

75

DOĞAL VE YAPAY KURUTMA İLE KÜKÜRTLEME
İŞLEMLERİ SIRASINDA KAYISININ ORGANİK
İÇERİĞİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa Karakaplan

**İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav
Yönergesi'nin**

**Kimya Anabilim Dalı için öğördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
olarak hazırlanmıştır.**

**MALATYA
Haziran, 1988**

**Malatya Kültür ve Turizm Bakanlığı
Malatya Kütüphanesi**

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

İş bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim
dalında BİLİM UZMANLIĞI TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan _____

Üye _____

Üye _____

T.C. İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ



06340401

ty QD 1988.K18
Karakaplan, Mustafa.
ıda k Doğal ve yapay kurutma ile kükürleme işlemleri sırası

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait ol-
duğunu onaylarım.

...../...../1988

Prof. Dr. Nihat Bozcuk

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen ve bu konunun seçiminde bana yardımcı olan sayın hocam Prof. Dr. Şeref GÜÇER'e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Eşim Sibel ve Kızım Burcuya

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ	1
II. KURAMSAL BİLGİLER	3
2.1. Kayısının Kimyasal İçeriği Hakkında Genel Bilgiler,	3
2.2.1. Kayısının Vitamin İçeriği,	5
2.2.2. Vitaminlerin Beslenme Açısından Önemi,	6
2.2.3. B ₂ Vitamini (Riboflavin),	6
2.2.4. C Vitamini (Askorbik Asit),	
2.3. Kurutma ve Kükürtleme İşlemleri,	9
2.3.1. Kurutma,	9
2.3.2. Kükürtleme,	9
2.4. Kükürt Dioksitin Hazırlanışı ve Özellikleri,	10
2.4.1. Laboratuvarında Hazırlanışı,	10
2.4.2. Kükürtün Yakılmasıyla Eldesi,	11
2.4.3. Kükürt Dioksitin Gaz Halinin Özellikleri,	11
2.4.4. Kükürt Dioksitin Sıvı Halinin Özellikleri,	11
2.4.5. Kükürt Dioksitin Susuz Ortamdaki Çözünürlüğü,	12
2.4.6. Kükürt Dioksitin Sulu Çözeltisi,	12
2.5. Kurutma ve Kükürtleme ile İlgili Kimyasal İçerikteki Değişmeler,	14
2.5.1. Kükürt Dioksitin Proteinlere Etkisi,	15
2.5.2. Kükürt Dioksitin Tiyamine Etkisi,	15
2.5.3. Şekerlere ve Karbonil Bileşiklerine Etkisi,	16
2.5.4. Kükürt Dioksitin Enzimatik Kararmaya Etkisi,	17
2.6. Vitamin Analizleri,	18
2.7. Sıvı Kromatografinin Temel İlkeleri,	20
2.7.1. Kromatografi,	20
2.7.2. Lineer Kromatografi,	22
2.7.3. Kolon Kromatografi,	23

2.7.4. Elüsyon Kromatoğrafının Teorisi,	24
2.7.5. Kolon Verimliliği ve Hız Teorisi,	25
2.7.6. Band Genişlemesi,	27
2.7.7. Termodinamik Değişkenlerin Pik Genişle- mesine Etkisi,	28
2.7.8. Genel Elüsyon Problemi,	32
2.7.9. Kromatografi ile Kalitatif ve Kantitatif Analiz,	32
2.7.10. Yüksek Etkinlikli Sıvı Kromatografi,	36
2.7.11. Ayırmayı Sağlayan Güçler ve Etkinlik,	37
2.7.12. Hareketli Fazlar,	40
2.7.13. Dolgu Maddeleri ve Sabit Faz,	41
2.7.14. Sıvı Kromatografi Sistemi,	42
2.8. Sıvı Kromatografi İle Vitamin Analizleri,	45
2.8.1. Kromatografi ile B ₂ Vitamini (Riboflavin) Analizi,	45
2.8.2. Kromatografi ile C Vitamini (Askorbik Asit) Analizi,	46
III. DENEYSEL KISIM	
3.1. Ölçümlerde Kullanılan Aletler,	48
3.2. Reaktifler ve Standart Çözeltilerin Hazırlan- ması,	48
3.3. Örnekleme, Kurutma ve Kükürtleme ile İlgili Deneysel İşlemler,	48
3.4. Sıvı Kromatografi ile İlgili Çalışmalar,	49
3.4.1. Uygun Eluent (hareketli faz) Seçimi ve Sıvı Kromatografi Sisteminin Optimizasyonu,	49
3.4.2. Kayısı Ekstraktları ile Yapılan Çalışmalar,	61
3.4.3. Standart Vitamin Örnekleri ile Yapılan Analizler,	61
IV. DENEY SONUÇLARININ YORUMU	66
V. SONUÇ	68
VI. BIBLIYOGRAFYA	69

ŞEKİLLER LİSTESİ

2-1. Tipik Dağılım Eğrileri,	22
2-2. Kolon Kromatografisi ile A ve B Karışımlarının Ayrılmasının Şematik olarak Gösterilmesi,	23
2-3. Farklı Uzunluktaki Kolonlarda A ve B Maddelerinin Konsantrasyon Profilleri,	24
2-5. Standart Sapmanın Pik Üzerinde Gösterilişi,	26
2-6. Rezelüsyon,	30
2-7. Genel Elüsyon Problemi,	33
2-8. α , k' , N değerlerinin ayırma etkisi,	33
2-9. Sıvı Kromatografi Sistemi,	43
2-10. Riboflavinin Yapısı,	45
2-11. Askorbik Asitin Yapısı,	46
3-1. Örnekleme, Kurutma ve Kükürtleme İşlemlerinin Şematik Olarak Gösterilmesi,	49
3-2. Bidistile Su Çözgen Sisteminde Ayırım,	51
3-3. Etanol-Su Çözgen Sisteminde Ayırım,	52
3-4. 0.05M KH_2PO_4 -metanol Sistemine Ayırma,	53
3-5. Etanol-%0.1 $(NH_4)_2CO_3$ Çözgen Sisteminde Ayırım,	54
3-6. %0.1 $(NH_4)_2CO_3$ -Etanol Sisteminde Ayırım,	55
3-7. %75Etanol-%25 $(NH_4)_2CO_3$ (%1) Çözgen Sisteminde Kayısı Ekstraktlarının Ayrılması,	56
3-8. Etanol-%0.1 $(NH_4)_2CO_3$ (10/90) Çözgen Sisteminde Ayırım,	56
3-9. Etanol-%0.1 $(NH_4)_2CO_3$ (12.5:87.5 v/v) Çözgen Sisteminde Ayırım,	57
3-10. %0.1 $(NH_4)_2CO_3$ Çözgen Sisteminde Ayırım,	58
3-11. %0.05 $(NH_4)_2CO_3$ Çözgen Sisteminde Ayırım,	59

- 3-12. C ve B₂ Vitamini Karışımının %0.05 (NH₄)₂CO₃
Çözgen Sisteminde Ayrılması, 60
- 3-14. Kayısı Ekstraktlarının Standart Ekleme İle
Kantitatif Analizi, 62
- 3-15. Standart Ekleme İle Kayısı Ekstraktında C
Vitamini Analizine Ait Kalibrasyon Eğrisi, 63
- 3-16. Standart Ekleme ile Kayısı Ekstraktlarında
B₂ Vitaminine Ait Kalibrasyon Eğrisi, 64
- 3-17. Sülfitlemiş Standart C Vitamini Örneğinin
Absorbans Değişimleri, 65
- 3-18. Sülfitlemiş Standart B₂ Vitamini Örneği-
nin Absorbans Değişimi, 65

ÇİZELGELER LİSTESİ

2-1. Kayısıda Bulunan Önemli Besin Bileşenleri,	3
2-2. Kayısının Organik Asit ve Çözünebilir Kattı Bileşimi,	3
2-3. 100 g Kayısıda Bulunan Maddeler,	4
2-4. Kurutulmuş Kayısı Posasında Bazı Bileşenlerin Miktarları,	4
2-5. Malatya İlinde Yetişen Bazı Kayısı Türlerinin Element İçeriği,	5
2-6. 1 atm de Çeşitli Sıcaklıklarda Kükürt Dioksitin Sudaki Çözünürlüğü,	12
2-7. Kolon Kromatografik Metodların Sınıflandırılması,	21
2-8. Sıvı Kromatografi ile Besinlerde B ₂ ve C Vitaminleri Tayinine Ait Çalışmalar,	47
4-1. Hacıhaliloğlu, Hasanbey, Çöloğlu Türü Kayıslarda B ₂ ve C Vitamini Düzeyleri,	67

1. GİRİŞ

Botanik adı *Prunus Armeniaca* L. (*Armeniaca vulgaris* Lam.) olan kayısı Malatya ilinin ekonomisinde önemli yer tutar. Malatya borsası kayıtlarına göre 1987 yılı içinde üretilen 4 milyon 460 bin kilo kuru kayısıya karşılık 6 milyar 572 milyon lira gelir elde edilmiştir. 1987 yılı kayısı rekoltesi 12-13 bin ton olduğu sanılmaktadır.

Gıda maddelerine koruma amacıyla kükürt dioksit veya sülfüröz asit tuzlarının kullanıldığı bilinmektedir. Bu işlemler değişik çevrelerde sülfitleme veya kükürtleme olarak adlandırılmıştır. Besinlerin biyolojik aktivite nedeniyle bozulmalarını önlemek amacıyla kullanılan koruyucu maddelerin etkinliği, bunların mutlak miktarına ve eğer dissosiasyon dengeleri önemli ise bunların dissosiyasyon olmaması fraksiyonuna bağlıdır. Sülfüröz asit tuzları çözünmemiş sülfüröz asitten ($SO_2 + H_2O$) daha az etkin bir dezenfektan özellik gösterir.

Sülfüröz asitin çeşitli tuzları (bisülfit, piro sülfid ve sülfid) gıda maddelerine renk oluşumunu önlemek amacıyla antioksidan olarak da sıkça kullanılmaktadır. Bununla birlikte koruma özelliği antioksidan ve antiseptik etkileri birlikte içerebilir.

Kükürt dioksit ve sülfüröz asit tuzları portakal suyunun açık sarı rengini korumasında kullanıldığı gibi toz sarmısağın v.b. besin ürünlerinin tazeliğini ve rengini korumak için de kullanılmaktadır. Kükürt dioksitin diğer uygulamaları olarak pamuk tohumu yağının beyazlatılması ve korunması gösterilebilir.

Çevremizde ise kükürt dioksit kayısının uzun süre bozulmadan saklanması ve sarı rengini koruması amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır.

Diğer taraftan kükürtleme veya sülfitleme işleminin den sonra besinlerde kalmasına müsaade edilen kükürt dioksit miktarının tesbit edilmesi veya fazlasının giderilmesi bu işlemin koruyucu özelliği yanında getirdiği diğer sorunlar olmaktadır. Bunun yanında gıda kalitesinin, kükürt dioksitin katıldığı bir seri reaksiyonlarda değişmesi söz konusu olabilir. Kükürt gidermek için meyva sularında sülfid sülfata

Diğer taraftan Salem S. A. (1973), kayısının bileşenleri için verdiği değerler Çizelge 2-3. de gösterilmiştir.

Çizelge 2-3. 100 g Kayısıda Bulunan Maddeler.

Protein	%1.0	Thiamine	0.03 mg
Yağ	%0.2	Riboflavin	0.04 mg
Karbonhidrat	%12.8	Niacin	0.6 mg
A vitamini	2700 IU*	Su	%85.3
C vitamini	10.0 mg	Enerji	51 Cal.

* 1 IU A vitamini 0.344 µg A vitamini asetatıdır.

Türkiyede yetişen kayısıların bileşenlerinin ortaya konması ile ilgili literatürde pek fazla bir bilgiye raslanmamaktadır. Ekşi A. (1982) tarafından yapılan bir çalışmada kurutulmuş kayısı posasında bazı bileşenlerin miktarları çizelge 2-4. de gösterilmiştir.

Çizelge 2-4. Kurutulmuş Kayısı Posasında Bazı Bileşenlerin Miktarları.

	<u>%</u>		<u>mg/kg</u>
Nem	9.3	Potasyum	1200
Toplam Şeker	38.5	Sodyum	234
İnd. Şeker	24.0	Kalsiyum	1032
Sakkaroz	14.5	Fosfor	527
Protein (Nx6.25)	4.1	Demir	38
Selüloz	1.8	Bakır	4
Yağ	5.0	Çinko	2
Kül	2.6		

Malatya'da yetişen kayısıların element bileşimi konusunda İnönü Üniversitesinde yürütülen çalışmalar mevcut olup, Esen T. (1987) bazı kayısı türlerinde element düzeylerini çizelge 2-5. da belirtildiği gibi sepmaktadır.

Çizelge 2-5. Malatya İlinde Yetişen Bazı Kayısı Türlerinin Element İçeriği (µg/g)

Element	Hacıhaliloğlu	Hasanbey	Çöloğlu	Çataloğlu	Soğanlı
Ca	731	571	627	820	632
K	19876	19149	13300	23631	20429
Na	1284	1190	570	1715	855
Mg	281	276	262	293	284
Fe	22.36	21.33	32.54	15.00	23.01
Cu	3.87	3.72	3.41	2.10	5.29
Zn	3.83	3.74	3.95	3.58	1.91
Co	3.05	2.79	2.48	2.25	2.34
Mn	1.63	1.27	1.05	1.98	2.56
Ni	2.80	2.89	2.71	2.03	2.14

2.2.1. Kayısının Vitamin İçeriği

Wills, R.B.H (1983) tarafından yapılan çalışmada 100 g kayısıda 16 mg C , 7 µg Karoten, 285 µg β karoten 0.03 mg tiyamin, 0.04 mg Riboflavin, 1.4 mg Niasin bulunduğu belirtilmektedir.

2.2.2 Vitaminlerin Beslenme Açısından Önemi:

Vitaminler insan ve hayvanların gelişme ve yaşamlarını sürdürebilmesi için gerekli, küçük miktarlarda etkilerini gösteren organik maddeler olup enerji vermezler, fakat enerji değişmesi ve besin elementlerinin metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar.

Organizma kendi enzim ve hormonunu sentez edebilmekte isede vitamini dışardan almak zorundadır. A ve D vitamini provitamin olarak alınıp organizmada gerçek vitamine dönüştürülerek kullanılmaktadır. Bugün yapıları aydınlatılmış 20 değişik vitamin bilinmektedir. Bunlardan biri diğerinin yerine kullanılamayacağı gibi etkinlikleri birbirlerine bağlıdır. Olmaması halinde hastalık şeklinde yoklukları fark edilebilir.

Vitaminler yağda çözünenler ve suda çözünenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Yağda çözünenler A, D, E ve K vitaminleri suda çözünenler ise B grubu vitaminleri ve C vitaminidir. Vitaminlerin özelliklerinde yalnızca B₂ ve C vitamini anlatılacaktır.

