

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOMPLEKS MATRİKSLİ ÖRNEKLERDE
İC İLE ANYON TAYİNİ
(SÜT, İÇME SUYU, DENİZ SUYU)**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Orhan DESTANOĞLU**

Anabilim Dalı : Kimya

Programı : Kimya

HAZİRAN 2009

**KOMPLEKS MATRİKSLİ ÖRNEKLERDE
İC İLE ANYON TAYİNİ
(SÜT, İÇME SUYU, DENİZ SUYU)**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Orhan DESTANOĞLU
(509051216)**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 05 Mayıs 2009

Tezin Savunulduğu Tarih : 04 Haziran 2009

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Gülçin YILMAZ
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Reşat Apak
: Prof. Dr. Birsen Demirata Öztürk**

HAZİRAN 2009

ÖNSÖZ

Hem bu tezin hazırlanmasında hem de okul içi ve okul dışı her türlü desteğini benden hiç esirgemeyen çok saygıdeğer hocam Doç.Dr. Gülçin Gümüş Yılmaz'a teşekkürü bir borç bilirim.

Anabilim dalımız hocalarından Prof.Dr. Birsen Demirata Öztürk'ün ve Prof.Dr. Süleyman Akman'ın bana verdikleri desteklerden ötürü ne kadar teşekkür etsem azdır.

Laboratuvar çalışmalarımda gerekli malzemeleri sağladıkları ve arkadaşlıkları için Dilek Özyurt'a, Yasin Arslanoğlu'na, İ. Volkan Kumbaracı'ya, İbrahim Türhan'a, Ayça Özdemir'e, Mihrace Ergin'e, Melike Midilli'ye ve M. Şerif Cansever'e çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans sürecimde ve diğer sıkışık zamanlarımda beni anlayışla karşılayan ve bu günlere gelmemde en büyük paya sahip babam Musa Destanoğlu'na, annem Rukiye Destanoğlu'na, ağabeyim Ümit Destanoğlu'na ve kız kardeşim Pınar Balkan'a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca bu yolda ilerlemem için beni önemli derecede teşvik etmiş olan dayım Avni Erkan'a da sonsuz teşekkür ederim.

Haziran, 2009

Orhan Destanoğlu

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
ÖZET.....	xv
SUMMARY	xvii
1. GİRİŞ	1
2. İYON KROMATOĞRAFI.....	3
2.1 Kromatografi	3
2.1.1 Giriş.....	3
2.1.2 Kromatografinin genel tanımı	3
2.1.3 Kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması	4
2.1.4 Kolonlarda elüsyon kromatografisi	4
2.1.5 Analitin seyrelmesi.....	5
2.1.6 Kromatogramlar	5
2.2 İyon-Değiştirme Kromatografisi.....	6
2.2.1 Genel bilgi.....	6
2.2.2 İyon-değiştirme dengeleri	7
2.2.3 İyon-değiştirici dolgular.....	10
2.3 Deneşte Kullanılan İC Sisteminin Ana Bölümleri.....	12
2.3.1 İCS-3000 sistemi.....	12
2.3.2 İonPac AS20 anyon değiştirici kolon.....	17
2.3.3 AS20 kolonunun özellikleri	19
3. ANYONLAR VE ANYON ANALİZLERİNİN ÖNEMİ.....	21
3.1 Siyanür İyonu ve Özellikleri	21
3.1.1 Siyanürün biyolojik etkisi	22
3.1.2 Siyanür kaynakları	23
3.1.3 Siyanürlerin kullanım alanları.....	23
3.1.4 Siyanür tayininde yapılan çalışmalar	24
3.2 Tiyosiyanat İyonu ve Özellikleri	29
3.2.1 Tiyosiyanat kaynakları	30
3.2.2 Tiyosiyanat tayininde yapılan çalışmalar.....	31
3.3 Nitrat ve Nitrit Anyonları Hakkında Genel Bilgi	32
3.3.1 Nitrat kaynakları.....	33
3.4 İyodür Anyonu Hakkında Genel Bilgi	35
4. NIS PROTEİNİ VE ANYONLARIN BU PROTEİNE ETKİLERİ.....	37
4.1 NIS Proteini Hakkında Genel Bilgi.....	37
4.2 Sodyum (Na ⁺)/İyodür Symporter (NIS) İnhibitörleri.....	39
4.2.1 Hipotiroidizm veya hipotiroksinemia'nın oluşması	40
4.2.2 Siyanüre maruz kalan yetişkinlerde aşırı NIS inhibisyonu	40
4.2.3 Tiyosiyanat - koruyuculu inek sütlerinin yetişkin bayanların tüketilmesiyle meydana gelen olumsuz tiroid sağlık etkileri ile	

aşırı NIS inhibisyonu.....	41
4.2.4 Okul çağındaki çocukların nitratla kontamine olmuş su tüketmesiyle gözlenen aşırı NIS inhibisyon RfD'sinin hyperthropy için hesabı	42
4.2.5 NIS inhibitör alımında mevsime ve beslenmeye göre farklılıklar	44
4.2.6 Ceninde toplam NIS inhibisyon alımı	44
4.2.7 Emziren bebeklerde toplam NIS inhibisyon alımı	45
4.2.8 NIS inhibisyonunu tolare etmede iyodürle beslenmenin rolü	46
4.2.9 Herbir NIS stresörün etkisinin değerlendirilmesi.....	47
4.2.10 İyodürle zayıf beslenmede azalan toplam NIS inhibisyon yüklenmesinin etkisinin değerlendirilmesi.....	48
5. SÜT VE SÜTÜN GENEL ÖZELLİKLERİ.....	49
5.1 Sütün Önemi	49
5.2 Sütçülüğün Tarihçesi	49
5.3 Dünya Sütçülüğü	50
5.4 Sütün Bileşenleri.....	50
5.4.1 Süt yağı.....	53
5.4.2 Süt karbonhidratı	54
5.4.3 Süt proteinleri.....	55
5.4.4 Mineraller ve vitaminler	55
5.5 Sütün Fiziksel Özellikleri	56
5.6 Sütün Besin Değeri.....	57
5.7 Literatürdeki Süt Çalışmaları.....	58
6. İÇME SUYU	61
6.1 İçme Suyu Hakkında Genel Bilgi.....	61
6.2 İçme Sularında Anyon Analizleri İçin Yapılan IC Çalışmaları.....	62
6.3 Türkiye'de İçme Suyu Kalitesinin İzlenmesi	63
7. DENİZ SUYU	65
7.1 Deniz Suyunun Kimyasal Bileşimi.....	65
7.2 Deniz Suyu ile İlgili Bazı Literatür Çalışmaları	67
8. DENEYSEL KISIM	69
8.1 Kullanılan Kromatografi Sistemi.....	69
8.2 Kimyasallar ve Araçlar	69
8.3 Standart Çözeltilerin Hazırlanması.....	70
8.4 Melamin Formaldehit Reçinesinin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu	71
8.5 Siyanürün Siyanata Türevlendirilmesi ve İnterferans Etkileri	72
8.5.1 Siyanat çözeltisinin hazırlanması	72
8.5.2 Siyanat anyonunun IC kromatogramında rezolusyonunun optimizasyonu için yapılan çalışmalar	73
8.5.3 Nitrit anyonunun siyanür tayinine etkisinin giderilmesi	76
8.5.4 Nitrit Anyonunun siyanür tayinine etkisi	76
8.5.5 Yüksek Konsantrasyondaki klorürün siyanür tayinine etkisi.....	78
8.6 İçme Suyu Örneklerinin Analize Hazır Hale Getirilmesi.....	78
8.6.1 İçme sularında siyanür ve diğer anyonların tayini	79
8.7 Yapay ve Gerçek Deniz Suyu Örneklerinin Analize Hazırlanması	82
8.7.1 Gerçek deniz suyunda seyreltme yoluyla siyanür analizi	82
8.7.2 Yapay deniz suyu örneklerinin analize hazır hale getirilmesi.....	82
8.8 İyon Kromatografik Yöntemle Sütte Tiyosiyanat ve İyodür Anyonlarının Birlikte Tayini	85
8.8.1 Süt örneklerinin analize hazır hale getirilmesi.....	85
8.8.2 Süt örneklerinde anyon analiz sonuçları	87

9. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	91
KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ.....	99

KISALTMALAR

CR-ATC	: Continously Regenerated-Anion Trap Column
Diğ.	: Diğlerleri
EG	: Eluent Generator
FIA	: Flow injection analysis
IC	: Ion chromatography
ISE	: İyon seçici elektrot
KKDR	: Kuvvetli katyon değıştirici reçine
MF	: Melamin Formaldehit
MMS	: MikroMembran Supresör
NIS	: Na ⁺ /I ⁻ Symporter
OIG	: Office of Inspector General
RFIC	: Reagent-Free Ion Chromatography
SPEC	: Serum perchlorate equivalent concentration
SRS	: Self-Regenerating Supprassor
T₃	: Triiodothyronine
T₄	: Thyroxine
TIU	: Total Iodide Uptake
TSH	: Tiroid Salgılatıcı Hormon
U.S. EPA	: United States Environmental Protection Agency
UP	: Ultra Pure, Ultra Saf

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 : Kolon kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması.	8
Çizelge 3.1 : Nitrat içeren gıdalar.....	34
Çizelge 4.1 : Perklorat, tiyosiyanat ve nitrat anyonlarının NIS'a nispi etkileri [46].	39
Çizelge 4.2 : Banergee'nin, siyanür havuzu içeren bir fabrikada yaptığı çalışmanın sonuçları [46].	41
Çizelge 4.3 : Banergee'nin tiyosiyanat koruyuculu ve koruyucusuz sütleri tüketen bayanlarda yaptığı çalışma sonuçları [46].	42
Çizelge 4.4 : Tajtáková'nın farklı konsantrasyonlarda nitrat içeren suları tüketen çocuklarda yaptığı çalışmada tiroid hacimlerinin sonuçları [46]......	43
Çizelge 4.5 : Tajtáková'nın farklı konsantrasyonlarda nitrat içeren suları tüketen çocuklarda yaptığı çalışmada toplam thyroxine (tT4) ve serbest triiodothyronine (fT3) konsantrasyonlarının sonuçları [46].	43
Çizelge 4.6 : Mevsimlere göre serum tiyosiyanatındaki farklılıklar [46]......	44
Çizelge 4.7 : Cenin toplam NIS yüklenmesini hesaplamak için kordondan alınan örneklerde yapılan çalışma sonuçları [46].	45
Çizelge 4.8 : NIS inhibisyonunu tolare etmede iyodürle beslenmenin sonuçları.....	46
Çizelge 4.9 : İyodür miktarı ile vücudun toplam NIS inhibisyon yüklemesi arasındaki ilişki.	47
Çizelge 5.1 : Süt bileşenleri.	51
Çizelge 5.2 : Birkaç çeşit sütün ortalama bileşimi, 100 gramda g olarak	52
Çizelge 5.3 : İnek sütü ve anne sütü yağının yağ asitleri bileşenleri.....	54
Çizelge 5.4 : Yağı alınmış sütün proteinleri	55
Çizelge 6.1 : İngiltere'de içme sularında anyon analizlerinde uygulanan metotlar ..	62
Çizelge 7.1 : Deniz suyunda bulunan elementlerin yaklaşık miktarları ve tuzluluk katkı yüzdesi	65
Çizelge 8.1 : Nitrit, bromür, nitrat ve fosfatın 250 µg/L siyanür içeren çözeltideki % geri kazanımları	79
Çizelge 8.2 : Yedili Florür, Klorür, Nitrit, Bromür, Nitrat, Sülfat ve Fosfat anyonlarının birarada bulunduğu standarda ait kalibrasyon grafiği için hazırlanan çözelti konsantrasyonları	80
Çizelge 8.3 : Piyasa içme sularının 10 defa analizlenmesi ile elde edilen sonuçlar..	81
Çizelge 8.4 : Yapay deniz suyu bileşenleri [76].	83
Çizelge 8.5 : Piyasada satılan sütlerin analiz sonuçları	89

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : (a) Kolon elüsyon kromatografisi ile A ve B bileşenlerinin ayrılma diyagramı. (b) dedektör sinyali.	6
Şekil 2.2 : Şekilde 2.1’deki A ve B bileşen bantlarının kolonda iki değişik göç zamanındaki derişim profilleri.	7
Şekil 2.3 : Çapraz-bağlı polistiren iyon değiştirici reçinenin yapısı.....	11
Şekil 2.4 : Supresörde meydana gelen iyon değişimi	14
Şekil 2.5 : Supresörlü sistemde anyonların artan hassasiyeti	15
Şekil 2.6 : Dedektörün sıcaklık kararlılığı.	15
Şekil 2.7 : İletkenlik dedektörü (siyah) ve Supresör (beyaz).....	15
Şekil 2.8 : ICS-3000 sisteminin AS otoörnekleyciden aynı anda alınan iki analiz sonucu.	16
Şekil 2.9 : ICS-3000 sisteminin modül ve parçaları	17
Şekil 2.10 : IonPac AS20 kolon dolgusunun yapısı	18
Şekil 2.11 : AS20 kolonunda ayrımı yapılmış yirmiüç anyon.....	18
Şekil 2.12 : Anyonların AS16 ile AS20 kolonlarında ayrılmaları.....	19
Şekil 3.1 : Siyanürün metabolizmada tiyosiyanata dönüştürülerek atılması	30
Şekil 4.1 : Tiroid bezinde NIS’in iyodürü taşıma mekanizması.....	37
Şekil 8.1 : MF reçinesinin şematik diyagramı	71
Şekil 8.2 : MF reçinesinin FT-IR spektrumu	72
Şekil 8.3 : Siyanat oluşum reaksiyonunun ürünlerinin kolonda ayrıldığını gösteren kromatogramı	74
Şekil 8.4 : a) Eluent konsantrasyonu 40 mM, supresör akımı 38 mA; b) Eluent konsantrasyonu 0-8,5 dk 30 mM, 8,5-15 dk 45 mM, akım 29mA; c) Eluent konsantrasyonu 0-8,5dk 20-30mM, 8,5-18dk 30 mM,supresör akımı 19mA; d) Eluent konsantrasyonu 0-8 dk 15 mM, 8,1-20 dk 24 mM, supresör akımı 15mA	75
Şekil 8.5 : a) Siyanürün 25, 50, 100, 250 ve 500 µg/L konsantrasyonlarının kromatogramları; b) kalibrasyon eğrisi ($r^2=0,999$).....	75
Şekil 8.6 : 5, 10, 25, 50 ve 100 µg/L konsantrasyonlarındaki siyanürün siyanata dönüştürülmesiyle oluşturulan kalibrasyon grafiği. ($r^2=0,998$).....	76
Şekil 8.7 : a) Siyanatın nitritten en iyi ayrıldığı hali, resolusyon: 7,98	77
Şekil 8.8 : Nitritin siyanata girişiminin olacağı konsantrasyon katsayısının belirlenmesi için çizilen eğri.	77
Şekil 8.9 : Yöntem I de içme suyuna 0,25, 0,50 ve 1,00 mg/L siyanür ilavesi ile oluşturulan kromatogram	80
Şekil 8.10 : 10 kat seyreltilmiş deniz suyu numunesinden siyanatın geri kazanımı..	82
Şekil 8.11 : I) 10 mL örneğin KKDR içeren kolondan geğmiş kromatogramı; II) 10 mL örneğin KKDR içeren kolondan geçtikten sonra 1 g MF reçine ile muamele edilmesiyle elde edilen kromatogram; III) 10 mL örneğin KKDR içeren kolondan geçtikten sonra 2 g MF reçine ile muamele edilmesiyle elde edilen kromatogram; IV) 10 mL örneğin KKDR içeren kolondan (25x1 cm) geçtikten sonra MF reçinesi içeren kolondan geçtikten sonraki kromatogramı.....	84

Şekil 8.12: Şekil 8.11, IV. maddesinde ki işlemde sonra alınan kromatogram	84
Şekil 8.13: a) 5 mL süte 50 µL % 40 sitrik asit ilavesi, b) 5 mL süte 37,5 µL % 40 sitrik asit ilavesi, c) 5 mL süte 25 µL % 40 sitrik asit ilavesi	86
Şekil 8.14: a) 5 mL süt örneğinin 50 µL % 40 sitrik asit ilave edilip santrifüjden sonra alınan kromatogram, b) 0,5 g katyon değiştirici reçine ile muamele edilen 5 mL numunenin kromatogramı, c) 2 g katyon değiştirici reçine ile muamele edilen 5 mL numunenin kromatogramı ..	86
Şekil 8.15: Süt örneği kromatogramı	88

KOMPLEKS MATRİKSLİ ÖRNEKLERDE İC İLE ANYON TAYİNİ (SÜT, İÇME SUYU, DENİZ SUYU)

ÖZET

İyon Kromatografi metoduyla kompleks matriksli örneklerde eser anyon analizleri, yüksek zemin cevabı nedeniyle imkansızdır. Böyle çalışmalarda örnek seyreltilmesine rağmen bu, eser analizlerinde istenmeyen bir durumdur.

Bu çalışmada, içme suyu ve deniz suyunda siyanür ve sütte, iyodür ve tiyosiyanatın birlikte tayini amaçlanmıştır.

İlk olarak, siyanürün standart çözeltilerindeki iletkenlik dedektörü ile tayini detaylı olarak araştırılmıştır. Hidrosiyanik asit, düşük disosiyasyon sabitine sahip olduğundan dolayı kloramin-T ile reaksiyonu sonucu siyanata dönüştürülmüştür. Bu metotla siyanürün analizi üzerine çeşitli anyonların etkisi araştırılmıştır. 100 µg/L siyanür analizine 300 mg/L klorür varlığının (3000 kat) girişim yapmadığı bulundu. Nitrit anyonu birçok metotta siyanür analizini bozar. Bu çalışmada, nitrit ve siyanür başarılı bir şekilde ayrılabilmiş ve kantitatif olarak tayin edilebilmiştir.

Bu çalışmada ayrıca deniz sularında siyanür tayini için matriksin temizlenmesinde yeni bir metot geliştirilmiştir. Deniz suyu, önce H⁺-formunda kuvvetli asidik katyon değiştirici reçine içeren bir kolondan daha sonra melamin formaldehit içeren bir kolondan geçirilmiştir. Bu metotta örnek seyreltilmemiş ve matriks iyonları elimine edilmiştir.

Süt örneklerinde tiyosiyanat tayini bebek ve çocuklar üzerine potansiyel sağlık etkilerinden dolayı önemlidir. Yüksek miktarda yağ, protein ve karbonhidrat varlığından dolayı analizden önce süt örneklerinin temizlenmesi gerekir. Çalışmamızda, süt örneklerinde tiyosiyanat, iyodür ve bazı anyonların birlikte tayini için temizleme metodu geliştirilmiştir. Bu amaçla örnekler, süt proteinlerini çöktürmek için asetonitrille muamele edildi. Daha sonra asetonitril tamamen uçuruldu. Süzüntü, SPE kartuştan ve PES filtreden sırasıyla geçirilerek iyon kromatografi ayırma kolonuna enjekte edildi. Geliştirilen metot, sütte SCN⁻, Γ, NO₂⁻, Br⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ ve PO₄³⁻ anyonlarının aynı anda tayini için uygundur.

DETERMINATION OF ANIONS IN COMPLEX-MATRIX-LIQUIDS BY IC

SUMMARY

The determination of trace anions by ion chromatography in complex matrix is impossible because of high background. Although most methods involves sample dilution, this is undesirable in trace analysis.

The aim of this work is to analyze cyanide in drinking water and sea water and simultaneous determination of iodide and thicyanate in milk samples.

First of all, determination of cyanide in standart solution by conductivity dedection is investigated in detail. Cyanide is reacted with chloramine-T to form cyanate due to low dissosiation constant of cyanide.

The effects of various possible interferent ions on the analysis of CN^- by the recommended method were also investigated. It is found that 300 mg/L chloride did not interfere in analysis of 100 $\mu\text{g/L}$ cyanide. Nitrite is also a serious interferent in some reported studies. In present work, nitrite and cyanide were successfully seperated and determinated quantitatively.

We present here also a pretreatment method for the determination of cyanide in sea water that leads to a clean matrix. Sea water is treated with an H^+ -form cation exchange resin and then sequantially melamine-formaldehyde resin. There is essentially no dilution of sample and the matrix effects are eliminated.

The determination of SCN^- in milk is important owing to its potential health impact on infant and children. The presence of large amount of fats, proteins, carbonhydrates etc. demand some initial cleanup from milk. In our work, we also developed a cleanup method for simlutenous determination of SCN^- and I^- and some anions in milk samples. For this purpose samples treated with acetonitrile to precipitate some milk proteins. Then evaporated to get without acetonitrile in supernatant. After this step, supernatant is passed in SPE cartridge and filtered through PES filter before introduce ion chromatography seperation column. Developed method is suitable for simultane determination of SCN^- , I^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , and PO_4^{3-} anions in milk.

1. GİRİŞ

Çözeltide anyon analizleri için şu yöntemler kullanılır; iyon kromatografi, kapiler elektroforez, akış-injeksiyon analizi, spektrofotometrik analizler ve elektrokimyasal metotlar. İyon kromatografi, kısa zaman içinde yüksek hassasiyette geniş yelpazede iyonları ayırma ve tayin etmede en çok tercih edilen yöntemdir [1].

İyon-değiştirme kromatografi (IC) çoğu zaman iyon kromatografi olarak kısaltılır. İyon değiştirici reçinelerin kullanımına dayanan iyonların ayrılması ve tayini için modern ve etkili bir yöntemdir. İyon-değiştirme olayları genel prensiplerde açıklanacağı gibi, çözeltideki iyonlar ile çözünmeyen, yüksek moleköl ağırlıklı bir katının yüzeyindeki benzer işaretili iyonlar arasındaki değiştirme dengesi temeline dayanmaktadır [2]. Bu çalışmada kullandığımız Dionex ICS-3000 cihazı, verimi, üretkenliği ve öncesine göre on kat daha yüksek performansı ile tamamıyla bütünleştirilmiş bir sistemdir. Bu sistemde aynı anda iki analiz tek bir otoörnekleyiciden tek bir uygulama ile yapılabilir. Ayrıca pompa hem isokratik hem de gradient olarak çalışabilir. Dual sistemlerde üretimlilik, esneklik, hassasiyet ve seçicilik artar ve ekonomik avantajlar önemli ölçüde göze çarpar [3].

İnsan dahil tüm canlılar yaşamak için mutlak suretle suya ihtiyaç duymaktadırlar. İhtiyaç karşılanırken suların belli bir asgari kaliteyi sağlaması gerekmektedir. İçme sularında yaygın anorganik anyonların tayini IC'nin dünyada en önemli uygulamalarından birisidir [4]. Bilindiği gibi deniz suyu yapı olarak diğer sulara göre bir takım farklılıklar gösterir. Deniz suyunda en çok rastlanan çözünmüş maddeler tuzlardır. Çünkü matriksteki yüksek anyon konsantrasyonlarında eser anyonların analizleri zorlaşır. Bu yüzden deniz sularında anyon analizleri içme sularına göre zordur. MF reğineye siyanürün tutunmadığını G. Gümüş ve arkadaşları belirlemiş ve bundan yararlanarak siyanürü diğer anyonlardan ayrılması için denemeler yapılmıştır [5].

Deniz suyunda olduğu gibi süt örneklerinde de bazı anyonların IC analizleri doğrudan yapılamamaktadır. Sütün matriksinde bulunan proteinler, karbonhidratlar, yağlar, mineraller ve diğer tuzlar gibi bileşenler, baseline iletkenlik değerini

arttırarak eser tiyosiyanat ve iyodür anyonlarının analizlerine önemli ölçüde engellemektedirler. Bunun için öncelikle proteinler ve katyonlar ortamdaki uzaklaştırıldıktan sonra sütün diğer bileşenlerinin elimine etmek amacıyla ekstraksiyon çalışmaları yapılmıştır [6].

Yeni doğan bebeklerin ve çocukların en fazla tükettiği besin maddesi olan sütte NIS inhibitörleri ile iyodür anyonlarının analizleri genel toplum sağlığı açısından hassas bir konudur. Çünkü NIS, kandan tiroid bezine iyodür yerine inhibitörleri taşıdığından tiroid hormonlarının üretimini azaltarak bebeklerde ve çocuklarda zamanla zeka, gelişim ve büyüme gibi bazı sorunlar ortaya çıkar [7].

Matriksteki anyonların konsantrasyonlarının yüksek olması ile oluşan girişimin yanı sıra kromatografi kolonomuzda çok yakın hatta aynı alıkonma zamanlarında çıkabilen anyonlarında ayırımı için ICS-3000 iyon kromatografi cihazında optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.

2. İYON KROMATOĞRAFI

2.1 Kromatografi

2.1.1 Giriş

Genellikle, kimyasal tayin yöntemleri seçici olup belki çöz azı spesifikdir. Bunun sonucu olarak, analitik işlemlerde girişim yapabilecek maddelerden ayrılması çoğu zaman zorunludur. Yirminci yüzyılın ortalarına kadar analitik ayırmalar çöktürme, damıtma ve ekstraksiyon gibi klasik yöntemlerle yapılyordu. Günümüzde, analitik ayırmalar, özellikle numune çok bileşenli ve karmaşık ise, çoğunlukla kromatografi ve elektroforez ile yapılmaktadır.

Kromatografi, bilimin tüm dallarında uygulaması bulunan güçlü bir ayırma yöntemidir. Kromatografi yirminci yüzyılın başında Rus botanikçi Mikhail Tswett tarafından bulunmuş ve onun tarafından isimlendirilmiştir. Tswett bu tekniği, toz kalsiyum karbonat doldurulmuş bir cam kolondan bitki pigmentleri çözeltisini geçirerek klorofil ve ksantofil gibi birçok bitki pigmentini ayırmada kullanmıştır. Ayrılan maddeler kolonda renkli bantlar şeklinde gözüktüğünden, yöntem için kromatografi adını kullanmıştır (Yunancada chroma “renk” ve graphein “yazma” anlamına gelmektedir.)

Son yıllarda hem birçok yeni kromatografik teknik geliştiği hem de bilimcilerin karmaşık karışımları ayırmak için daha iyi tekniklere gereksinimleri arttığı için, kromatografik uygulamalar çok büyük oranda artmıştır. Bu yöntemlerin bilime büyük katkılar yapması sonucu bu alandaki buluşlarına karşılık 1952 yılında A.J.P. Martin ve R.L.M. Synge’ye Nobel ödülü verilmiştir. Daha da önemlisi 1937 ile 1972 yılları arasında alınan 12 Nobel Ödülü kromatografinin önemli rol aldığı çalışmalara verilmiştir. Şüphesiz, günümüze kadar bu sayı da artmıştır.

2.1.2 Kromatografinin genel tanımı

Kromatografi kompleks karışımlarda bulunan birbirine yakın özellikteki maddeleri ayırmak için kullanılan birçok yöntemi içerir; bu ayırmaların çoğu başka yöntemlerle yapılamamaktadır. Bütün kromatografik ayırmalarda numune gaz, sıvı veya bir

süperkritik akışkanı olan hareketli faz ile taşınır. Bu hareketli faz bir kolonda veya bir katı yüzeyde sabitleştirilmiş kendisi ile karışmayan bir durgun faz içinden geçmeye zorlanır. Bu iki faz numunenin bileşenlerinin hareketli ve durgun fazlarda farklı oranlarda dağılacağı şekilde seçilir. Durgun faz tarafından kuvvetli tutulan numune bileşenleri, hareketli fazın akışıyla çok yavaş hareket ederler. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu, numune bileşenleri birbirlerinden kalitatif ve/veya kantitatif olarak analizlenebilen farklı bantlar veya bölgeler şeklinde ayrılırlar.

2.1.3 Kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması

Kromatografik yöntemler iki şekilde sınıflandırılabilir. Birincisinde, hareketli ve durgun fazların fiziksel olarak nasıl temas ettirildikleri esas alınır. Kolon kromatografide, durgun faz ince bir kolonda tutulur ve hareketli faz basınç altında bu durgun faz arasından geçmeye zorlanır. Düzlemsel kromatografide, durgun faz düz bir plaka üzerine veya bir kağıdın gözenekleri arasına tutturulur ve bu durumda hareketli faz durgun faz arasından kapiler etkisiyle veya yerçekimi etkisiyle hareket eder. Ancak, her iki tür kromatografinin dayandığı dengeler aynıdır ve kolon kromatografisi için geliştirilmiş kuramlar düzlemsel kromatografiye de kolaylıkla uygulanabilir.

Kromatografinin daha temel bir sınıflandırılması kullanılan durgun ve hareketli fazların tipleri ve fazlar arasında madde aktarımını sağlayan dengelerin cinslerine göre yapılır. Şekil 2.1’de kromatografinin üç temel tipi gösterilmektedir: sıvı kromatografisi, gaz kromatografisi ve süperkritik akışkanlı kromatografisi. Bu isimlerde de geçtiği gibi, bu üç teknikte hareketli faz sırasıyla

sıvı, gaz ve süperkritik akışkandır. Çizelgenin ikinci kolonunda görüldüğü gibi, birçok kromatografik yöntem ilk iki teknikten birine girmektedir.

Sadece sıvı kromatografisi, hem kolonlarla hem de yüzeyler üzerinde gerçekleştirilebilir; gaz kromatografisi ve süperkritik sıvı kromatografisi yalnız kolonlarda gerçekleştirilir ve kolonun iç yüzeyinde hareketli faz bulunur.

2.1.4 Kolonlarda elüsyon kromatografisi

Şekil 2.1, 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 2.1'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.

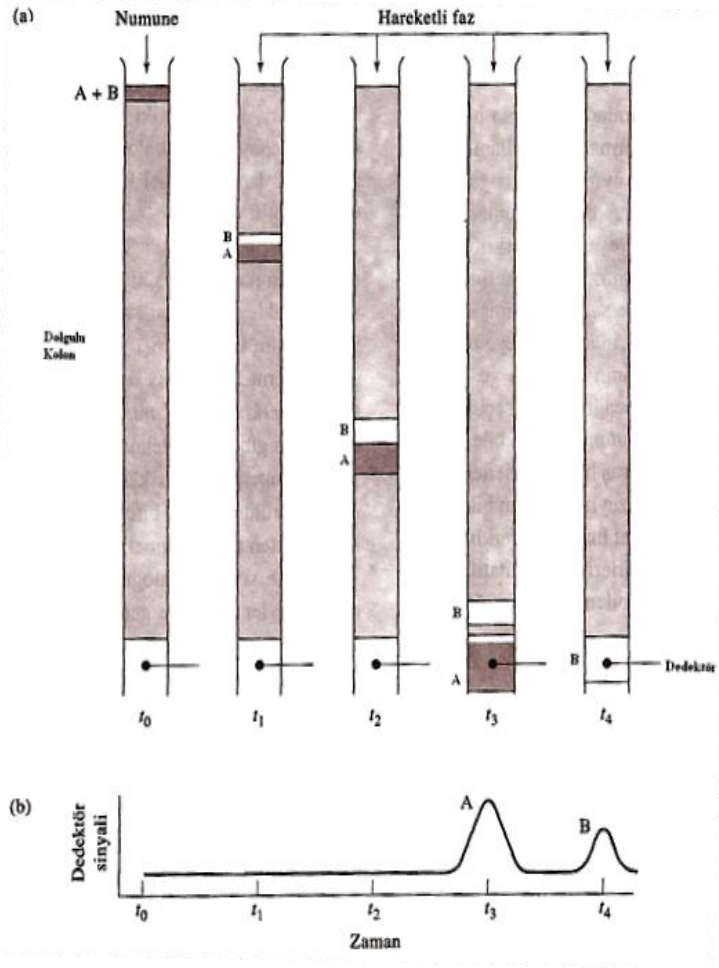
Kolona çözücünün sürekli olarak verilmesi, hareketli ve durgun faz arasında sürekli madde aktarımı yaparak, çözünen madde moleküllerini kolonda aşağıya doğru taşır. Fakat, çözünen madde hareketi sadece hareketli fazda olduğu için, çözünen maddenin kolonda göç ettiği ortalama hızı, onun hareketli fazda geçirdiği zaman kesri ile orantılıdır. Durgun fazın kuvvetli tuttuğu maddeler için, bu kesir küçük (Şekilde 2.1'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 2.1'de t_2 zamanı). Ayrılan bileşenler, kolondan yeterli miktarda hareketli faz geçirilerek izole edilir, bu sırada herbir bileşen için, onların tayin edilebileceği veya ayrı ayrı toplanabileceği bölgeler elde edilir (Şekil 2.1'de t_3 ve t_4 zamanı).

2.1.5 Analitin seyrelmesi

Şekil 2.1, ayırma işleminin önemli genel özelliklerini göstermektedir. Özellikle, ayırma işlemlerinde hemen hemen daima analitlerin seyrelmesi söz konusudur. Bu nedenle, şekilde analitleri içeren orjinal bölgenin boyutu dedektöre ulaşan iki bölgeye göre oldukça küçüktür. Bu, ayırma sırasında analitlerin önemli oranda seyreltiğini gösterir. Bunun sonucu, herbir analit için kullanılan dedektör, ayırma yapılmadığı zamankilere göre genellikle daha duyarlı olmalıdır.

2.1.6 Kromatogramlar

Çözünen maddenin derişimlerine cevap veren bir dedektör, kolon çıkışına yerleştirilirse ve dedektör sinyali zamanın (veya kullanılan hareketli fazın hacminin bir fonksiyonu olarak kaydedilirse, Şekil 2.1'in alt bölümünde görüldüğü gibi bir seri pik elde edilir. Kromatogram olarak adlandırılan bu grafikler, hem kalitatif analiz için hem de kantitatif analiz için kullanılır.



