cases of methanol poisoning, *International Journal of Legal Medicine*, 111: 334–335.
- [19] **Tanaka E., Honda K., Horiguchi H., Misawa S.** (1991). Postmortem determination of the biological distribution of formic acid in methanol intoxication, *Journal of Forensic Science*, 36, 936–938.
- [20] **Fidan, I. ve Şahin, İ.** (1993). Alkol ve Alkollü İçkiler Teknolojisi. A.Ü.Z.F. Yayınları, Yayın No: 863, 304, Ankara.
- [21] **Fidan, I. ve Anlı, E.** (2002). Yüksek Alkollü İçkiler. Kavaklıdere Eğitim Yayınları, Yayın No: 6, 258, Ankara.
- [22] **Arbuzov V.N., Savchuk S.A.** (2002). Identification of vodkas by ion chromatography and gas chromatography, *Journal of Analytical Chemistry*, 57, 428–433.
- [23] **Kapur B.M., Vandenbroucke A.C., Adamchik Y., Lehotay D.C., Carlen P.L.** (2007). Formic acid, a novel metabolite of chronic ethanol abuse, causes neurotoxicity, which is prevented by folic acid, *Alcoholism-Clinical And Experimental Research*, 31, 2114–2120.
- [24] **Hovda K.E., Urdal P., Jacobsen D.** (2005). Increased serum formate in the diagnosis of methanol poisoning. *Journal of Analytical Toxicology*, 29, 586–588.
- [25] **Kruse J.A.** (1992). Methanol poisoning. *Intensive Care Med*, 18, 391–397.
- [26] **Wallage H.R., Watterson J.H.** (2008). Formic acid and methanol concentrations in death investigations, *Journal of Analytical Toxicology*, 32, 241–247.
- [27] **Fidan, I., Denli, Y. ve Anlı, E.** (1996). Türkiye’de Üretilen Rakılarda Metanol Miktarı Üzerine Bir Araştırma, *Gıda*, 21(6), 415- 418.
- [28] **Distile Alkollü İçkiler Tebliği, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği 6.03.2005-25757 (Tebliğ No:2005/11), Türk Gıda Kodeksi Distile Alkollü İçkiler Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliği (Tebliğ No:2006/24).** (2006). *T. C. Resmi Gazete*, 26221, 7 Temmuz 2006.
- [29] **Altundağ, H., DüNDAR, M. Ş., Yüceel, Ç., Albayrak, S.** (2011). Sakarya İli İçme Sularında Flor Düzeylerinin İyon Seçici Elektrot ve İyon Kromatografisi ile Tayini, *SAÜ. Fen Bilimleri Dergisi*, 15(2),129-138.

- [30] **Blood, D.C., Radostits, O.M., Henderson, J.A.** (1983). Fluorine Poisoning, *Veterinary Medicine*, 6th Ed., London, England.
- [31] **Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Baspınar, N., Tiftik, A.M.** (2000). *Biyokimya*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- [32] **Kayar, N., Çelik, A.** (2001). *Manisa İli İçme Sularında Florür Düzeylerinin İyon Seçici Elektrod ile Saptanması*. Celal Bayar Üniversitesi, 10(40), 9-11.
- [33] **Yaarı, A.M., Ertürk, M.** (1982). Effect of Fluoride on Phosphatidylserine-mediated Calcium Transport, *Biochim Biophys Acta*, 686,1-6.
- [34] **Emsley, J.** (1998). *The Elements*. Third Edition, Oxford University Press Inc., Newyork.
- [35] **Orhan, E.** (2007). *Determination and Separation of Fluoride in Natural Waters*. (Yüksek Lisans Tezi). Ege Üniversitesi, 2007.
- [36] **Beyhan, M.** (2003). *Atık Çamurlar ve Doğal Malzemeler ile Sulardan Florür İyonu Giderilmesinin Araştırılması*. (Doktora tezi). YTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [37] **Chow, C.K., Hong, C.B.** (2002). Dietary vitamin E and selenium and toxicity of nitrite and nitrate, *Toxicology*, 180, 195-207.
- [38] **Cemek, M., Akkaya, L., Birdane, Y.O., Seyrek, K., Bulut, S., Konuk, M.** (2007). Nitrate and nitrite levels in fruity and natural mineral waters marketed in western Turkey, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 236-240.
- [39] **Guidelines for Drinking Water Quality.** (1998). Addendum to Vol. 1. Recommendations, Second ed. World Health Organization, Geneva, 10-11.
- [40] **Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2002/63) Ek 16, Yabancı Madde ve Bileşikler. Ek 3 Diğer Koruyucular.** (2002). *T. C. Resmi Gazete*, 24885, 23 Eylül 2002.
- [41] **Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2008/26).** (2008). *T. C. Resmi Gazete*, 26879, 17 Mayıs 2008.
- [42] **Abernathy, C.** (1999). EPA's Scientific Work and Regulatory Background. Health Effects from Exposure to Sulfate in Drinking Water Workshop, EPA 815-R-99-002, September 28, 1998 Atlanta, Georgia.
- [43] **Cabaroglu, T., Yilmaztekin, M.** (2005). Methanol and Major Volatile Compounds of Turkish Raki and Effect of Distillate Source, *Journal of the Institute of Brewing*, 117, 98-105.
- [44] **Gueven, A.** (2013). Chemical fingerprints of Raki: a traditional distilled alcoholic beverage, *Institute of Brewing & Distilling*, 119, 126-132.
- [45] **Yücesoy, D., Ozen, B.** (2013). Authentication of Turkish Aniseed Flavoured Distilled Spirit, Raki, *Food Chemistry*, 141, 1461-1465.



ÖZGEÇMİŞ

VESİKALIK
FOTO

Ad-Soyad : Melike Güler Şimşek
Doğum Tarihi ve Yeri : 1988, Üsküdar
E-posta : mcircir@itu.edu.tr

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2009, İTÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya
- **Yüksek Lisans** : Halen, İTÜ, Kimya Anabilim Dalı, Kimya