2.2.3 B₂ Vitamini (Riboflavin)

B₂ vitamini flavin grubuna dahildir. Ticari ölçekte sentetik olarak elde edilebilmektedir. Molekül yapısı Şekil 2-10 da olduğu gibidir.

Riboflavini suda çözmek oldukça güçtür. Suda çözüldüğünde sarı yeşil renkli flüoresans özellik gösteren bir çözelti elde edilir. Alkali çözeltide riboflavin üzerine ışık etkilendirilirse analitik bakımdan önemli sarımsı yeşil renkte lumiflavin, asitli ve nötral metanollü çözeltide lumikrom meydana gelir.

Riboflavin yaşayan her hücrede ya fosforik asit esteri yada proteine dinükleotid olarak bağlı şekilde bulunur.

Riboflavin sarı renkte kristalsi bir toz olup 282 °C de bozunarak erir. Alkali ortamda mor ötesi ışınların etkisi ile bozunur.

Riboflavin eksikliği bazı özel belirtilerle anla-

şılabilir. Ağız dil ve dudak mukozasında değişiklik, tırnak kırılması, deride meydana gelen değişimlerle belli olur.

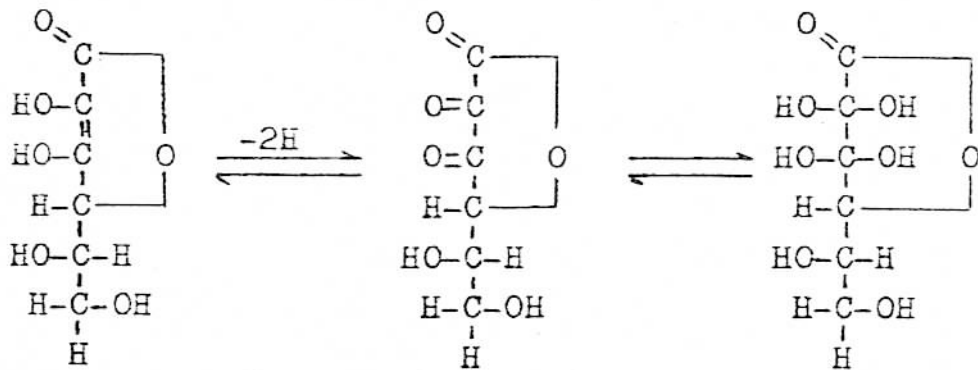
Günlük alınması gereken Riboflavin 1.3-1.6 mg civarındadır.

2.2.4 C Vitamini (Askorbik Asit)

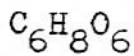
Organizmanın en çok gereksinme duyduğu vitamin askorbik asit veya C vitaminidir. İnsan vücudu askorbik asit yapamaz, bunu dışardan almak zorundadır. Taze meyve ve sebzelerde özellikle portakalda çokça bulunur. Molekül yapısı Şekil 2-11 de gösterilmiştir. L-askorbik asit 190-192 °C de bozunarak eriyen renksiz, kokusuz, 3 ml suda 1 g çözünen bir maddedir. D-askorbik asit askorbik asitin dört stereo izomerik biçiminden biridir. Suda çözünebilir ve antioksidan bir madde olduğundan dolayı önemlidir.

C vitamini ışıktan uzak tutulduğunda kararlı olan renksiz kristaller şeklindedir. %2 lik askorbik asit çözeltisinin pH'ı 2.8 dir. Asit Özelliği 3. karbondaki enol hidroksilinden ileri gelir.

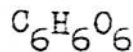
Bileşiminde bulunan endiol grubundan ötürü kuvvetli indirgendir. Kolayca yükseltgenebilir ve oluşan dehidroaskorbik asit gene kolayca indirgenebilir.



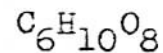
L(+) Askorbik asit



Dehidroaskorbik asit



hidratlanmış dehidro askorbik asit



C vitamini oksijen bulunmayan kuvvetli asidik çözeltilerde oldukça kararlıdır. Alkali ortamda veleniz ağır metallerin (Cu, Fe) bulunmasıyla oksijen tarafından hızlı bir şekilde parçalanır. Diğer bir etki ise askorbik asit oksidaz enzimidir. Bu enzim bir bakır protein kompleksinden oluşur.

Günlük C vitamini gereksinimi 50-75 mg'dır. Askorbik asit eksikliğinde vücudun mikroplu hastalıklara karşı direnci azalır. Vitaminin tam eksikliği iskorbüt hastalığına neden olur.

2.3. Kurutma ve Kükürtleme işlemleri

2.3.1. Kurutma

Kurutma en eski besin saklama yöntemidir. En basit kurutma yöntemi ise güneşte kurutmadır. Dehidratasyon terimi daha ziyade yapay kurutma için kullanılmaktadır. Şekeri yüksek olan şeftali, kayısı, erik, üzüm ve dut gibi meyvalar açık havada güneşte kolayca kurutulur. Fakat ileri ülkelerde dehidratörlerle yapay kurutma üstün tutulmaktadır. Bir çok modern kurutma tekniği geliştirilmiştir. En pratik dehidratörler yüksek hızlı vantilatörler bağlanmış akımlı tünel dehidratörlerdir. Meyva ve sebzelerin bulunduğu kaplar tünelin bir ucundan girer öteki ucundan çıkarlar. Başlangıçta yüksek ısı (68-77 °C) uygulanır. Su miktarı azaldıkça hava akımının sıcaklığı da düşürülür.

Kurutma düşük basınçta yapılıyorsa bu işlem vakum kurutma olarak adlandırılır. Mikrodalga ile kurutma da yapılmaktadır.

Kükürtleme

Uzun süreden beri sülfüröz asitler ve türevleri koruyucu ve antioksidan olarak kullanılmaktadır. Kükürt dioksit koruma ve birçok enzimatik olayları inhibe etmek için oldukça kullanışlı bir koruyucudur. Bu nedenlerden dolayı et ürünlerinde, şaraplarda, kurutulmuş meyvalarda geniş bir şekilde kullanılmaktadır.

Kükürt dioksit veya sülfüröz asit tuzlarının koruma amacıyla besinlere eklenmesi kükürtleme ve sülfitleme olarak adlandırılmaktadır. Bu amaçla kükürt dioksit (SO_2) veya sülfüröz asit (H_2SO_3), sodyum sülfid ($Na_2SO_3 \cdot 7H_2O$), sodyum piro-sülfid veya potasyum metabisülfid ($K_2S_2O_5$), kalsiyum hidrojen sülfid veya kalsiyum bisülfid kullanılmaktadır.

2.3.2 Meyvaların Kükürtlenmesi

Kükürtlenmiş kuru meyvalardaki kükürt dioksit miktarı kükürtleme zamanına ve sıcaklığa bağlıdır. Optimum kükürtleme sıcaklığı 40-50 °C dir. Meyvanın rengini koruması

sülfite içeriği ile ilgilidir. Kükürt dioksit tutulmasını artırmak için çeşitli ön işlemler uygulanmaktadır. Kayı- lar kükürtleme işleminden önce %5 lik sodyum sitrat çözel- tisiyle ıslatılırsa ön işlem görmemiş kayıslara oranla da- ha fazla kükürt dioksit içermektedir.

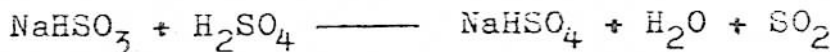
Çoğu durumlarda kükürtleme diğer koruyucu madde- lere göre daha iyi bir koruyucudur. Orneğin meyvalar bu yöntemle uzun süre korunurken sodyum benzoat etkin olama- maktadır.

Kükürtleme işlemi genelde kapalı bir odada, tava da yakılan kükürten elde edilen kükürt dioksit gazıyla yapılmaktadır. Kayıslar bu oda içerisine üst üste yerleş- tirilmiş kerevetler içerisinde konur. Kükürtleme işlemin den sonra kayıslar kükürtleme odasından çıkarılarak kuru- tular.

2.4. Kükürt dioksitin Hazırlanışı ve Özellikleri

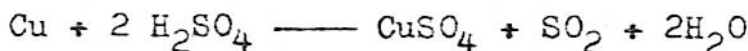
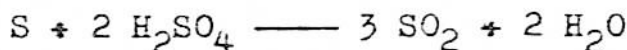
2.4.1. Laboratuvarında Hazırlanması

Kükürt dioksit (SO₂) kolay yoğunlaşan, renksiz bir gazdır. Kükürt dioksitin laboratuvarında hazırlanması için en iyi me- tod sodyum sülfite seyreltik asitle reaksiyona sokulması- dır.



Reaksiyon sonucunda oluşan gaz, derişik sülfürik asit içe- ren yıkama şişesinden geçirilerek kurutulur ve boş bir kap- ta toplanır. Kükürt dioksit havadan iki kez daha ağırdır.

Kükürt dioksit, derişik sülfürik asitin kükürt, civa, ve bakırla reaksiyonundan elde edilebilir.



2.4.2 Kükürtün Yakılmasıyla Eldesi

Kükürt dioksit ticari olarak kükürtün havada çeşitli fırınlarda yakılmasıyla elde edilebilir. Kükürt 250 °C nin üzerinde tutuşur ve mavi alevle yanar. Kükürtün yanmasıyla 2.2 kcal/g ısı açığa çıkar.

Uygun kükürt fırınının seçimi yakılacak kükürtün kalitesine ve üretilecek kükürt dioksitin miktarına bağlıdır. En basit kükürt yakma metodu açık tavaya koymak ve ısıtmaktır. Bu metodun en önemli üstünlüğü ucuz ve basit olmasıdır. Bununla birlikte sakıncası yanma hızı ve gaz yoğunluğunun kontrol edilememesidir. Tavada yakmada uygun işlem kükürtün kalitesine bağlıdır. Kükürt içerisinde az miktarda karbon içeren bileşiklerin bulunması yanmanın yavaşlamasına veya alevin sönmesine bile sebep olabilir. Açık tavada yakma metodu ile elde edilen kükürtdioksit binaların dezenfekte edilmesinde, oluşan gaz yoğunluğunun önemli olmadığı yerlerde kullanılır. Tava ile yakmada yanma hızı hava akış hızının artırılmasıyla artırılabilir.

Döner kükürt fırınları yüksek oranda kül içeren veya düşük kaliteli kükürtten kükürt dioksit üretimi için uygunluk gösterir. Bu tip fırınlarda kükürt ve hava yatay olarak dönen çelik bir silindirin bir tarafından verilir. Döner tip fırınlarda üretilen gaz yüzdesi %5 ten %18 e kadar değişebilir.

2.4.3. Kükürt dioksitin Gaz Halinin Özellikleri

Kükürt dioksit gazının basıncı 10-250 C arasında 1-312 atm kadar değişir. Kükürt dioksit için kritik sabitler ise kritik sıcaklık $T_c:157.5$ C, kritik basınç $P_c: 77.808$, kritik yoğunluk $d_c: 0.525$ g/ml dir. Buharlaşma gizli ısısı ΔH_v 50 °C, $\Delta H_v=74.81$ 100 °C $\Delta H_v= 61.57$ (cal/g) dir.

2.4.4. Kükürt dioksitin Sıvı Halinin Özellikleri

Kükürt dioksit kolayca sıvılaştırılabilir. Normal atmosferik şartlarda gaz -10.1 °C de sıvılaşır. Sıvı kükürt dioksit

-72.7 °C de daha büyük yoğunlukta donar. Sıvı kükürt dioksitin buharlaştırılması yaklaşık -50 °C lik ısı düşüşüne sebep olur. Bu özellik kükürt dioksitin soğutucu olarak kullanılmasını sağlar. Sıvı kükürt dioksit inorganik ve organik bileşikler için çok önemli bir çözücüdür.

2.4.5. Kükürt Dioksitin Susuz Ortamdaki Çözünürlüğü

Buzlu asetik asit kükürt dioksiti sudan daha fazla çözer. 15 C de 1 hacim buzlu asetik asit içerisinde 318 hacim kükürt dioksit çözünür. Aynı sıcaklıkta 1 hacim suda 45 hacim kükürt dioksit çözünmektedir.

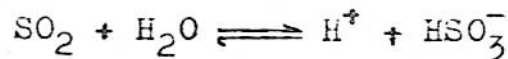
2.4.6. Kükürt Dioksitin Sulu Çözeltisi

Çizelge 2.7 de kükürt dioksitin su içindeki çözünürlüğü verilmiştir.

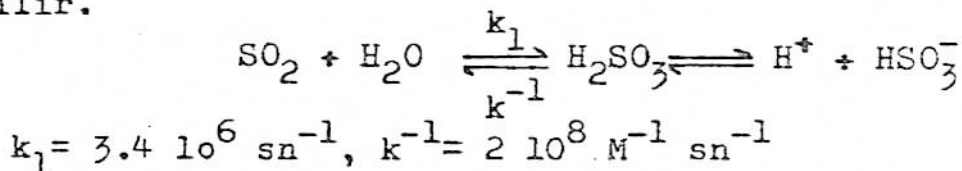
Çizelge 2-6. 1 atm de Çeşitli Sıcaklıklarda Kükürt Dioksitin Sudaki Çözünürlüğü

Sıcaklık (°C)	gSO ₂ /100 g H ₂ O
0	22.8
5	19.3
10	16.2
15	13.5
20	11.3
25	9.4
30	7.8
35	6.5
40	5.4

SO₂ nin suda çözünürlüğü şu şekildedir.



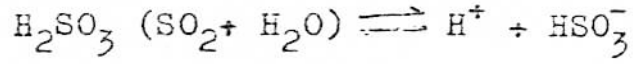
SO₂ nin suda çözünme mekanizması aşağıdaki şekilde verilebilir.



İyonlaşma sabiti

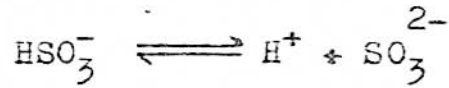
SO₂ nin sudaki çözeltisi (H₂O + SO₂) sülfüröz asit gibi düşünülebilir.

Sülfüröz asitin 25 C de birinci iyonlaşması



$$k_1 = \frac{a_{\text{H}^+} a_{\text{HSO}_3^-}}{a_{\text{SO}_2}} = 1.72 \cdot 10^{-2}$$

ikinci iyonlaşma



$$k_2 = \frac{a_{\text{H}^+} a_{\text{SO}_3^{2-}}}{a_{\text{HSO}_3^-}} = 6.24 \cdot 10^{-8}$$

2.5. Kurutma ve Kükürtleme ili İlgili Kimyasal İçerikteki Değişmeler

Bitki dokuları bitki gövdesinden ayrıldığında bile solunum yapmaya devam eder. Hayvan dokuları ise solunum yapamaz fakat enzimatik değişmeler meydana gelir. Normal depolama sırasında sebze ve meyvalarda aroma maddelerinin oluşumuyla ürünün tat ve kokusu değişir. Bu işlem hücrelerin ölmesine kadar devam eder. Aynı zamanda ürünün besin değeri düşer. Bu olayların sebebi su, hava, ısı, ışık, enzimatik bozunma ve inorganik katalizörler (iz elementler v.b.) daha önemlisi mikroplar veya bakterilerin etkisidir. Kısaca ifade edilirse fiziksel, kimyasal, biyokimyasal, ve mikrobiyolojik değişmeler birbirleriyle ilgilidir.