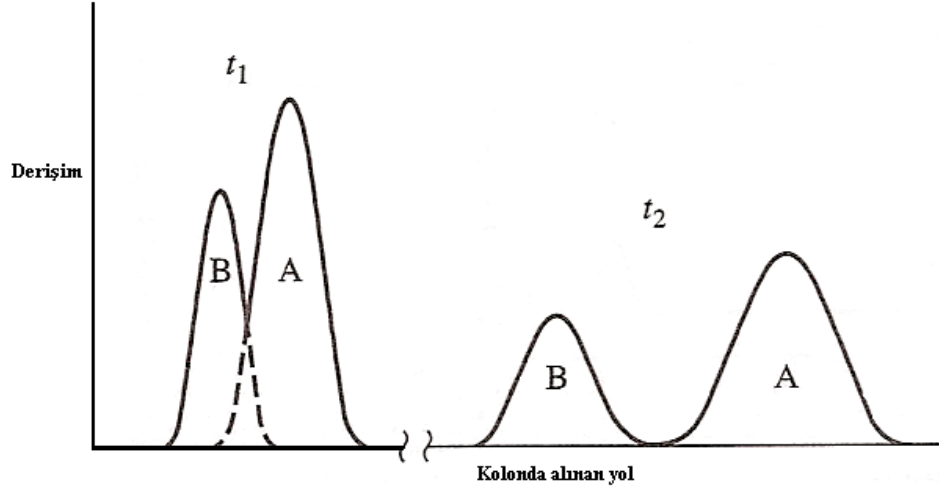
Şekil 2.1 : (a) Kolon elüsyon kromatografisi ile A ve B bileşenlerinin ayrılma diyagramı. (b) dedektör sinyali.

Zaman eksenindeki piklerin yerleri, numune bileşenlerini tanımda kullanılabilir; pik alanları herbir bileşenin miktarının bir ölçüsüdür.

2.2 İyon-Değiştirme Kromatografisi

2.2.1 Genel bilgi

İyon-değiştirme kromatografisi (IC) çoğu zaman iyon kromatografisi olarak kısaltılır. İyon değiştirici reçinelerin kullanımına dayanan iyonların ayrılması ve tayini için modern ve etkili bir yöntemdir. İyon kromatografisi ilk olarak anyon-değiştirici veya katyon-değiştirici reçine ile doldurulmuş HPLC kolonlarında anyon ve katyon karışımlarının kolaylıkla ayrılabilmesinin farkedildiği 1970'li yılların ortalarında geliştirilmiştir. O zamanlar belirleme genellikle iletkenlik ölçümleriyle yapılmıyordu. Şu andan, iyon kromatografisi için başka dedektörler de mevcuttur.



Şekil 2.2: Şekilde 2.1’ deki A ve B bileşen bantlarının kolonda iki değişik göç zamanındaki derişim profilleri.

İyon kromatografisi, birbiriyle çok benzer olan nadir toprak katyonlarının katyon değiştirici reğinelerle ayrılması için geliştirilen Manhattan projesi sırasında ortaya çıkan iyon-değiştirme kromatografisinin gelişmişidir. İyon-değiştirme ayırmaları için teorik temelleri ortaya koyan bu muazzam 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.

Modern HPLC’nin gelişmesi 1960’lı yılların sonunda başladı, ancak bu yöntemlerin iyonik türlere uygulanmaları, alkali ve toprak alkali katyonlar, halojenürler, asetat ve nitrat gibi iyonik türlerin eluatlarının belirlenmesi için genel bir yöntemin eksikliği sebebiyle gecikti. Bu duruma, 1975 yılında, Dow Kimya Sanayi çalışanları tarafından, iyonların konduktometrik belirlenmesini mümkün kılan bir “çözücü sinyali baskılama” tekniği ile çare bulundu.

2.2.2 İyon-değiştirme dengeleri

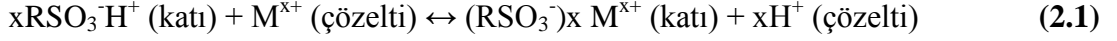
İyon-değiştirme olayları, çözeltilerdeki iyonlar ve çözünmeyen, yüksek moleköl ağırlıklı bir katının yüzeyindeki benzer işaretili iyonlar arasındaki değiştirme dengesi temeline dayanmaktadır. Killer ve zeolitler gibi doğal iyon-değiştiriciler uzun süredir bilinmekte ve son yıllarda kullanılmaktadır. Sentetik iyon değiştirici reçineler ilk olarak 1930’lu yılların ortalarında, su yumuşatma, su deiyonizasyonu ve çözelti saflaştırılması amacıyla üretildi.

Çizelge 2.1 : Kolon kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması.

Genel Sınıf	Özel Yöntem	Durgun Faz	Denge Tipi
Sıvı Kromatografi (LC) (hareketli faz: sıvı)	sıvı-sıvı veya dağılma	katı üzerine adsorplanmış sıvı	Karışmayan sıvılar arasında dağılma
	Sıvı-bağlı faz	Katı yüzeye bağlanmış organik türler	Sıvı ve bağlı yüzey arasında dağılma
	Sıvı-katı veya adsorpsiyon	Katı	Adsorpsiyon
	İyon değişimi Boyut eleme	İyon değiştirici reçine Polimer bir katının gözeneklerindeki sıvı	İyon değişimi Dağılma/eleme
Gaz kromatografi (GC) (hareketli faz: gaz)	Gaz-sıvı	Katı yüzeyine adsorplanmış sıvı	Gaz ve sıvı arasında dağılma
	Gaz-bağlı faz	Katı yüzeyine bağlanmış organik türler	Sıvı ve bağlı faz arasında dağılma
	Gaz-katı	Katı	Adsorpsiyon
Süperkritik-akışkanlı kromatografi (SFC) (hareketli faz: süper kritik sıvı)		Katı yüzeyine bağlanmış organik türler	Süper kritik akışkan ve bağlı yüzey arasında dağılma

Katyon değiştirici reçinelerin en genel aktif bölgeleri, kuvvetli bir asit olan sülfonik asit ($-\text{SO}_3\text{-H}^+$) ve zayıf bir asit olan ($-\text{COOH}^+$)'dur. Anyonik iyon değiştiriciler, kuvvetli bir baz olan tersiyer amin grupları ($-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{OH}^-$) veya daha zayıf bir baz olan primer amin gruplarını ($-\text{NH}_3^+\text{OH}^-$) içermektedir.

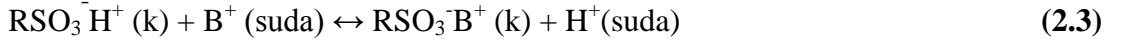
Sülfonik asit tipi bir iyon değiştirici, M^{x+} katyonunu içeren bir sulu çözeltili ile temas ettiği zaman, aşağıdaki gibi gösterilebilen bir yer değiştirme dengesi meydana gelir:



Burada, $x\text{RSO}_3\text{H}^+$ büyük bir polimer molekülüne tutunmuş çok sayıdaki sülfonik asit grubundan bir tanesidir. Benzer şekilde, kuvvetli bazik iyon değiştirici, A^{x-} anyonu ile, aşağıdaki denklemde gösterildiği gibi etkileşebilir:



Kütlelerin Etkimesi Kanunu'nun iyon-değiştirme dengesine uygulamasının bir örneği olarak, tek yüklü B^+ iyonu ile bir kromatografik kolondaki sülfonik asit reçinesi arasındaki reaksiyonu dikkate alalım. Nötral bir çözeltiliden, aşağıdaki reaksiyon sebebiyle, kolonun baş kısmında, B^+ iyonları tutulur:



Burada (k) ve (suda), sistemin bir katı veya suda olduğunu ifade etmektedir. Hidroklorik asidin seyreltik çözeltisi ile elüsyon, durgun fazdaki B^+ iyonunu hareketli faza aktaracak şekilde Eşitlik 2.3'deki dengeyi sola kaydırır. Bu iyonlar daha sonra durgun ve hareketli faz arasında bir seri aktarım sonucunda kolondan aşağı doğru hareket eder.

Eşitlik 2.3'te gösterilen denge için denge sabiti $K_{değ}$ şöyle yazılabilir:

$$\frac{[\text{RSO}_3\text{B}^+]_k [\text{H}^+]_{\text{suda}}}{[\text{RSO}_3\text{H}^+]_k [\text{B}^+]_{\text{suda}}} = K_{değ} \quad (2.4)$$

Burada $[\text{RSO}_3\text{B}^+]_k$ ve $[\text{RSO}_3\text{H}^+]_k$, B^+ ve H^+ 'nin Katı fazdaki derişimleridir (en doğru anlamda aktiviteridir). Bu ifade yeniden düzenlenirse;

$$\frac{[\text{RSO}_3\text{B}^+]_k}{[\text{B}^+]_{\text{suda}}} = K_{değ} \cdot \frac{[\text{RSO}_3\text{H}^+]_k}{[\text{H}^+]_{\text{suda}}} \quad (2.5)$$

elde edilir. Elüsyon sırasında, hidrojen iyonlarının sulu fazdaki derişimleri, B^+ iyonlarınkine göre çok daha büyüktür. Ayrıca, B^+ sayısı yanında, reçinedeki yer değiştirme bölgesi sayısı çok daha yüksektir. Böylece, $[\text{H}^+]_{\text{suda}}$ ve $[\text{RSO}_3\text{H}^+]_k$ derişimleri Eşitlik 2.3'deki kaymalardan fazla etkilenmez. Bu sebeple $[\text{RSO}_3\text{H}^+]_k$

$H^+]_k \gg [RSO_3-B^+]_k$ ve $[H^+]_{suda} \gg [B^+]_{suda}$ olduğu zaman Eşitlik 2.5'in sağ tarafı hemen hemen sabittir ve

$$\frac{[RSO_3^- B^+]_k}{[B^+]_{suda}} = K = \frac{C_s}{C_m} \quad (2.6)$$

yazabiliriz. Burada; K, dağılma katsayısına denk gelen bir sabittir.

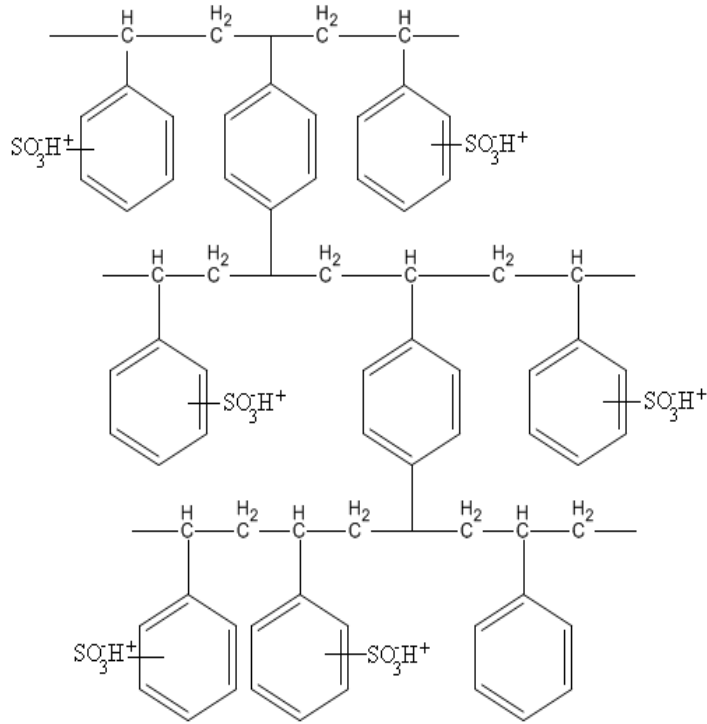
$K_{deg.}$ 'in büyük olduğu zaman katı faz için B^+ iyonunu alıkoymak için kuvvetli bir meyil gösteriyor demektir. $K_{deg.}$ 'in küçük olduğu durumda bunun tersi doğrudur. H^+ gibi genel bir referans iyon seçerek, verilen bir tipteki reçinede farklı iyonlar için dağılma oranları deneysel olarak karşılaştırılabilir. Bu gibi deneyler, çok yüklü iyonların tek yüklü türlerine nazaran çok daha kuvvetli tutulduğunu göstermiştir. Ancak, verilen bir yük grubu içinde görülen farklılıklar, hidratlaşmış iyonun diğer özellikleri kadar boyutuyla da ilgilidir. Sonuç olarak, tipik bir sülfolanmış katyon değiştirici reçine için, $K_{deg.}$ değerleri şu sırada azalmaktadır: $Tl^+ > Ag^+ > Cs^+ > Rb^+ > K^+ > NH_4^+ > Na^+ > H^+ > Li^+$. İki yüklü katyonlar için sıra şöyledir: $Ba^{2+} > Pb^{2+} > Ca^{2+} > Ni^{2+} > Cd^{2+} > Cu^{2+} > Co^{2+} > Zn^{2+} > Mg^{2+}$. Anyonlarda, kuvvetli bazik reçineler için $K_{deg.}$ şu sırada azalır: $SO_4^{2-} > C_2O_4^{2-} > I^- > NO_3^- > Br^- > Cl^- > HCO_2^- > CH_3CO_2^- > OH^- > F^-$. Bu sıra, bazı durumlarda reçinenin tipine ve reaksiyon şartlarına bağlı olduğundan, sadece bir yaklaştırma olarak dikkate alınmalıdır.

2.2.3 İyon-değiştirici dolgular

Tarihsel olarak iyon-değiştirme kromatografi, stiren ve divinilbenzenin emülsiyon kopolimerizasyonu sırasında oluşturdukları küçük ve gözenekli tanecikli polimerlerle gerçekleşmiştir. Divinilbenzenin kullanılmasıyla (genellikle \approx %8) oluşan çapraz bağlanma taneciklerin mekanik dayanıklılıklarını sağlamaktadır. Polimeri iyonlara karşı aktif hale getirmek için, daha sonra, yapıya asidik ve bazikfonksiyonlu gruplar kimyasal olarak bağlanmıştır. En çok kullanılan gruplar, sülfonik asit ve kuvaterner aminlerdir.

Şekil 2.3, kuvvetli bir asit reçinesini göstermektedir. Burada, çapraz bağlanmanın doğrusal polistiren moleküllerini bir arada tuttuğunu belirtelim. Diğer tipteki reçineler, aktif fonksiyonelli grupları hariç, benzer yapılara sahiptir. Gözenekli polimerik tanecikler kromatografik dolgu maddesi olarak tamamen uygun değildir;

bunun sebebi, analit moleküllerin mikrogözeneklerden geçmesi ve polimer matriksindeki difüzyonun yavaş olması ve matriksin sıkıştırılabilmesidir. Bu problemleri aşabilmek amacıyla iki yeni tip dolgu maddesi geliştirildi ve bunlar genel olarak gözenekli polimer tip membranlardan daha fazla kullanıldı. Bunlardan biri, yüzeyi bağlı olarak büyük (30-40 μm), gözenekli olmayan küresel sentetik reçine ile kaplanmış cam veya polimer tanelerden meydana gelen, zar kaplamalı (peliküler) yatak dolgusudur. İkinci bir tipteki dolgu maddesi, adsorpsiyon kromatografide kullanılan silisten ibaret gözenekli mikropartiküllerin, iyon değiştiricinin ince bir filmi ile kaplanmasıyla hazırlanır. Her iki tipte de, polimer film içindeki hızlı difüzyon, verimin artmasına neden olmaktadır. Diğer taraftan, bu taneciklerin numune kapasitesi, özellikle zar kaplamalı tip için daha düşüktür [2].



Şekil 2.3 : Çapraz-bağlı polistiren iyon değiştirici reçinenin yapısı. —SO₃⁻H⁺ grubu yerine, —COO⁻H⁺, —NH₃⁺OH⁻ ve —N(CH₃)₃⁺OH⁻ grupları bağlayarak elde edilen benzer reçinelerde kullanılır.

2.3 Deneyde Kullanılan IC Sisteminin Ana Bölümleri

2.3.1 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 bileşenlere kolayca ulaşılabilmesi için özel dizayn edilmiştir. Bu sayede eskiye göre ayarlamalar daha kolay yapılmaktadır. Akış yollarının kimyasal olarak inert olması sayesinde bu yollar aşırı pH değerlerine dayanıklıdır ve hassas örnekleri metal kirliliğine karşı korur. ICS-3000 sistemlerinin komple çiftli çalıştırılabilme özelliğinden dolayı ayrı bir cihaz ve otoörnekleyiciye gerek kalmadan cihaz daha ucuz şekilde güncellenebilir. Yani aynı anda iki analiz tek bir otoörnekleyiciden tek bir uygulama ile yapılabilir. Bu 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 zeki otoörnekleyiciler örnekleri kromatografik sisteme sırayla veya eşzamanlı gönderebilir. Bu sayede örnek prekonsantasyonu ve matriks eliminasyonu eşsiz bir şekilde başılır.

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

RFIC (Reagent-Free Ion Chromatography) sistemlerinin güven ve performansı eluent yapıcı, safsızlık tuzağı ve Supresör 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 başka bir benç yerini işgal etmeden ikili çalışma aynı anda tek bir cihazda başılır.

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, manuel eluent hazırlanması ile oluşabilecek hataları elimine etmeyi sağlar. 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 diğeri 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.

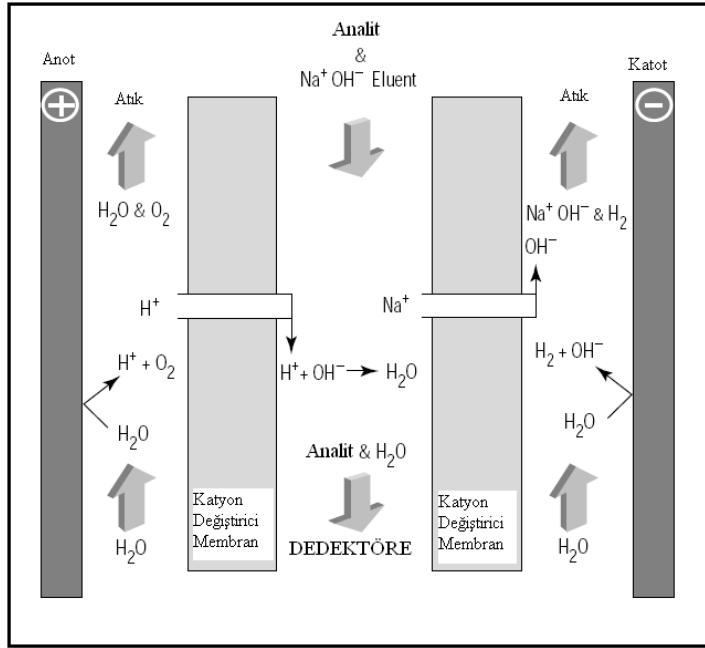
Dionex, supresyonun lideri olarak 1981'de oyuk fiber supresörler üretti. Bu supresörler sürekli yani online çalışabilmektedirler. Dionex, 1985'de MikroMembran Supresör (MMS) üretti. Bunlar dinamik kapasiteye ve gradient elusyon kullanımına daha çok izin vermektedirler. 1992'de ise kendini rejenere edebilen 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, ultra düşük gürültü, düşük ve kararlı zemin (background), üstün dinamik kapasite ve geniş dinamik aralık sunar.

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 2.4'te

Supresörün kimyasal olarak nasıl çalıştığı açıkça gösterilmiştir. Şekil 2.5'te ise analitlerin supresörlü ve supresörsüz kromatogramları karşılaştırılması sistemin akış şeması ile açıkça gösterilmiştir.

SRS herhangi bir sabitlenmiş rejenere olmuş supresörde en yüksek kapasiteye sahiptir. Bu da gradient eluentlerin tam supresyonuna izin verir. Ayrıca dedektör atığının rejenere olarak kullanılmasyla suyun sabit akışı için ikinci bir pompaya gerek kalmamıştır. Bu supresör kullanım kolaylığı açısından yeni bir standart oluşturdu.

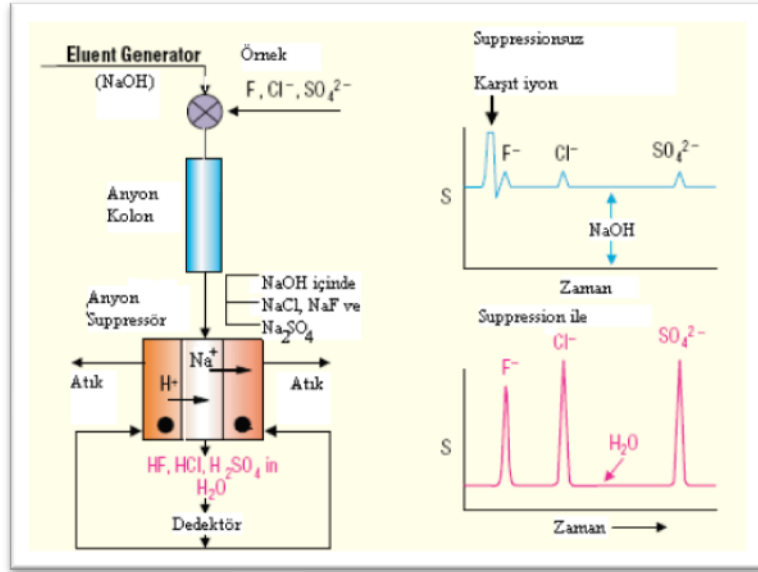


Şekil 2.4 : Supresörde meydana gelen iyon değişimi.

Supresyon sinyal/gürültü oranını önemli ölçüde yükselten bir yöntemdir. Supresörlerin farklı tipleri vardır. Hangi supresörün seçileceği eluentin organik bir çözücü olup olmadığına ve analit ve matriks konsantrasyonuna bağlıdır.

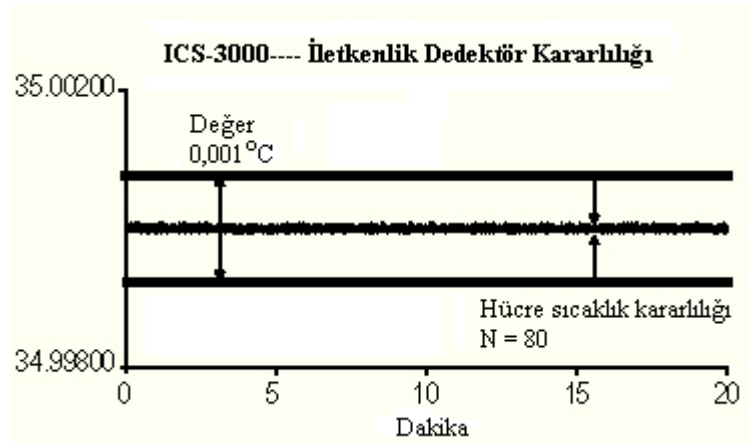
Şekil 2.5'den de görüldüğü gibi kolondan ayrılan anyonlar eluentin katyonu olan Na⁺ (veya K⁺) ile tuzlarını oluşturup supresöre girerler ve burada bir katyon değişimi meydana gelerek anyonların iletkenlikleri daha yüksek asidik formları ve oluşan su dedektöre girer. Oluşan saf su baselinesda ilerlerken anyonların piklerinde gözle görülür bir artış meydana gelir.

Supresyonlu çalışma sonucu elde edilen kromatogramdaki piklerin büyüklüğü ile supresyonsuz çalışmadaki büyüklük arasında 7 kat fark olduğu Dionex firması tarafından yayınlanmıştır.



Şekil 2.5: Supresörlü sistemde anyonların artan hassasiyeti.

ICS-3000 sisteminin elektronik kısımları ve dizaynı değişen sıcaklıklarda dedektörün kararlı çalışmasını sağlar (Şekil 2.6)



Şekil 2.6: Dedektörün sıcaklık kararlılığı.

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

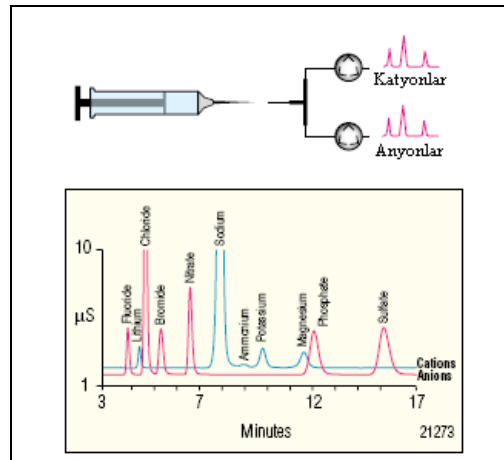


Şekil 2.7: İletkenlik dedektörü (siyah) ve Supresör (beyaz).

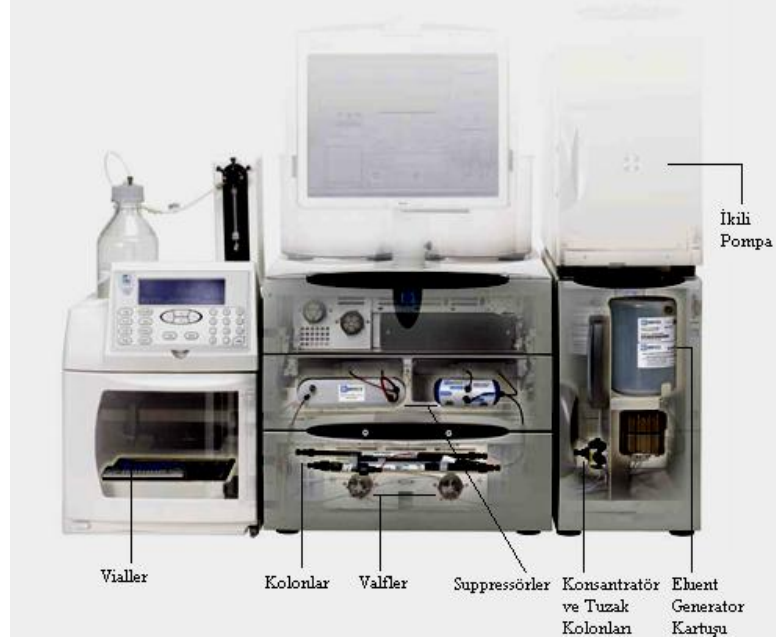
Şekil 2.7’de beyaz kısım supresör ve üstündeki siyah kısım ise iletkenlik dedektörüdür. Şekilden de görüldüğü gibi ara yollar kısadır.

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 2.8’de görüldüğü aynı anda iki analiz takibi yapılabilir. Şekil 2.9’da ise sistemin parçalarının nasıl yerleştirildiği açıkça anlaşılmaktadır.



Şekil 2.8 : ICS- 3000 sisteminin AS otoörnekleyicisinden aynı anda alınan iki analiz sonucu.



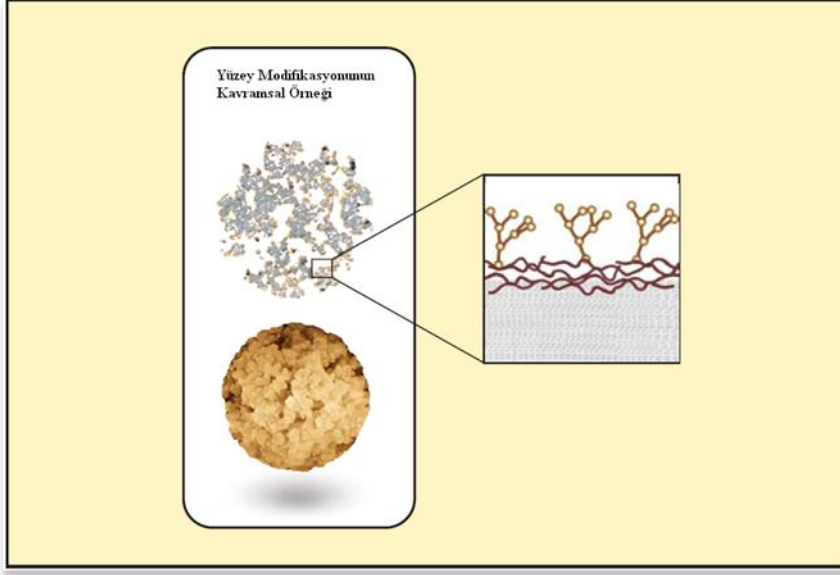
Şekil 2.9: ICS-3000 sisteminin modül ve parçaları.

2.3.2 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 konsantratör kolon perkloratın prekonsantrasyonu için yer almaktadır. AS 20 kolonu $310 \mu\text{eq/kolon}$ değerinde yüksek bir kapasiteye sahiptir ($4 \times 250 \text{ mm}$ kolon). Bu kolonun seğiciliği 35°C 'ye optimize edilmiştir.

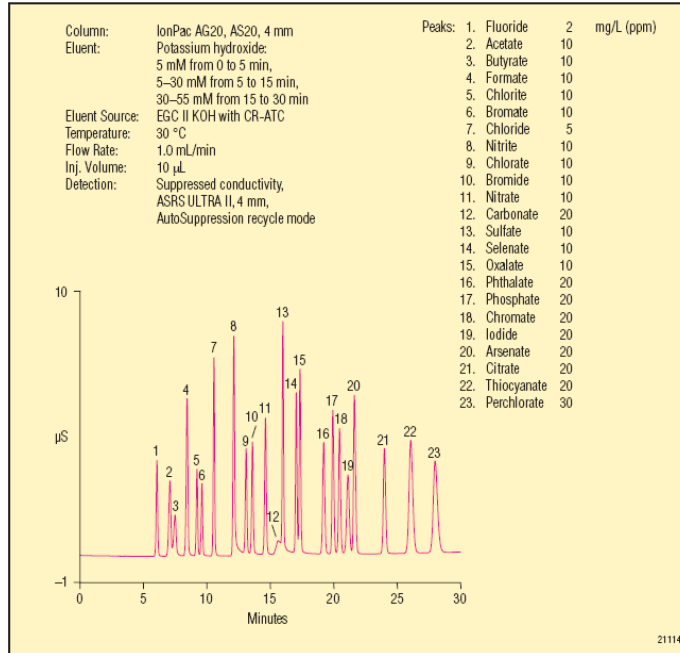
IonPac AS 20 kolonu eşsiz bir polimer bağlama teknolojisine ile geliştirilmiş ve üretilmiştir. Bu polimer oldukça hidrofildir ve hidroksit eluentlerinde çok seğicidir. Eluent konsantrasyonunun yüksek olmasına gerek duymaz.

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 düşürür. 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.



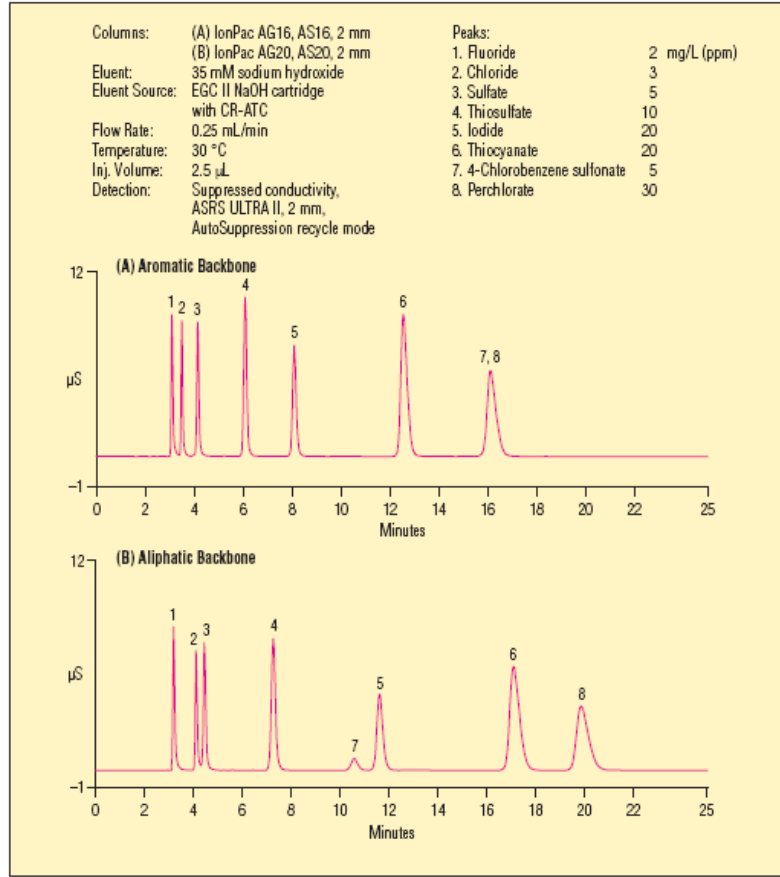
Şekil 2.10: IonPac AS20 kolon dolgusunun yapısı.

Şekil 2.11’de AS20 kolonunda ayrılmış yirmiyüç anyonun kromatogramı ve verileri verilmiştir.



Şekil 2.11 : AS20 kolonunda ayrılmış yirmiyüç anyon.

Şekil 2.12’de ise (A) kromatogramında AS16 kolonunda perklorat pikinin 4-klorobenzen sülfonat anyonundan ayrılmadığı 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.



Şekil 2.12 : Anyonların AS16 ile AS20 kolonlarında ayrılımları.

2.3.3 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 kuvaternar 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 [3].

3. 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 bakımdan anyonların güvenilir bir şekilde tayini son derece önemli konudur.