Besinlerin saklanması genellelikle başarılması gereken işlemler şunlardır;

1) Mikrobiyolojik etkinliğin durdurulması gerekir. Besinlerin saklanması sırasında mantar ve bakterilerin gelişmesi temel problemdir. Bakteri ve mantarlar meyve ve sebzelerde, tane çekirdek ve tohumlarda ağır kayıplara neden olur.

2) Bitkisel ürünlerde solunum geciktirilmelidir.

3) Bitkisel dokularda kimyasal olay devam ettiğinden bunun kontrolü gerekir. Yüksek sıcaklıklar genellikle bu olayları hızlandırır.

4) Nem değişiklikleride zararlı olabilir.

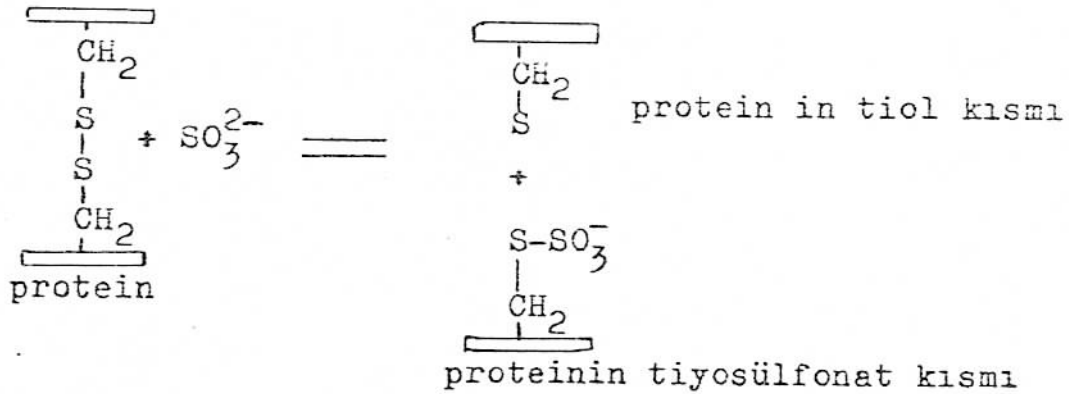
Besinlerde meydana gelen enzimatik ve kimyasal reaksiyonların yürüyebilmesi için neme ihtiyaç vardır. Mikroorganizmalar gelişmeleri için çözülmüş nütrientlere gereksinim duyarlar. Bu nedenle sözü edilen etkinliklerin önüne geçmek için besinlerin kurutulmaları gereklidir. Besinler kurutulduklarında mikroorganizmalar inaktif duruma (sporlar) geçerler. Gerekli nem sağlandığında tekrar gelişirler. Kurutulmuş besinlerde enzimatik reaksiyonlar meydana gelebilir. Enzimler havadan nem absorbe edebilir ve besinlerin uzun süre saklanmalarına engel olur.

Besinlerin kurutulması sırasında meydana gelen

kimyasal değişmeler önemli rol oynamaktadırlar. Besinde bulunan çözülmüş tuzlar (iyonlar) karbonhidratlar, proteinler, asitler, v.b. gibi kimyasal türler; enzimatik değişmeler, hidroliz, protein bozunması, kararına gibi yeni kimyasal düzenlemelere uğramaktadır. Enzimatik olmayan kararına reaksiyonu besin maddelerinin değerlerinin kaybolmasına sebep olur. İşte besinlerin ısıtılması ve uzun süre depolanması sırasında meydana gelen kahverengileşmenin nedeni Maillard reaksiyonu olarak bilinir. Şekerlerin aminlerle reaksiyonu besin kimyası ve teknolojisi bakımından çok önemlidir. Fransız kimyacısı Maillard ilk kez 1912 de glukoz ve glisin içeren çözeltinin ısıtılmasıyla melanoidinler denilen kahverengi pigmentlerin oluştuğu gözlenmiştir. Aminler, amino asitler ve proteinlerin şeker, aldehit ve ketonlarla verdiği reaksiyona Maillard reaksiyonu denilmektedir. Maillard reaksiyonu pH a bağlı fakat O₂ den bağımsızdır.

2.5.1. Kükürt dioksitin Proteinlere Etkisi

Sülfüröz asit tuzları proteindeki sistin (cysteine) in disülfid bağlarıyla etkileşerek tersinir bir reaksiyonla orjinal proteini kısımlara ayırır.



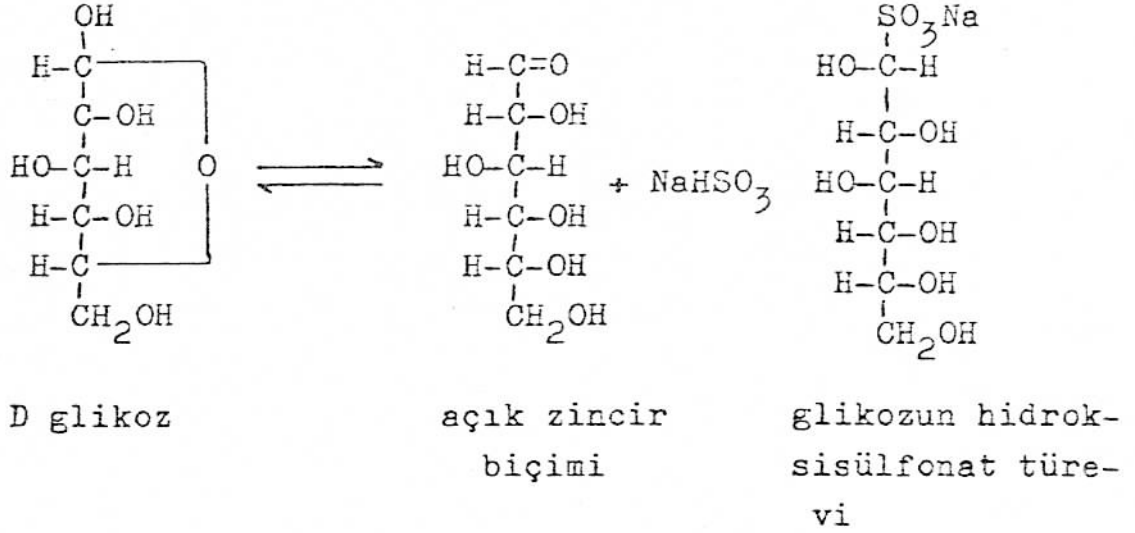
2.5.2. Kükürt Dioksitin Tiyamine Etkisi

Vitamin B₁ veya tiyamin sülfid iyonuyla vitamin aktif olmayan ürünler verir.

Tiyamin içeren besin ve gıda maddelerini koruma amacıyla kükürt dioksit veya sülfüröz asit tuzları kullanımı bu vitaminin bozulmasına sebep olur.

2.5.3 Şekerlere ve Karbonil Bileşiklerine Etkisi

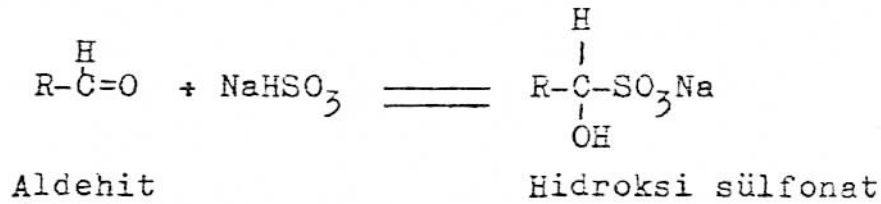
Sülfüröz asit tuzları şekerlerin aldehidik açık zincir şekilleri ile şeker kimyasal bağlı sülfidit ürünleri vererek reaksiyona girer.



Gıdaların içerdiği glikoz veya diğer şekerlere bağlanan sülfidin koruyucu özelliği kaybolmaktadır. Bu nedenle gıdanın serbest kükürt dioksit veya sülfidit miktarı ile toplam kükürt dioksit miktarı çok önemlidir.

Kükürt dioksitin çeşitli şekerler ile bağlanması için denge sabiti sistemin hidrojen iyonu konsantrasyonuna bağlıdır. Örneğin sülfüröz asit ile glikoz arasındaki reaksiyonun denge sabiti pH 3.0 ile 5.5 arasında en düşüktür. Asitliğin ve bazlığın artmasıyla denge sabiti büyür. Kükürt dioksitin şekerlere bağlanma dereceleri şu şekildedir; arabinoz glikoz maloz laktoz früktoz sakaroz.

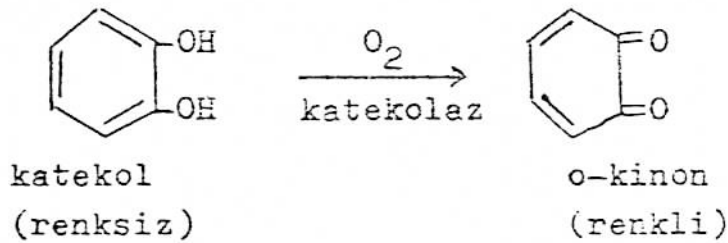
Kükürt dioksitin aldehitlere bağlanması hidroksi-sülfonat oluşturur.



Gıdalardaki bağılı kükürt dioksitin toplam miktarı eklenen sülfite miktarına , sistemin pH'ına, bisülfitle reaksiyona giren bileşenlerin (şekerler, aldehytler, v.b.) konsantrasyonuna ve bu bileşenlere bağlanma kuvvetlerine bağılıdır.

2.5.4. Kükürt Dioksitin Enzimatik Kararmaya Etkisi

Enzimatik kararmaya kesilmiş bir elmanın hızlı bir şekilde kararması iyi bir örnektir. Aynı olay patates ve muzda da görülebilir. Bu oksidatif reaksiyona sebep olan enzimlere fenolaz adı verilir. Bunlar renksiz fenolik bileşiklerin oldukça renkli kinonlara dönüşmelerini kolaylaştırır.



fenolaz grubu enzimlere katekolaz la birlikte tirozinaz ve askorbinaz enzimleri de dahildir. Fenolazlar genellikle meyve ve sebzelerde bulunmaktadır. Kükürt dioksit fenolazları inaktive ederek enzimatik kararmayı önler.

2.6. Vitamin Analizleri

Vitaminlerin analizi başlıca şu üç şekilde yapılmaktadır.

1. Kimyasal,
2. Fizikokimyasal,
3. Biyolojik metodlar.

Vitamin analizinde kullanılan kimyasal yöntemler, vitamin molekülünün bazı reaktiflerle verdiği reaksiyona dayanır. Bu reaksiyonlardan özellikle renk verenleri uygulanmaktadır. Böyle reaksiyonlar çok sayıda vitaminler için bulunmuş ise de aynı veya benzer reaksiyonların vitamin olmayan veya farklı birçok bileşikler tarafından da vermesi metodların doğruluğunu önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Bununla birlikte bugün adsorbsiyon kromatografisinin kullanılması halinde vitaminlerin aynı reaksiyonu veren diğer maddelerden ayrılması mümkün olabilmektedir. Kromatografik esaslara dayanan tayin metodları daha ileriki bölümlerde etraflıca anlatılacaktır.

Kimyasal metodlara örnek olarak C vitaminin diklor fenol-indofenol çözeltisi ile titrasyonu gösterilebilir.

Fiziko kimyasal yöntemde spektrofotometrik yöntem kullanılabilmekte olup burada mor ötesi veya görünen ışığın vitaminler tarafından adsorbsiyonu ölçümü yapılır. Bu olay vitaminde spesifik adsorbsiyon gösteren grupların bulunmasından ileri gelir. Bu nedenle bu yöntem tek bir vitamin türü için spesifik değildir. Aynı karakteristik grubu bulunan başka kimyasal bileşiklerde aynı soğurma özelliği gösterirler. Analizden önce mümkün olduğunca bu bileşiklerin uzaklaştırılması gereklidir.

Florimetrik, kalorimetrik, polarografik, kromatografik türbidimetrik metodlar fizikokimyasal metodlardır.

Biyolojik yöntemler çok zaman kaybına ve pahalıya mal olur. Bu metodda bir grup deney hayvanı yalnız belirlenecek vitamin bulunmayan fakat diğer vitaminler ve besin maddeleri bulunan gıdalarla beslenirler. Vitamin eksikliğinden ileri gelen hastalık vitamin tayini yapılacak madde ile tedavi edilir. Sonuçlar istatistik olarak hesaplanır. Şimdi bu şekilde belirleme yapılmamakta yerine mikro

biyolojik yöntem kullanılmaktadır. Mikrobiyolojik analiz bakteri, maya, ve küf mantarları gibi mikroorganizmaların üremeleri için spesifik vitaminlere gereksinme göstermeleri ve bu sırada mikroorganizmaların besi yerinde meydana getirdikleri asit ve bulanıklılığın ölçülmesine dayanır. Bu yöntemde biyolojik yöntemle göre çok daha az vitamine ihtiyaç vardır. Ucuzdur ve kısa zamanda yapılabilir.

Bu metotta özellikle süt asiti meydana getiren bakteriler kullanılır ve asit titrasyonla belirlenir. Bu şekilde analiz pantotenik asit, nikotinik asit ve biyotin için çok doğru sonuç vermektedir.

2.7. SIVI KROMATOĞRAFININ TEMEL İLKELERİ

2.7.1. Kromatografi

Kolon kromatografi Rus botanikçisi Mikhail Tswett tarafından bulunmuş ve adlandırılmıştır. Tswett klorofil ve ksantofil gibi çeşitli bitki pigmentlerini ince kalsiyum karbonat doldurulmuş cam kolondan çözücü yardımıyla geçirerek ayırmaya çalıştı. Ayrılmış türler kolonda renkli bandlar halinde gözüküyordu. Bu nedenle greek dilinde renk anlamına gelen chroma ve yazma anlamına gelen graphein kelimelerini bu metoda ad olarak seçti

Kromatografinin uygulaması son kırk yılda hızlı bir şekilde arttı. Bu arada yalnızca yeni kromatografik tekniklerin geliştirilmesi dışında kompleks karışımların karakterize edilmesi çalışmaları yapıldı. En büyük patlamayı 1952 de A. J. P. Martin ve R. L. M. Synge'ye bu alandaki buluşları için Nobel ödülü verilmesiyle yaptı. Şüphesiz 1937-1972 yılları arasında alınan 20 Nobel ödülünde kromatografinin rol oynaması oldukça etkileyicidir.