3.1 Siyanür İyonu ve Özellikleri

Karbonla azotun oluşturduğu (-1) değerlikli (-C-N-) siyanür iyonu ve türevleri, anorganik karbon kimyasının en önemli gruplarından birisidir. C ve N' tan oluşan diğer önemli gruplar ise, siyanat ve tiyosiyanat iyonlarıdır. Siyanür bileşikleri anorganik siyanürler ve organik siyanürler olarak ikiye ayrılır ve yapılarında bu grubu içerirler. Anorganik siyanür bileşikleri, basit ve kompleks siyanürler olarak sınıflandırılarak incelenebilir.

Basit siyanürler, genel olarak $A(CN)_a$ formülü ile tanımlanan siyanür bileşikleridir. Bu formülde "A" sodyum, potasyum gibi alkaliler, amonyum veya metal katyonları olabilir. Bu katyonun değeri ise "a" olup, bu aynı zamanda bileşikteki siyanür iyonunun sayısıdır. Anorganik basit siyanür bileşiklerine örnek olarak sodyum siyanür ($NaCN$) ve kadmiyum siyanür ($Cd(CN)_2$) verilebilir. Çoğunlukla kullanılan siyanür bileşikleri alkali metal siyanürleridir. Alkali metal siyanürleri, hidrosiyanik asidin nötralizasyonu yoluyla üretilirler. Bu bileşikler sulu çözeltilerinde tamamen veya kısmen iyonlaşarak CN^- iyonu verirler.

Kompleks siyanür bileşiklerin oluşumu d-bloku geçiş elementleri ve onların komşuları olan Zn, Cd ve Hg elementleri ile sınırlıdır. Bu durum, siyanür komplekslerinin kararlılığında önemli olan metal-CN π bağının varlığını gösterir. Çeşitli formüllere sahip olmakla birlikte, alkali-metal-kompleks siyanürlerini $A_xM(CN)_y$ genel formülü ile tanımlayabiliriz. Bu formülde "A", x adet alkali metal iyonunu; "M", ağır metal iyonunu; y, siyanür gruplarının sayısını gösterir (x katı alınan A iyonunun değeri ile ağır metal iyonunun değeri toplamıdır). Bu

çözünebilen alkali-metal-kompleks siyanürler sulu çözeltilerinde iyonlarına ayrışarak, $[M(CN)_y]^{n-}$ genel formülü ile gösterilen anyonik gruplar oluşturur. Zayıf siyanür kompleksleri sulu ortamda basit veya serbest siyanürlere dönüşürler. Kadmiyum ve nikel siyanür kompleksleri ($K_2[Cd(CN)_4]$, $Na_2[Ni(CN)_4]$) bu sınıfa örnek olarak verilebilir. Kuvvetli siyanür komplekslerine örnek olarak ferrisiyanür ($[Fe(CN)_6]^{3-}$), ferrosiyanür ($[Fe(CN)_6]^{4-}$), tiyosiyanat (SCN^-), hekzasiyanokobalt ($[Co(CN)_6]^{3-}$) verilebilir.

—CN grubu içeren organik bileşiklere nitriller denir. Başlıca örnekleri alifatik nitriller, aromatik nitriller, siyanonitriller, β -siyano karbonil tipindeki bileşikler ve açıl siyanürlerdir [8].

3.1.1 Siyanürün biyolojik etkisi

Siyanür tüm aerobik solunum yapan organizmalar için zehirlidir. Çünkü siyanür, mitokondri membranında elektron taşıma zincirini bozar ve solunumu engeller. Siyanür ayrıca Tiroidin iyot alımına girişim yapar. Siyanüre kronik maruz kalmak guatra, bazı sinir ve kaslarla ilgili hastalıklara ve kretinizme neden olabilir. Kretinizmde iyot eksikliği sonucu fiziksel ve zihinsel yavaşlama oluşabilir [9].

Hidrojen siyanür ve siyanürlerin zehir etkisi, sitokrom oksidaz enzimidaki üç değerlikli demir ile kompleks oluşumuna bağlanabilir. Çünkü Fe(III)'ün Fe(II)'ye indirgenmesine ve sitokrom enziminin oksidasyonuna engel olur. Böylece kandan dokuya (oksihemoglobin \leftrightarrow hemoglobin) oksijenin geçişi engellenerek "iç boğulma etkisi" yapar.

Dünya Sağlık Örgütü 0,01 ppm den daha fazla siyanür içeren suların kullanılmamasını tavsiye etmektedir [10]. Öldürücü doza yakın veya az üstünde meydana gelen sindirim, solunum veya deri absorpsiyonu zehirlenmelerinde, 5-10 dakika içinde çeşitli belirtiler görülür. Ölüm, birkaç saat içinde vukubulur. Metal zehirlerin aksine öldürücü dozun altında alındığında hızla bozunarak zehirsiz bir türe dönüştürülür ve böbrekler tarafından atılır [11]. Ülkemizde, bu maddeyle çalışılan işyerleri için ilgili tüzükte, 8 saat müddetle çalışılabilecek maksimum izin verilen miktar, 10 ppm veya 11 mg/m³ olarak verilmiştir [12]. Siyanürün %98'i eritrositlerle bağ yaptığından, insanlar için, siyanür tayini genellikle tüm kanda yapılır [13]. Balıklar için en üst tolere edilebilir miktar 0,1 ppm CN⁻ olarak verilmiştir. 0,3 ppm siyanür içeren biyolojik sularda mikroorganizma aktivitesi kalmaz [14].

3.1.2 Siyanür kaynakları

Siyanür doğal olarak birçok gıdada meydana gelir (manyok, keten, süpürge darısı, bambu filizi ve acıbadem) ve doğal olarak mikroorganizmalar (Fungi, alg ve bakteri) tarafından üretilirler.

Siyanür, çoğu fungi ve bunlarla birlikte bulunan çoğu tarımsal ekin hastalıklarının normal bir metaboliti olmasına rağmen, insanlar için burada genel kirlilik kaynağı değildir. Fazla sülfür ve kirlenmiş ekinlerle beslenen geniş getiren hayvanlar, siyanürü daha az zehirli tiyosiyanaata çevirebilir. Alg ve bakteri tarafından üretilen siyanür daha az yaygındır ama özellikle içme suyu kaynaklarında potansiyel bir kirlilik kaynağı olarak kalır. Çoğu ülkede en yaygın siyanüre maruz kalma kaynağı sıklıkla manyokun beslenme yoluyla alınmasıdır. Amerika'da siyanüre maruz kalma tipik olarak gıdadan değildir. Çünkü beslenme alışkanlıklarında yüksek siyanür içerikli gıdalar yaygın değildir. Amerika'da içme sularının siyanürle kirlenmesinin tipik nedeni endüstri kaynağı veya endüstriyel atık bölgesinden sızmadır [9].

3.1.3 Siyanürlerin kullanım alanları

Siyanür, soy metallerin ekstraksiyonu, organik kimyasalların üretimi, elektrolitik kaplama (bakır, gümüş, altın vb. için alkali siyanür banyoları), çeliğin sertleştirilmesi ve yüzeyinin tavlanması (karbonitridasyon) ve metal parlatma prosesi gibi çeşitli endüstriyel işletmelerde kullanılmaktadır. Siyanür, kaplama ve madencilik gibi çoğu endüstri dallarında kullanılır ve kömür ve plastiklerin yanmasıyla havaya salınır [9]. Hidrojen siyanür, plastik, poliamid ve polimetakrilat gibi yapay liflerin, etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve nitrilotriasetik asit (NTA) gibi kompleks yapıcı maddelerin, ayrıca tekstil, ilaç ve organik boyaların üretiminde kullanılır. Siyanürden elde edilen siyanoferratlar (heksasiyanoferrat(III) gibi) filmlerin ağartma banyolarında oksitleyici olarak kullanılır. Daha az miktarda olmak üzere, diğer anorganik siyanürlerin (berlin mavisi gibi) ve çeşitli organik bileşiklerin sentezi (laktik asit, ter-butilamin gibi) için kullanılır.

Alkali siyanürler altın ve gümüş cevherlerinin işlenmesinde (katı-sıvı ekstraksiyon) oldukça kullanılır [15]. Altın üretimi kaya madenciliğine dayanır. Altın-içeren kayalar toz haline getirilir ve ya Hg ile amalgam haline getirilerek ya da siyanür prosesi yoluyla ekstrakte edilir. Daha sonra Zn tozu eklenerek çöktürülür. %99,95 saflıkta altın elde etmek için elektrolitik arıtma kullanılabilir.



Hidrosiyanik asit hastalık yapan bakterileri veya zararlı böcekleri temizlemek için yaygın olarak kullanılır. Özellikle yük gemileri ve ambar gibi binaları, meyve bahçelerini ve yiyecek depolarını bakterilere ve zararlı böceklere karşı dezenfekte etmekte kullanılan hızlı ve uygun bir yol hidrojen siyanür gazı geçirmektir. Kieselguhr üzerine adsorbe olduğu zaman böcek öldürücü olarak kullanılır. Cıva siyanür ve cıva oksisyanür antiseptik ve dezenfektandır. Cıva siyanür ayrıca damar yolu ile frengiye karşı kullanılmıştır [10].

3.1.4 Siyanür tayininde yapılan çalışmalar

Siyanür iyonu çok düşük derişimlerde bile yüksek toksik etkiye sahiptir. Aynı zamanda siyanürün yaygın endüstriyel kullanıma sahip olması bu anyonun tayinini önemli hale getirmektedir. Bu nedenle siyanür iyonlarının tayini için birçok metot geliştirilmiştir. Bu metodlar volumetrik, kromatografik, elektrokimyasal, florimetrik, atomik absorpsiyon spektrofotometresi ve spektrofotometrik yöntemleri içermektedir [8].

Hewitt ve Austin endüstriyel atıklardaki siyanür tayini için titrasyon metodu önermişlerdir. Bu metotta, kompleks siyanürler ve sülfürlerin bozunmasını önlemek amacıyla çinko ve kurşun asetatların varlığında ve asidik ortamda örnek destillenir. Serbest hidrojen siyanür sodyum hidroksit içinde toplanır. Daha sonra siyanür miktarı, 4-dimetilaminobenzil-idenerodamin kullanılarak standart gümüş nitrat çözeltisi ile titre edilerek hesaplanır [16].

ABD hükümeti, Ulusal Temel İçme Suyu Yönetmeliklerinde (40 CFR 141.62) içme sularında siyanürü inorganik kirletici olarak sınıflandırmıştır. Bu kanunlar U.S.EPA tarafından uygulanmaktadır. Belediyenin içme suları ve ortak su kullanım alanlarındaki içme suları için siyanürün serbest siyanür olarak bulunabileceği en fazla kirletici konsantrasyonu 200 µg/L dir. Amerika'da serbest siyanür konsantrasyonu oldukça düşüktür. 1978'de U.S. EPA tarafından yapılan çalışmada içme suyu örneklerinin sadece % 7 sinde serbest siyanür ölçülebilmştir. Siyanür, toplam siyanür (EPA 335.4), çözünebilir siyanür, bağlı siyanür ve serbest siyanür olarak tespit edilmektedir. Toplam siyanür, damıtma yolu ile kuvvetli bir asit ve kuvvetli bir yükseltgeyici ile hidrojen siyanür gazının oluşturulup pH 13 sodyum hidroksit çözeltisinde tutturulmasının ardından kolorimetrik bir yöntemle saptanır.

Çözünür siyanürler metal siyanürlerdir ve asetat tamponu (pH 4,5-6) ile hızlıca serbest siyanüre dönüşebilirler. Bağlı siyanür, toplam siyanür ile toplam siyanürün pH 12 de alkali klorlanması arasındaki farktır. Alkali klorlama boyunca serbest siyanür ve çözünür siyanürün bir kısmı son ürün bikarbonat ve azot gazına oksitlenerek giderilirler. Giderilenin miktarının saptanması toplam siyanürün klorlamanın önce ve sonrası arasındaki farkla bulunur. Serbest siyanür içme sularındaki diğer çeşitlere bağlanmaz ve kompleks oluşturmaz [9].

Nascimento, biyolojik sıvılarda eser seviyedeki siyanür tayini için polarografik bir metot geliştirmiştir. Metot amonyaklı çözeltide, siyanür ve nikel iyonlarının hızla reaksiyona girerek stabil $[\text{Ni}(\text{CN})_4]^{2-}$ (tetrasiyanonikelat) anyon kompleksini oluşturması temeline dayanır. Nascimento, bu kompleksi civa elektrotlu diferansiyal-puls polarografisinde tayin etmiştir [12]

Miller ve diğ., lityum hidroksit içindeki oldukça düşük derişimlerdeki siyanür iyonunu, direkt ve kendiliğinden cevap veren, hızla dönen altın elektrot ile tayin etmişlerdir [17].

Fogg ve Alonso, amperometrik siyanür tayini için bir flow injeksiyon analiz metodu geliştirmişlerdir. Bu çalışmada oksidasyon elektrokimyasal ön işlemlili glassy karbon elektrotların üzerinde gerçekleşmiştir [18].

Hofton, nehir sularındaki ve atıklardaki 0,01-1 $\mu\text{g/L}$ serbest siyanürün sürekli tayini için gümüş iyon selektif elektrot kullanmıştır. Bu metotta da serbest siyanür tayin edilmeden önce sülfür ortamdan uzaklaştırılmalıdır [19].

Spektrofotometrik metotlarla siyanürün tayininde siyanür, UV/Vis absorplayan veya floresans yapan reaktiflerle reaksiyona sokularak oluşan ürünün belli dalga boyunda Beer yasasına uygun kantitatif analizler yapılır. Kompleks yapıcı reaktifler zararlı ve pahalı kimyasallardır. Bu metotlar genelde çoklu girişimlere (Tiyosiyanat ve iyodür) ve yüksek dedeksiyon limitlerine (düşük mg/L) sahiptirler. Örnek rengi ve bazı matriksler siyanürün kompleksleyici ile reaksiyonuna girişim yapabilir veya pozitif hataya neden olur. Diğer yandan kompleksleyici reaktiflere gerekli sınırlandırılmış pH aralıkları yüksek pH'lı siyanür örnekleri için uygun olmayabilir [9].

Formaldehit, spektrofotometrik yöntemlerde tiyosiyanatın girişimini engellemek için kullanılır. Fakat formaldehit karsinojen bir madde olduğu için bazı ülkelerde ya kısıtlanmıştır ya da yasaklanmıştır [9].

Upadhyay ve Gupta ise siyanürü brom ile siyanojen bromüre dönüştürdükten sonra, piridin ile reaksiyona sokmuşlardır. Bu reaksiyon sonucu oluşan glutakonik aldehit antranilik asit ile, siyanür derişimi ile orantılı absorpsiyon veren (400 nm) sarı-turuncu bir bileşik oluşturur [10].

Nagashima sudaki siyanürün spektrofotometrik tayini için piridin-pirazalon ve piridin-barbiturik asit reaktiflerinin kullanımını tartışmıştır [20].

Schilt, siyanür iyonları ile tris(1,10-fenantrolin)demir(II) arasında yer değiştirme reaksiyonu ile oluşan nötral disiyano-bis(1,10-fenantrolin)demir(II) kompleksinin ekstraksiyonuna dayanan spektrofotometrik bir metot önermiştir. Ferroin ve siyanür iyonları arasındaki reaksiyon oda sıcaklığında yaklaşık 20 saat sürerken 100 °C de kaynayan bir su banyosunda tutulduğunda 10 dakikadan daha az bir süreye kısaltılmıştır. 597 nm dalga boyunda ölçülen absorpsiyon ile 0-10 ppm arasındaki siyanür iyonu derişimi arasında çizilen eğride, siyanürün tam olarak geri kazanılmadığı görülmüştür. Gözlenen bu nonlineerlik ve kalibrasyon eğrisinin başarısızlığı ekstraksiyon işlemine bağlanmıştır. Bakır ve kobalt iyonları, siyanürün geri kazanılmasında interferedir [21].

Lambert ve Manzo, siyanür iyonunun tris(1,10-fenantrolin)demir(II)iyodür ile reaksiyonunu temel alan spektrofotometrik bir metot önermişlerdir. Fakat bu reaksiyonu gerçekleştirmek zahmetlidir ve 2-3 gün gibi oldukça uzun bir reaksiyon süresine ihtiyaç vardır [22].

Scoggins'in geliştirdiği yöntemde destillenen uçucu HCN, içinde absorplandığı çözelti ile (amonyaklı nikel klorür) reaksiyona girer ve ultraviyole spektrofotometre ile ölçülebilen tetrasiyanonikelat(II) kompleksini oluşturur. Maksimum absorpsiyon dalga boyu 267 nm'dir. Bu yöntemde, eğer örnek çözeltide Hidrojen sülfür varsa nikel iyonu ile çökecektir. Bu metotta sülfür iyonu, destilasyondan önce permanganat iyonu ile oksidasyon yoluyla veya civa iyonu ile çöktürülerek örnekten uzaklaştırılmıştır [23].

Sulistyarti ve diğ., bu metodu gaz difuzyon flow injeksiyon (GDFI) sistemine adapte etmiştir. Gözlenebilme sınırı 0,1 mg/L olarak tayin edilmiştir. Ancak akış hızı azalması ve/veya örnek hacminin artmasıyla bu değerin düşebileceği söylenmiştir. Kalibrasyon eğrisi 100 mg/L ye kadar siyanür derişimleri için lineer bulunmuştur [24].

Ishii ve Kohata, indirek spektrofotometrik metot geliştirmişlerdir. Bu metot gümüş iyonları ile üç ayrı katyonik porfirinin kompleks oluşturmasına dayanır. Oluşan kompleksler alkali ortamda siyanür ile engellenir ve absorbansındaki azalma siyanür derişimi ile orantılıdır. Kadmiyum, bakır, cıva, çinko, iyodür ve sülfür iyonları analizi bozarlar [25].

Montgomery ve diğ., siyanür iyonunun 1:1:1 trikloroetan ile sudan ekstraksiyonunu temel alan bir metot geliştirerek, nehir suları içindeki serbest siyanürü tayin etmişlerdir. Ekstrakte edilen siyanür, sodyum pirofosfat çözeltisi içine alındıktan sonra doymuş sulu bromür, sodyum arsenit ve p-fenilen diamin ile muamele edilmiş ve spektrofotometrik olarak 508 nm de tayin edilmiştir. Bu metotla 0,01mg/L den daha az hidrojen siyanür tayin edilebilmiştir [26].

Fonong, su ve serum örnekleri içindeki mikro miktarlardaki siyanürün spektrofotometrik tayini için enzimatik bir metot geliştirmişlerdir. Metot, siyanürün enzim-katalizli reaksiyon sonucu tiyosiyanat oluşturmasına ve oluşan tiyosiyanatın demir(II) ile verdiği kompleksin spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır. Rodanaz enzimi siyanür iyonu ile tiyosülfat arasındaki reaksiyonu katalizler ve stokiyometrik oranda tiyosiyanat oluşur. Çok az miktardaki enzim reaksiyon için yeterlidir. Hem su hem de serum örneklerinde 0-20 mg/L siyanür için lineer kalibrasyon grafiği çizilebilir. Metodun kesinliği % 2.5 dan daha iyidir, rölatif standart sapma 5 mg/L siyanürdür. 1 mg/L den düşük siyanür iyonunun tayininde asetat, askorbat, sitrat ve iyodür iyonlarının on-kat fazla derişimlerinin interfere olduğu bulunmuştur [27].

Nagashima ve Ozawa reaktif olarak izonikotinic asit ve barbiturik asit kullanarak sulu örneklerdeki siyanürü spektrofotometrik yöntemle tayin etmişlerdir. Siyanürün kloramin-T ile reaksiyonundan sonra reaktif ilave edilerek, 600 nm de ölçülebilen menekşe-mavi ürün oluşturulmuştur. 25°C da 15 dakikada maksimum absorbans oluştuğu ve 30 dakika sabit kaldığı belirtilmiştir [28].

Broderius, doğal ve endüstriyel atık sulardaki serbest siyanürü ayırdıktan ve derişiklendirdikten sonra kloramin-T metodu ile spektrofotometrik olarak tayin etmiştir [29].

Belirleyici ve spot test metotları da kullanılmaktadır ve laboratuvar ekipmanları gerektirmeyen bu test kitleri güvenlik sebepleriyle siyanür miktarını hızlıca tespit

edebilir. Ancak bu metotlar genelde kalitatif amaçla kullanılır ve hassas değildir (Yüksek mg/L konsantrasyonları) [9].

Kapiler elektroforez (CE), yüksek-performans sıvı kromatografi (HPLC) ve iyon kromatografi (IC) metotları siyanürü diğer anyonlardan seçiciliği arttırarak ayırmak amacıyla kullanılmışlardır. Serbest siyanür, fotoluminesans yoluyla kapiler elektroforez mikroçip kullanılarak düşük tayin sınırlarında (0,56 µg/L) analizlenmiştir. Ama reaksiyon için gerekli süre, cevabı sınırlandırmıştır. Başka bir CE metodu, bir fluorescein tamponu ve dolaylı UV tespit kullanılarak yüksek tayin limitleri (yüksek mg/L) yayınlamıştır. HPLC ile % 5 asetonitril, post-kolon reaktifi ve UV dedeksiyon maden süzüntüleri siyanür bileşenlerini tespit etmek için kullanılmıştır. Serbest siyanür alıkonulamamış ve ölü hacimde bulunamamıştır. Bu teknikler siyanürü ayırabilmesine rağmen ekivalent veya daha iyi bir ayırım IC ile sağlanabilir [9].

Anyon ve katyonların ayrılması ve tayini için iyon kromatografi tekniği güçlü bir yöntem olmakla birlikte, siyanür iyonu için iyi bir yöntem değildir. Çünkü siyanür iyonunun disosiyasyon sabiti düşük olduğundan, iyon kromatografinin kondüktivite dedektörü ile doğrudan saptanamaz. Siyanür iyonunun tayini için kullanılan diğer elektrokimyasal dedektörler ise duyarlı ve seçici olmalarına karşın fiyatları çok yüksektir [8].

Nonomura kondüktivite dedektörü kullanarak, serbest siyanür ve metal siyanür komplekslerinin tayini için iyon kromatografi metodu geliştirerek [30] kaplama çözeltilerine ve atık-sulara uygulamıştır. Bu metod siyanür iyonunun sodyum hipoklorit ile siyanat iyonuna oksidasyonu temeline dayanır. Oluşan hidrojen siyanatın disosiyasyon sabiti oldukça yüksek olduğundan ($pK=3,66$) kondüktivite dedektörü kullanılarak tayin edilmiş ve siyanür dolaylı olarak ölçülmüştür. Ancak, bu metotta oldukça büyük klorür piki gözlenmiştir ve kolon içindeki reçine analiz sırasında zarar görmüştür. Daha sonra, sodyum hipoklorit yerine daha zayıf bir oksitleme reaktifi olan kloramin-T ile yapılan oksidasyonda kolondaki reçine daha az zarar görmüştür [31].

Duval ve diğ., Beran ve diğ.,'nin [32] siyanür için geliştirdikleri pnömatikamperometrik tayin yöntemini modifiye ederek kromatografik bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu metotta analiz edilen iyon iyodürdür. İyodürün (I^-) son derişimi, siyanürün başlangıç derişimi ile orantılı olduğundan dolaylı olarak siyanür tayin

edilir. Çözeltideki aşırı iyot (I₂), XAD-4 reçinesi içeren kısa bir kolon içinde adsorplanarak uzaklaştırılır [33].

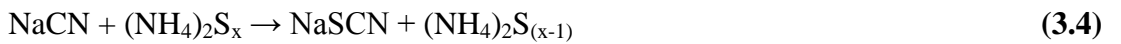
Thompsen ve Carel, çeşitli kobalt siyanür komplekslerini iyon kromatografisi ile ayırıp, iletkenlik ölçerek tanımlamışlardır [34].

Otu ve diğ., altın ve diğer metal siyano komplekslerini anyon-değiştirici reçinede iki ayrı eluent kullanarak ayrılmasını sağlamışlar ve ultraviyole (UV) dedektör ile tanımlamışlardır [35].

Gamoh ve Imamichi, siyanür iyonunu post kolon likit kromatografi ile ayırdıktan sonra bir amino asit varlığında o-ftalaldehit veya naftalendikarboksilaldehit ile türevlendirmesinden sonra florimetrik dedeksiyon ile tayin etmişlerdir [36].

3.2 Tiyosiyanat İyonu ve Özellikleri

Siyanür kullanılarak yapılan maden zenginleştirilmesinde siyanür tiyosiyanata dönüşerek siyanür kaybına neden olur. Bazı raporlara göre siyanürün tiyosiyanata dönüşerek kaybolması siyanür tüketiminin %50'si kadardır [37]. Siyanürleme sırasında tiyosiyanat oluşumunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Sülfür minerallerinin bozunması ile açığa çıkan sülfür iyonlarının siyanürle reaksiyonu sonucu oluşabilir [38]. Aynı zamanda tiyosülfat ve polisülfür bileşikleri ile siyanür tiyosiyanata dönüşür [39].



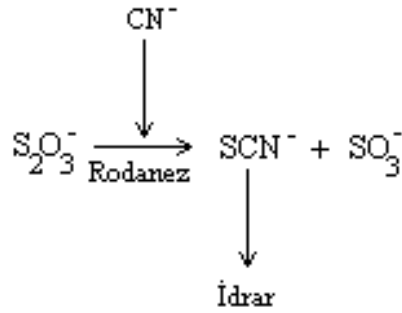
Tiyosiyanatın bugüne kadar zehirsiz olduğu düşünüldüğünden maden yataklarında denetim altına alınmamıştır. Ancak ultraviyole ışınların etkisi ile tiyosiyanat iyonları siyanüre dönüşebilir ve sulu ortam için zararlı olabilir [40]. Ayrıca kendisinde siyanür kadar olmasada su içindeki hayat için zehirlidir. Etkin atık kontrolü için tiyosiyanat miktarında tayin edilmesi önemlidir [41].

Bazı sebzelerin sindiriminin bir sonucu olarak ve sigara dumanındaki bileşiklerin metabolik bozunma ürünü olarak, insan kanında, idrarında ve tükürüğünde bulunabilir [42]. Tiyosiyanat derişimi sigara içenler ve içmeyenler arasında ayırım

yapmak için iyi bir indikatör olabileceği düşünülür. Sigara içmeyenler için tükürükte 1 mmol/L [43], idrarda 0,3 mmol/L [44] ve kanda 0,05 mmol/L [45] olduğu, sigara içenlerde bu değerlerin 2 veya 4 katı daha fazla bulunduğu rapor edilmiştir. Ayrıca tiroid düzensizliklerinde ve yüksek tansiyon tedavisinde ilaç olarak kullanıldığından tiyosiyanat analizleri önemlidir [10].

3.2.1 Tiyosiyanat kaynakları

Beslenmemizde yaygın olarak kullanılan sebzelerin bazıları tiyosiyanat için doğal kaynaklardır (Tonacchera, 2004). Bitkilerin en azından 2500 sınıfı siyanojenik glukozidler (CG) içerirler. Bitkiler siyanojenik glukozidlerden böceklerle ve otlayan hayvanlara caydırıcı olması amacıyla hidrojen siyanür üretir. Şekil 3.1'den de görüldüğü gibi insanlar bunları sindirmesi durumunda sülfürtransferaz enzimi, rodanez metabolizması ve zehir gidericiler siyanürü tiyosiyanata çevirirler (WHO, 2004; Hasuike, 2004). İnsan vücudu NIS inhibitörlerini her zaman bir miktar içerir ve bu vücudun guatr yüklemesi anlamına gelir [46].



Şekil 3.1.: Siyanürün metabolizmada tiyosiyanata dönüştürülerek atılması.

Lahana, brokoli, brüksel lahanası, mısır, şalgam, kolza, hardal tohumu, karnıbahar, turp, ıspanak, domates ve süt, tiyosiyanat içerikli gıdalardır. Karnıbahar, lahana, turp, ıspanak ve domatesin içerdiği tiyosiyanat miktarları sırasıyla ortalama 88, 86, 7, 5 ve 2 mg/kg (yaş ağırlık). Süt, 2-10 mg/L arasında tiyosiyanat içerir. Dünya'nın bazı bölgelerinde manyok denilen bir bitki çok önemli bir tiyosiyanat kaynağıdır. Manyok 3400 mg/kg tiyosiyanat (kuru ağırlık) içerebilmektedir. Manyokun çok tüketilmediği yerlerde tiyosiyanatın diğer önemli bir kaynağı siyanür içeren sigaradır. Sigara içmeyenlerin serum tiyosiyanat konsantrasyonları 10-70 µmol/L aralığında iken sigara içenlerin 80-120 µmol/L dir [46].

Tiyosiyanat, normal fizyolojide düzenleyici bir fonksiyona sahip olabilir (Middlesworth, 1986). Tiyosiyanat, normal farelerde sürekli olarak sentezlenmektedir. Yiyeceklerinde tiyosiyanattan yoksun farelerin, tiyosiyanat serum konsantrasyonunun perhizlerinde 500 µg/dL' den 800 µg/dL' ye çıktığı görülmüştür (Middlerworth, 1986). Bu bilgi, serum tiyosiyanatının normal aralıkta düzenlendiğini gösterir. Farelerden edinilen bu bilgi insanlar içinde geçerlidir. İnsanlardaki tiyosiyanat serum limitleri 200-300 µmol/L dir (Tonnacchera, 2004).

Perkloratın 0,0007 mg/kg-gün olan referans konsantrasyonu, 0,014 µmol/L lik serum konsantrasyonuna denk gelir. Halbuki sigara içmeyenlerde tiyosiyanat konsantrasyonu 10-70 µmol/L aralığındadır. Bu yüzden tiyosiyanata maruz kalma vücudun guatr yüklenmesinin önemli bir nedenidir [46].

3.2.2 Tiyosiyanat tayininde yapılan çalışmalar

Literatürde yer alan en önemli tiyosiyanat tayin yöntemi demir(III) iyonları ile verdiği koyu kırmızı renkli komplekslerin kolorimetrik olarak ölçülmesine dayanır. Suda çözünen demir kompleksleri için birkaç yapı formülü verilmiştir. $Fe(SCN)_6^{3-}$ şeklindeki anyonik yapı yanında $Fe(SCN)^{2+}$ ve $Fe(SCN)_2^{2+}$ gibi katyonik yapıdaki kompleks oluşumlarından söz edilmektedir. Ancak aşırı demir(III) ile asidik ortamda $Fe(SCN)^{2+}$ kompleksi oluşur. Tiyosiyanat miktarına bağlı olarak oluşan bu kompleksin absorpsiyonunun ölçülmesi ile tayin yapılır [47].

Yukarıda verilen yöntem, ancak siyanür yokluğunda yapılabilir. Siyanür iyonları tiyosiyanat analizlerini bozduğu gibi, tiyosiyanat iyonlarında siyanür analizlerini bozar. Bu nedenle literatürde siyanür ve tiyosiyanat iyonları için yanyana analiz yöntemleri geliştirilmiştir.

Chinaka ve diğ., kanda siyanür ve tiyosiyanatın aynı anda tayini için iyon-kromatografi metodu geliştirmişlerdir. Su ve metanol ile kan ekstrakte edildikten sonra siyanür 2,3-naftalendialdehit ve taurin ile floresans verebilen bir ürün olan 1-siyanobenz[f]izindol'e türevlendirilmiştir. Bu bileşik florimetri ile tiyosiyanat ise UV-VIS spektrofotometre ile saptanmıştır. Gözlenebilme sınırları siyanür için 3,8 µmol/mL ve tiyosiyanat için 86 µmol/mLdir, kandan geri kazanımı sırasıyla %83 ve % 100 dir [48].

Nota ve diğ. sulardaki 0,1-100 ppm siyanür ve tiyosiyanatın aynı zamanda tayini için bir gaz-katı kromatografik metot tanımlamışlardır. Bu metotta çözelti asitlendirilerek

siyanür hidrojen siyanüre dönüştürülür, gaz-katı kromatografi ile hidrojen siyanür ayrılır ve bir azot fosfor dedektörü ile selektif olarak gözlenir [49].

Kage ve diğ. ekstraktif bir alkilasyon tekniği kullanarak kanda siyanür ve tiyosiyanat tayini için bir metot geliştirmişlerdir. Alkilleme reaktifi olarak pentaflorobenzil bromür kullanılmış ve faz-transfer katalizörü olarak tetradesildimetil benzil amonyum klorür kullanılmıştır. Elde edilen türevler gaz kromatografi-kütle spektrometre ile ve elektron-yakalama dedektörlü bir gaz kromatografi ile kantitatif olarak analiz edilmiştir. Siyanür ve tiyosiyanat için gözlenebilme sınırları sırasıyla 0,01 ve 0,003 µmol/L dir. Her iki bileşiğin geri kazanılması %80 dir [50].

Benjamin C. Blount ve diğ.'nin iyon kromatografi-elektrosprey/kütle spektrometre kullanarak insan amniyotik sıvılarında yapılan çalışmada kırksekiz örnekten sadece ikisinin 1000 < µg/L konsantrasyonunda olduğu tespit edildi. Bunun nedeninin sigara içilmesi olduğu bir ihtimal olarak rapor edilmiştir [51].

B. Gong ve G. Gong'un yaptığı çalışmada tiyosiyanatı 2',7'-diklorofluorescein ve iyot ile florimetrik olarak tespit etmişler ve tükürükleri ile serumlarında %97-102 arasında geri kazanarak hassas olarak tayin etmişlerdir [52].

A. Shukla ve diğ.'nin tiyosiyanat anyonu tayini için geliştirdiği yöntemde N-hidroksi-N,N'-difenilbenzamidin (HODPBA) ile $\lambda_{max} = 610$ nm de oluşturduğu kompleksin spektrofotometrik analizi yapılmıştır. Numunelerde bulunabilecek fenol inhibisyonuna karşı kloroform ile önceden ekstraksiyon yapılmış ve bu interferans ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kalibrasyon eğrisinin 5.0 µg/mL den itibaren doğrusal olduğu bildirilmiştir [53].

3.3 Nitrat ve Nitrit Anyonları Hakkında Genel Bilgi

Nitrat, doğal sulardaki iyonların büyük kısmını oluşturmaktadır. Bir araştırmada, yüzey sularında, nitrat azotu 1-2 mg/L arasında bulunmuştur. Güney Dakota'da yapılan araştırmada NO₃-N konsantrasyonu; 1000 kuyunun %4'ünde 100 mg/L'den ve %17'sinde 20 mg/L'den büyük çıkmıştır [54].

Nitrit ise doğal sularda önemli seviyelerde bulunmamaktadır. Nitritin bulunuşu muhtemelen bir kirlenmiş suyun, kaynağa karışması ve oksidasyon şartlarının bulunmayışı ile ilgilidir [54].

Nitrat, tuzlu sularda birincil üretim için sınırlayıcı besin olarak yaygın biçimde bulunur (Berner ve Berner, 1987). Ancak aşırı nitrat konsantrasyonu aşırı alg oluşumuna neden olur. Sedimentlerde organik dekompozisyon, nitratın elektron alıcısı olarak davranmasıyla olur [55].

Nitratın önemli sağlık etkileri vardır. Özellikle bebeklerde methemoglobine hastalığına sebep olmaktadır. Ayrıca nitrit, hemoglobini methehemoglobine çevirerek gerekli oksijenin taşınmasını engellemektedir. Çok ilerleyen durumlarda ölüm söz konusu olmaktadır. USEPA, nitrit ve nitratı yetersiz kanıtın olması nedeniyle kanserojenik gruba dahil etmemiştir [54].

Nitrat ayrıca kandan iyodürü tiroide taşıyan NIS proteinine ilgi göstererek tiroid hormonlarının üretilmesinde sorun çıkarır [56].

3.3.1 Nitrat kaynakları

Nitratta gıdalarda yaygın olarak bulunur. Nitrat, yeşil yapraklı bitkilerde oluşabilir, işlenmiş gıdalara koruyucu olarak eklenebilir ve sütte bulunur. Sebzelerin tüketilmesi nitrata maruz kalmanın öncelikli nedenidir (NAS, 1995). 1981' de NRC günlük nitrat alımının % 97 oranında beslenmeden kaynaklandığını belirtti (vejeteryanlarda % 99) (NAS, 1995). Ancak nitrat işlenmiş gıdalara koruyucu olarak da eklenir. Ayrıca yeraltı ve yüzey içme suları, tarımsal anorganik gübrelerin kullanılmasından, hayvan gübrelerinden ve kuruluşların, fabrikaların ve arabaların emülsiyonlarından dolayı nitrat içerirler. Yoğun olarak tarımsal gübreler önemli azot kaynağıdır [46]. Sebzelerde en yüksek nitrat konsantrasyonu içerenler kereviz, ıspanak, marul, pancar, turp, kavun, şalgam yeşillikleri ve kuru bitki köküdür (1000mg/kg üzeri) (NAS, 1995). Süt ürünleri düşük oranda nitrat içerir ve nadiren 5 mg/kg konsantrasyonunu geçerler (NAS, 1995). Alttaki çizelgede nitratı yaygın olarak içeren gıdalar sıralanmıştır [46]. Besinle alınan nitrata ek olarak yeraltı ve yüzey içme sularına sızan tarımsal nitrat gübreleri sonucu bu sularda da nitrat bulunmaktadır. İnsanların nitrata maruz kaması ekzojen ve endojendir. Ekzojen olarak maruz kalma yukarıda bahsedilen gıdaların tüketilmesi ile meydana gelir. Endojen maruz kalma ise vücudun ürünü olan nitrik oksidin çeşitli hücrelerle nitrata dönüşmesidir (NAS, 1995) [46].

Çizelge 3.1: Nitrat içeren gıdalar.

Süt	Sebzeli Kore yemeği	Havuç
Domuz yağı	Sarımsak	Soğan
Sosis	Enginar	Yeşil Fasulye
Pepperoni	Bezelye	Kavun
Et	Mısır	Şalgam
Jambon	Tatlı patates	Tatlı biber
Brokoli	Lima fasulyesi	Balkabağı
Kereviz	Salatalık	Lâhana
Marul	Domates	Pırasa
Turp	Maydanoz	Karnıbahar
Ispanak	Brüksel lâhanası	Kabak
Pancar	Beyaz patates	Acımarul
Kuru bitki kökü	Patlıcan	karalahana
Şalgam yeşilliği		

Nitrata maruz kalma miktarı farklı zamanlarda ölçülmüştür. 1981’de NRC, nitratin gıdalardan alınımının erkeklerde 40-100 mg/gün olarak belirledi ve buna kirlenmiş suların ilavesi 22-44 mg/L dir (NAS, 1995). 1998’ de Avrupalı bilimadamları beslenme ile alınan nitrati 43-131 mg/gün olduğunu duyurdu (NAS 1995). 1989’ da Van der Brandt, ekzojen nitrat alınımının erkekler için 113 mg/gün ve bayanlar için ise 184 mg/gün olduğunu belirledi (NAS, 1995). 1992’ de Jones, US’ de nitratin ekzojenik alınımının hepçillerde 76 mg/gün ve vejeteryanlarda yaklaşık 260 mg/gün olduğunu belirtti (NAS 1995). Jones, endojenik nitrat üretiminin 62 mg/gün olduğunu da bildirdir (NAS 1995). Bu, insanın nitrata toplam maruz kalmasına % 45 katkı vermek demektir. Jones, toplam endojen ve ekzojen maruz kalma miktarını 138 mg/gün olarak açıkladı (NAS 1995) [46].

Danimarka ve İngiltere’deki çalışmalarda nitrat alınımının yetişkinler için 40-50 mg/gün olduğu tespit edildi. Bu düşük bir değerdir. Bu aralık NIS inhibisyonunda hesaba girebilmektedir. Batı ülkelerinde nitrat serum konsantrasyonu aralığı 10-140 µmol/L arasında değişir. Ortalama aralık ise 30-50 µmol/L arasındadır [46].

Perkloratın 0,0007 mg/kg-gün olan referans konsantrasyonu 70 kg lık bir yetişkin için 0,049 mg/gün olarak ta sınırlandırılabilir. Buradan anlaşılacağı gibi günlük ortalama 40-50 mg nitrat alımı hem EPA' nın RfD si olan 0,049 mg/gün hem de Blount' un 0,046 mg/gün olan perklorata maruz kalınmasından oldukça yüksektir (Ağırlık bazında yaklaşık 1000 kat). Bu yüzden guatr yüklenmesinde nitrat önemli bir anyondur [46].

3.4 İyodür Anyonu Hakkında Genel Bilgi

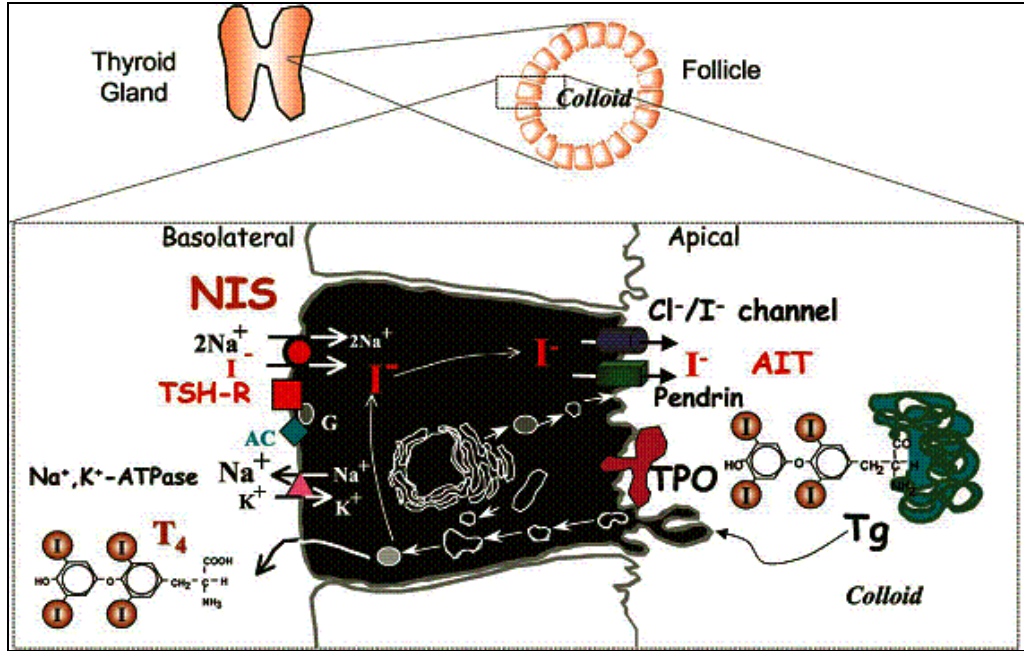
İyodür, bebeklerin ve ceninlerin beyin ve nöral gelişiminde esas olan iyodo-hormonların yapımında tiroid bezi tarafından kullanılır. İyodun beslenme eksikliği çeşitli büyüme ve gelişimsel problemlere neden olabilir ve şiddetli eksikliği kretinizme (Doğuştan tiroidin az çalışmasından ileri gelen fiziki ve akli gerilik hali) yol açabilir [57]. Eksikliği guatr hastalığına neden olur. ABD'de sofraya tuzuna potasyum iyodür katılarak iyodür konsantrasyonu arttırılmaktadır [54]. Perklorat, tiyosiyanat ve nitrat guatr meydana getiren anyonlardır ki iyodür alımını yarışmalı şekilde engeller. Molar bazda perklorat iyodüre göre 30:1, tiyosiyanata göre 15:1 ve nitrata göre 240:1 daha fazla tercihlidir. Kütle bazında 1 g perklorat, 38 g iyodüre veya 8,7 g tiyosiyanata veya 150 g nitrata ekivalenttir. Tiyosiyanat ve nitrat iyodür alımını perklorattan daha fazla engellediğini göstermiştir. İyodürün önemli besin kaynağı olan sütte perklorat genelde 11 µg/L konsantrasyonunun altında (ortalama: 5,6-6,5) iken tiyosiyanat genelde ortalama 5-8,5 mg/L bulunmuştur . Bunun için tiyosiyanatın perklorata göre ortalama konsantrasyon oranı 769'dur [57].

İnsan serumundaki tiyosiyanat sigara içen kişilerde önemli derecede fazladır. Bir çalışmada emziren annelerden sigara içen grubun istatistiksel olarak ortalama serum tiyosiyanat konsantrasyonunun önemli derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca tiyosiyanatın süt veren memeli bezlerinde iyodür taşınmasının engellemesine uyumlu biçimde meme sütünde istatistiksel olarak % 52 oranında iyot azaldığı saptanmıştır. Brokoli, lahana ve karnibahar gibi dört taç yaprağa sahip bitki ailesinin üyelerinde hızlıca enzimatik olarak tiyosiyanata hidrolizlenen glukosinolatlar yüksek seviyede bulunurlar. Başka bir çalışmada, 57 tane emziren bayanın meme sütünde iyodür ile perklorat seviyeleri arasında göze çarpan bir ilişki bulunmamıştır [57].

4. NIS PROTEİNİ VE ANYONLARIN BU PROTEİNE ETKİLERİ

4.1 NIS Proteini Hakkında Genel Bilgi

Tiroid foliküllerindeki hücrelerin membranlarında bulunan NIS (Na⁺-I⁻ Symporter) olarak adlandırılan bir protein, kandaki iyodürün tiroide alınmasına vasıta olur (Şekil 4.1). NIS ayrıca, emzirme ile besin ihtiyaçlarının karşılanması amacıyla memeli bezlerinde de bulunmuştur [58].



Şekil 4.1: Tiroid bezinde NIS'in iyodürü taşıma mekanizması.

NIS inhibitörü anyonlar tiroide gelmesi gereken toplam iyodür alımını düşürerek thyroxine (T₃) ve triiodothyronine (T₄) hormonlarının tiroide üretimini azaltırlar. Bütün NIS inhibitörlerinin zehirlenme mekanizmaları benzerdir. T₄ hormonunun hamilelik boyunca az üretilmesi cenin beyninin düzgün olarak gelişmesinde problem çıkarır. Bu yüzden hamilelikte düşük bir TIU (Total Iodide Uptake) çocuklarda kalıcı zihinsel eksikliklere neden olur. Toplam NIS girişim yüklenmesi toplam guatr yüklenmesi olarak bilinir. Ayrıca iyodürün beslenme yolu ile yeterince alınmaması tiroid bezinde benzer zehirlenme mekanizması oluşmasına neden olur. Bu yüzden TIU

seviyesini, beslenme ile alınan iyodür miktarı ve NIS inhibitörlerinin miktarı belirler [46].

Beslenmemizde yaygın olarak kullanılan sebzelerin bazıları tiyosiyanat için doğal kaynaklardır. Tiyosiyanatça zengin gıdalar; lahanası, brokoli, brüksel lahanası, mısır, şalgam, kolza, hardal tohumu, karnıbahar, turp, ıspanak, domates ve süttür. Gıdalara ek olarak en önemli tiyosiyanat kaynağı sigara içenlerde siyanürün absorbe edilmesiyle oluşur. Siyanür vücutta tiyosiyanata çevrilir. Nitrat da gıdalarda yaygın olarak bulunur. Nitrat, yeşil yapraklı bitkilerde oluşabilir, işlenmiş gıdalara koruyucu olarak eklenebilir ve sütte bulunur. Besinle alınan nitrata ek olarak yeraltı ve yüzey içme sularına sızan tarımsal nitrat gübrelere sonucu bu sularda da nitrat bulunmaktadır.

Bilimsel araştırmalar TIU' nun % 25'in altına düşmesi ile aşağıda belirtilen durumların bağlantılı olduğunu bulmuştur:

- Dikkat eksikliği ve hiperaktiflik düzensizlikleri (ADHD)
- Düşük, sözlü zeka katsayısı (IQ)
- Düşük toplam IQ
- Düşük motor performansı

OIG bilimsel dataları US'de doğan bebeklerin % 6,9 unun TIU değerlerinin % 25 ten daha düşük olduğunu tespit etmiştir (US da yılda 276000 bebek doğar). Ancak OIG' nin çalışmalarına göre TSH' ı yüksek seviyelerde olan ve reaksiyon gecikmesi olan çocuklarda % 25-50 TIU değeri olanların normal çocuklar olabileceği saptanmıştır. Yani kişiden kişiye inhibitörlerin etki edeceği konsantrasyon değeri değişiklik gösterebilir.

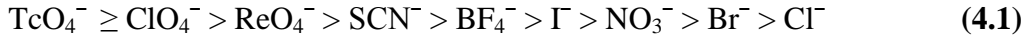
Tiyosiyanat ve nitrat zayıf NIS inhibitörleri olmasına rağmen insanların bu anyonlara maruz kalma seviyesi daha yüksektir. EPA'nın belirlediği en yüksek kirlilikte nitrat içeren 2 L su tüketimi perkloratın referans değerini 12 kat indüklemektedir. Bu, içme sularında azalan nitrata maruz kalmanın anne TIU' sunu azalan perkloratın sudaki ekvivalentine (24,5 ppb) göre daha fazla arttıran bir yaklaşım olduğunu gösterir.

Halk sağlığı konusunda hamilelik ve emzirme döneminde iyodürlü vitaminlerin ve tamamlayıcı takviyelerin alınması tavsiye edilmektedir [46].

4.2 Sodyum (Na⁺)/İyodür Symporter (NIS) İnhibitörleri

NIS, kan serumundan tiroidin follikuler hücrelerine sodyum ve iyodür iyonlarını aktif olarak taşıyan bir trans-fosfolipid membran proteinidir.

NIS, iyodür anyonuna büyük ilgiye sahip olmasına rağmen çoğu tek değerlikli anyonu da taşıyabilir. (De Groef, 2006; Carrasco, 2005). Şu anyonlar tiroid bezinde birikir veya NIS'ı inhibe eder: Perteknetat (TcO₄⁻), perklorat (ClO₄⁻), perrenat (ReO₄⁻), tiyosiyanat (SCN⁻), tetrafloro borat (BF₄⁻), iyodür (I⁻), nitrat (NO₃⁻), bromür (Br⁻), klorür (Cl⁻), klorat (ClO₃⁻), selenosiyanat (SeCN⁻), periyodat (IO₄⁻) ve bromat (BrO₃⁻) (Carrasco, 2005; Wolff, 1998; Dohan, 2007). İyodür, NIS' a en yüksek ilgiyi gösteren anyon değildir. İlgi sırası ise şöyledir:



Bu sıralamadan görüldüğü gibi tiyosiyanat ve perklorat iyodüre göre daha fazla seçimlidir [46].

1953' ten bu yana yapılan çalışmalarda NIS inhibitörleri olan perklorat, tiyosiyanat ve nitrat için nispi etkileri Çizelge 4.1'deki gibidir [46].

Çizelge 4.1: Perklorat, tiyosiyanat ve nitrat anyonlarının NIS'a nispi etkileri [46].

Çalışma	Çalışma açıklaması	NIS inhibitörlerinin nispi etkileri(molar konsantrasyona bağlı)		
		Perklorat	Tiyosiyanat	Nitrat
Tonacchera 2004	İnsan NIS'ını ifade eden in vivo Çin Hamster Yumurta hücreleri	1	15	240
Alexander 1966	In vivo Farelerde tiroidin ağırlığının % 50 artması	1	20	550
Alexander 1966	In vitro fare tiroid parçası	1	20	400
Greer 1966	In vitro fare tiroidleri	1	20	240
Wyngaarden 1953	In vivo fare	1	10	300

Tonnacchera NIS modelinde iyodür alımını, iyodür, perklorat, tiyosiyanat ve nitrat anyonları varlığında hesaplayan bir formül geliştirilmiştir. Bu formülde toplam iyodür alımı şu oranla bulunmaktadır:

$$[\text{I}^-] / (1.22 + ([\text{ClO}_4^-] + [\text{NO}_3^-]/240 + [\text{serbest SCN}^-]/15)) \quad (4.2)$$

[], her bir anyonun $\mu\text{mol/L}$ cinsinden konsantrasyonudur. Bu eşitlik dört anyonun farklı konsantrasyonları ile oluşabilecek zehirlenmeleri belirleme açısından son derece faydalıdır. Hamilelik ve emzirme döneminde toplam iyodür alımındaki azalma ile doğrudan oluşabilecek kötü sonuçlar bağlantılıdır. Bu model ile hesaplanmış spesifik toplam iyodür alımı seviyesi ile spesifik kötü sonuçlar arasındaki bağıntı yapılıdır [46].

4.2.1 Hipotiroidizm veya hipotiroxinemia'nın oluşması

Cenin beyin gelişiminin düzgün ilerlemesi için gebelik boyunca T_4 hormonunun yeterli düzeyde alınması gerekir. Cenin, gebeliğin ortalarında veya ilerleyen zamanlarında anne T_4 'üne tamamiyle bağımlıdır (Glinoeer 2005). Annenin hipertiroidizmi çocuk için toksiktir [46].

Hipotiroidizm düşük iyodür alımından kaynaklanmasına rağmen perklorata maruz kalmaya bağımlı değildir. Tonacchera modeli göstermiştir ki kandaki iyodür miktarı ile NIS ile alınan iyodür miktarı arasında doğrudan bir ilişki vardır. Bu yüzden beslenmedeki iyodür eksikliği zehirlenmenin benzer etkisini gösterir ve NIS' ın yüksek derecede inhibe edilmesine neden olur [46].

NIS inhibitörü olan tiyosiyanat, nitrat ve perkloratın NIS inhibisyonu için sinerjik veya ters etkileriyle ilgili kesin bir kanıt yoktur. Sadece bu anyonların molar etkileri toplam inhibisyonu belirler.

OIG, şu üç epidemiyolojik çalışmaların sonucunu vermiştir [46]:

Şiddetli hypothyroxinemia, siyanüre maruz kalan elektrokaplama endüstrisindeki çalışanlarındaki NIS inhibitörü tiyosiyanata maruz kalınması ile oluşabilir (Banerjee 1997)

Hypothyroxinemia, tiyosiyanatlı koruyucu içeren sütleri tüketen bayanlarda görülebilir (Banerjee 1997).

Hypertrophy, okul çağındaki çocukların nitrata maruz kalması ile oluşabilmektedir [46].

4.2.2 Siyanüre maruz kalan yetişkinlerde aşırı NIS inhibisyonu

NaCN ve KCN elektrokaplama endüstrisinde kullanılır. Siyanür içeren havuzlar, çalışanların siyanüre maruz kalmasına neden olur. Vücut, siyanürü absorbladığında

bunun % 80'i sülfürtransferaz enzimi, rodanez enzimi ile tiyosiyanata çevrilir (WHO 2004) [46].

Banergee'nin, siyanür havuzu içeren bir fabrikada yaptığı çalışmanın sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 : Banergee'nin, siyanür havuzu içeren bir fabrikada yaptığı çalışmanın sonuçları [46].

Çalışma Grubu	Tiyosiyanat ($\mu\text{mol/L}$)	T4 ($\mu\text{g/dL}$)	T3 ($\mu\text{g/dL}$)	TSH ($\mu\text{U/mL}$)
Maruz kalmayan 35 Çalışan (Hiçbiri sigara içmiyor)	90,8 \pm 9,02	6,09 \pm 0,601	111,0 \pm 9,3	1,20 \pm 0,301
Maruz kalan 35 Çalışan (Hiçbiri sigara içmiyor)	316 \pm 15*	3,81 \pm 0,318†	57,2 \pm 8,1†	2,91 \pm 0,20†
Üreticilerin test kitlerinin normal aralıkları		5,5-13,5	60-200	0,2-4,0

*p<0,01

†p<0,05

Aşırı SCN^- maruz kalmada hesaplanmış NIS inhibisyon RfD' si 0,0075 mg/kg-gün'dür [46].

4.2.3 Tiyosiyanat-koruyuculu inek sütlerinin yetişkin bayanların tüketilmesiyle meydana gelen olumsuz tiroid sağlık etkileri ile aşırı NIS inhibisyonu

Hindistan Calcutta' da yerel mandıralar, laktoperoksidaz-tiyosiyanat-hidrojen peroksit sistemini (LP sistemi) aktiflemek için sütlere 30-50 mg/L tiyosiyanat ilavesi yapılmaktadır. LP sistemi hipotiyosiyanatı (OSCN^-) bakteriyostat olarak bakteri gelişimini engellemek için oluşturur. Tiyosiyanat-koruyuculu sütlerin içilmesi yüksek tiyosiyanata maruz kalınmasına neden olur.

Ayrıca tiyosiyanat-koruyuculu sütleri günde 250 mL içen 35 bayanla maruz kalan grup oluşturulmuştur. Diğer bir 35 kişilik grup ise tiyosiyanat-koruyucusuz süt içen bayanlardan oluşturulmuştur. Bütün katılımcılar benzer sosyoekonomik sınıftan ve tek beslenme özelliklerine göre seçilmiştir. Ayrıca hiçbiri sigara içmemiş ve tiroid hastalığı geçmişi olmayan bayanlardır.

Herbir hedeften 5 mL kan örneği alınmış ve serumda T₄, T₃, TSH ve tiyosiyanat konsantrasyonları test edilmiştir. İyodür seviyeleri ise idrarda ölçülmüştür.

Hypothyroxinemia, normalin altında T₄, normal T₃ ve TSH seviyelerinde belirlenir. Hypothyroxinemia tiyosiyanata maruz kalan grupta saptanmıştır.

Çizelge 4.3 : Banergee'nin tiyosiyanat koruyuculu ve koruyucusuz sütleri tüketen bayanlarda yaptığı çalışma sonuçları [46].

Çalışma Grubu	Tiyosiyanat ($\mu\text{mol/L}$)	T4 (nmol/L)	T3 (nmol/L)	TSH ($\mu\text{U/mL}$)
Maruz kalmayan 35 bayan (hiçbiri sigara içmiyor)	90,8 \pm 9,0	125,4 \pm 11,5	1,71 \pm 0,16	1,09 \pm 0,28
Maruz kalan 35 bayan (SCN- koruyuculu süt içenler)	230,0 \pm 10,0*	87,8 \pm 6,6*	2,39 \pm 0,32	2,49 \pm 0,20*
Üreticilerinin test kitlerindeki normal aralık		110-279	0,93-3,12	0,2-4,0

*p<0,01

Banergee'nin çalışmasında maruz kalanların T₄ değerleri düşük çıkmıştır.

Tiyosiyanata maruz kalan bayanlarda hesaplanan NIS inhibisyon RfD'si 0,0046 mg/kg-gün dür.

4.2.4 Okul çağındaki çocukların nitratla kontamine olmuş suları tüketmesiyle gözlenen aşırı NIS inhibisyon RfD'sinin hyperthropy için hesabı

Bu çalışmada, Slovakya'nın (Tajtáková 2006) alçak arazilerindeki tarım bölgelerinde nitrat konsantrasyonu yüksek (51-274 mg/L) çeşme sularını içen 342 okul çağındaki çocukların tiroid hacimleri kontrol edilmiştir. Bu çalışmada, düşük nitrat konsantrasyonu içeren suları tüketen (< 2 mg/L) çocuklara göre de karşılaştırma yapılmıştır. Sularında düşük konsantrasyonda nitrat içeren diğer bir bölgenin 596 çocuğunda da kontrol yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

Çizelge 4.4 : Tajtáková'nın farklı konsantrasyonlarda nitrat içeren suları tüketen çocuklarda yaptığı çalışmada tiroid hacimlerinin sonuçları [46].

Çalışma Grupları	Tiroid Hacmi	
	10 yaşındaki çocuklar	13 yaşındaki çocuklar
Sularında Yüksek Konsantrasyonda Nitrat bulunan bölgelerdeki 324 çocuk	5,10 ± 0,14 ml	5,97 ± 0,11 ml
Sularında Düşük Konsantrasyonda Nitrat bulunan bölgelerdeki 168 çocuk	4,58 ± 0,17 ml (p<0,02)	5,23 ± 0,15 ml (p<0,05)
Sularında Düşük Konsantrasyonda Nitrat bulunan Košice Şehrinden 596 çocuk	4,77 ± 0,10 ml (p<0,05)	4,87 ± 0,14 (p<0,0001)

Yüksek konsantrasyonlu nitrat içeren su tüketen çocukların tiroid hacimleri düşük konsantrasyonlu nitrat içeren su tüketen çocuklara göre daha büyük çıkmıştır.

Çizelge 4.5 : Tajtáková'nın farklı konsantrasyonlarda nitrat içeren suları tüketen çocuklarda yaptığı çalışmada toplam thyroxine (tT4) ve serbest triiodothyronine (fT3) konsantrasyonlarının sonuçları [46].

Çalışma Grupları	Kan Örneği Sonuçları	
	Toplam Thyroxine (tT4)	Serbest Triiodothyronine (fT3)
Sularında Yüksek Konsantrasyonda Nitrat bulunan bölgelerdeki 315 çocuk	88,9 ± 26,9 nmol/L	5,9 ± 1,0 pmol/L
Sularında Düşük Konsantrasyonda Nitrat bulunan bölgelerdeki 109 çocuk	82,1 ± 22,6 nmol/L	6,0 ± 0,9 pmol/L

Yüksek konsantrasyonda nitrat içeren suların nitrat konsantrasyonu 152,8 mg/L iken, Košice'de ki sulara <2 mg/L bulunmuştur. Bunlar arasında önemli bir fark vardır (150,8 mg fazla nitrat x 1L/kişi/gün). Slovakya'da ki çocukların bu suları tüketmesi az veya çok olabilmektedir [46].

4.2.4.1 Aşırı nitrata maruz kalınmasında NIS inhibisyonu

Nijerya'da yapılan çalışmada ortalama tiroid hacmi 9,5mls ± 1,82 (Ahidjo 2006). İzlanda, İsveç, Hollanda ve Amerika'da bayanların tiroid hacmi 8-12 mls ve erkeklerin 11-15 mls olarak belirlenmiş (Langer 1989).Tiroid hacminin yetişkinler için tavsiye edilen üst sınır değeri 18 mls' dir (Ivanac 2004).

Yüksek nitrat içeren suları içen 10 yaşındaki çocukların düşük olanlara göre tiroid hacmi % 11 daha büyüktür. 13 yaşındakiler için ise % 14 daha büyük çıkmıştır. 15 yaş altı çocuklar için tiroid hacminin üst limiti 16 mls dir (Ivanac 2004)

Okul çağı çocukları için NIS RfD si 0,0024 mg/kg-gün olarak belirlenmiştir [46].

4.2.5 NIS inhibitör alımında mevsime ve beslenmeye göre farklılıklar

Bireylerin serum tiosiyanatı beslenme alışkanlıklarına göre farklılık gösterir. Örneğin sigara içmeyen biri haftada her gün 100 gram taze brüksel lahanası tükettiğinde tiosiyanat serum konsantrasyonu 31 $\mu\text{mol/L}$ den 80 $\mu\text{mol/L}$ ye çıkabilmektedir. Ayrıca günlük beslenmeye ve mevsime bağlı olarak tiosiyanat konsantrasyonunda 10 $\mu\text{mol/L}$ lik değişiklik gözlenir (Foss 1986). Lahanada tiosiyanat içeriği yüksektir ve sonbaharda tüketimi diğer mevsimlere göre daha fazladır. Çizelge 4.6'da sigara içen ve içmeyen bireylerin mevsimlere göre serum tiosiyanatlarının konsantrasyonlarındaki değişimler gösterilmiştir.

10 $\mu\text{mol/L}$ lik değişiklik Tonicchera Modelinde 0,333 $\mu\text{mol/L}$ ye karşılık gelir ((10 $\mu\text{mol/L}$ x 0,5 serbest SCN-)/15). Bu çıkan değer NIS inhibisyonu RfD değerinden 24 kat büyüktür. Yani NIS inhibisyonuna neden olabilir [46].

Çizelge 4.6 : Mevsimlere göre serum tiosiyanatındaki farklılıklar [46].

Çalışma grubu	Serum Tiosiyanatı ($\mu\text{mol/L}$)			
	Yılın 1. çeyreği	Yılın 2. çeyreği	Yılın 3. çeyreği	Yılın 4. çeyreği
Sigara içmeyen erkekler (n = 6212)	29,5	30,2	39,4	39,4
Sigara içmeyen bayanlar (n = 7908)	29,9	30,1	39,9	39,4

4.2.6 Ceninde toplam NIS inhibisyon alımı

Doğmamış bebeklerden direk ölçümler risk taşıdığından ceninde, tiosiyanat, perklorat ve nitrat anyonları göbek kordonu kanından bakılır. Batı Dünyası'nda tipik tiosiyanat serum konsantrasyonu 40 $\mu\text{mol/L}$ dir. Göbek kordonu kanında ki konsantrasyonlarla gerekli katsayı çarpılarak bebeğin sahip olduğu tiosiyanat, perklorat ve nitrat dolaylı olarak hesaplanır.

Çizelge 4.7 : Cenin toplam NIS yüklenmesini hesaplamak için kordondan alınan örneklerde yapılan çalışma sonuçları [46].

Çalışma	Annenin SCN ⁻ Serum konsantrasyonu (µmol/L)	Kordon SCN ⁻ Serum konsantrasyonu (µmol/L)	SCN ⁻ Oranı Kordon Serum/Anne Serumu
Hauth 1984			
Sigara içenler	95	72	% 76
Pasif içiciler	35,9	26	% 72
Sigara içmeyenler	32,3	23	% 71
Laurberg 2004			
Sigara içenler	84,9 ± 25,4	94,6 ± 31,9	% 111
Sigara içmeyenler	54,7 ± 18,2	48,3 ± 15,5	% 88
Nafstad 1995			
24 sigara içen ve 4 içmeyen kişi	69	47	% 68
Vanderpass 1984			
Merkez Afrika	133 ± 7	134 ± 2	% 101
Belçika kontrolleri	36 ± 7	33 ± 7	% 92

Dolayısıyla tablodaki minimum orandan (% 71) faydalanarak cenin tiosiyanat serum konsantrasyonunun en az 28,4 µmol/L olduğu tahmin edilebilir.

Nitrat için göbek kordonundan bir çalışma gerçekleştirilememiştir [46].

4.2.7 Emziren bebeklerde toplam NIS inhibisyon alımı

Tiyosiyanat, perklorat ve nitrat anlarının üçüde anne sütünde bulunur. Bir Norveç çalışmasında anne sütünde tiyosiyanat konsantrasyonu sigara içenlerde 9,0 mg/L ve sigara içmeyenlerde 10,5 mg/L olduğu yayımlandı (Dorea 2004). US'de ise sigara içmeyenlerdeki konsantrasyon 0,92 mg/L ve içenlerde ise 4,2 mg/L dir (Dorea 2004). Dorea'nın bu çalışması sigara içmeyenlerin sütlerindeki tiyosiyanat konsantrasyonlarının 0,92-10,5 mg/L arasında olduğunu gösterir. Ceninin NIS inhibisyon tahmini RfD değeri US'deki sigara içmeyen annelerin sütlerindeki 0,92 mg/L konsantrasyonudur.

Iowa Eyaleti'nde sağlıklı 20 bayandan alınan süt örneklerinde nitrat konsantrasyonu 4,4 ± 3,6 mg/L bulunmuştur.