Kromatografinin Genel Tanımı

Kromatografi; kompleks karışımların ayrılması, izole edilmesi ve ayrılmış bileşiklerin tanımlanmasını içine alır.

Kromatografi terimi sistem ve tekniği anlatmaya yeterli değildir. Kromatografi çeşitli sistem ve uygulamaları içerir. Bununla birlikte bütün kromatografi teknikleri, bir hareketli faz (mobile phase) ve bir sabit faz (stationary phase) içerir. Bileşenler hareketli fazın akışıyla sabit faz boyunca taşınır. Ayırma örnek bileşenlerinin göçme hızlarının farklılığına dayanır.

Kromatografik Metodların Sınıflandırılması

Kromatografik metodlar iki yönden sınıflandırılabilir. Birincisi sabit ve hareketli fazın fiziksel durumuna bağlıdır. Kolon kromatografide hareketli faz bir tüp içerisinde bulunan sabit faz içerisinden basınç veya yerçekimi etkisiyle geçer. Düzlemsel kromatografide ise hareketli faz bir plakanın veya bir kağıdın boşlukları arasından kapiler etki ile geçer. Diğer bir sınıflama ise analiz edilen madde-

nin fazlar arasındaki transfer tipine göre sınıflandırılabilir. Tablo 2.7. de kromatografinin iki genel kategorisi liste halinde verilmiştir. Tabloda birinci kategoride hareketli faz sıvı ikincisinde ise gazdır. İkinci kolonda iki genel sınıfın çeşitli özel kromatografik metodları yer almaktadır.

Tablo 2-7 . Kolon Kromatografik Metodların Sınıflandırılması

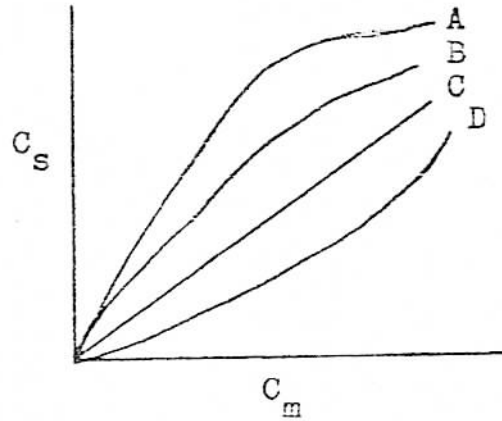
Genel Sınıflama	Özgül metod	Sabit faz	Denge tipi	
Sıvı Kromatografi (LC)	sıvı-sıvı (LLC)	sıvı (katı partiküller) üzerinde	Karışmayan sıvılar arasında dağılma	
	hareketli faz sıvı	sıvı-katı (LSC)	katı Adsorbsiyon	
		sıvı-bağlı faz (LBC)	katı yüzeyine bağlı organik türler	Dağılma/ Adsorbsiyon
		iyon değişirici (IEC)	iyon değişirici reçine	iyon değişirici
		Jel-oluşum (GPC)	gözenekli polimerik madde	eleme/dağılma
Gaz Kromatografi (GC)	gaz-sıvı (GLC)	sıvı (katı üzerine bağlı)	gaz ve sıvı arasında dağılma	
	hareketli faz gaz	gaz-katı (GSC)	katı Adsorbsiyon	
		gaz-bağlı faz (GBC)	katı yüzeye bağlı organik türler	dağılma/ adsorbsiyon

2.7.2. Lineer Kromatografi

Bütün kromatografik ayırmalar bileşenin hareketli ve sabit faz arasındaki dağılıma farklılığına bağlıdır. Dağılım katsayısı K, şu şekilde verilir.

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

Burada C_s çözünen maddenin sabit fazdaki konsantrasyonu, C_m ise çözünen maddenin hareketli fazdaki konsantrasyonudur. İdeal durumda dağılım oranı çözünen maddenin her türlü konsantrasyon aralığında sabittir. Bu durumda C_s doğrudan C_m ye bağlıdır. Bununla birlikte doğrusal olmayan durumlar da vardır. Bazı tipik dağılım eğrileri Şekil 2.1. de görülmektedir.



Şekil 2-1. Tipik dağılım eğrileri.

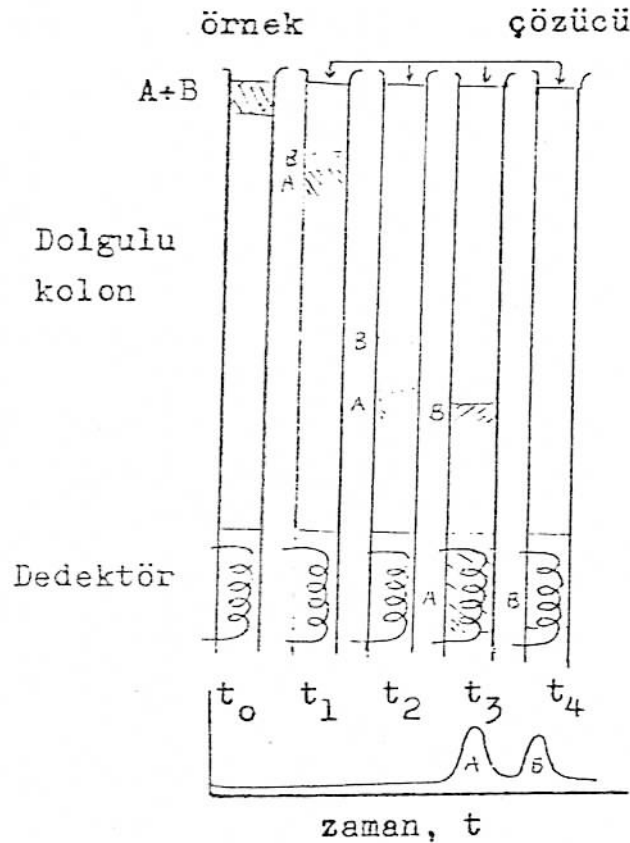
İdeal durum şekilde görülen C eğrisidir. B ve D eğrileri dissosiasyon ve assosiasyon olaylarıyla açıklanabilir. A eğrisi tipik adsorpsiyon izoterimidir. Görüldüğü gibi yüksek konsantrasyonlarda dağılım oranı konsantrasyondan bağımsızdır. Bu tip eğriler belli konsantrasyon aralığında doğrusaldır.

2.7.3. Kolon Kromatografi

Şekil 2-2. A ve B bileşenini içeren bir karışımın kolon kromatografisi ile nasıl ayrıldığını göstermektedir. Bu metod elüsyon (Elution) kromatografisi olarak adlandırılır.

Elüsyon (yıkama) bileşenlerin kolon boyunca yıkanmasıdır.

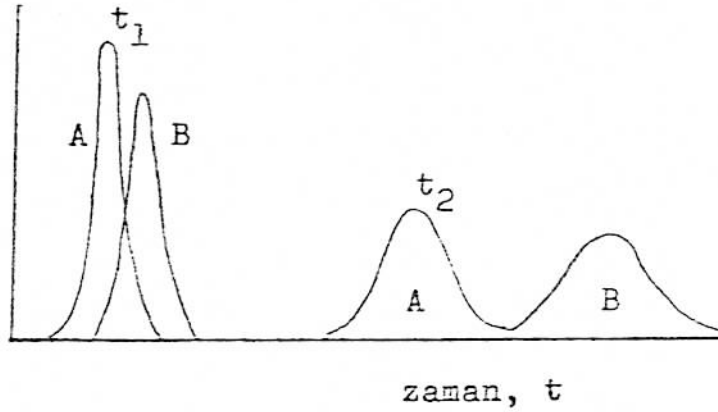
Örnek bir kısım hareketli faz içerisinde çözülür ve kolonun üst kısmına konur. Bileşenler iki faz arasında dağılma oranlarına göre dağılıma uğrarlar. Hareketli fazın kolona üstten verilmeye başlanmasıyla bileşenler aşağı doğru sürüklenmeye zorlanır. A ve B maddelerinin fazlar arasındaki dağılma farklılığından dolayı türler birbirinden ayrılarak kolonun alt tarafına doğru ilerlerler. Ayrılmış türler dedektörler vasıtasıyla tayin edilir. Dedektör sinyali zamana göre grafiğe geçirildiğinde kromatogram elde edilir. Pik altındaki alanlar her bir bileşenin miktarıyla doğru orantılıdır.



Şekil 2-2. Kolon kromatografisi ile A ve B karışımlarının ayrılmasının şematik olarak gösterilmesi.

2.7.4. Elüsyon Kromatografinin Teorisi

Şekil 2-2. de verilen şematik kromatografik ayırmada A nin dağılma katsayısından B nin dağılma katsayısı daha büyüktür. Yani B bileşeni sabit fazda daha çok dağılmaktadır. Dağılma oranları arasındaki farklılık ne kadar büyük olursa ayrılmış iki bandın arasındaki uzaklık o kadar fazla olur. Dağılma oranları arasındaki fark küçük ise iyi bir ayırma elde etmek için daha uzun bir kolona ihtiyaç vardır. Şekil 2-3. te görüldüğü gibi iyi bir ayırma kolon uzunluğu ile ilgilidir. Buda ayırma zamanının uzun süreli olmasına neden olur.



Şekil 2-3. Farklı uzunluktaki kolonlarda A ve B maddelerinin konsantrasyon profilleri.

Kromatogramda bir bileşiğe ait pikin kalınlığı kolonda band genişlemesinin bir fonksiyonudur. Bant genişlemesi pikin çıkış zamanına da bağlıdır. Kolon verimliliği ayrımsal damıtma sistemine benzer şekilde teorik plaka sayısı ile ölçülür. Teorik plaka sayısı N , kolon uzunluğuna L , bağlı olduğundan kolonların verimliliklerinin karşılaştırılmasında kullanılmaz. Böyle bir karşılaştırmada kullanılacak ölçü kolon uzunluğundan bağımsız olması gerekir. Böyle bir ölçü teorik eşdeğer plaka sayısıdır.

$$\text{Kolon uzunluğu } L = N \cdot H \text{ ise} \quad (2-1)$$

teorik plaka sayısı,

$$N = L / H \text{ dir.} \quad (2-2)$$

Teorik plaka eşdeğer sayısı ne kadar küçükse ayırım o kadar iyi olur. N ve H terimleri kolondaki ayırma olayını açıklamak için gaz kromatografi geliştirilirken ortaya atılmışlardır. Daha sonraları gerçekte kolonda hiç bir zaman bir dengenin kurulmadığı dolayısıyla teorik plaka olmayacağı ispatlanmıştır. Bununla beraber ayırmanın olduğu kolondaki karmaşık olayı anlatmak için plaka yüksekliği ve teorik plaka kavramları birer yoldur.

2.7.5. Kolon Verimliliği ve Hız Teorisi

Hız teorisi elde edilmiş pikin yayılmasına etki eden değişkenlerin belirlenmesi, pik şekillerinin değerlendirilmesi için geliştirilmiştir.

Kolon Verimliliği Ölçümü

Tipik kromatogramda (Şekil 2-2.) veya kolondaki bandlar (Şekil 2-3.) normal hata veya gaus eğrisine benzenektedir. Ölçüm değerleri frekansa karşı çizilmiş gibidir. Gaus eğrisi varyans (σ^2) veya standart sapma (σ) ile orantılıdır.

Kolonun etkinliğini kolonun birim uzunluğundaki varyans ile tanımlamak mümkündür.

$$H = \sigma^2 / L \quad (2-3)$$

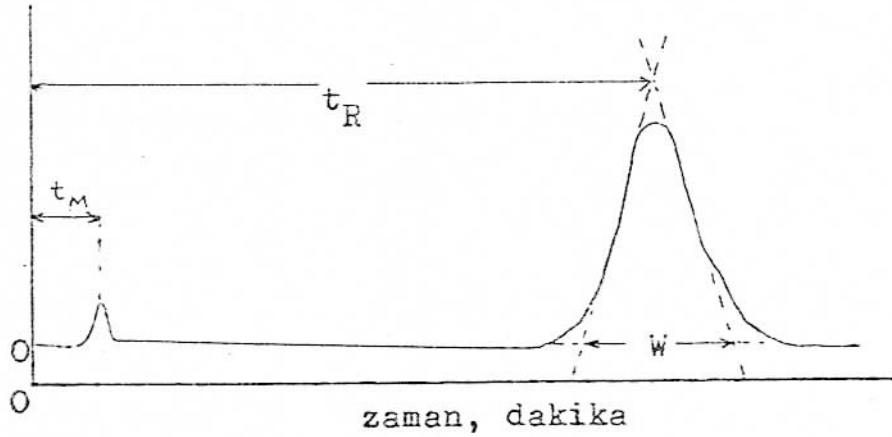
Burada H santimetre olarak plaka yüksekliğidir. L santimetre olarak kolon uzunluğudur. (2-2) denklemiyle (2-3) denklemi ile birleştirilirse

$$N = L^2 / \sigma^2 \quad (2-4)$$

elde edilir. Burada N, kolon uzunluğundaki plaka sayısıdır. Kolon verimliliği plaka sayısı ile artar veya plaka yüksekliğinin artmasıyla azalır.

N ve H nin Deneysel Değerlendirilmesi

Şekil 2-5. zaman absis olmak üzere tipik bir kromatogramı göstermektedir. Burada t_R tutulma zamanı (alikonma zamanı), örnek kolona verildikten sonra kolonun sonundan çıkması için geçen süredir.



Şekil 2-5. Standart sapmanın kromatografik pikten tayini. Burada, $W = 4\tau$ dir.

İki standart sapma τ ve σ şu şekilde bağlantılıdır.

$$\tau = \frac{\sigma}{L/t_R} \quad (2-5)$$

Burada L/t_R saniyede santimetre olarak bir maddenin hız ortalamasıdır. Gauss eğrisine benzer pikin iki yanının uzantıları absis ile kesiştirildiğinde oluşan üçgenin alanı pik altındaki alanın yaklaşık %96 sına karşılık gelir. Bu üçgenin taban uzunluğu pik maksimumundan indirilen dikmenin tabanı kestiği noktadan itibaren \pm kadardır.

$$W = 4\tau$$

Burada W üçgenin taban genişliğidir. Bu bağıntı (2-5) denklemine uygulanırsa,

$$= \frac{L W}{4 t_R}$$

(2-3) denklemiyle birleştirilirse

$$H = \frac{L W^2}{16 t_R^2}$$

$$\text{ve } N = 16 \left(\frac{t_R^2}{W} \right) \quad (2-6)$$

N in hesaplanmasında diğeri bir metod ise pik maksimumundan tabana indirilen dikmenin yarı yüksekliğindeki pik genişliğinin ölçülmesine dayanır. Bu durumda Teorik Plaka sayısı

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2 \quad (2-7)$$

elde edilir. N ve H parametreleri kolon üreticileri tarafından ve literatürlerde kolon verimliliğinin ölçüsü olarak verilmektedir.