4.2.8 NIS inhibisyonunu tolare etmede iyodürle beslenmenin rolü

Tonacchera Modeli, iyodür alımının NIS'a etkisini de incelemiştir. UIC'nin 50, 72,5 ve 145 µg/L konsantrasyonlarının 1,501 µmol/L'deki kısımlarına bağlı olan 0,34, 0,50 ve 1,00 değerleri iyodür seviyesi olarak kullanılır. UIC'nin 50, 72,5 ve 145 µg/L konsantrasyonları iyodür yetersizliği için sınır değerleridir [46].

Çizelge 4.8 : NIS inhibisyonunu tolare etmede iyodürle beslenmenin önemli sonuçları.

Normal %TIU Seviyesi	İyodürle Beslenmenin Normal kısmı	SPEC(% TIU) µmol/L	US Normal†† TIU Seviyesine Ulaşmak için İlave SPEC (µmol/L)	Belirlenmiş TIU seviyesini oluşturmak için NIS inhibitör ilavesinin yüzde artışı (%)
% 10	0,34*	8,03	6,53	% 435
% 15	0,34*	4,94	3,45	% 230
% 20	0,34*	3,41	1,90	% 127
% 22,7	0,34*	2,85	1,35	% 90
% 25	0,34*	2,48	0,98	% 65
% 30	0,34*	1,86	0,36	% 24
% 34	0,34*	1,501	0	% 0,0
% 10	0,50†	12,38	10,88	% 725
% 15	0,50†	7,85	6,35	% 423
% 20	0,50†	5,58	4,08	% 272
% 22,7	0,50†	4,77	3,27	% 218
% 25	0,50†	4,22	2,72	% 181
% 30	0,50†	3,32	1,81	% 121
% 34	0,50†	2,78	1,28	% 85
% 50	0,50†	1,501	0	% 0,0
% 15	1,00	16,92	15,41	% 1027
% 20	1,00	12,38	10,88	% 725
% 22,7	1,00	10,77	9,27	% 618
% 25	1,00	9,66	8,16	% 544

Çizelge 4.8: (Devam) NIS inhibisyonunu tolare etmede iyodürle beslenmenin önemli sonuçları.

% 34	1,00	6,78	5,28	% 352
% 50	1,00	4,22	2,72	% 181
% 100	1,00	1,501	0	% 0,0
(normal TIU)				

4.2.9 Herbir NIS stresörün etkisinin değerlendirilmesi

İyodürle beslenme halk sağlığı açısından kritik bir öneme sahiptir. Tonacchera Modeli, iyodür miktarı ile vücudun toplam NIS inhibisyon yüklemesi (SPEC ile ölçülen) arasındaki ilişkiyi basitleştiren iki eşitlik yayınlamıştır.

Çizelge 4.9 : İyodür miktarı ile vücudun toplam NIS inhibisyon yüklemesi arasındaki ilişki.

Normal Seviyesi	%TIU	Normal Beslenmesi (%)	İyodür (%)	SPEC $\mu\text{mol/L}$	US Normal*inden TIU Ulaşmak için SPEC de $(\mu\text{mol/L})$	Toplam NIS inhibitör yüklenmesinde yüzde değişiklik
% 99		% 100		1,528	0,027	% 1,8
% 99		% 99		1,501	0,0	% 0,0
% 100		% 100		1,501	0,0	% 0,0
(normal TIU)						
% 100		% 99,4		1,468	0,015	% -1,0
% 100		% 99		1,474	0,027	% -1,8
% 101		% 100		1,474	0,027	% -1,8

İyodür eksikliği NIS stresörleri arasında en baskındır. Beslenme ile alınan iyodürdeki % 1'lik azalma vücudun toplam NIS inhibisyon yüklenmesinde % 1,8'lik azalmaya yakın bir etki gösterir. Yani iyodürdeki azalma diğer NIS inhibitörlerine göre TIU'da iki kat fazla etki gösterir.

Tonacchera Modeli, TIU'ya etkide dört anyonunda hesabını içerir. Şu sıralama stresörlerin halk sağlığı etkilerini karşılaştırılması bakımından önemlidir.

İyodür eksikliği > SCN^- >> NO_3^- >> ClO_4^-

Herbir NIS stresörün bu nispi etkisi halk sağlığı açısından alınacak önlemler için oldukça faydalıdır [46].

4.2.10 İyodürle zayıf beslenmende azalan toplam NIS inhibisyon yüklenmesinin etkisinin değerlendirilmesi

Tonacchera Modeli, TIU seviyesini normal tutmak için iyodürle fakir beslenmenin telafi edilmesi ile vücudun azalan toplam NIS inhibisyonunu açıklayabilir. İyodür beslenmesinde % 1 düşüş (UIC'nin 143,6 µg/L konsantrasyonuna denk gelen) vücudun toplam NIS inhibisyon yüklenmesinin 0,027 µmol/L azalmasına neden olur. % 7,5 azalma ile 0,176 µmol/L ve beyin iyodür eksikliği sınır değeri olan % 31 azalma ile ise vücudun toplam NIS inhibisyonu yüklenmesinde 0,843 µmol/L SPEC azalışı gözlenir.

Sonuç olarak NIS inhibitörlerine ortalama maruz kalmada azalma iyodür eksikliğinin telafisi için etkili bir çözüm değildir. Bunun tek telafi yolu besin ile iyodür alımının artırılmasıdır [46].

5. SÜT VE SÜTÜN GENEL ÖZELLİKLERİ

5.1 Sütün Önemi

Bitkisel ve hayvansal kaynaklı çok sayıda gıda maddeleri arasında süt özel bir öneme sahiptir. Süt memeli hayvanlarda ve insanlarda ilk yaşam periyodu içinde gerekli olan tek gıda maddesi olma görevini üstlenmiştir. Sütün bu görevi yerine getirebilmesi için; genç organizmanın istediği tüm besin öğelerini, özellikle gelişme ve büyümede önemli rol oynayan protein ve mineral maddeler gibi yapı taşlarını kantitatif olarak yeterli miktarlarda içermesi gerekmektedir [59].

Gelişmekte olan insanların beslenmesinde süt ve süt ürünlerinin dengeli beslenme açısından önemi, muntazam besleyici maddeler bileşimi ve gelişmekte olan organizma tarafından ihtiyaç duyulan temel besin öğelerini yüksek miktarlarda içermesi nedeniyledir. Bu kapsam içerisinde; yetişkinin, süt ve süt ürünleri olmadan kimi gıda bileşenlerine olan gereksinimi karşılamıyacağı veya çok zor karşılayabileceği saptanmıştır. Ancak; değişik gıda maddelerinin dengeli bileşimleri ile optimal besleyici madde teminini ideal bir şekilde tamamladıkları, sütün de bitkisel gıda maddeleri ile kombinasyonunun bu kapsam içinde etkili olduğu belirtilmelidir [59].

Süt olduğu gibi, veya yoğurt, tereyağı, peynir ve benzeri süt ürünleri şeklinde tüketilir. Yalnızca süt denildiği zaman inek sütü anlaşılır, diğer sütler sağıldığı hayvanın adıyla anılır: keçi sütü, manda sütü v.b. gibi [60].

5.2 Sütçülüğün Tarihçesi

Sütün bilinmesi ve gıda maddesi olarak kullanılmasının günümüzden 8-10 bin yıl öncesinde Orta Asya'da sığırların evcilleştirilmesi ile başladığı tahmin edilmektedir. Hintliler'e ait kaynaklardan, bundan 6000 yıl önce sütün değerinin anlaşılması olduğu görülmektedir. Sütün üretimine ait bilgiler de Babil'de bulunan 5000 yıl öncesinin kayıtlarında yer almıştır. Bu bölgede yerleşmiş bulunan Sümerler'in eserlerinden de M.Ö. 4000 - 3000 yıllarında tereyağı yapılmasının bilindiği anlaşılmaktadır [59].

Batıda süt ve ürünleri ile ilgili bilgilerimiz daha yakın tarihlere ait olup, M.Ö. 400 - 200 yılının yazar ve düşünürlerinden Aristoteles, Hippokrates ve Cato'nun eserlerinden eski Romalı ve Yunanlılar'da peynir üretim ve tüketiminin o çağlarda oldukça gelişmiş olduğu, tereyağın ilaç ve besin olarak kullanıldığı anlaşılmaktadır [59].

Orta Asya'da Türkler'in süt ve ürünleri ile ilgili bilgilerini Kâşgarlı Mahmut'un "Divânü Lugaat - itTürk", Balasagurulu Hacı Yusuf'un "Kutatgu-Bilig" adlı eserlerinden öğrenmekteyiz. Bu eserlerde günümüzden 2000 yıl önce Orta Asya'da yaşayan kavimlerin yoğurt yaptıkları ve geniş ölçüde tükettikleri anlaşılmaktadır. Moğol İmparatoru Cengiz Han'ın 13. yüzyılda batıya yaptığı seferler ile taşıma kolaylığı ve dayanıklılığı nedeniyle tercih edilen süttozunu Avrupalılar'a tanıttığı bilinmektedir. Mevcut bulgulardan sütün çok eski tarihi olduğunun bilinmesine rağmen, uzun süre ilkel yöntemler ile üretimi yapılmış ve sanayii durumuna dönüşmesi çok yeni olup, başlangıcı 19. yüzyılın sonlarına doğrudur. Sanayileşmeyi; nüfusun şehirlerde yoğunlaşması sonucu aile sisteminin değişmesi başlatmış, gıda üretiminde ve muhafazasında yeni teknolojik buluşların uygulanması ileri düzeye çıkarmıştır [59].

5.3 Dünya Sütçülüğü

Dünya sütçülüğü; 1862-1864 yıllarında Louis Pasteur tarafından pastörize yönteminin bulunması ve gıda maddelerine uygulanmasını takiben 1880-1890 yıllarında Almanya ve Danimarka'da ilk kez sütün pastörizasyonunun ticari anlamda kullanılması ile ilk gelişme aşamasına girmiştir. Pastörizasyonun Süt Sanayiine girmesi süt bilimi ve teknolojisinde hızlı bir gelişme sürecini başlatmış, mikrobiyolojik ve teknolojik buluşlar en modern cihazlar ile üstün kalitede süt ürünlerinin üretilmesine olanak sağlamıştır [59].

5.4 Sütün Bileşenleri

Sütün bileşenleri su, yağ ve yağda çözünen maddeler, proteinler, karbonhidrat, tuzlar, suda çözünen başka maddeler ve enzimlerdir [60,61]. Bunlardan süt yağı, süt şekeri ve kazein başka yerde ne vücutta ve ne de doğada bulunmazlar. Süt bileşenlerinin

oranı değişik etkiler altında az çok farklıdır. Sütle ilgili yapılan analizlerin sonucu çizelge 5.1’de verilmiştir [60]:

Çizelge 5.1: Süt bileşenleri.

Bir Litre sütün ortalama bileşenleri	
Su	860-900 g
Yağ ve yağda çözünen maddeler	
Süt yağı	35-40 g
Lesitin v.b.	0,3-0,5 g
Kolesterol	0,1-0,15 g
Karotinoidler	0,1-0,6 mg
A, D, E vitaminleri	1,5-2,0 mg
Proteinler	
Kazein	25-30 g
Laktalbumin	4-5 g
Laktoglobulin	0,5-1 g
Karbonhidrat	
Laktoz	45-50 g
Tuzlar	9-9,5 g
Suda çözünen başka maddeler	
Limon asidi (Sitrik asit)	0,2 g
B1, B2, B6 ve B12 vitaminleri	1,9-3,6 mg
C vitamini	60-100 mg
Niasin	0,-1,2 mg
Pantotenik asit	2,8-3,6 mg
Kolin	150 mg
Bios I	180 mg
Gazlar	
CO ₂	100 mg
N ₂	15 mg
O ₂	7,5 mg

Sütün bileşimi ineğin cinsine, süt verme zamanına, beslenmesine, yılın sezonuna, ve diğer birçok nedenden önemli biçimde farklılık gösterir. Ancak bileşenler arasındaki bazı ilişkiler çok karardır ve sütün yapısında herhangi bir değişiklik olup olmadığını belirlemede kullanılabilir. Örneğin normal yapıdaki bir süt 20°C’de 1,023’den 1,040’e değişen spesifik bir özgül ağırlığa sahiptir ve donma noktası -0,518 ile -

0,534 °C arasındadır. Süte su katılması gibi herhangi bir değişiklik kolaylıkla tespit edilebilir. Çünkü sütün bu karakteristik özellikleri artık normal aralıklarında olmayacaktır. Süt hızlıca bozulan bir ürün olduğundan toplandıktan hemen sonra 4 °C’de saklanmalıdır. Aşırı sıcaklık, asitlik veya mikroorganizmalar tarafından kirlilik sütün kalitesini hızlı bir şekilde bozar [62].

Çizelge 5.2: Birkaç çeşit sütün ortalama bileşimi, 100 gramda g olarak.

Sütün cinsi	Su	Yağ	Kazein	Albumin ve globulin	Laktoz	Kül
İnek sütü	87,3	3,7	2,8	0,6	4,8	0,75
Kadın sütü	87,2	3,8	0,4	0,8	6,7	0,21
Keçi sütü	87,1	3,8	2,6	1,15	4,6	0,85
Koyun sütü	82,8	6,3	4,4	0,9	4,6	0,90
Manda sütü	82,4	7,4	0,4	1,3	4,8	078

Sütün en fazla bulunan bileşeni sudur, suyun uçurulması ile geride kuru özüt veya kuru madde kalır. Bu kuru özütten lipidler de çıkarılırsa geride yağsız kuru özüt kalır [60].

Sütün eşsiz besin dengesinden dolayı sütün bütün olarak besliyici değeri tek tek besin değerlerinden daha büyüktür. Bu dengeyi sütün içindeki su yansıtır. Bütün hayvanlarda su en fazla gereken besindir ve salgılanan laktozun miktarı sütün içindeki su miktarı ayarlanır. Süte giden su kan ile memeli bezine ulaştırılır. Süt üretimi su eksikliğinde ve içme suyunda aynı günde sınırlı sulara düşmede hızlıca etkilenir. Bu, ineklerin neden her zaman bol miktarda suya serbestçe ulaşması gerektiğinin bir nedenidir [62].

Sütün hafif sarımsı beyaz rengi ve saydam olmayışı yağın sütte emülsiyon halinde (= yağın mikroskobik damlacıklar durumunda dağılmış, sudaki emülsiyonu) bulunuşundan, proteinlerinden koloidal halde, laktoz ve tuzların çözülmüş olarak bulunmasından, riboflavin ve karotinoidlerden ileri gelir.

Bir süt cinsi için miktar itibariyle en çok değişen bileşen yağ, daha az değişen proteindir. En az değişiklik gösteren karbonhidrat ve küldür.

Sütün kendine özgü karakteristik bir görünüşü, kokusu ve lezzeti vardır. Az çok yağı alınmış veya sulandırılmış süt kuvvetli beyaz rengini yitirir, mavimsi bir renk alır.

Taze sütün pH si 6,3-6,6 arasındadır. Turnusola karşı amfoter, fenolftaleine karşı asidik, metil oranja karşı alkali reaksiyon gösterir. Sütün asitliği fenolftalein beraberinde alkali ile titre etmek suretiyle belirlenir. 17,6 mL sütün bu titrasyonunda harcanan 0,1 N sodyum hidroksit mililitresi sayısı 20 ile bölünürse süt asidi cinsinden sütün asitliği çıkar. Burada asitliğin süt asidi cinsinden deyimlenmesinden suttee bu kadar süt asidi anlamı çıkarılmamalıdır. Taze sütte süt asidi yoktur. Taze sütün, süt asitliği cinsinden asitliği % 0,15-0,16 dır. Sütün titre edilen asitliği yüksek oranda kazein ve fosfat bileşeninden ileri gelmektedir. Karbon dioksit, sitratlar ve albumin de buna katılırlar [60].

5.4.1 Süt yağı

Süt yağı yem ve vücut yağından farklıdır. Bu yağ yem yağından ve başlıca yem karbonhidratı selülozdan meydana gelir. Sütte yağ süspansiyon halinde, çapları 2-4 mikron olan gayet küçük kürecikler şeklinde bulunur.Yağın bu şekilde oluşunun sindirim kolaylığı bakımından önemi vardır.

Süt yağı kimyasal bakımdan, suda çözünen uçucu asitlerden (başlıca butirik asit), diğer besin yağlarına göre daha çok içermesiyle farklanır. Süt yağına tereyağı denir. Butirik asit tereyağına özgüdür ve insan besininden yalnız tereyağında bulunur.

Tereyağının ve anne sütü yağının yüzde yağ asitleri bileşimi Çizelge 5.3'te verilmiştir.

Görüldüğü gibi süt yağında en çok bulunan asit oleik asittir, ondan sonra palmitik asit gelir. Tereyağının yumuşak oluşu da bundan ötürüdür. Tereyağı gliseridlerinde çokluk iki veya üç değişik asit birimleri gliserinle esterleşerek karışık trigliseritleri teşkil etmişlerdir. Süt yağında daima pak az sterinler, fosfolipidler, yağda çözünen vitaminler, karotin ve ksantofil bulunur. Sterinlerden başlıca kolesterin (%0,37), fosfolipidlerden başlıca lesitin ve kefalin (% 0,08) vardır [60].

Süt yağı kimyasal bakımdan, suda çözünen uçucu asitlerden (başlıca butirik asit), diğer besin yağlarına göre daha çok içermesiyle farklanır. Süt yağına tereyağı denir. Butirik asit tereyağına özgüdür ve insan besininden yalnız tereyağında bulunur.

Çizelge 5.3: İnek sütü ve anne sütü yağının yağ asitleri bileşenleri.

	Kadın sütü	İnek sütü		Kadın sütü	İnek sütü
Doymuş asitlerden	%	%	Doymamış asitlerden	%	%
Butirik	0,4	3,1	Desenoik	0,1	0,2
Heksanoik	0,1	1,0	Dodesenoik	0,1	0,2
Oktanoik	0,3	1,2	Tetradeseoik	0,6	1,1
Dekanoik	2,2	2,6	Heksadesenoik	3,0	3,1
Laurik	5,5	2,2	Oktadesenoik (oleik)	36,5	32,2
Miristik	8,5	10,5	Oktadekadionik		
Palmitik	23,2	26,3	(linoleik)	7,8	1,6
Stearik	6,9	13,2	Linolenik	0,4	0,5
Arahidik	1,1	1,2	Arahidonik	0,9	1,0
Toplam	48,2	61,3	Eikosadienoik	2,4	-
			Toplam	51,8	39,9

5.4.2 Süt karbonhidratı

Karbonhidrat olarak sütte yalnız laktoz (süt şekeri) tanılanmıştır. Laktoz doğa maddelerinden yalnız sütte bulunur. Süt şekeri meme bezlerine kanla getirilen glukozdan meydana gelmektedir. Laktoz, diğer şekerlerin çoğundan daha az tatlıdır. Tatlılık bakımından sakkaroz 100 değer verilirse laktozunki ancak 15 olur. Laktozun besleme özellikleri de diğer şekerlerden farklıdır. Laktoz ancak kuvvetli asitlerle hidroliz olur, D-glukoz ile D-galaktoz'a ayrılır. Limon asidi ile zayıf asitler laktoza etki etmezler. Ve asitlerle laktozun hidrolizi sakkarozunkinden çok daha yavaş yürür. Bunun sonucu sindirimi yavaştır. Bu şekilde bağırsakta daha uzun süre kalabilen laktoz hafif asitli ortam sağlar. Bu asitlik, kalsiyumun daha çok emilmesine yardım eder, gaz ve nispeten zehirli maddeler vererek ayrışan bazı cins proteinlerin

bu ayrışmasını önler. Kadın sütünde laktoz diğer cinslerdekinden daha çok bulunur. Onun için inek sütü ile beslenen çocukların sütüne laktoz katılması gerekir.

Laktoz, penisilin imalinde ve müstahzarlarda kesilmiş süt suyunun ham laktozu laktik asit, etil alkol, n-butil alkol, sirke ve asetona mayalanmalarda kullanılır.

5.4.3 Süt proteinleri

Süt en iyi protein kaynaklarımızdan birisidir. İnek sütü ortalama %3,4-3,8 protein içerir. Bunun küçük bir bölümü yağ yuvarlarını çevreleyen filmde adsorplanmış olarak bulunur. Süt proteinlerinin çoğunluğu yağı alınmış sütte bulunur. Bunun başlıca proteini kazeindir, kazein inek sütünde % 3 kadar bulunur. Bundan sonra laktalbumin % 0,5 ve laktoglobulin % 0,05 ve pek daha az oranda başka proteinler vardır. Özetle, yağı alınmış süt proteinleri dört bölüme ayrılabilir [60]:

Kazein süttten asit ilavesi ile izoelektrik noktası pH 4,6 da çöker, süzüntüde albumin ve globulin bulunur. Sütteki kazein, içinde yaklaşık % 6 kolloidal kalsiyum fosfat yerleşmiş kalsiyum kazeinat halinde bulunur. Sütte kazein tanecikleri değişik çapta küre şeklinde dağılmışlardır, sütün yağını emülsiyon halinde tutar. Süt kazeini saf bir protein olmayıp, α -, β - ve γ - kazein diye adlandırılan birbirine benzeyen en az üç protein bileşeninden oluştuğu elektroforezle ispatlanmıştır [60].

Çizelge 5.4: Yağı alınmış sütün proteinleri.

Proteinler	Toplam Proteinlerin % bölümü
Kazein	76-86
Laktalbumin	9-18
Laktoglobulin	1,4-3,1
Proteoz-pepton	2-6

5.4.4 Mineraller ve vitaminler

Süt, yavru ve gençlerin büyümesi için gerekli çoğu mineralin fevkalade bir kaynağıdır. Kalsiyum ve fosforun sindirimi sütteki kazeine bağlı oldukları için oldukça yüksektir. Sonuç olarak süt, gençlerin iskeletlerinin gelişmesi ve yetişkinlerin kemik bütünlüğünün muhafazası için gereken kalsiyumun en iyi kaynağıdır [62].

Çizelge 5.5. : Sütteki mineral ve vitamin konsantrasyonları.

Mineraller	mg/100 mL	Vitaminler	µg/100 mL
Potasyum	138	Vit. A	30,0
Kalsiyum	125	Vit. D	0,06
Klorür	103	Vit. E	88,0
Fosfor	96	Vit. K	17,0
Sodyum	58	Vit. B1	37,0
Sülfür	30	Vit. B2	180,0
Magnezyum	12	Vit. B6	46,0
Eser mineraller*	<0,1	Vit. B12	0,42
		Vit. C	1,7

*Kobalt, bakır, demir, mangan, molibden, çinko, selenyum, iyot ve diğerleri

5.5 Sütün Fiziksel Özellikleri

Laktoz ve anorganik maddelerin çoğu süt serumunda çözülmüş olarak bulunurlar. Protein kolloidal halde, yağ ise damlacıklar halinde dağılmıştır. Yağ kürecikleri çok küçüktür fakat mikroskopta görülebilirler ve kümelenmeye eğilimlidirler. Yağ tanecikleri en üstte protein, onun altında lesitinden oluşmuş bir kılıf ile çevrilmişlerdir. Krema da süttten daha çok yağ ve daha az süt serumu içeren yağın üstteki bir emülsiyonudur. Süt veya kremayı dondurma, yağ kürecikleri üzerine emülsiyonlaştırıcı etki eden protein filmini zayıflatır ve koparır. Bunun sonucu olarak yağ kürecikleri kümelenmeye çalışırlar. Protein ve kalsiyum fosfat dağılması da dondurmakla bozular. Fakat dondurmak sütün besin değerinde zarar vermez.

Sütün beyaz görünüşü ışığın kolloidal dağılım halindeki kazein ve kalsiyum fosfat tarafından yansıtılmasından, sütün sarı rengi ise riboflavin ve karotin pigmentlerinden ileri gelir. Yeşil otlarla beslenen hayvanların yaz sütleri kış sütlerinden daha pigmentlidir. Sütün tadı laktozdan ötürü hafif tatlımsıdır. Sütün klorürleri ve çözülmüş gazları da tadına etki ederler. Tereyağının karakteristik tat ve kokusunun hiç olmazsa kısmen, asetimetil karbinol ve biasetilden ileri geldiği saptanmıştır.

5.6 Sütün Besin Değeri

Süt besin elementlerinden hemen hepsinden içerdüğinden iyi bir besin maddesidir. 100 gram süt 60-70 kalori verir. Bunun ortalama % 20 sini proteinler, % 30 unu karbonhidratlar ve % 50 sini de yağ verir. Yalnız süt yiyip içmekle hiç bir insan veya hayvan cinsi sonuna kadar beslenemez. Yeni doğan bir çocuğun 6-7 aya kadar tek besini süttür. Fakat bu aylardan sonra yalnız sütle beslenen çocuklarda bir takım beslenme bozuklukları baş gösterir. Çocuğa süttten başka besinlerin de verilmesi ve yavaş yavaş süt miktarının azaltılması kesinlikle gerekmektedir. Sütün önemli bir bileşeni olan laktozun sindirilmesi için hidrolizlenmesi gerekir. Bunun içinde laktaz enzimine ihtiyaç vardır. Süt, dünyanın birçok yerlerinde insanlar tarafından gereği gibi sindirilmez, çünkü süt şekerini hidrolizleyen enzimden yoksundurlar. Her çocuk bu enzimle doğar fakat büyüdükçe enzim kaybolabilir. Süt pişirilir ve mayalanırsa laktoz gene hidrolizlenir. Bu nedenle peynir, yoğurt ve pişirilmiş sütlü ürünler, mideleri sıvı sütü kaldırmayan insanlar tarafından sindirilebilir.

Yavrunun ilk ayları için dahi sütün tam bir besin olması cinse göre değişir, daha doğrusu sütü veren canlı yaratığın cinsine özğüdür. Örneğin, yeni doğan bir çocuğun tek tam besini annesinin sütü yani insan sütüdür. İnek sütü ona iyi gelmez. Bu da cinse göre süt bileşenlerinin cins ve miktarlarının da az çok değişmesinden ileri gelir. Her canlı yaratık cinsinin sütü o cins yaratığın yetişmesine yarayacak bileşimdedir.

Annenin sütü ilk aylarda yavruya tam tüm ihtiyaçlarını sağlayan tam bir besindir. Fakat çocuk anne sütü yerine bir başka canlı yaratık sütü ile beslenmek zorunda kalırsa, bu sütün ileşimini anne sütününkine yaklaştırmak gerekir. İnek sütünde örnek olarak kazein (% 2,5) kadın sütündekinden (% 0,6-1,9) daha fazla bulunduğundan inek sütünü bir miktar sulandırmakla kazein derişimi kadın sütününkine yaklaştırılabilir. Şeker bakımından ise inek sütünde (% 4,8) kadın sütüne (% 6,7) göre daha az şeker içerdüğinden buna şeker ilavesi gerekir. Fakat bu tarzda süt cinslerinin bileşimlerinin farkını gidermeğe olanak yoktur.

Proteinler bakımından da cinse özğü fark bulunup bunu kimyasal olarak denkleştirmeye olanak yoktur. Bu ayrılık ancak biyolojik olarak ortaya konabilir. İnek sütü alan hayvanların serumu yalnız inek sütünü pıhtılaştırır. Keza enzimler de değişik cins hayvan sütlerine karşı başka başka etki gösterirler.

Bununla birlikte annenin süt vermediği zorunlu hallerde yavruyu başka cins süt ile beslemek zorunluluğu vardır. Bu takdirde kullanılmak üzere, birçok ülkelerde kadın sütü bileşimine yakın olacak şekilde sütler üzerinde değişiklikler yapılmakta ve bunlar piyasada bulunmaktadır [60].

5.7 Literatürdeki Süt Çalışmaları

L. WT Fweja ve diğ.'leri, sütte tiyosiyanat içeriği (mg/L) için spektrofotometrik bir yöntem uygulamışlardır. Tiyosiyanat, $\text{Fe}(\text{SCN})_3$ olarak ölçülmüştür. Süt örneklerinde ilk olarak, 4 mL süte 2 mL %20 (w/v) trikloroasetikasit karışımı ile proteinler uzaklaştırılmıştır. 1,5 mL filtrat, 1,5 mL demir nitrat ile (50 mL 2M HNO_3 'de 16 g. $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ çözünmesiyle hazırlanmıştır) karıştırılıp $\lambda_{\text{max}}=460$ nm'de hemen ölçülmüştür [63].

Dionex firmasının 37 numaralı uygulama notunda, süt ürünlerinde iyodür tayini yayınlanmıştır. Bu çalışmadaki tayin için iyon kromatografi-puls amperometri yöntemi kullanılmıştır. 10 mL süt ürününe 2 mL %3 asetik asit ve 8 mL DI su eklendikten sonra karıştırılmış ve bu karışım Whatman 2V filtreden geçirildikten sonra belli hacimde örnek OnGuard RP kartuştan 4 mL/dk hızda geçirilmiştir. Bu kartuştan geçen filtratın belli miktarı kromatografa enjekte edilmiştir. Filtrat berrak elde edilememişse bu filtrat kesinlikle kullanılmamalı bunun yerine ayrı bir örnek hazırlama prosedürü bulunması tavsiye edilmiştir. Bu çalışmada Dionex DX-500 kromatografi sistemi kullanılmıştır. Kromatografi kolonu IonPac AS-11'dir. Eluenti 50 mM nitrik asit ve akış hızı 1,5 mL/dk dır. 25-10.000 $\mu\text{g/L}$ arasında kalibrasyon eğrisinin doğrusal olduğu ($r^2=0,9999$) görülmüştür. Süt örneklerinde iyodür geri kazanımlarını %81-85 arasında açıklamışlardır [64].

J.V. Dyke ve diğ.'leri, sütte perklorat tayini için Dionex DX-600 iyon kromatografını kullanmıştır. Kromatografi kolonları Ion-Pac AS-16'dır ve bu kolondan önce perkloratı önkonsantre edici takılmıştır. Eluent, 100 mM NaOH ve akış hızı 1,00 mL/dk dır. Dedektör olarak elektrosprey iyonizasyon modunda kütle spektrometresi kullanılmıştır. Süt, bu sisteme doğrudan enjekte edilemediğinden analiz öncesi bazı ön temizlik çalışmaları yapılmıştır. Perklorat ile izotopik olarak işaretlenmiş süt örneğinden 1 hacim, %1'lik asetik asit çözeltisinden 1 hacim ve 4 hacim asetonitril çözeltisinden karıştırılıp santrifüjden sonra supernatant, grafitize karbon siyah SPE kartuştan geçirilmiştir. IC-MS/MS analizinden önce son olarak 0,20 μm gözenek

büyükluğündeki naylon şırıngadan filtrelendir. Sütten iyodür, tiyosiyanat ve perklorat için ortalama % geri kazanımlar sırasıyla %93,4, %96,4 ve %100,9 bulunmuştur [65].

A.B. Kirk ve diğ.'leri de sütte iyon kromatografik analiz için 5 mL süte 5 °C sıcaklığında 10 mL etanol ilave edip hemen peşinden karıştırdıktan sonra bu karışımı buzdolabında yaklaşık 4 °C'de 24 saat bekletmişlerdir. Bu süreden sonra 3700 rpm'de -5 °C'de 20 dakika santrifüjledikten sonra supernatant bir gram aktif alümina (DD6) ile karıştırılıp ilave bir 24 saat daha bekletilmiştir. Sonra, yaklaşık 4 mL örnek kalıncaya kadar sıcak azot evaporasyonunda alkol uçurulmuş ve kalan çözelti C-18 katı faz ekstraksiyon kartuşundan geçirilmiştir. Örneklerden % geri kazanımlar %82,5-102 arasında bulunmuştur [6].

M. Leiterer ve diğ.'leri sütün proteinlerini ayırabilmek için Sartorius Centrisart I tüpleri ile ultrafiltrasyon ve 10.000 D moleküler eleme kullanmışlardır. Raporlarına göre proteinler, asit veya organik çözücüler ile ayırmadan daha faydalı olmuştur [66].

R.A. Niemann ve D.L. Anderson, sütü temizlemek için önce 15 g süt 10.000 D ultrafiltrasyonda 30 °C'de 60 veya 90 dakika 4500 rpm'de santrifüjlenmiş ve ultrafiltrat 6 mL grafitize karbon katı faz ekstraksiyon kartuşundan 1-2 mL/dk hızla geçirmişlerdir. İlk 3 mL atılıp sonraki 1,5 mL otoörnekleyici kabına toplanmıştır [67].

R. Lucena ve diğ.'leri, süt proteinlerinin çöktürülmesi için organik çözücülerin ve asetik asidin kullanıldığını rapor ettiler [68].

6. İÇME SUYU

6.1 İçme Suyu Hakkında Genel Bilgi

Hayat için lüzumlu elementlerin başlıcaları C, H, O, P, K I, N, S, Mn, Fe ve Ca şeklinde sıralanabilir. Canlıların, bunların dışında eser miktarda da olsa çok sayıda elemente ihtiyacı olduğu bilinmektedir. Elementlerin dışında canlı hayatı için vazgeçilmez en önemli molekül sudur (H₂O). Tabiatta hidrojen ve oksijenden oluşan su canlılar için önemli bir besin kaynağıdır. Canlı hayatı için gerekli elementler ekosistemde durmadan devretmekte ve bir formdan diğer bir forma dönüşerek doğal kaynakları yenilemektedir [74]. Su yeryüzünde sürekli hareket halinde olup hidrolojik çevrim gereğince atmosfer, yeryüzü ve yer altında dolaşmaktadır. Bu döngü sırasında sular atmosfer dahil tüm ortamlarda çeşitli kaynaklar tarafından kirletilmektedir [54].