2.7.6 Band Genişlemesi

Band genişlemesi, maddenin kolondan geçerken birkaç kütle iletim işlemi sebebiyle hızındaki değişmelerin ortaya çıkması sonucu olur. Hareketli fazın doğrusal hızı ve sıcaklığı, vizkozitesi, kolon dolgu maddesinin tanecik boyutu ayırma etkinliğine etki eden parametrelerdir. Çoğu kromatografik kolonların etkinliği şu tanım yardımıyla bir yaklaştırma yapılabilir.

$$H = B/u + C_s \cdot u + C_m \cdot u \quad (2-8)$$

Burada H santimetredeki plaka yüksekliği, u saniyede santimetre olarak hareketli fazın doğrusal hızıdır. B, C_s, ve C_m madde ve kolona bağlı olarak değişen kütle transfer katsayılarıdır. Bir kromatografik kolonda meydana gelen kütle iletim işlemleri şunlardır.

Uzunlamasına Difüzyon: Bir molekülün bir bandın derişik merkezinden daha seyreltik bir yöne doğru hareketi sonucu olur. Akış yönünde veya akış yönünün tersine de gerçekleşebilir. Bu tür difüzyon hareketli ve sabit fazın her ikisinde de gerçekleşebilir. B katsayısı gaz kromatografi hariç çoğu pratik kullanımlar için sıfır alınır.

Sabit Fazdan Hareketli Faza ve Hareketli Fazdan Sabit Faza Kütle Transferi: Analiz edilen bileşenin hareketli fazdan sabit faza sabit fazdan hareketli faza transfer hızı kromatografik kolonun verimliliğini etkilemektedir.

Hareketli Fazdaki Kütle Transferi: Hareketli fazdaki kütle transferi oldukça karışık bir olaydır. Hareketli faz-

da kütle transferi dolgu maddesinin tanecik çapının karesi ile ve çözücü hızıyla orantılıdır. Çözücü ve ayrılacak bileşik molekülleri, dolgulu bir kolondan geçerken çeşitli yollar izlerler. Bu yolların uzunlukları birbirinden değişik olduğundan moleküller kolonun sonuna değişik zamanda varırlar. Bu da kromatogramda bileşiğe ait pikin genişlemesine neden olur. Bu genişleme kolon dolgu maddesinin tanecik büyüklüğüne, şekline, nasıl doldurulduğuna, ve kolonun iç çapına bağlıdır. Dolgu maddesi poröz ise bu oyuklarda durağan hacimler meydana gelecektir. Bunun sonucunda pik genişlemesi olur.

2.7.7. Termodinamik Değişkenlerin Pik Genişlemesine Etkisi

Bundan önceki kısımda kinetik değişkenlerin band genişlemesine etkisini görmüştük. Burada denge veya termodinamik değişkenlerin etkisi anlatılacaktır.

Tutulma Zamanı

Bir madde için ortalama doğrusal göçme hızı \bar{v} ,

$$\bar{v} = L/t_R \quad (2-9)$$

ile verilir. Benzer şekilde hareketli faz moleküllerinin doğrusal hızı u ,

$$u = \frac{L}{t_m} \quad \text{dir.} \quad (2-10)$$

Dağılma Katsayısı ile Tutulma Zamanı Arasındaki Bağlantı

Bir madde hareketli fazda olduğu sürece göç eder. Bu nedenle göç hızı hareketli fazın hızının kesri gibi tanımlanabilir. Böylece göç hızı \bar{v} ,

$$\bar{v} = u \frac{\text{maddenin hareketli fazdaki mol sayısı}}{\text{maddenin toplam molü}}$$

veya

$$\bar{v} = u \frac{C_m V_m}{C_m V_m + C_s V_s} = u \left(\frac{1}{1 + C_s V_s / C_m V_m} \right) \quad (2-11)$$

yazılabilir. Burada C_m ve C_s sırasıyla maddenin hareketli faz ve sabit fazdaki konsantrasyonu, benzer şekilde V_m , ve

V_s kolondaki her iki fazın hacmidir.

$$K = C_s / C_m$$

$$\text{buradan } \bar{v} = u \left(\frac{1}{1 + KV_s / V_m} \right) \quad (2-11)$$

elde edilir.

Kapasite Faktörü

Kapasite faktörü k' , maddenin göç hızıyla ilgili önemli bir parametredir ve

$$k' = \frac{K V_s}{V_m} \quad (2-12)$$

şeklinde tanımlanır. Bu denklem (2-11) denklemiyle birleştirilirse

$$\bar{v} = u \left(\frac{1}{1 + k'} \right) \quad (2-13)$$

(2-9) ve (2-10) denklemini (2-13) denklemine uygularsak,

$$\frac{L}{t_R} = \frac{L}{t_m} \left(\frac{1}{1 + k'} \right) \quad (2-14)$$

$$\text{ve } k' = \frac{t_R - t_m}{t_m} = \frac{t'_R}{t_m} \quad (2-15)$$

denklemini elde edilir.

Seçicilik Faktörü

Seçicilik faktörü ,

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} \quad (2-16)$$

şeklinde tanımlanır. Burada K_B daha çok tutulan B ye ait dağılıma katsayısıdır. K_A ise daha az tutulan A ya ait dağılıma katsayısıdır. Seçicilik ile kapasite arasındaki bağıntı,

$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} \quad (2-17)$$

şeklindedir. Buradaki k' yerine (2-15) denklemindeki değer yazılırsa

$$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_m}{((t_R)_A - t_m)} \quad (2-18)$$

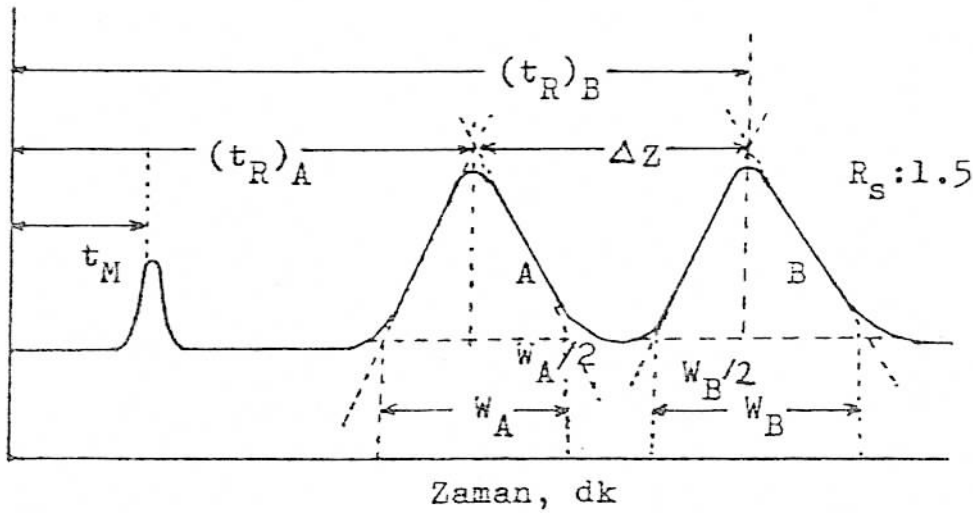
Kolon Rezolüsyonu

Şekil 2-6. de A ve B türlerinin kromatogramı görülmektedir. Rezolüsyon,

$$R_s = \frac{\Delta Z}{W_A/2 + W_B/2} = \frac{2 \Delta Z}{W_A + W_B}$$

$$R_s = \frac{2((t_R)_B - (t_R)_A)}{W_A + W_B} \quad (2-19)$$

Buradaki terimler şekil üzerinde tanımlanmıştır.



Şekil 2-6. Rezolüsyon, $R_s = 2 Z / (W_A + W_B)$.

$W_A \cong W_B \cong W$ alırsak denklem (2-19),

$$R_s = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{W}$$

şeklini alır.

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \text{ olduğundan}$$

$$R_S = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{(t_R)_B} \cdot \frac{\sqrt{N}}{4}$$

Bu denklem (2-15) denklemiyle birleştirilirse R_S ,

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'_B}{1+k'_B} \right) \quad (2-20)$$

Buradan N yi çekersek,

$$N = 16 R_S^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1+k'_B}{k'_B} \right)^2 \quad (2-21)$$

$k_A \approx k_B$ alınır ve aynı şekilde $k'_A \approx k'_B \approx k'$ kabulü yapılırsa,

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} (\alpha - 1) \left(\frac{k'}{1+k'} \right) \quad (2-22)$$

$$N = 16 R_S^2 \left(\frac{1}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1+k'}{k'} \right)^2 \quad (2-23)$$

burada k' , k'_A , k'_B nin ortalamasıdır.

Elüsyon Zamanı ve Rezölüsyon Arasındaki Bağlantı

Denklem (2-9) denklem (2-13) e uygulanırsa

$$(t_R)_B = N \cdot H \left(\frac{1+k'_B}{u} \right)$$

Bu denklem denklem (2-21) e uygulanırsa

$$(t_R)_B = \frac{16 R_S^2 H}{W} \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \frac{(1+k'_B)^3}{(k'_B)^2} \quad (2-24)$$

elde edilir.

2.7.8 Genel Elüsyon Problemi

Şekil 2-7. de kapasite faktörleri ve dağılma katsayıları farklı 6 bileşenden oluşan bir karışımın kromatogramı görülmektedir. a kromatogramında şartlar 1 ve 2 nolu bileşenleri için iyi bir ayırma elde edilecek şekilde ayarlanmıştır. 1 ve 2 nolu bileşenler için kapasite faktörleri optimum aralıktadır. 5 ve 6 nolu bileşenleri piklerin yayılmasından ötürü tanımlamak oldukça güçtür. b kromatogramında ise 5 ve 6 nolu bileşenin iyi bir şekilde ayrılması için şartlar ayarlanmış fakat genel ayırım oldukça elverişsizdir. Bununla birlikte elüsyon zamanı idealdir. c kromatogramında ise 1 ve 2 nolu bileşenin ayrılması elverişli değildir. Şekillerle gösterilen bu problem genel elüsyon problemi olarak isimlendirilir. Elüsyon problemlerini ortadan kaldırmak için, sıvı kromatografide elüsyon sırasında sıvı fazın bileşimi değiştirilerek çeşitli k' değerleri elde edilir (gradient elution). Bu şekilde bileşenlerin birbirinden ayrılması sağlanmış olur. Gaz kromatografide ise iyi bir ayırım elde etmek için kolon sıcaklığı programlı olarak artırılır (temperatüre programing).

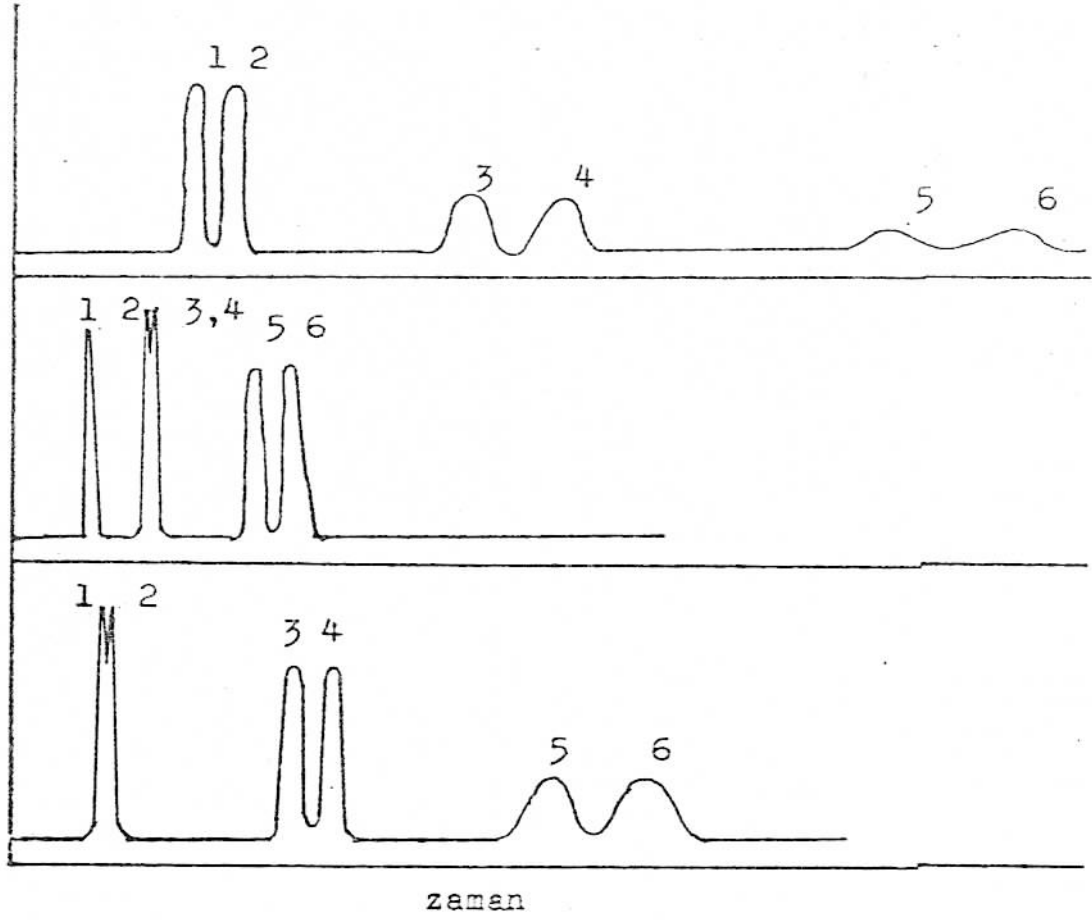
2.7.9. Kromatografi ile Kalitatif ve Kantitatif Analiz

Kalitatif Analiz

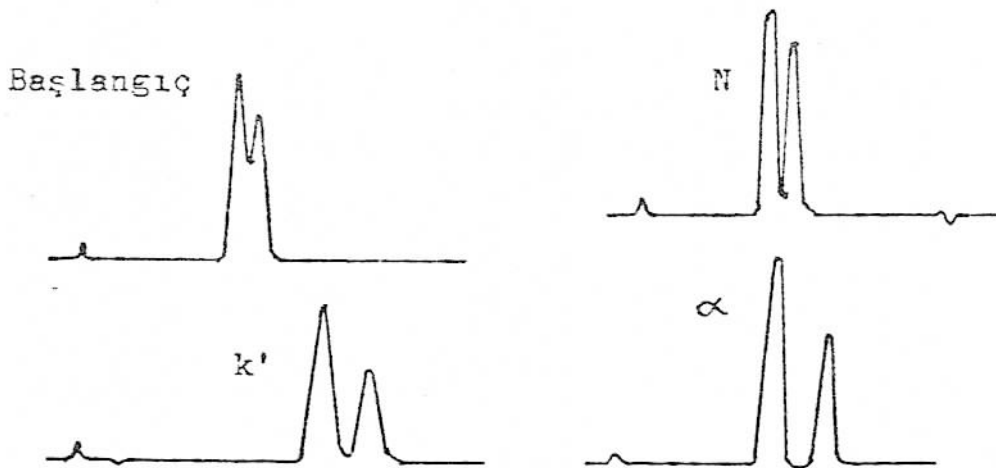
Kromatografik tekniklerde kalitatif analiz aşağıdaki yöntemlerle yapılabilir.