Su, canlı yaşamının vazgeçilmez ve hayati maddelerinden birini oluşturmaktadır. Canlılar yaşayabilmeleri için gerekli suyu yeryüzünden (akarsu, göl, deniz vb.) veya kütlelerin boşluk ya da çatlaklarında toplanan sulardan sağlamaktadır. Son yıllarda hızlı nüfus artışı, endüstriyellemenin muazzam bir hızla gelişimi ve çarpık kentleşme nedeniyle su ve su kaynaklarına olan ihtiyaç giderek artmış, bunun sonucunda ise su kirlenmesi problemi ortaya çıkmıştır [69].

Su kaynakları genel olarak yeraltı su kaynakları ve yüzey suları olmak üzere iki sınıfta incelenebilir. Yeraltı sularının kalitesi zamanla büyük değişimler göstermez, renk dereceleri ve bulanıklıkları düşüktür. Buna ek olarak fazla miktarlarda çözünmüş madde ihtiva ederler. Ancak iyi kalitede olmalarına rağmen yeraltı sularının temin edilebilme kapasiteleri azdır. Yüzey suları, nehir, göl, baraj ve seddelerden alınan sular olup, yeraltı sularının tersine kalitesi zamanla çok büyük değişimler gösteren su kaynaklarıdır. Yüzey sularının renk ve bulanıklıkları da fazladır. Ayrıca yüzey suları, ev ve sanayiden gelen kullanılmış sular ile kirletilmiş olabilir. Bu yüzden organik maddeler, tad ve koku veren maddeler, fenoller, metaller, deterjanlar vs. yüzeysel su kaynaklarında önemli miktarlarda bulunabilir [69].

Sonuç olarak belirli kullanım amaçları için mevcut su kaynaklarının seçiminde suyun miktarı, kalitesi, suyun temin edileceği yere mesafesi, arıtılabilirlik imkanları, suyun miktarında ve kalitesinde mevsimlik değişmelerin olup olmadığı dikkate alınmalıdır. Bu hususlara ilave olarak, suyun birim hacminin maliyeti gözönünde bulundurularak en ucuz çözümü veren kaynak tercih edilmelidir. Su gereksinimine bir kaynağın cevap vermemesi ve birden fazla kaynaktan su ihtiyacının karşılanması gerekiyorsa, optimizasyon teknikleri kullanılarak en uygun çözüm yolu bulunmalıdır [69].

EU/UK kanunlarının yumuşak içme sularında klorür, florür, nitrat ve sülfat için istediği maksimum konsantrasyonlar sırasıyla 250, 1,5, 48 ve 254 mg/L'dir. Ayrıca bu kanunlarda pH için 7,2 ve iletkenlik için 1400 µS/cm maksimum değerler olarak verilmiştir. Ayrıca bu yayında içme suyundaki anyonların analizleri için uygulanan metotlar Çizelge 6.1'de görüldüğü gibi verilmiş ve iyon kromatografinin bu analizler için neden en çok kullanılan metot olduğu açıkça anlaşılmaktadır [75].

Çizelge 6.1: İngiltere'de içme sularında anyonların analizlerinde uygulanan metotlar.

Analit	Kolorimetri	İyon Seçici Elektrot	İyon Kromatografi	Titrimetri	ICP-OES	Diğer	Toplam
Amonyum	23	2	2				27
Klorür	14		18	5			37
Florür	2	9	13			1	25
Nitrat	17		19			1	37
Sülfat	10		19		4	3	36

6.2 İçme Sularında Anyon Analizleri İçin Yapılan Bazı İyon Kromatografik Çalışmalar

Dionex firmasının 140 numaralı uygulama notunda Sunnyvale'deki (USA) içme sularında florür, klorür, nitrit, bromür, nitrat, fosfat ve sülfat anyonları Ion Pac AS14 analitik kolonlu ve iletkenlik dedektörlü DX-600 kromatografında ayrılmıştır. ASRS supresyon ile bulunan tespit sınırı yukarıdaki sırayla 6, 7, 20, 29, 24, 74 ve 25 ppb olarak bulunmuştur. Gerçek örneklerdeki konsantrasyonları ise sırasıyla 0,05, 17, <0,003, 0,02, 0,3 ve 19 ppm dir [71].

Dionex firmasının 133 numaralı uygulama notu, IonPac AS14 kolonu ile AS4A-SC kolonlarını karşılaştırmış ve ikisininde içme sularında anorganik anyonların analizleri için uygun analitik kolonlar olduğunu yayınlamıştır. AS4A-SC kolonu düşük iyonik şiddetli, içme suları gibi iyi karakterize edilebilen sularda oldukça uygundur. AS14 kolonunun avantajı olarak florürü, format ve/veya asetattan iyi bir şekilde ayırabilmesi vurgulanmıştır. Ayrıca ev ve endüstriyel atık suları gibi yüksek iyonik şiddetteki örneklerde AS14 daha iyi bir seçim olacağı belirtilmiştir [4].

6.3 Türkiye’de İçme Suyu Kalitesinin İzlenmesi

Türkiyede içme suyu kalitesinin izlenmesi konusu tam olarak bir sisteme bağlanmamıştır. Birçok kuruluşun görev tanımında içme suyu kalitesinin izlenmesi maddesi varken, bu durumun ortaya çıkardığı karışıklık sebebiyle su kalitesi gerçek anlamda izlenememektedir. Sağlık Bakanlığı, İSKİ ve Hıfzısıhha içme suyu parametrelerinin bir kısmının tayin edildiği bazı kurumlardır. Ancak su kalitesi açısından çok önemli parametreler üzerinde durulmamaktadır. Ayrıca yeterli kalifiye eleman sıkıntısı da vardır [54].

7. DENİZ SUYU

7.1 Deniz Suyunun Kimyasal Bileşimi

Bilindiği gibi deniz suyu yapı olarak diğer sulara göre bir takım farklılıklar gösterir. Bu farklılık deniz suyunun içeriğinden kaynaklanır. Deniz suyunda en çok rastlanan çözülmüş maddeler tuzlardır. 1 kg deniz suyu yaklaşık olarak 19 g klorür olarak klor, 11 g sodyum, 1.3 g magnezyum ve 0.9 g başlıca sülfat iyonu olmak üzere çeşitli formlarda kükürt içerir (Horne, 1969) [72].

Çizelge 7.1: Deniz suyunda bulunan elementlerin yaklaşık miktarları ve tuzluluk katkı yüzdesi.

	g/kg deniz suyu	tuzluluk yüzdesi
Cl ⁻	18.980	55.04
Na ⁺	10.556	36.61
SO ₄ ²⁻	2.649	7.68
Mg ²⁺	1.272	3.69
Ca ²⁺	0.400	1.16
K ⁺	0.380	1.10
Toplam	34.237	99.28
HCO ₃ ⁻	0.140	0.41
Br ⁻	0.065	0.19
Si ²⁺	0.026	0.07
B ⁻	0.013	0.04
F ⁻	0.001	0.001
Toplam	34.482	99.99
Eser elementler	<0.001	<0.001

Neredeyse yeryüzünde bulunan tüm elementler deniz suyunda çözünmüş olarak bulunur. Çizelge 7.1'de deniz suyunda bulunan elementlerin konsantrasyonları ve tuzluluk katkı yüzdesi verilmiştir [73]:

Çizelge 7.1'de görüldüğü gibi sadece 6 element temel elementtir ve deniz tuzluluğunun %99'undan fazlasını oluştururlar. Na ve Cl yalnız başlarına %86 tuzluluk yapar. Yaygın eser elementler; N, Li, Ru, P, I, Zn, Mo'dir.

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

Deniz suyundaki organizmalar için temel besleyici elementler N, P, Si deniz suyunda çözünmüş halde NO_3^- , PO_4^{3-} ve silika SiO_3^{2-} şeklinde bulunurlar.

Deniz suyundaki yaygın çözünmüş gazlar ise; O_2 , N_2 ve CO_2 dir.

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

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

Forchammer Kuralından dolayı çözünmüş bir bileşenin konsantrasyonunu ölçmek bize diğer bütün bileşenlerin konsantrasyonları hakkında az çok bilgi verecektir. Deniz suyunda en bol bulunan elementlerden biri Cl'dir (%55). Toplam tuzluluğun %55,04'ü klordandır.

Tuzluluk (%) = $0,03 + 1,805$ (klorluluk, %) olarak verilir. (7.1)

Diğer halojenler de bu klorluluğa dahildir. Deniz suyundaki elementlerin kaynakları 4 grupta toplanabilir. Çözünen iyonlar okyanuslara;

- a) Kıyısal Akış (Kimyasal ürünlerin akarsulardaki çözeltilerle taşınması)
- b) Denizlerdeki Volkanik Olaylar (Volkanik küller donmuş likitlerdir ve kolaylıkla deniz suyu içine çekilebilirler)

- c) Deniz dibindeki sedimente olmuş materyallerin çözeltileri
- d) Deniz dibindeki kil mineralleri ile katyonların yerdeğiştirmesi sonucu katırlar [90].

7.2 Deniz Suyu ile İlgili Bazı Literatür Çalışmaları

Deniz suyunda analizler doğrudan kolayca yapılamadığından bazı özel teknikler ile sorunların üstesinden gelinmeye çalışılmaktadır ve bizim çalışmamızda da bazı ön işlemler yapılmıştır.

Xiao-Lin Jiang ve diğeri, deniz suyu örneklerinde UV absorpsiyonu yapabilen bromür, nitrit ve nitrat anyonlarını setiltrimetilamonyum iyonu ile modifiye edilmiş silika kolonda ayırmış ve tayin edebilmişlerdir. Bu anyonların tespit sınırları sırasıyla 21, 6,8 ve 4,6 µg/L bulunmuştur [1].

M. Maruo ve diğeri, deniz suyu örneklerinde nitrat tayini için yüksek kapasiteli SAX anyon değıştirici kullanmışlardır. Eluent olarak pH'ı ayarlanmamış 1 mol/L lityum klorür kullanılmıştır. Deniz suyu örnekleri üç gün içinde analizlenmek üzere 10 °C'de buzdolabında bekletilmiştir. Bu çalışmada bromür ve nitrat anyonlarını ayırmışlar ve nitrat ve nitrit için tespit sınırlarını 125 µL enjeksiyon için sırasıyla $1,1 \times 10^{-7}$ ve $2,8 \times 10^{-8}$ mol/L bulmuşlardır[74].

8. DENEYSEL KISIM

8.1 Kullanılan Kromatografi Sistemi

Bu çalışmada DIONEX ICS-3000 (Dionex Corporation, USA) İyon Kromatografi Sistemi kullanılmıştır. Bu sistem, DP-1 çiftli pompa (çalışmada isocratic pompa kullanıldı) , tek ve çift pompa sistemlerine uygun EG-2 eluent üreteç, DC-2 Dedektör-Kromatografi Modülü ve otomatik örnekleyci AS kısımlarından oluşmaktadır. Otoörnekleycinin örnek alma hacmi 25 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-2 eluent üreteci istenilen zamanda istenilen konsantrasyonda NaOH'i hazırlayarak bu eluenti kolona gazı giderilmiş ve anyonlardan arındırılmış olarak verir. DC-2 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-2mm supresör ile iletkenlik dedektörü bulunmaktadır. AS20 kolonunun reçinesi 7,5 µm partikül çapında, fonksiyonel grubu kuarternar 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 kuarternar amonyum grubu olan 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 2mm kullanılmıştır.

8.2 Kimyasallar ve Araçlar

Eluent (NaOH), sistemde on-line olarak EG-2 (DIONEX, USA) elektrolitik eluent üreteç modülünde multigradient-çok eğimli biçimde oluşturulmuştur.

Yüksek saflıklardaki Kloramin-T trihidrat (extra pure, 98-103%), Siyanür çözeltisi için KCN (min. 97%, GR for Analysis, ACS, ISO, Reag. Ph Eur) ve pellet halinde NaOH (pellets pure, min. 97%) Merck'den (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany), Melamin (99%) Alfa Aesar'dan (Alfa Aesar GmbH & Co KG)'den, Asetonitril (HPLC Gradient Grade) Lab-Scan'den (Labscan Ltd., Unit T26 Stillorgan Ind. Park, Co. Dublin, Ireland), Formaldehit çözeltisi (37,0-38,0%) J.T.Baker'dan (Mallinckrodt Baker B.V. –P.O. Box 1-7400 AA Deventer-Holland) temin edilmiştir.

1000 mg/L'lik sertifikalı standart Nitrat, Tiyosiyanat ve İyodür çözeltileri Alltech'ten (Deerfield, IL, USA) ve Florür, Klorür, Nitrit, Bromür, Nitrat, Sülfat ve Fosfat anyonlarını içeren birleştirilmiş standart çözelti Dionex'ten (Sunnyvale, California, USA) satın alınmıştır.

Katı kimyasalların tartımları virgülden sonra dördüncü haneye kadar tartım yapabilen Radwag marka elektronik hassas terazide (Radwag 26-600 Radom, Bracka 28 Street, Poland) yapıldı.

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

Kuvvetli katyon değiştirici reçine (Ionenaustauscher I, Ion Exchanger I) Merck'den (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) ve C-18 katı faz ekstraksiyon kartuşları Waters-Millipore'dan temin edildi.

Melamin-formaldehit reçinesinin karakterizasyonu için Perkin-Elmer Spectrum One Spektrometresi (ATR Sampling Accessory) kullanıldı.

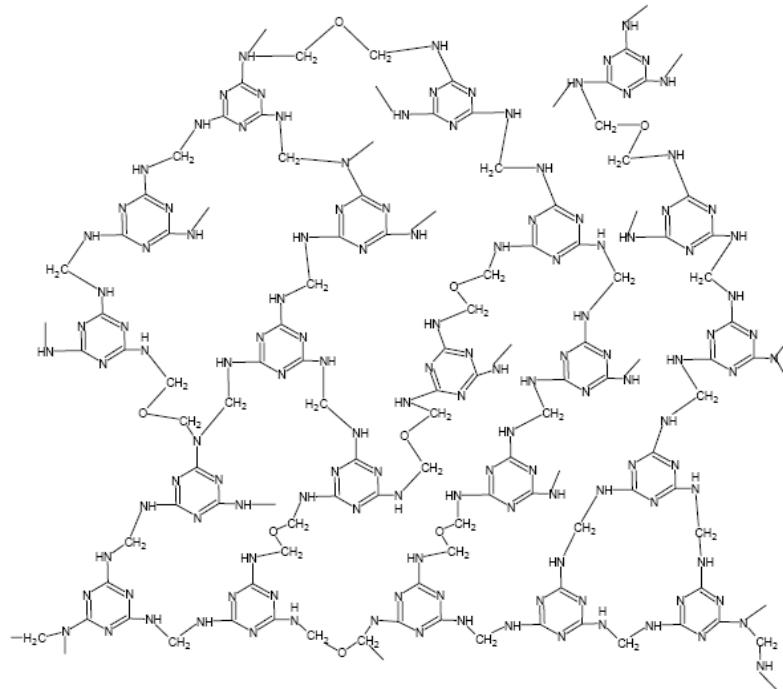
8.3 Standart Çözeltilerin Hazırlanması

1000 mg/L'lik Siyanür stok çözeltisi yaklaşık 0,2503 g KCN' ün UP su ile 100 mL' lik PP (Poli Propilen) balonjojelerde çözülüp hassas olarak tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. Yaklaşık 1,5465 g Kloramin-T trihidrat katısının 25 mL balonjojede UP su ile çözülüp tamamlanmasıyla hazırlanan %5 kloramin-T çözeltisi günlük olarak kullanılmıştır [31]. Bu hazırlanan stok çözeltiler ile sertifikalı standartlar analiz süresine dek 4°C' de buzdolabında saklanmışlardır. Gerekli seyreltmeler çözeltilerin sıcaklığı oda sıcaklığına ulaşınca yapılmıştır.

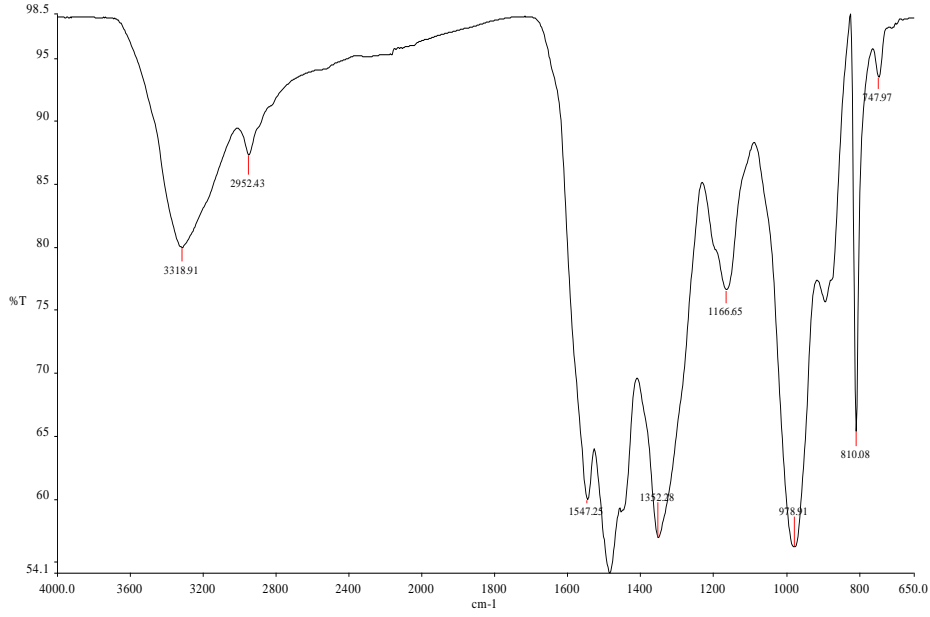
8.4 Melamin Formaldehit Reçinesinin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu

Mol oranı 1:1,33 olan Melamin/Formaldehit karışımı 250 mL'lik şilifli erlene alındı ve reflux düzeneği altında, manyetik karıştırıcı ile normal hızla yaklaşık 75 °C'de karıştırılmaya başlandı. 1,5 saat sonunda çözelti viskozlaşınca ortamı bazikleştirerek polimerleşmenin olması için 20 mL 0,5 M NaOH yavaş yavaş ilave edildi ve beyaz bulutlanma görüldüğü anda sıcaklık 90-100 °C'ye yükseltildi. Çapraz bağlı polikondensat MF reçinesi böylece 2 saat içinde sentezlendi. Bu reçine suyla yıkandı, kurutuldu ve oda sıcaklığında saklandı. Zayıf çapraz bağlı bir MF reçinesinin şematik diyagramı Şekil 8.1'de gösterilmiştir [75]. Şekil 8.2'de ise hazırlanan reçinenin IR spektrumu verilmiştir.

Hazırlanan reçine porselen havanda öğütülüp elekten geçirilerek 841-350 mikron büyüklüğündeki tanecikler ayrıldı. Reçine, 1 cm çapında, 20 cm uzunluğunda cam kolonlara doldurulmadan önce 0,4 N NaOH içinde yaklaşık bir saat bekletildi. Bu reçine yıkama suyu nötr olana kadar UP su ile yıkandıktan sonra 1 N HCl çözeltisinde bir gece bekletildi. AgNO₃ ile kontrol edilerek Cl⁻ iyonları kalmayınca kadar UP su ile yıkandı. Yıkama işlemleri tamamlanan reçine UP su içinde saklandı. Bu şekilde hazırlanan reçine kolona yükleme yoluyla dolduruldu ve her kullanımdan sonra aynı işlemler tekrarlandı [8]



Şekil 8.1: MF reçinesinin şematik diyagramı.

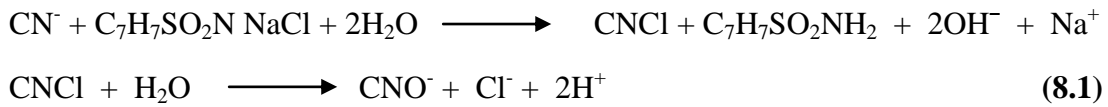


Şekil 8.2: MF reçinesinin FT-IR spektrumu (3381,91 cm^{-1} : Primer amin grupları; 1352,28 cm^{-1} : Sekonder ve Tersiyer Amin grupları, 1166,65 cm^{-1} : eter).

8.5 Siyanürün Siyanata Türevlendirilmesi ve İnterferans Etkileri

8.5.1 Siyanat çözeltisinin hazırlanması

Hidrosiyanik asit, düşük disosiyasyon sabitine ($\text{pK}=9.20$) sahip olduğu için iletkenlik dedektörü ile doğrudan tayin edilememektedir. Ancak, hidrojen siyanatın disosiyasyon sabiti oldukça yüksek ($\text{pK}=3.66$) olduğundan, siyanür aşağıdaki reaksiyonla siyanata dönüştürüldüğünde, oluşan siyanat iletkenlik dedektörü ile ölçülebilir [31].



Eşitlik 8.1'deki reaksiyona göre siyanür ile kloramin-T aşağıda belirtilen şekilde muamele edildiğinde siyanat ve klorür 1:1 oranda oluşmaktadır [31].

Konsantrasyonları 5, 7,5 ve 10 mg/L olan siyanür çözeltilerinden (0,01 M NaOH) hassas şekilde 5 er mL alınıp 50 mL'lik balonjojelere sırasıyla koyuldu. Her balonjojeye 4,5 mL 0,1 M NaOH ilave edildi. UP su ile çizgilerine dikkatlice tamamlanan çözeltiler elle iyice çalkalandı. Nonomura'nın optimize ettiği koşullara göre çalışmamızda sıcaklıklarda 70-90 °C ve sürede 10-30 dakika aralıklarının dışına çıkılmadı. Her bir çözeltiliye %5'lik kloramin-T çözeltisinden 50 μL eklendikten hemen sonra kapakları sıkıca kapatılıp balonjojeler elle kuvvetlice

çalkalandı. Ardından çözeltiler, sıcaklığı 80-85 °C'ye ayarlanmış su banyosuna konuldu ve çözeltilerin sıcaklığı 80 °C'ye ulaştığında en az 10 dakika reaksiyonun tamamlanması için bekletildi. Daha sonra sıcak balonjojeler soğuyarak ilk hacimlerine dönene kadar oda sıcaklığında bir su banyosunda bekletildi. Oda sıcaklığına dönen çözeltiler 0,2 mikron PES filtrelerden geçirilerek analizlenmek üzere IC cihazına verildi.

8.5.2 Siyanat anyonunun IC kromatogramında rezolusyonunun optimizasyonu için yapılan çalışmalar

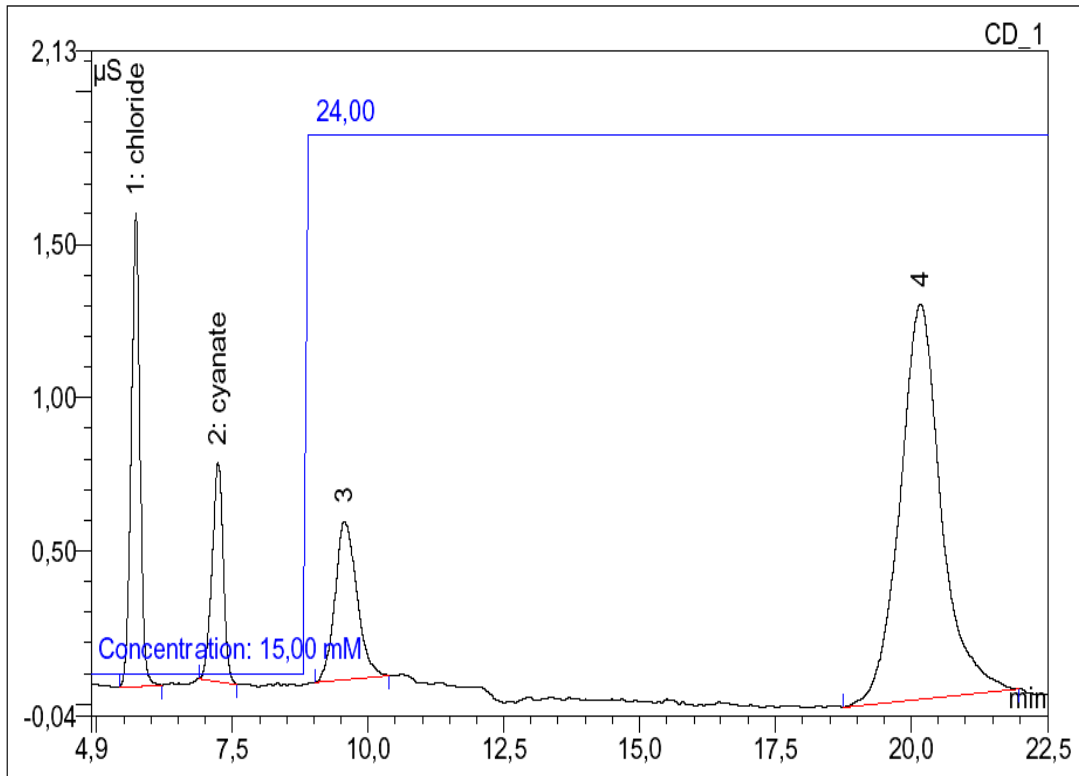
Siyanat oluşum reaksiyonunda meydana gelen klorür anyonu ile siyanat anyonunun kromatogramdaki pikleri yakın olduğu için rezolusyonu optimize etmek amacıyla çok sayıda deneme yapıldı. Standart siyanür çözeltisinden meydana gelen klorür ve siyanat ile reaksiyonda oluşan bileşen piki için optimum kromatografi koşulları, kolon sıcaklığı 35 °C, eluent konsantrasyonu 0-8 dakika arasında 15mM, 8,1-22,5 dakikaları arasında 24mM ve supresör akımı 15mA olarak saptandı (**yöntem I**). NO₂⁻ anyonu yokluğunda ve klorür anyonu konsantrasyonu aşırı yüksek olmadığı durumda bu koşullarda F⁻, Cl⁻, CNO⁻ (CN⁻ den türetilen), Br⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ ve PO₄³⁻ anyonlarının ayrımları iyi bir şekilde yapıldı. Yüksek konsantrasyonlardaki klorürün piki ve nitrit varlığı, siyanürün kloramin-T ile reaksiyon sonucu oluşan siyanat piki ile çakıştığından bu koşullara uygun çalışmalar yapabilmek amacıyla uygulanan denemeler ve elde edilen koşulların tutarlılıkları mükemmel denecek derecede iyi çıkmıştır. İki anyonun söz konusu varlıklarında, çalışmalar sonucu şu kromatografik koşulların en iyi olduğu bulundu; kolon sıcaklığı 35 °C, eluent konsantrasyonu 0-20dakika arasında 3,5 mM, 20-30 dakika arasında 3,5-24 mM, 30,1-40 dakika arasında 24 mM ve supresör akımı 15mA (**yöntem II**).

Tiyosiyanatın varlığı ise reaksiyonda siyanat oluşumuna katkıda bulunduğundan siyanür tayinini ciddi derecede interfere etmektedir. Reaksiyon, sadece tiyosiyanat ile denendiğinde oldukça tutarlı sonuç vermiştir. Bu yüzden bu çalışma için numunelerde tiyosiyanat kesinlikle bulunmamalı, varsa da melaminformaldehit reçinesinde ön temizleme işleminden geçirilerek tiyosiyanat elimine edilmelidir [8].

Siyanür, Nitrat ve Fosfatın aynı anda ayırımının yapılabilmesi diğer anyonların müdahalesi söz konusu olmadığında yukarıda belirtilen ilk optimize edilmiş şartlarda müdahale varsa ikinci kromatografi şartlarında gerçekleştirilmiştir. Eğer

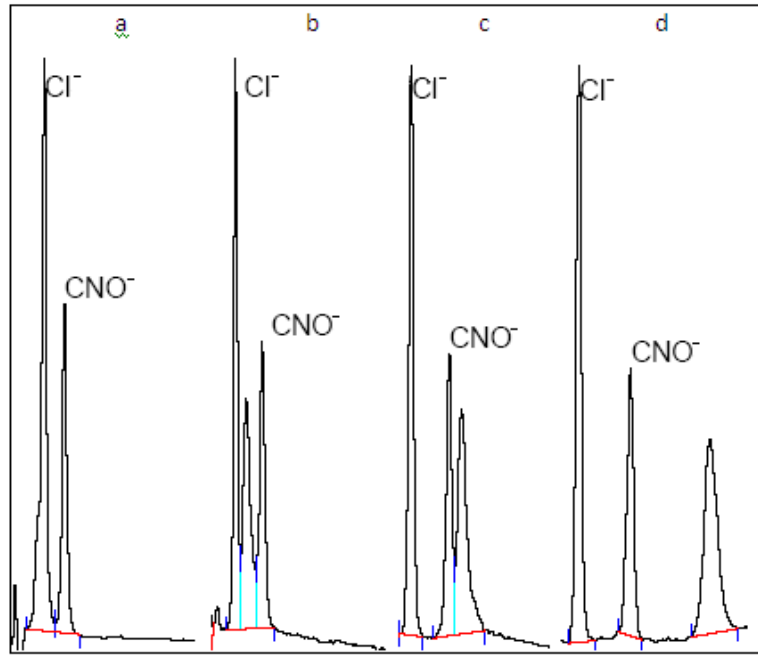
numune önemli derecede nitrit içeriyor ve klorür kesinlikle içermiyorsa reaksiyon sonucu oluşan klorürün iletkenliğide iyi olduğu için klorüre göre çizilen kalibrasyon grafiğinin de korrelasyon katsayısı 0,9999 çıktığından analiz klorüre göre yapılması başka bir alternatif olarak düşünülebilir.

500 µg/L konsantrasyonundaki siyanürün, kloramin-T ile reaksiyonundan meydana gelen ürünlerin kromatogramdaki piklerinin rezolusyonları çok sayıda denemeden sonra optimize edildi. Şekil 8.3'de piklerin optimize edilmiş hali görülmektedir. Bunun kromatografi koşulları şöyledir; Eluent konsantrasyonu 0-8 dakikalar arasında 15mM ve 8,1-22,5 dakikalar arasında 24mM, supresör akımı 15 mA, kolon sıcaklığı 35 °C, dedektör hücre sıcaklığı 40 °C, akış hızı 0,25 mL/dk ve sample loop hacmi 10 µL idi (**yöntem I**). Kromatogramın bu şekilde optimizasyonuna kadar denenen önceki çalışmalardan bazı pikler Şekil 8.4' de birarada verilmiştir. Şekil 8.4'da en son çıkan pik reaksiyon sonucu oluşan bir ürüne aittir ve onun için süre 22,5 dakikaya ayarlandı.



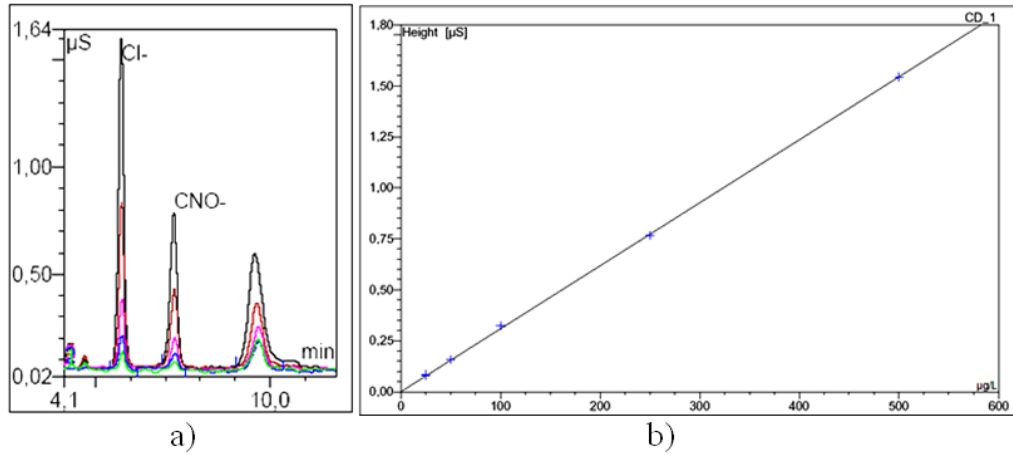
Şekil 8.3: Siyanat oluşum reaksiyonunun ürünlerinin kolonda ayrıldığını gösteren kromatogramı.

Bu çalışmada bütün standart ve numuneler cihazdan da gelebilecek hatalar göz önüne alınarak 3-10 defa analizlendiler.



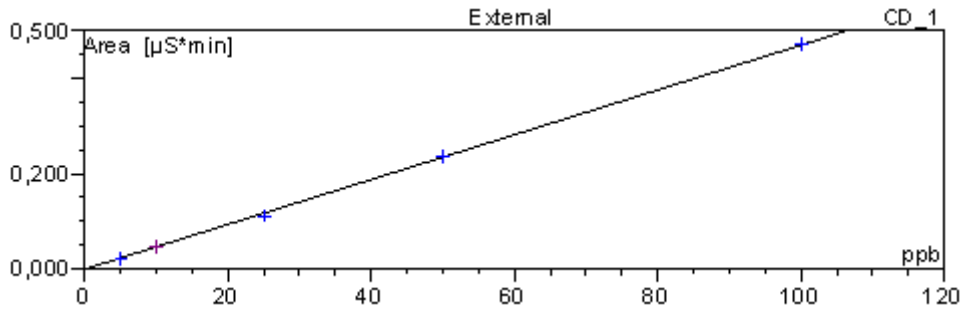
Şekil 8.4: a) Eluent konsantrasyonu 40 mM, supresör akımı 38 mA; b) Eluent konsantrasyonu 0-8,5 dk 30 mM, 8,5-15 dk 45 mM, supresör akım 29mA; c) Eluent konsantrasyonu 0-8,5 dk 20-30mM, 8,5-18 dk 30 mM, supresör akımı 19mA; d) Eluent konsantrasyonu 0-8 dk 15 mM, 8,1-20 dk 24 mM, supresör akımı 15mA

Belirlenen bu optimize edilmiş koşullarda 25, 50, 100, 250 ve 500 µg/L siyanür içeren çözeltiler için kalibrasyon eğrisi ve kromatogramları Şekil 8.5’de verilmiştir.



Şekil 8.5: a) Siyanürün 25, 50, 100, 250 ve 500 µg/L konsantrasyonlarının kromatogramları; b) kalibrasyon eğrisi ($r^2=0,999$).

5, 10, 25, 50 ve 100 µg/L siyanür standartları için çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 8.6’da verilmiştir.



Şekil 8.6: 5, 10, 25, 50 ve 100 µg/L konsantrasyonlarındaki siyanürün siyanata dönüştürülmesiyle oluşturulan kalibrasyon grafiği. (r²=0,998).

Su örneklerinde nitrit anyonu bulunmadığı durumda veya klorürü fazla yüksek olmayan örneklerde **yöntem I** (Eluent konsantrasyonu 0-8 dakikalar arasında 15mM ve 8,1-22,5 dakikalar arasında 24mM, supresör akımı 15 mA, kolon sıcaklığı 35 °C, dedektör hücre sıcaklığı 40 °C, akış hızı 0,25 mL/dk ve sample loop hacmi 10 µL) tercih edilebilir.

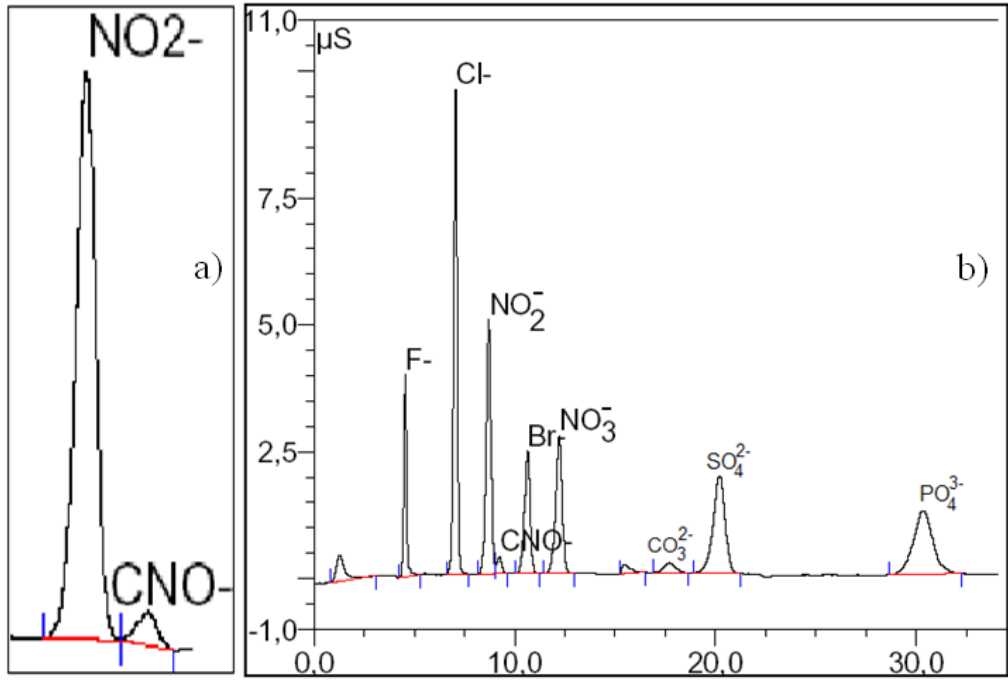
8.5.3 Nitrit anyonunun siyanür tayinine etkisinin giderilmesi

Yirminin üstünde yapılan denemeler sonucu Şekil 8.7’de gösterildiği gibi nitritin siyanattan ayrılabilmesi için gerekli optimum kromatografi koşulları; Eluent konsantrasyonu 0-20dakika arasında 3,5 mM, 20-30 dakika arasında 3,5-24 mM, 30,1-40 dakika arasında 24 mM, supresör akımı 15mA kolon sıcaklığı 35 °C, dedektör hücre sıcaklığı 40 °C, akış hızı 0,25 mL/dk ve sample loop hacmi 10 µL (**yöntem II**) olarak belirlendi. Florür, klorür, nitrit, siyanür, bromür, nitrat, karbonat, sülfat ve fosfat anyonlarını birlikte içeren bir çözeltiye bu yöntem uygulandığı hepsinin ayrılabilirdiği saptanmıştır.

Yöntem I ve **yöntem II** ile standart çözeltilerde tayin sınırı kontrol edildi. **Yöntem I**’ de siyanür, nitrat ve fosfat için LOD değerleri sırasıyla 7,2, 17,0, 19,9 µg/L bulundu. **Yöntem II** de ise LOD değerleri sırasıyla 15,4, 20,7 ve 32,9 µg/L bulundu.

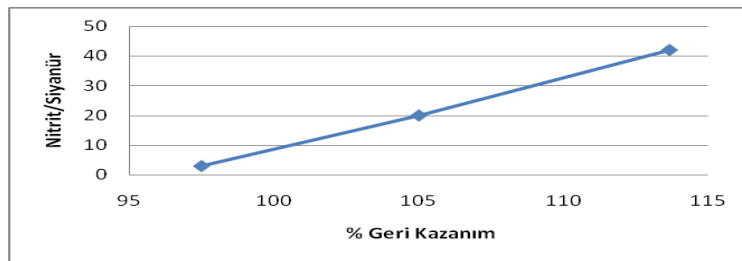
8.5.4 Nitrit Anyonunun siyanür tayinine etkisi

İçinde 4,5 mL 0,1 N NaOH bulunan 50 mL balonjojelere nitritin son konsantrasyonu 750, 5000 ve 10500 µg/L ve hepsinde siyanür 250 µg/L olacak şekilde stok çözeltilerden gerekli ilavelerden sonra çizgilerine UP su ile tamamlandılar. Bu balonjojelerin hepsine 50 µL % 5 kloramin-T ilave edilip karıştırma işleminden sonra çözeltiler yaklaşık 80 °C’de ve 20 dakika siyanat oluşumu için bekletildi.



Şekil 8.7: a) Siyanatın nitritten en iyi ayrıldığı hali, resolusyon: 7,98 (Eluent konsantrasyonu 0-20dakika arasında 3,5 mM, 20-30 dakika arasında 3,5-24 mM, 30, 1-40 dakika arasında 24 mM, supresör akımı 15mA kolon sıcaklığı 35 oC, dedektör hücre sıcaklığı 40 °C, akış hızı 0,25 mL/dk ve sample loop hacmi 10 µL dir.); b) eluent konsantrasyonunun 10 mM olduğu bir denemeye ait, siyanat resolusyonu 2,67.

3, 20 ve 42 kat fazla nitritin bulunduğu bu durumda siyanür geri kazanımı sırasıyla % 97,5, % 105,0 ve % 113,6 olarak bulundu. Bu değerler Şekil 8.8'deki gibi grafiğe geçirilip % 100 geri kazanım için iki anyonun arasında olması gereken maksimum katsayı 8,65 bulunmuştur. Yani nitritin siyanürden 8,65 kattan fazla bulunduğu örneklerde girişim söz konusu olmaya başlamaktadır. M. Nonomura ve T. Hobo, nitrit ve siyanat piklerinin çok yakın zamanda kolondan çıktığını ve nitrit varlığının pozitif hataya neden olduğunu belirtmişler [31].



Şekil 8.8: Nitritin siyanata girişiminin olacağı konsantrasyon katsayısının belirlenmesi için çizilen eğri.

8.5.5 Yüksek Konsantrasyondaki klorürün siyanür tayinine etkisi

Sadece klorür ve siyanür içeren çözeltilerde klorür aşırısında siyanür geri kazanım çalışmasında şu geri kazanımlar bulundu: 50 ppm klorür ve 100 ppb siyanür içeren çözeltide % 94,8, 300 ppm klorür ve 100 ppb siyanür içeren çözeltide % 96,6. Metodun siyanür tayininde 3000 kat klorüre tolerans gösterdiği bulundu. Böylece içme suyu analizleri seyreltme ya da herhangi bir ön işlem yapılmadan gerçekleştirilebildi. M. Nonomura ve T. Hobo'nun yaptığı çalışmalarda siyanür ancak 50 kat klorür konsantrasyonunda tayin edilebildiği, bundan fazlasında interfere ettiğini belirtmiştir [31]. Ayrıca klorür, nitrat ve fosfatın konsantrasyonunun siyanürden 1000 kat fazla olduğu 100 ppb ve 250 ppb konsantrasyonlarındaki siyanürün geri kazanımı sırasıyla % 96,5 ve % 100,3 bulundu.

İçinde 4,5 mL 0,1 N NaOH bulunan 50 mL balonjojelere, nitrit, nitrat, bromür ve fosfatın farklı konsantrasyonları için ve siyanürün son konsantrasyonu 250 µg/L olacak şekilde ilaveler yapıp çözeltiler çizgilerine UP su ile tamamlandı. Bu balonjojelerin hepsine 50 µg/L % 5 kloramin-T ilave edilip karıştırma işleminden sonra çözeltiler yaklaşık 80 °C'de ve 20 dakika siyanat oluşumu için bekletildiler. IC'de **yöntem II** (Eluent konsantrasyonu 0-20dakika arasında 3,5 mM, 20-30 dakika arasında 3,5-24 mM, 30,1-40 dakika arasında 24 mM, supresör akımı 15mA kolon sıcaklığı 35 °C, dedektör hücre sıcaklığı 40 °C, akış hızı 0,25 mL/dk ve sample loop hacmi 10 µL dir) ile nitrit, nitrat, bromür ve fosfatın geri kazanımları çizelge 8.1'de verilmiştir.

Fosfatın düşük konsantrasyonda geri kazanımının düşük olmasının nedeni kloramin-T reaksiyonu sonucu oluşan son pikin az da olsa girişim yapmasıdır.

8.6 İçme Suyu Örneklerinin Analize Hazır Hale Getirilmesi

İçinde 4,5 mL 0,1 NaOH içeren 50 mL balonjojeler içme suyu örnekleri ile çizgilerine tamamlandıktan sonra bu çözeltilerin herbirine 50 µL % 5 kloramin-T ilave edildi. Elle hızlıca karıştırıldıktan sonra çözeltiler yaklaşık 80 °C'de ve 20 dakika siyanat oluşumu için bekletildi. Reaksiyondan sonra örnekler PES filtreden filtrelenip IC sistemine verildi ve kolona enjekte edilerek optimize edilmiş koşullarda kromatogramları alındı. İçme suları deniz suyuna göre yüksek konsantrasyonlarda anyonlar içermediğinden piklerin birbirine fazla girişim yapmadığı belirlendi.

Çizelge 8.1: Nitrit, bromür, nitrat ve fosfatın 250 µg/L siyanür içeren bir çözeltideki % geri kazanımları.

Anyon	Konsantrasyon (µg/L)	% Geri kazanım
Nitrit	630,4	92,3
	1405,6	97,8
	4797,7	99,1
Bromür	9904,9	98,6
	642,1	96,6
	1333,1	96,4
Nitrat	4717,2	97,7
	9752,6	97,1
	666,6	96,9
Fosfat	1381,6	97,6
	4826,4	98,0
	9897,3	97,2
Fosfat	1271,9	90,2
	2669,3	92,8
	9387,8	96,3
	19381,0	96,2

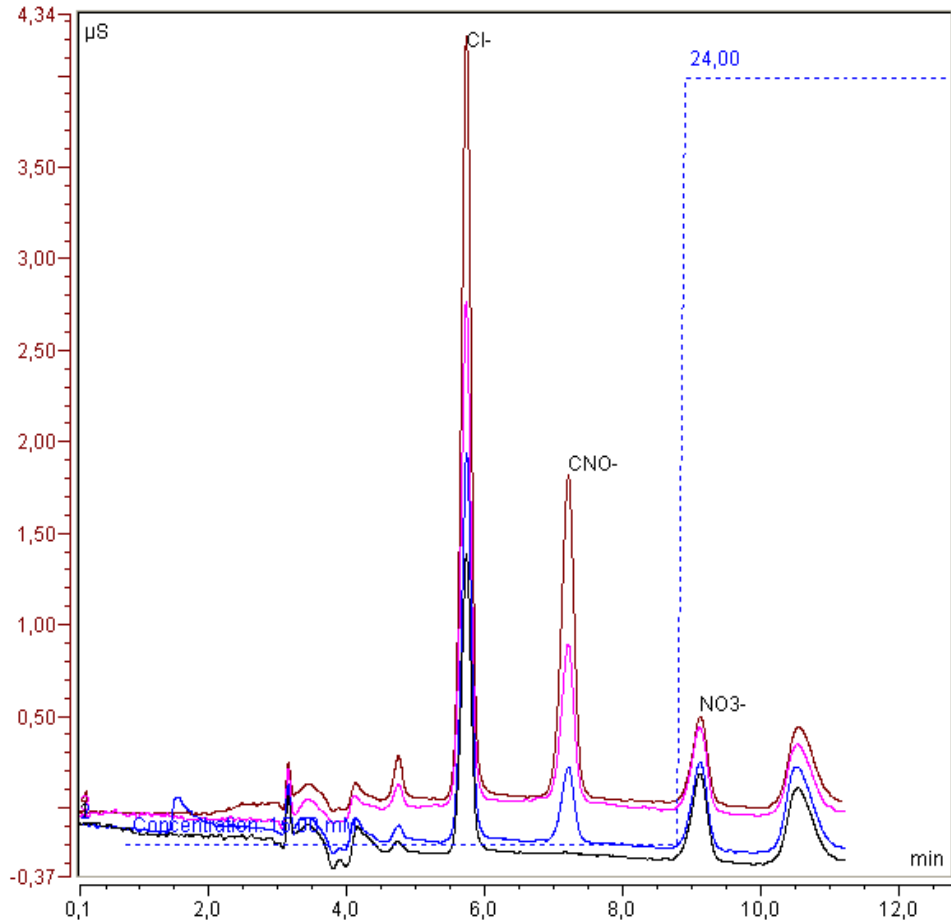
8.6.1 İçme sularında siyanür ve diğer anyonların tayini

İçme sularının hiçbirinde siyanür tespit edilememiştir. İçme sularında anyonların yüksek konsantrasyonda bulunmamaları nedeniyle analizler için **yöntem I** tercih edildi. Şekil 8.10'da gösterildiği gibi içme suyu numunesine 0,25, 0,5 ve 1,0 mg/L siyanür ilavesinden sonra % geri kazanımlar sırasıyla % 100,1, % 104,5 ve % 106,9 olarak bulundu. Florür, klorür, nitrit, bromür, nitrat, sülfat ve fosfat için kalibrasyon

çözeltileri hazırlanmış ve bu anyonlara ait konsantrasyonlar Çizelge 8.2’de ve sonuçlar ise Çizelge 8.3’de verilmiştir.

Çizelge 8.2: Yedili Florür, Klorür, Nitrit, Bromür, Nitrat, Sülfat ve Fosfat anyonlarının birarada bulunduğu standarda ait kalibrasyon grafiği için hazırlanan çözelti konsantrasyonları.

<i>Anyon</i>	<i>Standart konsantrasyonları (µg/L)</i>					
F ⁻	30,30	151,50	454,50	909,00	3030,00	6060,00
Cl ⁻	50,50	252,50	757,50	1515,00	5050,00	10100,00
NO ₂ ⁻	49,90	249,50	748,50	1497,00	4990,00	9980,00
Br ⁻	49,70	248,50	745,50	1491,00	4970,00	9940,00
NO ₃ ⁻	50,50	252,50	757,50	1515,00	5050,00	10100,00
SO ₄ ²⁻	49,75	248,75	746,25	1492,50	4975,00	9950,00
PO ₄ ³⁻	100,00	500,00	1500,00	3000,00	10000,00	20000,00



Şekil 8.9 : Yöntem I ile içme suyuna 0,25, 0,50 ve 1,00 mg/L siyanür ilavesi sonucu oluşturulan kromatogram

Çizelge 8.3: Piyasa içme sularının 10 defa analizlenmeleri ile elde edilen sonuçlar.

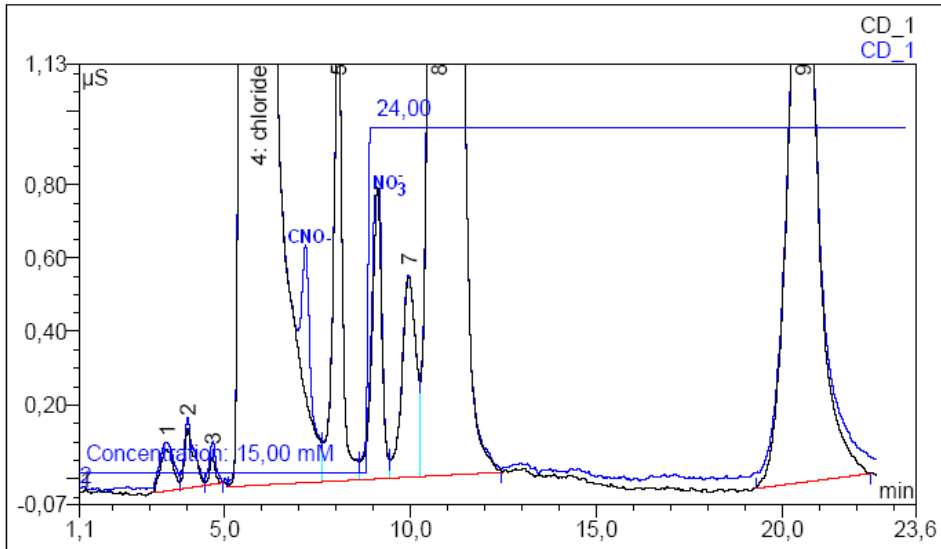
Anyon	İstatistik	Örnek					
		Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3	Örnek 4	Örnek 5	Örnek 6
F ⁻	Ortalama (µg/L)	7,16	31,71	28,62	4,49	240,03	11,89
	Std. Sap.	1,08	1,19	4,85	0,65	2,96	1,69
	%Std.Sa.	15,11	3,74	16,93	14,44	1,23	14,22
Cl ⁻	Ortalama (µg/L)	286,60	1121,62	1914,25	582,47	13,16	436,12
	Std. Sap.	3,19	7,49	15,36	15,25	0,50	5,56
	%Std.Sap	1,11	0,67	0,80	2,62	3,80	1,27
NO ₂ ⁻	Ortalama (µg/L)	-	7,28	9,25	-	-	-
	Std. Sap.	-	1,21	0,97	-	-	-
	%Std.Sap	-	0,67	10,49	-	-	-
Br ⁻	Ortalama (µg/L)	-	-	11,90	-	21,94	-
	Std. Sap.	-	-	1,32	-	0,67	-
	%Std.Sap	-	-	11,08	-	3,04	-
NO ₃ ⁻	Ortalama (µg/L)	445,23	1725,34	1560,02	55,53	8092,18	633,58
	Std. Sap.	6,74	6,13	15,44	3,47	20,84	5,23
	%Std.Sap	1,51	0,36	0,99	6,25	0,26	0,83
SO ₄ ²⁻	Ortalama (µg/L)	1141,48	9464,02	6013,45	367,01	6019,80	2742,45
	Std. Sap.	6,74	26,30	93,95	17,83	42,36	17,96
	%Std.Sap	1,51	0,28	1,56	4,86	0,70	0,66
PO ₄ ³⁻	Ortalama (µg/L)	-	-	-	-	312,04	-
	Std. Sap.	-	-	-	-	10,96	-
	%Std.Sap.	-	-	-	-	3,51	-

8.7 Yapay ve Gerçek Deniz Suyu Örneklerinin Analize Hazır Hale Getirilmesi

8.7.1 Gerçek deniz suyunda seyreltme yoluyla siyanür analizi

Deniz suları yüksek konsantrasyonda klorür ve diğer anyonları içerdiğinden eser anyonların iyon kromatografisi ile analizi imkansızdır. Gerçek deniz suyu örneklerinde seyreltmeler yapılarak siyanür analizi yapıldı. Yapılan çalışmalar sonucu on kat seyreltilmiş deniz suyunda siyanür bulunmamıştır (Siyah kromatogram). Ancak son konsantrasyonu 250 µg/L olacak şekilde siyanür ilave edildiğinde kantitatif bir geri kazanım olmamakla beraber siyanür piki Şekil 8.10'da net bir şekilde gözlenmiştir (mavi kromatogram).

Deniz suyu on kat seyreltildiğinde **Yöntem I** ile yapılan analizde klorür piki siyanat pikine girişim yaptığı için geri kazanım %139,7 bulundu. **Yöntem II** ile yapılan analizde ise geri kazanım % 94 bulundu.



Şekil 8.10 : 10 kat seyreltilmiş deniz suyu numunesinden siyanatın geri kazanımı.

Fakat, seyreltme, eser anyon analizi için uygun bir yöntem değildir. Çünkü seyreltme sonucu analitimizin konsantrasyonu tespit sınırının altına düşebilir.

8.7.2 Yapay deniz suyu örneklerinin analize hazır hale getirilmesi

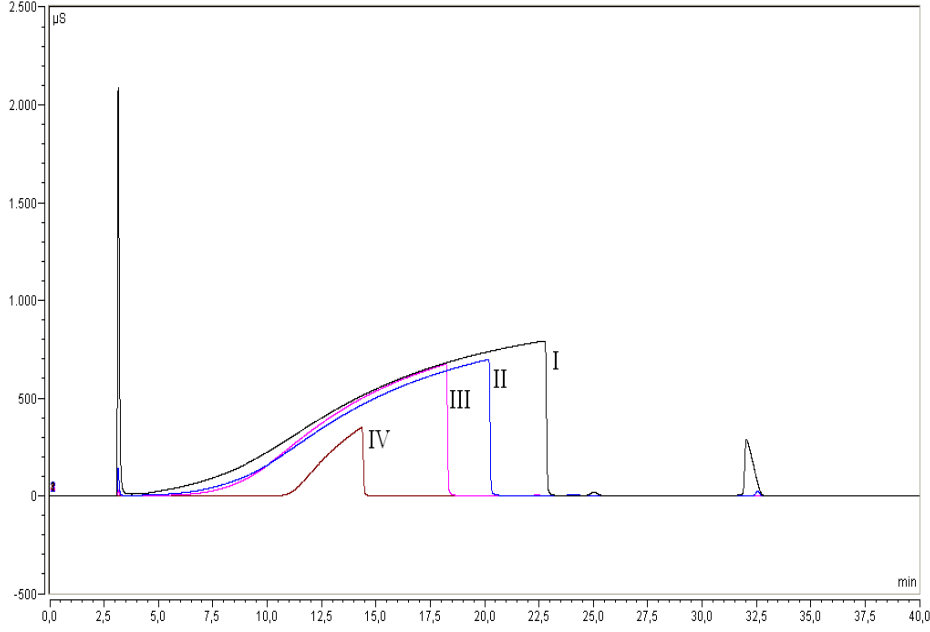
Çizelge 8.4'de belirtilen miktarlara göre hazırlanan yapay deniz suyu örneklerine siyanür analiz prosedürü uygulandı. Ön temizleme yapılmamış deniz suyu örneklerinin kromatogramlarında aşırı derecede büyük ve kuyruklanmış pikler gözlenmişti. Böyle bir durumda eser anyon tayininin yapılabilmesi mümkün değildir. Seyreltme yapmamak için yapay deniz suyu örneği önce kuvvetli asidik katyon

değiştirici reçine içeren bir kolondan ve daha sonra farklı miktarlarda MF reçinesi ile muamele edilerek matriks iyonlarının etkisi giderilmeye çalışılmıştır. Herbir temizleme aşamasından sonra kromatogramları alındı (şekil 8.11). Son kromatogram (IV), yapay deniz suyu örneğinin önce 1 cm çapında 20 cm uzunluğunda kuvvetli asidik kation değiştirici reçine içeren kolondan ve ardından aynı hacimde MF reçine içeren kolondan 0,5'er mL/dk hızla geçirilmesi ile elde edildi.

Çizelge 8.4 : Yapay deniz suyu bileşenleri [76].

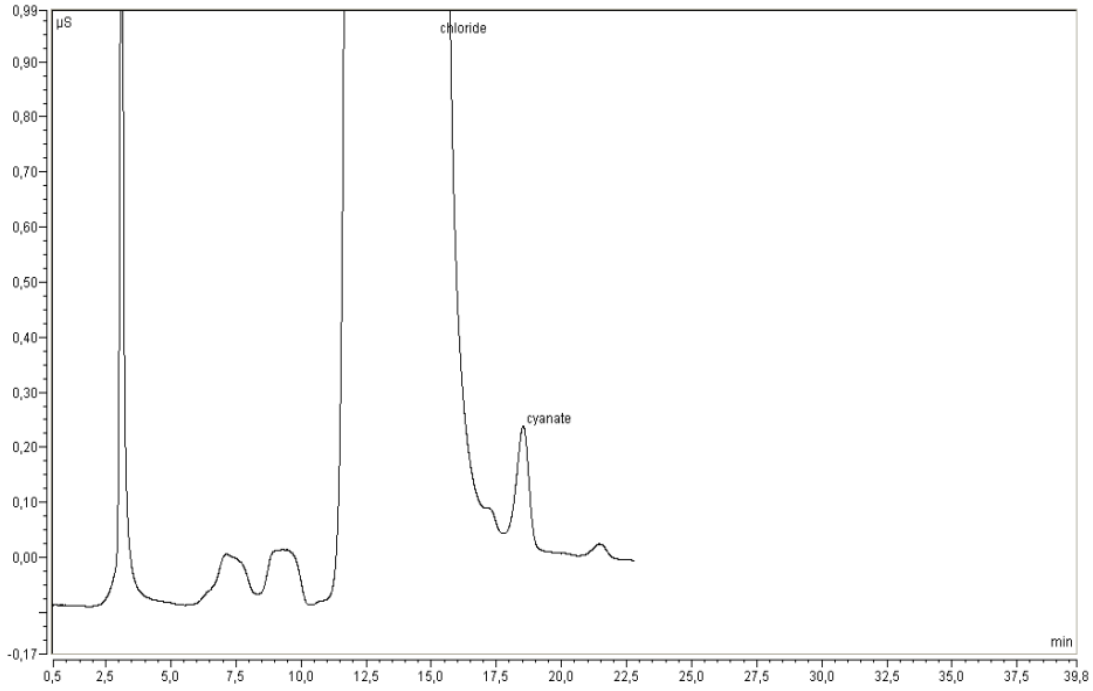
Gravimetrik Tuzlar	
Tuz	özelti g/kg
NaCl	23,926
Na ₂ SO ₄	4,008
KCl	0,667
NaHCO ₃	0,196
KBr	0,098
H ₃ BO ₃	0,026
NaF	0,003
Volumetrik Tuzlar	
Tuz	özelti mol/kg
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,05327
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,01033
SrCl ₂ .6H ₂ O	0,00009

Siyanürün MF reçinesinde tutunmadığı ve tiyosiyanatın tutunduğu daha önceki çalışmalarda yayınlanmıştı [8]. Böylece tiyosiyanatın kimyasal girişimi de engellenmiş oldu. Yaptığımız alışmalar göstermiştir ki tiyosiyanat ile kloramin-T, siyanüre uygulanan prosedür ile aynen reaksiyona sokulduğunda siyanat oluştu ve farklı konsantrasyonlarda oluşturulan kalibrasyon çözeltileri ile lineer bir kalibrasyon eğrisi elde edildi. Bu yüzden MF reçinenin tiyosiyanat eliminasyonunda kullanılması oldukça kullanışlıdır. şekil 8.12'de yapay deniz suyunun en iyileştirilmiş hali, şekil 8.11-IV kromatogramının yakınlştırılmasıyla açıkça gösterilmiştir.



Şekil 8.11: I) 10 mL örneğin KKDR içeren kolondan geçmiş kromatogramı; II) 10 mL örneğin KKDR içeren kolondan geçtikten sonra 1 g MF reçine ile muamele edilmesiyle elde edilen kromatogram; III) 10 mL örneğin KKDR içeren kolondan geçtikten sonra 2 g MF reçine ile muamele edilmesiyle elde edilen kromatogram; IV) 10 mL örneğin KKDR içeren kolondan (25x1 cm) geçtikten sonra MF reçinesi içeren kolondan geçtikten sonraki kromatogramı.

Bu işlemlerden sonra 500 µg/L konsantrasyonundaki siyanürün geri kazanımı %89 olarak bulundu.



Şekil 8.12: Şekil 8.11, IV. maddesinde ki işlemten sonra alınan kromatogram.

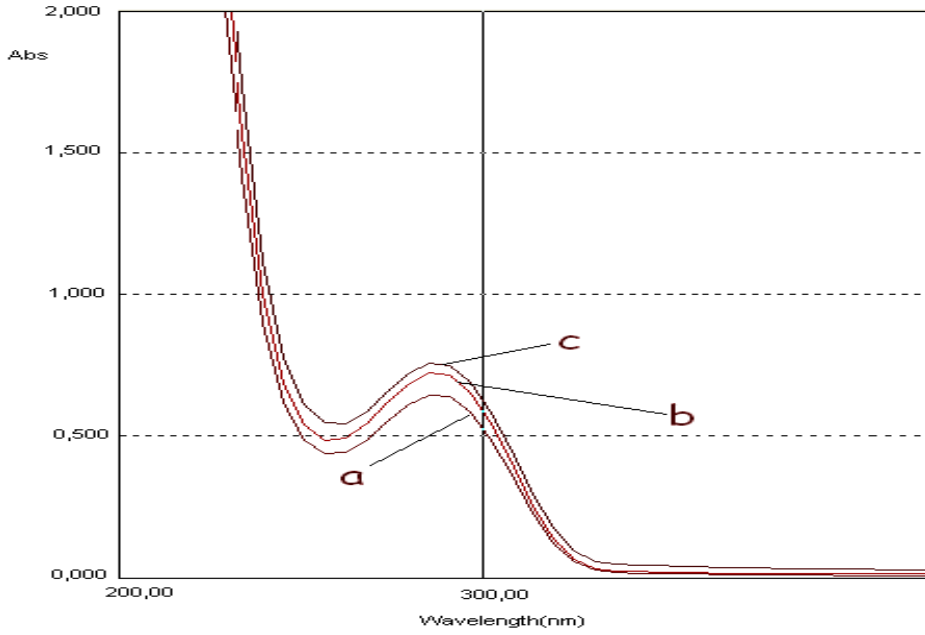
8.8 İyon Kromatografik Yöntemle Sütte Tiyosiyanat ve İyodür Anyonlarının Birlikte Tayini

8.8.1 Süt örneklerinin analize hazır hale getirilmesi

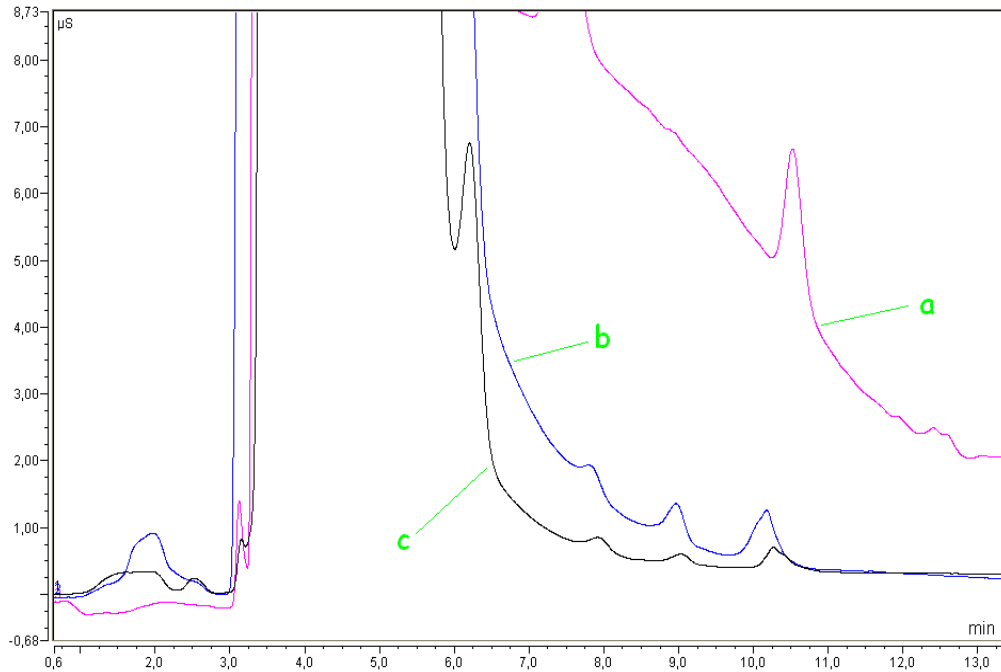
Sütün, iletkenlik dedektörlü IC sisteminde analizi diğer su örneklerin analizine göre çok daha zor ve zahmetlidir. Sütün bileşenlerinden protein ve apolar moleküller uzaklaştırılırsa bile iletkenlik dedektörüne cevap veren yüksek konsantrasyondaki moleküller eser analiz çalışmasını bozmaktadır. Bu çalışmada amacımız mümkün olduğunca kısa sürede ve mümkün olduğunca ortama az kimyasal katarak süt örneklerini analizleyebilmek olduğu için sabırlı ve dikkatlice önlemler düşünüldü ve uygulandı.