1. Alikonma hacim ve zamanlarının karşılaştırılması
2. Karbon sayısı ile $\log V_R$ arasındaki bağıntıdan yararlanmak.
3. Kovat alikonma indisi
4. Birden fazla kolonda elde edilen alikonma verilerinin karşılaştırılması.
5. Seçici dedektörlerin kullanılması.

Kromatografik tekniklerde kalitatif analiz klasik anlamda alikonma hacim veya zamanlarının karşılaştırılmasıyla yapılmaktadır. Bununla birlikte kromatografik koşulların analizden analize değişmesi sorun yaratmaktadır. Birden



Şekil 2-7. Genel Elüsyon (Yıkama) Problemi.



Şekil 2-8. α , k' , N değerlerinin artmasıyla ayırmada meydana gelen değişikliğin şematik olarak gösterilişi.

fazla kolonda elde edilen tutulma zamanlarının karşılaştırılması tutulma zamanları eşit olan maddelerin aynı maddeler olma olasılığı fazladır. Bütün bu yöntemler yinede kalitatif analiz için kesin bilgiler vermez. Ancak kromatografik yöntemlerin üstün ayırma yetenekleri spektroskopik yöntemlerin güçlü tanımlama özellikleriyle birleştirilirse güçlü bir kalitatif analiz cihazına sahip olunur. Bu spektroskopik yöntemlerin en önemlileri, infrared (IR), nükleer magnetik rezonans (NMR), ve kütle spektroskopisidir. Bu amaçla kromatografi cihazları (GC ve LC) bu spektroskopik aletlere bağlanmaktadır.

Kantitatif Analiz

Kantitatif kolon kromatografi analiz edilen maddenin pikinin yüksekliğinin veya alanının standartlarla karşılaştırılmasına dayanır. Ayırma sırasında şartlar uygun şekilde kontrol edilebiliyorsa pik alanı veya yüksekliği maddenin konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Kantitatif analizde ayırmanın yeterli olması başarı açısından önemlidir. Dedektörlerin verdiği sinyaller yüksek etkinlikli ayırmalarda tabanı çok dar, komponent sayısı çok değil ise hepsi tek tek ayrılmış iğne şeklindeki pikler halinde kaydedilir. Etkinlik daha düşükse gauss egrileri halinde, simetrik veya çarpık, iç içe geçmiş pikler elde edilir. Özellikle çözgen karışımı değişmelerinde zemin çizgisi eğrilikleri pik tabanlarının çarpılmasına sebep olur. Çözgenin dedektörü etkilemesi ise, pik tabanlarının görülmesini engelleyebilir. Bu tür sorunlar nicel değerlendirmeleri zorlaştırır. Çözüm için metodu iyi oturtmak, ve ayırımı olabildiği kadar düzenlemek, zemin çizgisini iyi saptamak gibi önlemler alınabilir. Çeşitli kantitatif analiz metodları vardır. Bunlar;

Pik Yüksekliğine Dayalı Kantitatif Analiz

Ölçüm enbasit olarak, özellikle iğne şeklindeki piklerde, cetvelle pik yüksekliğinin ölçümü ile yapılır. Yayılmanın olmadığı yüksek etkinlikli ayırmalarda bu yöntem uygulanabilir. Dikkat edilmesi gereken ise, kolon sıcaklığının kontrolü, eluent akış hızının sabit tutulması, örneğin ko-

lona verilme hızı gibi değişkenlerin kontrol altında tutulmasıdır. Ayrıca kolona aşırı örnek vermekten kaçınılmalıdır. Bu değerlendirme metodunda bağıl hata %5-10 arasındadır.

Pik Alanına Dayalı Kantitatif Analiz

Pik alanları piklerin yayılması etkisinden bağımsızdır. Bundan dolayı pik alanı ölçümü pik yüksekliği ölçümünden daha iyi sonuç verir. Bununla birlikte pik yüksekliği ölçümü daha kolay ve hızlıdır.

Çoğu modern kromatografik cihazlar pik alanı ölçümü için dijital elektronik integratörler içermektedir. En basit pik alanı hesaplaması pikin yarı yüksekliğindeki pik genişliği ile pikin yüksekliğinin çarpımıyla yapılır. Diğer metodlar ise; planimetri ile, piklerin düzgün bir şekilde tek tek kesilip analitik terazide tartılması, top ve disk integrasyonudur. McNair ve Bonelli bu teknikleri karşılaştırmış ve şu bağıl standart sapma değerlerini vermiştir. Elektronik integrasyon, %0.44 ; top ve disk integrasyonu, %1.3 ; kağıt ağırlığı %1.7 ; yükseklikle pik yarı yüksekliğindeki genişliğin çarpılması, %2.6 ; planimetre, %4.1 .

2.7.10 Yüksek Etkinlikli Sıvı Kromatografi (HPLC)

Kolon kromatografinin 4 temel tipi vardır.

- 1- Dağılma (partisyon) kromatografisi
 - bağlı faz (bonded-phase)
 - Sıvı-sıvı
- 2- Adsorbsiyon veya sıvı-katı kromatografisi
- 3- Eleme veya Jel kromatografisi

Tswett in orjinal çalışması dahil ilk sıvı kromatografi uygulamaları, 50-500 cm uzunluğunda ve 1-5 cm çaplı cam kolonlarda yapılmıyordu. Kullanılan dolgu maddesinin tanecik boyutu ise 150-200 μm çapındaydı. Bu nedenle akış hızı oldukça düşüktü ve buna bağlı olarak ayırma birkaç saat veya daha uzundu. 1960 yılından itibaren 10 μm ve daha küçük çaplı partiküller kullanılmaya başlandı. Bundan sonra daha gelişmiş kromatografi cihazlarına gerek duyuldu

Yüksek etkinlik kısaca ve genel olarak belli bir ayırım etkinliği elde etmek için gerekli koşma süresi, veya belli bir sürede elde edilen ayırım ve tayin gücü olarak tanımlanabilir. Yüksek etkinlikli sıvı kromatografi (High Performance Liquid Chromatography) tüm analitik ayırma teknikleri içinde en hızlı gelişmeye ve önem bir yere sahip bir tekniktir.

Yüksek etkinlikli sıvı kromatografi ile termal kararsız ve uçucu olmayan türlerin ayırımı ve tanımlanması mümkündür. Amino asitler, proteinler, nükleik asitler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, ilaçlar, terpenoidler, pestisitler, antibiyotikler, steroidler, organometalik türler ve çeşitli inorganik bileşiklerin ayrılması ve tayini olanaklıdır.

Sıvı kromatografi konusu birkaç yönden ele alınarak, karşılaştırılmalı olarak incelenebilir;

Uygulama-sonuçlandırma açısından:

- Örnek hazırlığı ve uygulama,
- Koşuşturma olayı ve sabit faz-sıvı faz ilişkileri
- Koşuşturma sonrası nitel ve nicel analiz şekilleri

Ayırmayı Sağlayan güçler açısından:

- Sıvı-katı (adsorbsiyon veya tutunma ile filtras-

yon veya moleküler elek, geçirgenlik, büyüklük boşaltım veya çap ayırımı)

-Sıvı-sıvı (dağılım)

-İyon değişimi, ve iyon çiftleme (değişim-dağılım)

-Elektriksel yüklülük.

Kullanılan destek fazına göre de:

-Kağıt kromatografi ve elektroforezi,

-İnce tabaka kromatografi ve elektroforezi

-Kolon kromatografisi ve tübüler elektroforez

-Jel kromatografisi ve elektroforezi

Uygulanan teknik ve amacı açısından ise:

-Preparatif (Hazırlık),

-Analitik (Nitel ve nicel),

-Elüsyon (Yıkama),

-Uzaklaştırma,

-Sürekli

Kromatografi tipleri söz konusudur.

2.7.11 Ayırmayı Sağlayan Güçler ve Etkinlik

Adsorbsiyon (Tutunma) Kromatografisi

Ayırmayı sağlayan olay, bir çözücü içindeki maddelerin koloidal ve çözücüde çözünmeyen katı faz tarafından adsorbe edilerek tutulmasıdır. Adsorbsiyon olayı, koloidal-hacim /yüzey oranı küçük taneciklerin yüzeyinde, gerçek çözelti yapan küçük moleküllerin tersinir bir tepkime ile Van der Waals-zayıf hidrojen bağları ile tutulmasıdır. Adsorsiyon olayının şiddeti, iki madde arasındaki fizikokimyasal çekim kuvvetleri yanında tutucu sabit fazın su tutma derecesine, sıcaklığa, tutulan maddenin derişimine bağlıdır. Bu bağıllık kolonda ayırma yapıldıktan sonra tekrar çözücüye geçebilmesini sağlar (yıkama elüsyon). Adsorbsiyon-çözünme derecesi farklılığı komponent karışımlarının ayrılmasını sağlar.

Kromatografik analizin başarılı olması çözücü ve adsorblayıcının çok dikkatle seçilmesine bağlıdır. Son zamanlara kadar bu seçim yapılan deneme yanılma sonuçlarına dayanıyordu. Bu gün bu seçimi yaparken teoriden yarar-

lanılabılır.

Iyon Değişirme Kromatografisi

Duran fazdaki kolloidal ve çözünmeyen madde moleküllerinde bulunan değişebilir iyonik grupların, çözgüde çözülmüş moleküllerin iyonik grupları ile yer değiştirebilmesine dayanır. Sabit fazdaki katı maddenin yer değiştirebilen iyonik grupların özelliklerine bağlı olarak yer değiştirme olayı meydana gelebileceğinden çeşitli molekül gruplarının sabit faz üzerinde birbirinden ayrılabilmesi için amaca uygun bir sabit faz seçilmelidir. Genellikle bu işlem için sentetik reçineler kullanılır. Bu reçinelerin iyonik karakterleri pH'a göre değişeceğinden belli bir molekül grubu belli bir reçinenin belli pH'daki iyonik özelliklerinden faydalanılarak komponentlerine ayrılır. Bazı bileşenler zor iyon değiştirirken bazıları kolay değiştirir ve kromatografi sırasında ayrılırlar.

Dağılım, (partisyon) kromatografisi

Organik çözgenlerde çok, suda az çözünen bileşiklerin birbirinden ayrılması adsorbsiyon kromatografisi ile yapılabilir. Hem suda ve benzeri polar çözgenlerde, hemde organik çözgenlerde çözünebilen bileşiklerin birbirinden ayrılması ise dağılım kromatografisi metodları ile olmaktadır.

Bir bileşik birbiri ile karışmayan iki çözgenle çalkalandığı zaman iki faz arasında belli ve eşit olmayan bir oranda dağılır. Bu dağılım sabiti aynı madde grubuna giren bileşenler arasında, kimyasal yapılarının farklılığı nedeniyle değişik olduğundan dağılım kromatografisi ile bunların birbirinden ayrılması mümkün olur. Dağılım kromatografisinde birbirine karışmayan iki fazdan, polar fazı kendi yapısı nedeniyle tutabilen veya hareketini yavaşlatabilen; buna karşılık organik çözgenle bir ilişki kuramayan katı bir materyal sabit faz olarak kullanılır. Suyun bu materyal üzerinde az hareketli oluşu nedeniyle organik çözgenin daha hızlı hareket etmesi ve ayrılacak olan bileşiklerin su ile organik çözgen içindeki çözünürlüklerinin farklı oluşu nedeniyle komponentler sabit faz üzerinde birbirinden farklı hızla ilerlerler. Bundan yararlanılarak ayırma sağlanır.

Dolgu maddesinin moleküler affinitesi (çekiciliği) ile komponent moleküllerinin uyum derecesi ayırımı sağlar. Metal kelasyonu, iyon affinitesi, lejan değiş tokuşu etkili olur.

Moleküler (eleme) Kromatografisi

Ultrafiltrasyondan yararlanarak jel kolonlarında katı-sıvı kromatografisi ile, benzer maddelerden oluşan karışımları bandlar halinde ayırmak ve kolonlardan ayrı ayrı yıkayarak elde etmeye jel kromatografisi denmektedir.

Bu amaçla kullanılan sefadeks jellerinin ve diğer jellerin şişme özellikleri ve şişme hacimleri değişebilir. Buna bağlı olarak molekül ağırlığı değişen bileşenleri ayıran tipleri vardır. Aynı şey biyojeller, canlı kökenli jeller için de geçerlidir.

Uygun jel seçildikten sonra suda bekletilerek şişirilir. Daha sonra kolona dökülür. Örnek kolonun tepesine uygulanır. Sonra saf su veya iyonik bir çözelti tepeden verilerek ayırma sağlanır. Ayrılma ve yıkama işlemi beraber yürür. Beklenenin tersine kolondan önce büyük, sonra küçük moleküller çıkar; çünkü küçük moleküller jeli oluşturan kolloidlere adsorbe olur. Bu sebeple yıkamaları daha uzun sürer. Bu nedenle bu kromatografiye çap boşalım kromatografisi de denmektedir. Jel filtrasyonunda yalnızca molekül çapı ve ağırlığına değil biçimine, üç boyutlu yapısına bağlı olarak ayırma etkinliği sağlanır.

Elektiriksel Hareketlilik

Bu etki ile komponentlerin birbirinden ayrılması için elektrik akımından yararlanılır. Bu nedenle ancak yüklü moleküllerin birbirinden ayrılması sağlanır. Yüklü tanecikler elektrik alanı içindeki bir çözeltide zıt yüklü elektroda doğru hareket ederler. Elektroforetik hareketlilik yüklü tanecığın yüklü taneciğın üzerindeki yük sayısına ve işarete bağlıdır. Ayırım aynı zamanda elektirik akımının geçirildiği çözeltinin iyonik kuvvetine ve pH'ına göre değişir. Bundan dolayı bu etkileri iyi ayarlamakla iyi bir ayırım elde etmek mümkündür.

2.7.12. Hareketli Fazlar

Doğal olarak hareketli faz seçimi, ayrılacak madde gurubunun ayırım tipi ve duran fazın özelliklerine göre yapılır. Bu seçim ayırımın başarısı açısından önemlidir.

Genel olarak sıvı kromatografisinde duran faz ile hareketli fazın ilişkisinin çözücü karışımı veya bileşimi değişimi ile değiştirilmesi, ayırım yöntemi geliştirilmesinde en çok uygulanan yöntemdir.

En önemli bir konuda tüm kapalı sistemlerde hareketli çözgenin dedektörden, ayrılan bileşiklerle birlikte geçişi nedeniyle izleyici üzerindeki etkileridir.

Ayırım olayında çözücü fazın iki yönlü etkisi, ve bu etkilerin denetimi söz konusudur. Bunlardan biri akış hızı, diğeri de sabit fazdaki molekülleri çözme gücüdür. Akış hızında kolon ve dolgu maddesinin özelliklerine göre seçilmesi gereken bir değişkendir. Akış hızı kolon boyutlarına, tanecik çaplarına, taneciklerin poröz veya peliküler oluşuna, duran fazın yıkanmaya olan direncine, kolonun basınca dayanıklılığına bağlıdır.

Akış hızı azaltılması genelde ayırım etkinliğini artırır, fakat aşırısı yayınıma neden olduğundan, pik tabanlarının genişlemesine, yakın piklerin karışmasına neden olur. Genellikle en iyi hız, kolon boyunun kolonda hiç tutulmayan bir bileşiğin çıkış zamanına bölünmesiyle mm/sn olarak hesaplanır. Analitik kolonlarda en yüksek etkinlik için 0.5 mm/sn. hesaplanır. Genellikle 2-5 mm/sn, en çok 2.6 mm/sn. kullanılır ki bu değer 0.5-1 ml/dk. ya karşılık gelir.

Çözgen seçiminde akışkanlık, sıkıştırılabilirlik ve buhar basıncı önem kazanır. Çok genel olarak, metod geliştirme ve ayırım gücü, hızı açısından çözgen seçimi sabit faz sistemlerine göre şöyle özetlenebilir:

Örnek, yıkama çözgeninde çözünmelidir.

Adsorbsiyon kromatografisinde çözme etkinliği skalasının apolar yarısında kalanlardan özellikle heksan, etil eter, asetonitril, metanol ve su kullanılır. İnce tabaka kromatografisinde iyi sonuç veren çözgen sistemlerinin po-

lar çözen oranı yarı yarıya azaltılarak sıvı kromatografisine uygulanabilir. Çözen kuvveti artışı örnek sığasını çok azaltır. Seçiciliği çok etkiler.

Ters faz kromatografisinde metanol, asetonitril, etanol, izopropanol, dimetilformamid, n-propanol, dioksan, azalan polarite/artan çözücülük dizinine göre sıralanan çözücülerin su karışımları kullanılır.

Normal faz kromatografisinde ise hegzan, izooktan, asetonitril, metanol-su karışımları ile çeşitli polarlık dereceleri sağlanır ve tetrahidrofuran gibi üçüncü çözenler katılır.

İyon kromatografide genel olarak örnek bileşiklerindeki fonksiyonel grubu olan bir tampon çifti seçilerek reçinen gruplarına karşı rekabet sağlanır. Metanol etanol gibi organik çözen katılımı ile de seçici etki artırılabilir.

Örnekte safsızlık olup olmaması, eğer safsızlık varsa ne tür safsızlığın olduğunun bilinmesi çözen seçiminde önemlidir.

2.7.13. Dolgu Maddeleri ve Sabit Faz

Bugün genellikle, destek faz olarak kullanılan silikajelle-re bağlı, sabit fazı oluşturan organik maddeler kullanılır. Bu şekilde kimyasal bağla yüzey kaplama poröz taneciklerden göç yolunu kısaltır, dar pikler verir (pelliküler dolgu).

Küçük tanecikler teorik plaka yüksekliğinin düşük akımda küçülmesini sağlar ve pikler daralır. Bununla birlikte tanecik çapı küçüldükçe kolon geri basıncı artar.

Sıvı kromatografide kullanılan kolon dolgu maddeleri şöyle özetlenebilir:

Sıvı-Katı Adsorbsiyon kromatografisinde en çok silika jel kullanılır. Alümina, aktif kömür ve kalsiyum karbonat vs. de kullanılabilir. Aktif silika ise polaritesi az veya apolar olan maddelerin ayırımında kullanılır. Tanecik çapı küçültülürse etkinlik artarsada geri basınç açısından zararlıdır.

Sıvı-Katı İyon Değişim kromatografisinde en çok stiren divinilbenzen kopolimer türevi olan ve süfonik asit ($-\text{SO}_3\text{H}$), $-\text{COOH}$, kuaterner amın tipi aktif uçları olan Amberlit tip I-IV gibi reçineler kullanılır. Tiplere göre pH 1-9, 1-2, 1-4 veya 5-14 arasında olabilir.

Sıvı-katı ve sıvı-sıvı Çap Boşaltım kromatografisinde (SEC, GPC) yarı katı ve katı jeller ile sulu ortamda biyomoleküller veya kimyasal polimerler, çapraz bağlı dekstran, polistiren gibi taneçikler kullanılır.

Sıvı-Sıvı Dağılım kromatografisinde sabit sıvı faz katı destek faza kimyasal olarak bağlıdır. Burada sabit sıvı fazın yıkanması tehlikesi vardır.

Normal faz kromatografisinde amino, siyano, diol gruplu polar sabit fazlar kullanılır.

Ters faz kromatografisinde çeşitli silan kökü olan bileşikler kullanılır. Bu tür kolonların üstünlüğü çok geniş bir çözücü grubu ile kullanılabilir, yeniden koşullandırılabilir, katı sıvı kromatografisindeki gibi geri dönülmez tutulma ile örnek bileşiği kaybı ve kolon kirlenmesinin olmayışıdır.

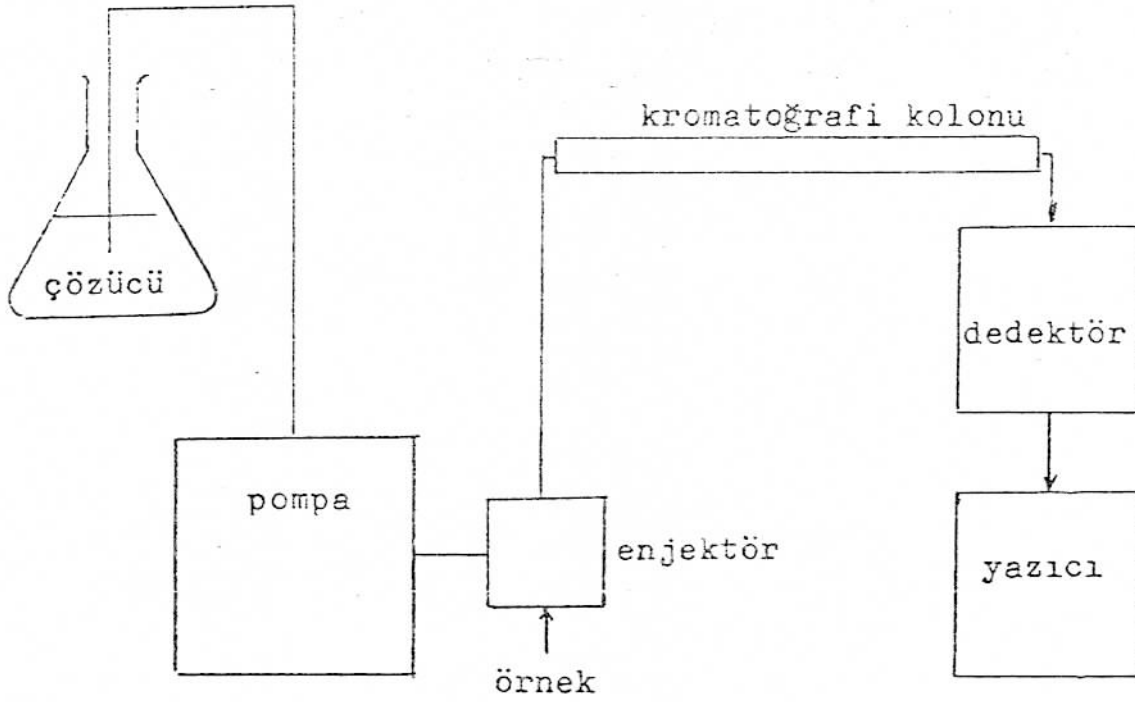
Destek faza bağlı organik gruplar Ek 1. de verilmiştir.

2.7.14. Sıvı Kromatografi Sistemi

Şekil 2-9 . da şematik olarak bir sıvı kromatografi sistemi görülmektedir. Bu sistemin her bir bileşeninin özellikleri şu paragraflarla özetlenebilir.

Çözücünün bulunduğu kaplar cam veya paslanmaz çelikten yapılırlar. Çözücü kapları genelde çözücüdeki çözülmüş oksijen ve azot gibi gazları uzaklaştırmak için özel cihazlara bağlanır. Bunlar vakum pompası, distilasyon sistemi, ısıtma ve karıştırma yapan aletler, veya çözeltiden inert gaz geçiren düzenekler olabilir. Çözülmüş gazlar kolonda gaz kabarcıklarına dönüşerek dedektörün etkinliğini düşürebilir. Ayrıca çözeltideki toz ve partikülleri tutmak için bir filtre bulunmaktadır.

Pompa sıvı kromatografi için özel dizayn edilmiştir. Çözücü pompalama hızı 0.1 den 10 ml/dk. ya kadar



Şekil 2-9. Sıvı Kromatografi Sistemi.

değişebilir.

Örnek enjeksiyon sisteminin değişik tipleri vardır. Bunlardan en basit olanı şırınga tip enjeksiyondur. Kromatografik sisteme örnek girişinin ilk uygulamalarından dır. Elastik bir septumdan ibarettir. Sistemdeki basınç çok düşük ise kullanılabilir.

Akış durdurma enjeksiyonunda çözgenin kolona gitmesi engellenir. Örnek sisteme verildikten sonra çözgenin örneği yıkayarak kolona sürüklemesi sağlanır.

Örnekleme valfleri en sık kullanılan yöntemdir. Burada özel bir valfle çözgenin iki farklı yoldan geçmesi sağlanır. Örnek sisteme verilirken valf kolu çevrilerek çözgenin başka bir koldan kolona girişi sağlanır. Örneğin enjeksiyonundan sonra valf eski durumuna getirilir. Örnek hacmini kendi ayarlayan valflerde vardır.

Kolonlar paslanmaz çelikten veya basınca dayanıklı duruma getirilmiş cam kolonlardan yapılmaktadır.

En sık kullanılan dedektör ultraviyole dedektör-

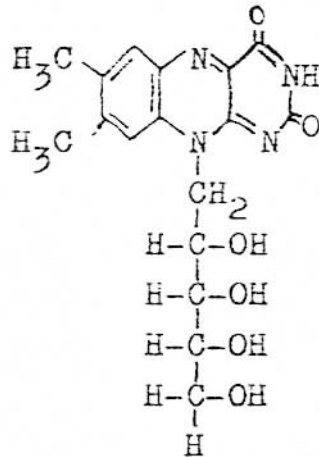
dür. floresens, kırılma indisi, elektrokimyasal, infrared
kütle spektrometrik dedektörler de kullanılmaktadır.

2.8. Sıvı Kromatografi ile Vitamin Analizleri:

Mikrobiyolojik metodlarla vitamin tayinleri düşük konsantrasyonlarda vitamin içeren örneklere uygulanmakta ve bazı vitaminler için oldukça duyarlı olmaktadır. Bununla birlikte seçiciliğin iyi olmaması ve zaman alıcı olması nedeniyle rutin analizlerde kullanılamamaktadır.

Fiziksel ve kimyasal metodlar biyolojik metodlara göre daha hızlı yapılmaktadır. Normalde kantitatif analiz kalorimetri, spektrofotometri ve florimetri ile yapılmaktadır. Vitamin analizine başlamak için girişim yapan diğer bileşenlerin mümkün olabildiğince uzaklaştırılması gereklidir. Gaz-sıvı kromatografisi bazı özel vitaminlere uygulanabilmekte isede A ve D gibi termal kararsız vitaminlere uygulanamamaktadır. Sıvı kromatografik metodlarda çok az bir örnek saflaştırma yeterli olmaktadır. Kolon kromatografisi kullanılan kolonların kararlılığı ve etkinliği sebebiyle oldukça geniş şekilde kullanılmaktadır.

2.8.1. Kromatografi ile B₂ Vitamini(Riboflavin) Analizi

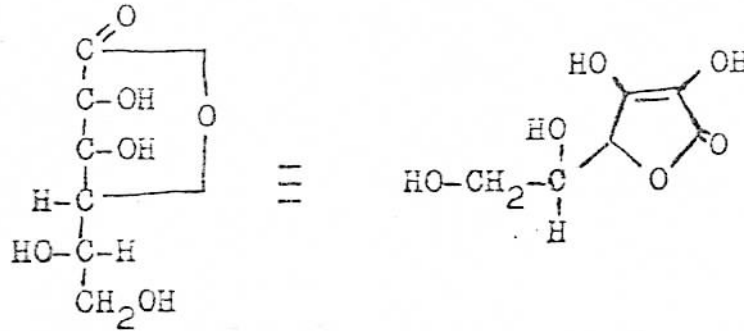


Şekil 2-10. Riboflavinin yapısı

Biyolojik ortamdaki riboflavin tayini için ince tabaka, mikrobiyolojik ve florimetrik metodlar kullanılmaktadır. Riboflavin tanımlanması ve belirlenmesi için yüksek basınç sıvı kromatografisinin birçok şekli uygulanmaktadır. Riboflavin amino bağlı kolonda ayrılabilir. Riboflavin analizinde örnek hazırlamada çoğu kez santrifüjleme ve süzme çoğu kez yeterli olmaktadır. Analiz 5 dakika gibi kısa bir sürede yapılabilir. Riboflavin, aminoasitler, B₆, C ve niasin-

amid amino bağlı kolonda kolayca ayrılabilmektedir. Bu karışım asetonitril fosfat tamponu gradiyenti uygulayarak 30 dakikadan az bir sürede analizlenebilmektedir. B₂ analizine ait literatürlerde yer alan bilgiler çizelge 2-8. de verilmiştir.

2.8.2. Kromatografi ile C Vitamini (Askorbik Asit)



Şekil 2-10. Askorbik Asit

Askorbik asit klasik olarak 2,6-diklorofenolindofenol ile titrasyonla, mikroflorimetri veya dehidro askorbik asitin 2.4-dinitrofenilhidrazon türevinin kolorimetrisi ile tayin edilir. Elektrokimyasal, türbidimetrik ve gaz kromatografik uygulamalarda geliştirilmiştir. Bununla birlikte analizden önce girişim yapan diğer maddelerden mümkün olduğunca ayrılması gerekir. Askorbik asit analizi aynı biyoaktiviteye sahip fakat zayıf ışık absorpsiyonu yapan dehidroaskorbik asit oluşumu nedeniyle karmaşıktır. Bu nedenle askorbik asit analizinde dehidroaskorbik asit hariç tutulur. Analiz sırasında güçlü UV ışık absorpsiyonu yapan askorbik asitin dehidroaskorbik asite oksitlenmesinin engellenmesi gerekir.