İlk denemelerde sitrik asit ile proteinlerin çöktürülmesi denenmiştir. UV-Vis spektrometresi ile 280 nm maksimum dalga boyunda absorpsiyonlar değerlendirilerek (Şekil 8.13) ilave edilecek sitrik asit miktarı 50 µL olarak belirlendi. 15 mL'lik polipropilen santrifüj tüpünde 5 mL süt örneğine %40 lık sitrik asit çözeltisinden 50 µL ilave edildi. Elde hızlıca çalkalanan örnek 10 dakika bekletildikten sonra 3500 rpm de 20 dakika santrifüjlendi. Değişen sürelerde santrifüjler yapıldı ve 20 dakika ideal bir süre olarak seçildi. Supernatant, siyah bant süzgeç kağıdından süzöldükten sonra ilk denemelerde doğrudan IC sistemine verildi. Fakat zeminin çok yüksek iletkenlik değerlerinde olması nedeniyle süzöntü kuvvetli katyon değiştirici reçine ile karıştırılınca zeminin iletkenliğinin düştüğü Şekil 8.14'de ki gibi gözlemlendi. Reçine ile muameleden sonra hekzan, etilasetat ve diklorometan gibi polar ve apolar organik çözücülerde sıvı ekstraksiyon yapıldı. Zemin iletkenliğinin düştüğü görülmesine rağmen sıklıkla görünen emülsiyon bu işlemin tekrarlanabilirliği konusunda güven vermedi.

Başka organik çözücülerinde denendiği protein çöktürme çalışmalarında asetonitrilli ortamda proteinlerin hızlıca kümüle olduğu görüldü. Etanol, metanol, tetrahidrofur, kloroform, hekzan ve aseton gibi organik çözücülerde protein çökmesi asetonitrildeki kadar hızlı olmadı. Ayrıca asetonitrilin diğer bir avantajı da metallere kompleks oluşturup metalleri çöktürmesidir [77]. Bu özelliği sayesinde süt örneklerinde ayrı bir katyon değişim uygulamasına gerek kalmamıştır. 280 nm de yapılan protein kontrollerinden süt:asetonitril oranı 1:4 olarak belirlenmiştir.



Şekil 8.13: a) 5 mL süte 50 µL % 40 sitrik asit ilavesi, b) 5 mL süte 37,5 µL % 40 sitrik asit ilavesi, c) 5 mL süte 25 µL % 40 sitrik asit ilavesi.



Şekil 8.14: a) 5 mL süt örneğinin 50 µL % 40 sitrik asit ilave edilip santrifüjden sonra alınan kromatogram , b) 0,5 g katyon değiştirici reçine ile muamele edilen 5 mL numunenin kromatogramı, c) 2 g katyon değiştirici reçine ile muamele edilen 5 mL numunenin kromatogramı.

Süt örneklerinde de diğer su örneklerinde de IC analizinden önce mutlaka derişik NaOH çözeltisi ile metal çökmesi olup olmadığı kalitatif olarak kontrol edildi. Süt örneklerinin asetonitril ile muamelesinden sonra bazik ortamda bir bulutlanma dahil

görülmedi. Diğer çöktürücülerle yapılan denemelerde ise NaOH ilavesi ile bulutlanma veya çökme görüldü.

Polipropilen bir erlende 10 mL süt üzerinde 40 mL asetonitril ilave edilip 5-10 dakika çalkalama yapıldıktan sonra ayrı bir 5-10 dakika süre içinde protein ve metallerin dibe çöktüğü ve üstte kalan supernatantın berrak olduğu görüldükten sonra supernatant polipropilen santrifüj tüplerine eşit hacimlerde paylaştırıldı. 3500 rpm de 10 dakika santrifüjden sonra süzüntüler birleştirilip, yaklaşık 70 °C'ye ayarlanmış evaporatörde fazla vakum uygulamadan örnek hacmi 8-9 mL kalana kadar asetonitril uçuruldu. Bundan sonra örnek, sırasıyla 2 mL hekzan, 2 mL aseton ve 2 mL su ile şartlandırılmış ardarda takılı birer gramlık C-18 SPE kartuştan 1 mL/dk hızla geçirilip 10 mL lik balon jodede çizgisine UP su ile tamamlanmıştır [6].

C-18 SPE kartuşları, daha az örnekle çalışmaya elverişli olması ve emülsiyon oluşmaması nedeniyle kantitatif analizler için çok uygundur. Yukarıda bahsedilen evaporasyon işleminden sonra ortamda asetonitril kalmamalıdır. Aksi halde kartuşun apolar maddeleri tutma etkinliği düşmektedir. Bunun için evaporasyona 1-2 mL fazla sıvı daha uzaklaştıktan sonra son verildi.

8.8.2 Süt örneklerinde anyon analiz sonuçları

Kromatografik koşulların optimize edilmesi için onlarca deneme yapıldı ve süt örneklerine en uygun koşullar belirlendi; 0,0-5,0 dakika arası eluent konsantrasyonu 5mM, 5,0-15,0 dakikalar arası gradient olarak 30 mM, 15,0-40,0 dakikalar arasında 30 mM; kolon sıcaklığı 20 °C, fırın sıcaklığı 25 °C; Supresör akımı 19 mA; enjeksiyon hacmi 10 µL (**Yöntem III**).. Örneklerden birinin kromatogramı Şekil 8.15'de verilmiştir. Her bir anyon için çizilen kalibrasyon grafiklerinden süt örneklerinde, NO_2^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , SCN^- , I^- , PO_4^{3-} anyonlarının konsantrasyonları belirlendi (Çizelge 8.5)

Standart çözeltiler şu konsantrasyonlarda hazırlanmıştır:

Florür, 2,02, 10,10, 20,20, 50,50, 101,00, 202,00, 505,00, 1010,00, 1346,67, 2020,00 ve 5050,00 µg/L ($r^2=0,999$);

Nitrit, 9,98, 49,90, 99,80, 249,50, 499,00, 998,00, 2495,00, 4990,00, 6653,33, 9980,00 ve 24950,00 µg/L ($r^2=0,999$);

Bromür, 9,94, 49,70, 99,40, 248,50, 497,00, 994,00, 2485,00, 4970,00, 6626,666, 9940,00 ve 24850,00 µg/L ($r^2=0,999$);

Nitrat, 10,10, 50,50, 101,00, 252,50, 505,00, 1010,00, 2525,00, 5050,00, 6733,33, 10100,00 ve 25250,00 $\mu\text{g/L}$ ($r^2=0,999$)

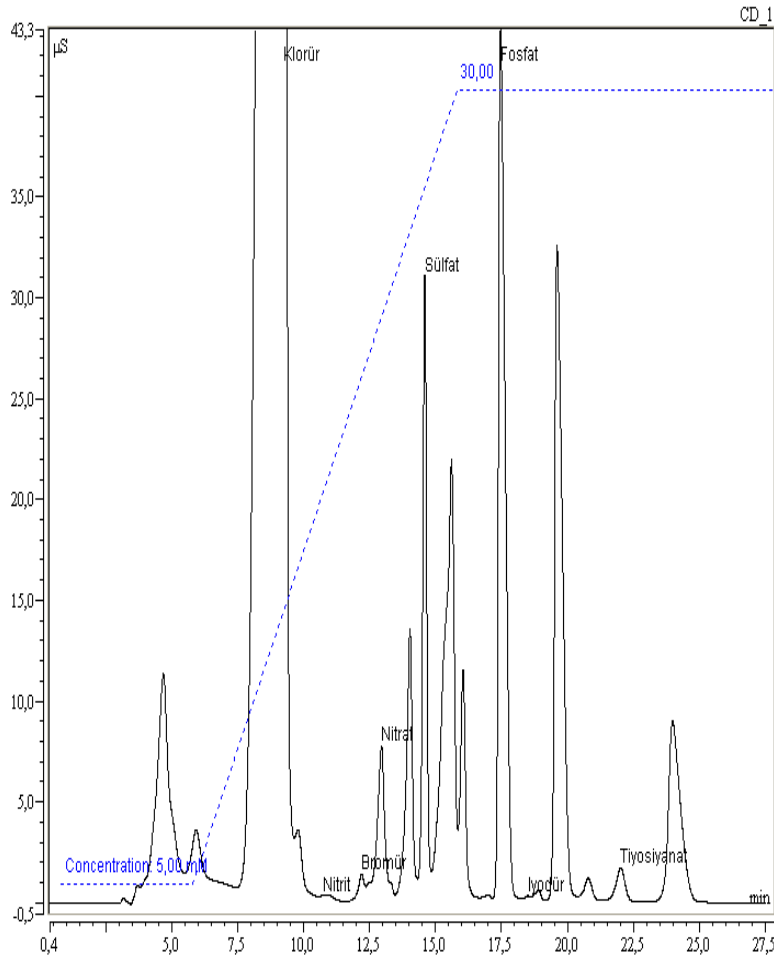
Sülfat, 9,95, 49,75, 99,50, 248,75, 497,50, 995,00, 2487,00, 6633,333, 9950,00 ve 24875 $\mu\text{g/L}$ ($r^2=0,999$)

Fosfat, 20,00, 100,00, 200,00, 500,00, 1000,00, 2000,00, 5000,00, 10000,00, 13333,33, 20000,00, 50000,00 ve 100000,00 $\mu\text{g/L}$ ($r^2=0,999$)

İyodür, 10,00, 50,00, 100,00, 250,00, 500,00, 1000,00, 2500,00, 5000,00, 7500,00, 10000,00 ve 25000,00 $\mu\text{g/L}$ ($r^2=0,999$)

Tiyosiyanat, 10,00, 50,00, 100,00, 250,00, 500,00, 1000,00, 2500,00, 5000,00, 7500,00, 10000,00 ve 25000,00 $\mu\text{g/L}$ ($r^2=0,999$).

Klorür içinde benzer konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanmıştır. Fakat, süttten gelen klorür konsantrasyonları 0,5-1 g/L arasında olduğu için bizim ölçüm sınırlarımızın çok üstünde kalmış ve klorür konsantrasyonu hesabı yapılmamıştır.



Şekil 8.15: Süt örneği kromatogramı.

Çizelge 8.5 : Piyasada satılan sütlerin analiz sonuçları.

Anyon	İstatistik	Marka			
		Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3	Örnek 4
F ⁻	Ort. (µg/L)	-	-	-	-
NO ₂ ⁻	Ort. (µg/L)	7,19	9,30	25,37	2,92
	Std. Sap.	0,25	0,30	0,14	0,03
	%Std.Sap.	3,54	3,88	0,57	1,10
Br ⁻	Ort. (µg/L)	903,88	642,19	3022,27	2332,61
	Std. Sap.	8,26	13,70	6,17	8,78
	%Std.Sap.	0,91	2,13	0,20	0,38
NO ₃ ⁻	Ort. (µg/L)	10626,40	8499,33	7377,69	8190,85
	Std. Sap.	37,66	144,97	28,01	39,62
	%Std.Sap.	0,35	1,71	0,38	0,48
SO ₄ ²⁻	Ort. (µg/L)	9660,39	15071,83	11326,46	9261,36
	Std. Sap.	59,71	32,02	23,70	39,83
	%Std.Sap.	0,62	0,21	0,21	0,43
PO ₄ ³⁻	Ort. (µg/L)	76507,78	84737,81	80993,24	75459,21
	Std. Sap.	554,46	278,98	218,59	351,47
	%Std.Sap.	0,72	0,33	0,27	0,47
I ⁻	Ort. (µg/L)	26,32	79,08	39,62	12,03
	Std. Sap.	0,23	0,52	0,01	0,06
	%Std.Sap.	0,89	0,66	0,03	0,48
SCN ⁻	Ort. (µg/L)	2716,70	2772,16	2732,93	3107,20
	Std. Sap.	4,67	5,45	0,06	13,79
	%Std.Sap.	0,17	0,20	0,00	0,44

9. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

İyon Kromatografi metoduyla kompleks matrisli örneklerde eser anyon analizleri, yüksek zemin cevabı nedeniyle imkansızdır. Böyle çalışmalarda genellikle örneği seyreltme yoluna gidilir ki, hedef anyonun konsantrasyonunun daha da düşmesine ve bazen de tayin sınırının altına inmesine neden olur. Bu yüzden örnekler cihaza enjekte edilmeden önce bazı ön temizleme işlemleri gereklidir. Temizleme işlemleri genellikle kromatografi koşullarını optimize edip uygulamaktan çok daha fazla zaman alıcı ve zahmetli işlemlerdir.

Bu çalışmada kompleks matrisli örneklerden içme suyu, deniz suyu ve süt seçilmiştir. İçme suyu ve deniz suyunda CN^- tayini için yöntem geliştirmek amacıyla standart çözeltilerde yapılan çalışmalar sonucu en uygun kromatogram koşulları **Yöntem I** olarak belirlenmiştir: Eluent konsantrasyonu 0-8 dakikalar arasında 15mM ve 8,1-22,5 dakikalar arasında 24mM, supresör akımı 15 mA, kolon sıcaklığı 35 °C, dedektör hücre sıcaklığı 40 °C, akış hızı 0,25 mL/dk ve sample loop hacmi 10 µL dir. Bu yöntemde siyanür için LOD: 7,2 µg/L.

Siyanürün iletkenlik dedektörüne cevabı olmadığından kloramin-T ile reaksiyona sokularak siyanata dönüştürüldükten sonra tayin edilmiştir. Nitrit anyonu çoğu siyanür tayinine girişim yaparak siyanüre pozitif hata getirirken optimize edilen diğer bir yöntemle (**Yöntem II**: Eluent konsantrasyonu 0-20dakika arasında 3,5 mM, 20-30 dakika arasında 3,5-24 mM, 30,1-40 dakika arasında 24 mM, supresör akımı 15mA kolon sıcaklığı 35 °C, dedektör hücre sıcaklığı 40 °C, akış hızı 0,25 mL/dk ve sample loop hacmi 10 µL dir. Bu yöntemde siyanür için LOD: 15,4 µg/L bulundu.) siyanür piki nitritten ayrılabilmiştir. Bu yöntemde siyanür ve nitritin birlikte kantitatif tayini mümkündür. Ayrıca diğer bir çalışmada klorürün siyanüre oranla 50 kat fazla olduğu durumda klorür, siyanür analizine girişim yaparkengeliştirilen yöntemle 3000 kat klorür/siyanür oranlarında 100 µg/L siyanür % 96,6 oranında tayin edilebilmiştir. Bu sonuç, çok yüksek konsantrasyonlarda klorür içeren deniz suyu örneklerinde eser miktardaki siyanür tayini için oldukça avantaj sağlar.

Deniz suyu çok yüksek oranlarda tuz içerdiğinden iyon kromatografisi ile anyon analizi mümkün değildir. Deniz suyundaki matriks iyonların etkisini ortama ilave bir kimyasal katmadan ve seyreltmeden giderebilmek amacıyla laboratuvarında hazırlanan siyanür içeren yapay deniz suyu örneklerine temizleme işlemleri uygulandı. Yapay deniz suyu örnekleri önce kuvvetli asidik katyon değiştirici kolondan ve daha sonra melamin formaldehit içeren kolondan geçirilerek siyanür analizleri yapıldı. Yapılan çalışmalar sonucunda matriks iyonlarının temizlenebildiği ve 500 µg/L siyanür içeren yapay deniz suyunda % 89 oranında siyanür geri kazanıldı.

Sütte anyon analizleri için **Yöntem III** (Eluent konsantrasyonu 0,0-5,0 dakika arası 5mM, 5,0-15,0 dakikalar arası gradient olarak 30 mM, 15,0-40,0 dakikalar arasında 30 mM; kolon sıcaklığı 20 °C, fırın sıcaklığı 25 °C; Supresör akımı 19 mA; enjeksiyon hacmi 10 µL dir.) kullanıldı. Bu yöntem protein, yağ, karbonhidrat, vs içeren süt örneğine uygulanabilir. Süt örneklerinin IC analizine hazır hale getirilmesi için protein ve metal çöktürmede asetonitril kullanılması (1:4, süt:asetonitril) ve apolar moleküllerin SPE C-18 kartuş ile uzaklaştırılması düşük zemin iletkenliği ve eser anyon analizi için uygun bulunmuştur.

Sonuç olarak, yüksek derecede zehirli bir anyon olan siyanür için deniz sularında ve içme sularında seçici ve hassas yöntemler geliştirilmiştir. İçme suyu ve sütte yaptığımız analiz sonuçları markadan markaya göre değişmiştir. Hiçbir içme suyu örneğinde siyanür tayin edilememiştir. Ancak son konsantrasyonu 250 µg/L olacak şekilde siyanür katılan içme sularında % 100,64 oranında siyanür geri kazanılmıştır. Ayrıca geliştirilen temizleme metoduyla sütte SCN⁻, I⁻, NO₂⁻, Br⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ ve PO₄³⁻ ayrılabilmiş ve tayin edilebilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] **Xiao-Lin Jiang, Lee Wah Lim, Toyohide**, 2008. Takeuchi Determination of trace inorganic anions in seawater samples by ion chromatography using silica columns modified with cetyltrimethylammonium ion. *Anal. Bioanal. Chem.* 393:387-391.
- [2] **Douglas A. Skoog, F. J. Holler, T.A. Nieman**, 1997. Enstrümantal Analiz İlkeleri. S 674-758.
- [3] **Dionex Reference Library, Support**, 2007. (CD-ROM).
- [4] **Dionex Corporation**, 2004. Determination of Inorganic Anions in Drinking Water by Ion Chromatography, *Dionex Application Note 133*, LPN 1192-03 PDF 10/04.
- [5] **Gülçin Gümüş, Birsen Demirata, Reşat Apak**, 2000. Simultaneous spectrophotometric determination of cyanide and thiocyanate after separation on a melamine-formaldehyde resin, *Talanta* **53**, 305-315.
- [6] **A. B. Kirk, E. E. Smith, Kang Tian, T. A. Anderson, P. K. Dasgupta**, 2003. Perchlorate in Milk. *Environ. Sci. Tech.*, **37**, 4979-4981.
- [7] **L. V. Blasini, B. C. Blount, A. Delinsky**, 2007. Quantification of iodide and sodium-iodide symporter inhibitors in human urine using ion chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1155**, 40-46.
- [8] **Gülçin Gümüş**, 2001. Siyanür tayini için yeni bir spektrofotometrik yöntem. *Doktora tezi, İTÜ*.
- [9] **T.T. Christon, J. S. Rohrer**, 2007. Direct determination of free cyanide in drinkin water by io chromatography with pulsed amperometric detection, *Journal of Cromatography A*, **1155**, 31-39.
- [10] **Upadhyay, S. and Gupta, V.K.**, 1984. Spectrophotometric Method for the Determination of Cyanide and its Application to Biyological Fluids, *Analyst*, **109**, 1619-1620.
- [11] **Baykut, F., Aydın, A. ve Baykut, S.**, 1987. Çevre Sorunları ve Korunma, *İÜ. Yayınları*, No **3449**, 153.
- [12] **T.C. Çalışma Bakanlığı**, Parlayıcı, Patlayıcı, Tehlikeli ve Zararlı Maddelerle Çalışılan İşyerlerinde Alınması Gereken Güvenlik Tedbirleri Hk. Tüzük, I. çizelge.
- [13] **Nascimento, P.C., Bohrer, D. and Carvalho, L.M.**, 1998. Cyanide Determination in Biyological Fluids Using a Microdiffusion Method with a Flow System and Polarographic Dedection, *Analyst*, **123**, p 1151-1154.

- [14] **American Public Health Association (APHA)**, 1971. Standard methods for the examination of water and wastewater, **13th Ed.**, Washington, 397-406.
- [15] **Greenwood N.N. and Earnshaw, A.**, 1984. Chemistry of the Elements, Butterworth-Heinemann Ltd., *Oxford*, 339.
- [16] **Hewitt, P.J. and Austin, H.B.**, 1972. Determination of cyanide in industrial effluents, *Water Pollution Control*, **71(4)**, 381-385.
- [17] **Miller, G.W., Long, L.E., George, G.M. and Sikes, W.L.** 1964. Submicromicrogram Determination of Cyanide by a Polarographic Method, *Analytical Chemistry*, **36, 6**, 980-983.
- [18] **Fogg, A.G. and Alonso, R.M.**, 1987. Oxidative Amperometric Flow Injection Determination of at Electrochemically Pre-treated Glassy Carbon Electrode, *Analyst*, **112**, 1071-1072.
- [19] **Hofton, M.E.**, 1976. Continuous determination of free cyanide in effluents using silver ion selective electrode, *Environmental Science Technology*, **10**, 277-280.
- [20] **Nagashima, S.**, 1983. Simultaneous reaction rate spectrophotometric determination of cyanide and thiocyanate by use of the pyridine-barbituric acid method, *Water Research*, **17**, 833.
- [21] **Schilt, A.A.**, 1958. Colorimetric Determination of Cyanide, *Analytical Chemistry*, **30, 8**, 1409-1411
- [22] **Lambert J.L. and Manzo D.J.**, 1968. Spectrophotometric Determination of Cyanide Ion with tris(1,10-Phenanthroline)Iron(II)-Triiodide Ion Association Reagent, *Analytical Chemistry*, **40, 8**, 1354-1355.
- [23] **Scoggim, M.W.**, 1972. Ultraviolet Spectrophotometric Determination of Cyanide Ion, *Analytical Chemistry*, **44, 7**, 1294-1296.
- [24] **Sulistiyarti, H., Cardwell, T.J. and Kolev, S.D.**, 1997. Determination of Cyanide as Tetracyanonickelate(II) by flow injection and Spectrophotometric Dedection, *Analytica Chimica Acta*, **357**, 103-109.
- [25] **Ishii, H. and Kohata K.**, 1991. Indirect Spectrophotometric Determination of Trace Cyanide with Cationic Porphyrinsjalanta, **38**, 511-514.
- [26] **Montgomery, H.A.C., Gardiner, D.K. and Gregory, J.G.G.**, 1969. Determination of free Hydrogen Cyanide in River Water by a Solvent-Extraction Method, *Analyst*, **94**, 284.
- [27] **Fonong, T.**, 1987. Enzyme Method for the Spectrophotometric Determination of Micro-Amounts of Cyanide, *Analyst*, **112**, 1033-1035.
- [28] **Nagashima, S. and Ozana, T.**, 1981. Spectrophotometric determination of cyanide with isonicotinic acid and barbituric acid, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **10**, 99.
- [29] **Broderius, S.J.**, 1981. Determination of Hydrocyanic acid and Free Cyanide in Aqueous Solution, *Analytical Chemistry*, **53**, 1472-1477.

- [30] **Nonomura, M.**, 1987. Indirect Determination of Cyanide Compounds by Ion Chromatography with Conductivity Measurement, *Analytical Chemistry*, **59**, 2073-2076.
- [31] **Nonomura, M., and Hobo, T.**, 1989. Ion Chromatographic Determination of Cyanide Compounds by Chloramine-T and Conductivity Measurement, *Journal of Chromatography*, **465**, 395-401.
- [32] **Beran, P. and Bruckenstein, S.**, 1980. Pneumatoamperometric Determination of Nanogram Amounts of Cyanide, *Analytical Chemistry*, **52**, 1183-1186.
- [33] **DuVal, D.L., Firtz, J.S. and Gjerde, D.T.**, 1982. Indirect Determination of Cyanide by Single-Column Ion Chromatography, *Analytical Chemistry*, **54**, 4, 830-832.
- [34] **Thompson, J.C. and Carel, A.B.**, 1989. Ion Chromatographic Separation of Cobalt Cyanide Complexes, *Analyst*, **114**, 1197-1200.
- [35] **Otu, O.E., Robinson, CAV. and Byertey, J.J.**, 1992. Anion-Exchange Chromatography of Mixed Cyano Complexes: Separation and Determination of Dicyanoaurate (I), *Analyst*, **117**, 1145-1149.
- [36] **Gamoh, K. and Imamichi, S.**, 1991. Postcolumn Liquid Chromatographic Method for the Determination of Cyanide with Fluorometric Detection, *Analytica Chimica Acta*, **251**, 255-259.
- [37] **Byerley, J.J., and Enns, K.**, 1984. Electrochemical Regeneration of Cyanide from Waste Thiocyanate for Cyanidation, *CIM Bulletin*, **77**, 87.
- [38] **Soto, H., Nava, F., Leal, J., and Jara, J.**, 1995. Regeneration of cyanide by ozone oxidation of thiocyanate in cyanidation tailings, *Minerals Engineering*, **8** (3), 273-281.
- [39] **Arthur, P., and Smith, O.M.**, 1952. Semimicro Qualitative Analysis, *McGraw-Hill Book Company, Inc., London*, 253.
- [40] **Meeussen, J.C.L., Temminhoff, E.J.M., Keiser, M.G. and Novozamsky, I.**, 1989. Spectrophotometric Determination of Total Cyanide, Iron-Cyanide Complexes, Free Cyanide and Thiocyanate in Water by a Continuous-Flow System, *Analyst*, **114**, 959.
- [41] **Staden, J.F. and Botha, A.**, 2000. Spectrophotometric determination of thiocyanate by sequential injection analysis, *Analytica Chimica Acta*, **403**, 279-286.
- [42] **Pinillos, S.C., Vicente, I.S., Bernal, J.G., and Asensio, J.S.**, 1996. Determination of thiocyanate by carbonyl sulphide (OCS) generation and gas-phase molecular absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **318**, 377-383.
- [43] **Bendtsen, A.B., and Hansen, E.H.**, 1991. Spectrophotometric Flow-Injection Determination of Trace Amounts of Thiocyanate Based on Its Reaction with 2-(5-Bromo-2-Pyridylazo)-5-Diethylaminophenol and Dichromate Assay of the Thiocyanate Level in Saliva from Smokers and Nonsmokers, *Analyst*, **116**, 647-651.

- [44] **Densen, P.M. Dawidow, B., Bass, H.E., and Jones, E.V.**, 1967. A Chemical Test for Smoking Exposure, *Archives of Environmental Health*, **14(6)**, 865-874.
- [45] **Butts, W.C, Kuehneman, M. and Widdowson, G.M.**, 1974. Automated Method for Determining Serum thiocyanate to Distinguish smokers from nonsmokers, *Clinical Chemistry*, **20(10)**, 1344-1348.
- [46] **Micheal Wilson**, 2008. U.S. Environmental Protection Agency, Office of the Inspector General (OIG).
- [47] **Marczenko, Z.**, 1976. Spectrophotometric Determination of Elements. Ellis Horwood Limited, *Chichester*, 194.
- [48] **Chinaka, S., Takayama, N., Michigami, Y. And Ueda, K.**, 1998. Simultaneous Determination of Cyanide and Thiocyanate In Blood by Ion Chromatography with Fluorescence and Ultraviolet Detection, *Journal of Chromatography B: Biomedical Science Application*, **713**, 353-359.
- [49] **Nota ,G., Miraglia, V.U., Inip rota, C. and Acompora, A.**, 1981. Determination of Cyanides and Thiocyanates in Water by Headspace Gas Chromatography with a Nitrogen-Phosphorus Detector, *Journal of Chromatography*, **207**, 47-54.
- [50] **Kage, S., Nagata, J. and Kudo, K.**, 1996. Determination of Cyanide and Thiocyanate in blood by Gas Chromatography and Gas Chromatography Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography B-Biomedical Applications*, **675**, 27-32.
- [51] **B. C. Blount, Liza V. Blasini**, 2006. Analysis of perchlorate, thiocyanate, nitrate and iodide in human amniotic fluid using ion chromatography and electrospray tandem mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **567**, 87-93.
- [52] **B. Gong, G. Gong**, 1999. Fluorometric method for the determination of thiocyanate with 2',7'-dichlorofluorescein and iodine, *Analytica Chimica Acta*, **394**, 171-175.
- [53] **A. Shukla, G, Agnihotri, K.S. Patel, and P. Hoffmann**, 2004. Determination of thiocyanate in waste water, *Analytical Letters*, **Vol. 37, No. 9**, p 1991-2001.
- [54] **Arzu Akar**, 2000. İçme suyu kalitesi açısından kirlilik parametrelerinin irdelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, İTÜ*, **F0197Y432**.
- [55] **Tim F. Rozan, George W. Luther III**, 2002. An anion chromatography/ultraviolet detection method to determine nitrite, nitrate, and sulfide concentrations in saline (pore) waters. *Marine Chemistry*, **77**, 1 – 6.
- [56] **M. Tonacchera, A. Pinchera, A. Dimida, E. Ferrarini, P. Agretti, P. Vitti F. Santini, K. Crump, and J. Gibbs**, 2004. Relative potencies and additivity of perchlorate, thiocyanate, nitrate and iodide on the inhibition of radioactive uptake by the human sodium iodide symporter, *Thyroid*, Vol. 14, No. 12.

- [57] **Richard A. Niemann, and David L. Anderson**, 2008. Determination of iodide and thiocyanate in powdered milk and infant formula by on-line enrichment ion chromatography with photodiode array detection. *Journal of chromatography A*, **Vol. 1200, issue 2**, p 193-197.
- [58] **B. S. Blanco, S.L. Gorniak**, 2003. Milk transfer of cyanide and thiocyanate: cyanide exposure by lactation in goats, *Vet. Res.*, **34**, 213-220.
- [59] **Gülderen Oysun**, 1987. Süt kimyası ve biyokimyası, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi yayınları*, **18**.
- [60] **Halit Keskin**, 1982. Besin Kimyası. *Fatih yayınevi ve matbaası*, **4**. cilt.
- [61] **Bilgin Özkan**, 2002. Pastörize sütün A ve D vitamin kayıplarının incelenmesi ve A ve D vitaminlerince zenginleştirilmesi. *Yüksek lisans tezi, İTÜ*.
- [62] **M. A. Wattiaux**, Milk composition and nutritional value, *Dairy essentials, Babcock Institute, University of Wisconsin-Madison*.
- [63] **L.WT. Fweja, M. J. Lewis and A. S. Grandison**, 2007. Alternative strategies for activation of the natural lactoperoxidase system in cows' milk: trials in Tanzania, *Journal of dairy research*, **74**, 381-386.
- [64] **Dionex Corporation**, 2004. Application note **37**, LPN 0702-03 PDF 10/04.
- [65] **Jason V. Dyke, Andrea B. Kirk, P. Kalyani Martinelango and Purnendu K. Dasgupta**, 2006. Sample processing method for the determination of perchlorate in milk, *Analytica Chimica Acta*, **567**, 73-78.
- [66] **M. Lieterer, D. Truckenbrodt, K. Franke**, 2001. Determination of iodine species in milk using ion chromatographic separation and ICP-MS detection, *Eur. Food Res. Tech.*, **213**:150-153.
- [67] **Richard A. Niemann, David L. Anderson**, 2008. Determination of iodide and thiocyanate in powdered milk and infant formula by on-line enrichment ion chromatography with photodiode array detection, *Journal of Chromatography A*, **Volume 1200, Issue 2**, Pages 193-197.
- [68] **R. Lucena, M. Gallego, S. Cardenas, and M. Valcarcel**, 2003. Autoanalyzer for milk quality control based on the lactose, fat, and total protein contents, *Anal. Chem., ACS Publications.*, **75 (6)**.
- [69] **Ece Kayserili**, 1999. İçme sularından uçucu organik maddelerin giderilebilirliğinin araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi, İTÜ*.
- [70] **Certificate of Analysis, ERM-CA016a**, 2006. *European Reference Materials, EU/UK*.
- [71] **Dionex Corporation**, 2001. Fast analysis of anions in drinking water by ion chromatography, *Dionex Application Note 140*, LPN 1295 5M 7/01.
- [72] **Aytuğ Demirdilek**, 2002. Deniz suyunun magnezyum kaynağı olarak magnezyum amonyum fosfat çöktürülmesinde kullanılması, *Yüksek Lisans tezi, İTÜ*.
- [73] **Nilgün Kocatürk**, 2002. İnorganik anyonların kapiler elektroforez yöntemi ile tayininde yüksek tuz etkisinin incelenmesi ve deniz suyunda bromür tayini, *Yüksek Lisans tezi, İTÜ*.

- [74] **M. Masahiro ; DOI Takashi ; O. Hajime**, 2006. Onboard determination of submicromolar nitrate in seawater by anion-exchange chromatography with lithium chloride eluent, *Analytical sciences*, **vol. 22, no9**, pp. 1175-1178 ISSN 0910-6340 CODEN ANSCEN.
- [75] **Xiaowen Zhao, Lin Ye, Youliang Hu**, 2006. Synthesis of the melamine-formaldehyde polycondensate and its thermal stabilization effect on polyoxymethylene, *Polymer* ISSN 0032-3861, **vol. 47, no8**, pp. 2649-2659.
- [76] **Kester, D.R., Duedall, I.W., Connors, D.N. and Pytkowicz, R.M.**, 1967. Preparation of Artificial Seawater, *Limnology & Oceanography*, **12**, 176-179.
- [77] **R.A. Michelin, M. Mozzon, R. Bertani**, 1996. Reactions of transition metal-coordinated nitriles, *Coordination chemistry reviews*, **147**, 299-338.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Orhan Destanoğlu

Doğum Yeri ve Tarihi: İstanbul - 17.02.1983

Adres: İTÜ Fen Edebiyat Fak. Kimya Bölümü, Maslak/İstanbul

E-mail: destanoglu@itu.edu.tr, orhan_destanoglu@yahoo.com.tr

Diplomalar

Lise: Eminönü Cibali Lisesi, 1999

Lisans Üniversite: Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü,2005

Yabancı dil: İngilizce, Boşnakça.