Bui-Nguyen amino bağlı kolonda eluent olarak asetonitril fosfat tamponu karışımı kullanmış ve askorbik asitten izo askorbik asiti(D-askorbik asit) ayırmıştır.

Çizelge 2-8. de askorbik asitin kromatografik analizine ait çalışmalar verilmiştir.

Çizelge 2-8. Sıvı Kromatografi İle Besinlerde B₂ ve C Vitaminleri Tayinine Ait Çalışmalar.

İlgili Vitamin	Sabit Faz	Hareketli faz	Uygulama	Ref.
C vitamini	ODS-Hypersil	0.08M KH ₂ PO ₄ ⁻ %20 metanol	Besinlerde	(21)
C vitamini	Vydac SAX Zipax SAX Bondapak AX/Corasil	asetat tamponu	besin, farmasotikler, Organizmada	(19)
Askorbik, Dehidro askorbik asit	µBondapak C-18	0.04 M Na ₂ HPO ₄	Portakal suyunda	(11)
L ve D Askorbik asit	Karbohidrat Analiz Ko- lonu	%20 Asetonitril 0.003M KH ₂ PO ₄	Meyva Suyu	(12)
Askorbik Asit dehidro askorbik asit	µBondapak NH ₂	50:50 (v/v) metanol- %0.25 KH ₂ PO ₄	Meyva Suyu	(6)
C vitamini	µBondapak-NH ₂	0.002M amonyum tuzu	Besin ve Tabletlerde	(24)
Niasinamid, Pirodoksin, Ribo- flavin, Tiyamin	C8	0.01 sodyum heptan sülfon- nat	Tabletlerde	(26)
Suda Çözünür Vitaminler	Zipax SCX	0.05 M NaH ₂ PO ₄ 0.05 M KH ₂ PO ₄	Besinlerde	(27)
Suda Çözünür Vitaminler.	RP-18	metanol-su-fos- forik asit	Tabletlerde	(1)

3. DENEYSEL KISIM

3.1. Ölçümlerde Kullanılan Aletler

Çalışmada, Waters Associates model sıvı kromatografi sistemi kullanılmıştır. Kromatografi sistemi M6000A pompa, M440 Absorbans dedektörü, U6k model enjektör, uBondapak NH₂ kolon ve linear marka yazıcıdan oluşmaktadır. Ayrıca perkin Elmer 600 UV-VIS Spektrofotometresinden yararlanılmıştır. Çalışmada kullanılan diğer yardımcı gereçler şunlardır;

- a) Çalkalayıcı, Hetofrig
- b) Elektronik teraziler, Sortorius 2432, Mettler PE1600
- c) Etüv, Nüve marka, FN400
- d) Blender, Philips HL 3252

3.2. Reaktifler ve Standart Çözeltilerin Hazırlanması

100 ppm stok C vitamini (merck:500069) çözeltisi %1 lik HPO₃ (merck:546) çözeltisi ile hazırlandı.

100 ppm B₂ vitamini (merck:7609) stok çözeltisi bidistile su ile hazırlandı. Kromatografik çözeltiler %0.1 (NH₄)₂CO₃ (merck:1136), 0.68g/lt KH₂PO₄ (merck:4873) çözeltisi bidistile su ile hazırlandı. Çözeltiler Whatman filtre kağıdından süzüldükten sonra vakum altında çözeltilerdeki çözünmüş gazlar uzaklaştırılmaya çalışıldı. Metanol (merck: 6009) ve etanol (teknik) distillenerek aynı işlemlerden geçirildi.

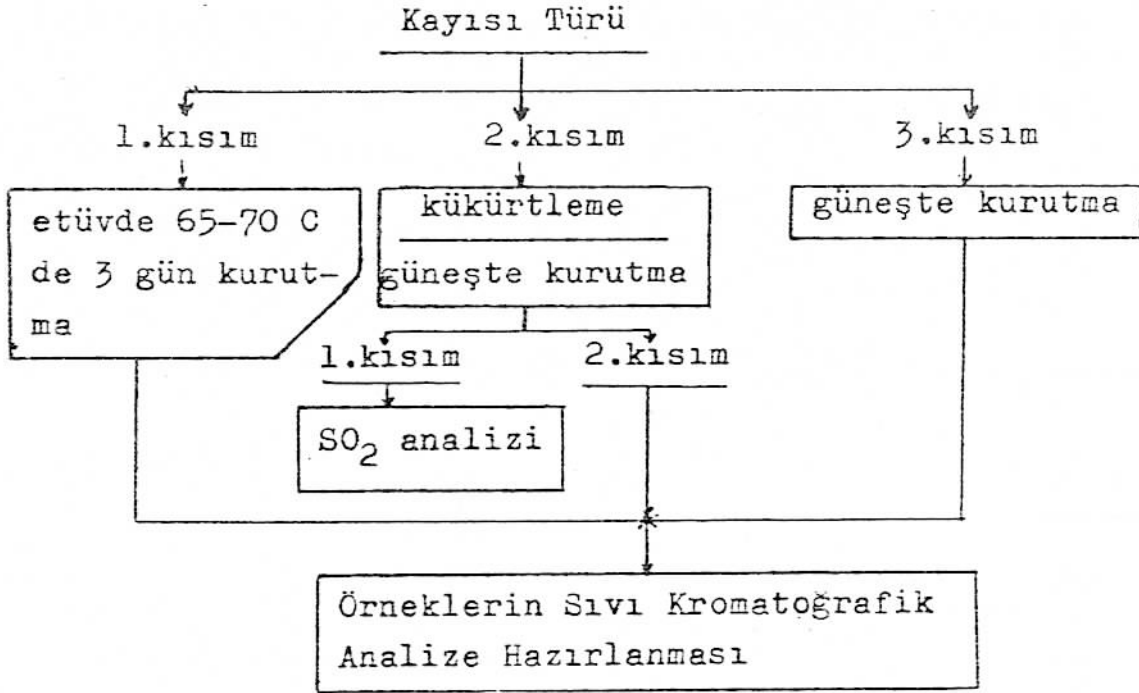
3.3. Örneklemeye, Kurutma ve Kükürtleme ile İlgili Deneysel İşlemler

Örneklemeye aynı ağaçtan rasgele örneklemeye yapıldı. Olgun ve birbirine benzeyen kayısılarından 500-1000 g kadar alındı. Alınan örnek üç kısma ayrıldı. Birinci kısım örnek yapay olarak kurutulmak üzere çekirdeklerinden ayrıldı ve etüve kondu. Etüvde 65-70 °C de 3 gün kurutuldu.

İkinci kısım örnek kayısı kükürtleme odasında kükürtlendi ve güneşte kurutuldu. Kükürtlendiği ve güneşte

kurutulmuş kayısıların bir kısmı SO_2 analizi yapılmak üzere ayrıldı.

Üçüncü kısım örnek çekirdeklerinden ayrılarak gün boyu güneş alan bir yerde doğal olarak kurutuldu. Şekil 3.1. de anlatılan bu işlemler şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3-1. Örnekleme, kurutma ve kükürtleme işlemlerinin şematik olarak gösterilmesi.

3.4. Sıvı Kromatografisi ile İlgili Çalışmalar.

3.4.1 Uygun Eluent (hareketli faz) Seçimi ve Sıvı Kromatografik Sisteminin Optimizasyonu

Kayısıda vitamin analizleri için sıvı kromatografide uygun çözücü sistemleri denendi. Bu amaçla C_2H_5OH -%0.1 $(NH_4)_2CO_3$, CH_3OH - KH_2PO_4 , C_2H_5OH - H_2O , %0.05 $(NH_4)_2CO_3$ çözücü sistemleri kullanıldı.

Bölüm 3.4.2. de anlatıldığı şekilde hazırlanan kayısı ekstraktları 10 uL lik örnekler halinde kromatografik

sisteme enjekte edildi ve kromatogramları alındı. Aynı çözgen sisteminde standart vitamin karışımlarının ayrılması da incelenmiştir.

Sıvı kromatografik Analiz boyunca aşağıda verilen deneysel parametreler kullanılmıştır.

Kolon: μ Bondapak NH_2

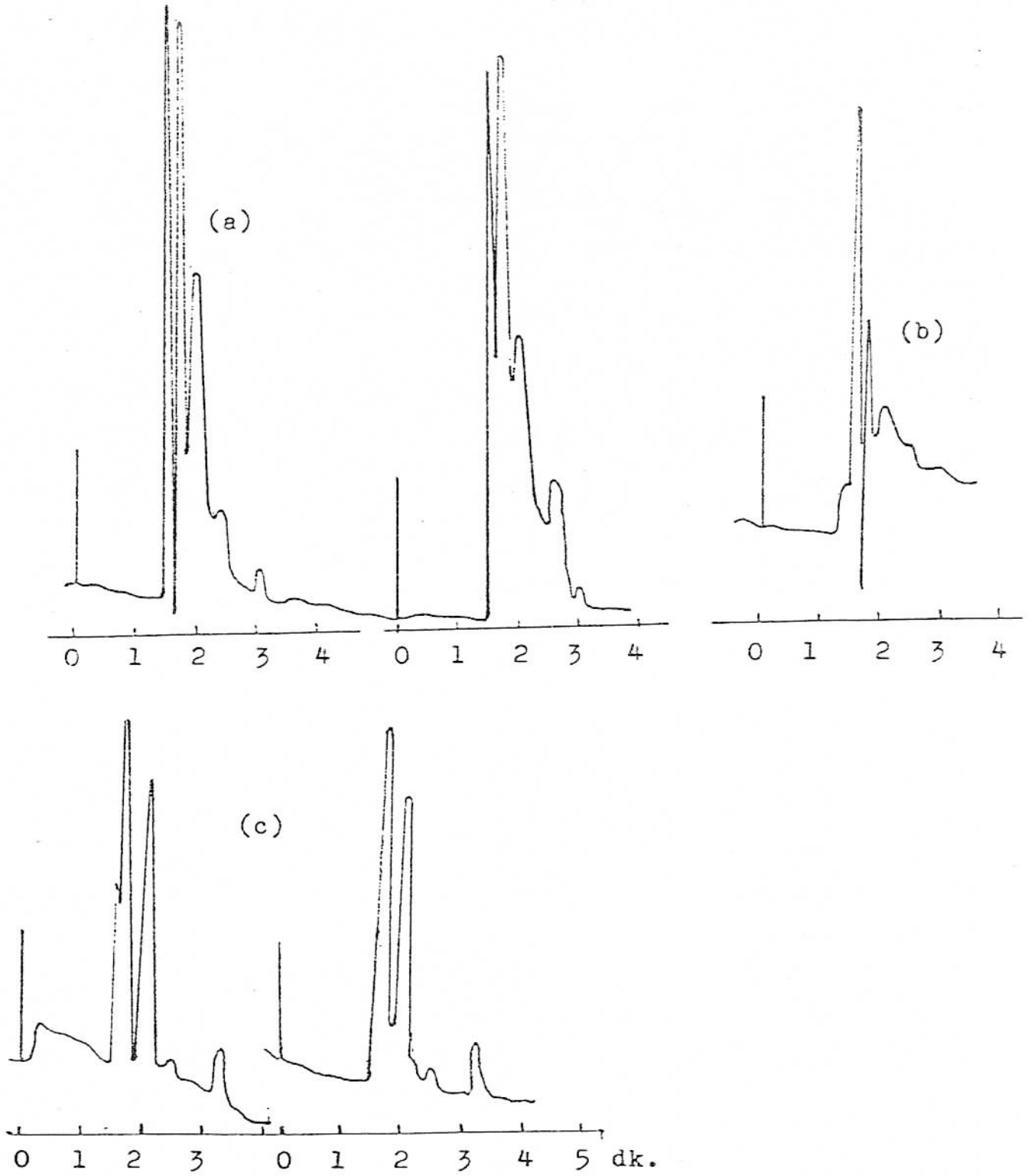
Dedektör: UV 254 nm

Duyarlık: 0.05 AUFS

Çözücü hızı: 1 ml/dk.

Kağıt hızı : 1 cm/dk

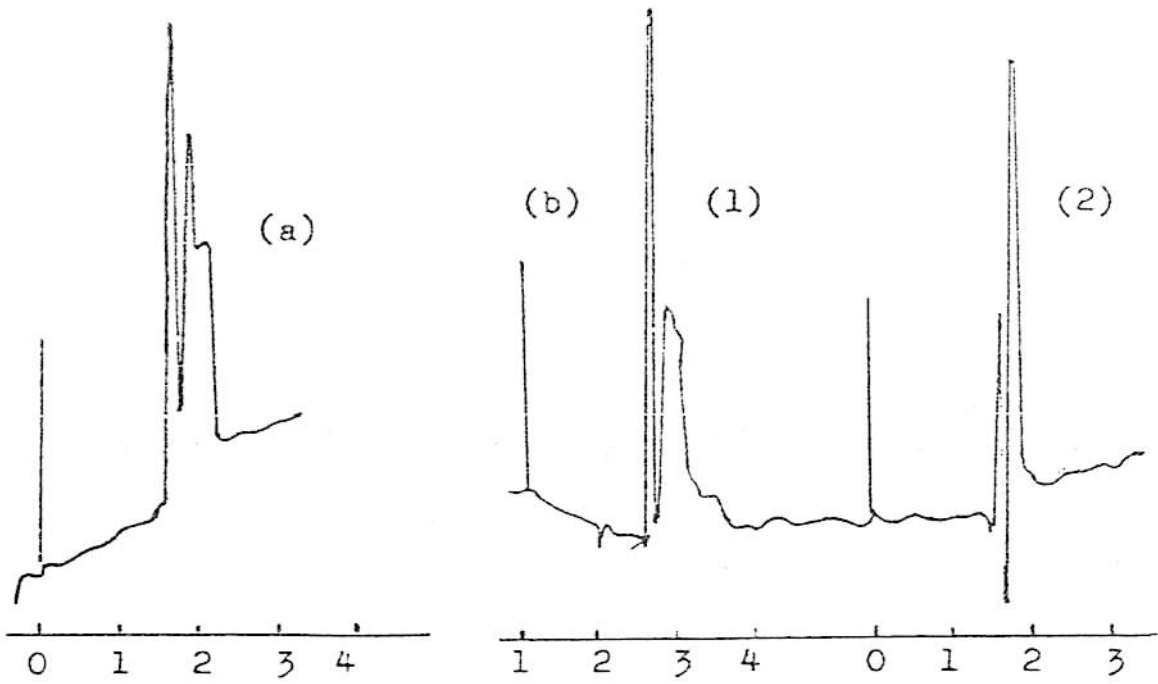
Örnek Hacimleri: 10 μ l



Şekil 3-2. Bidistile Su çözgen sisteminde ayırım.

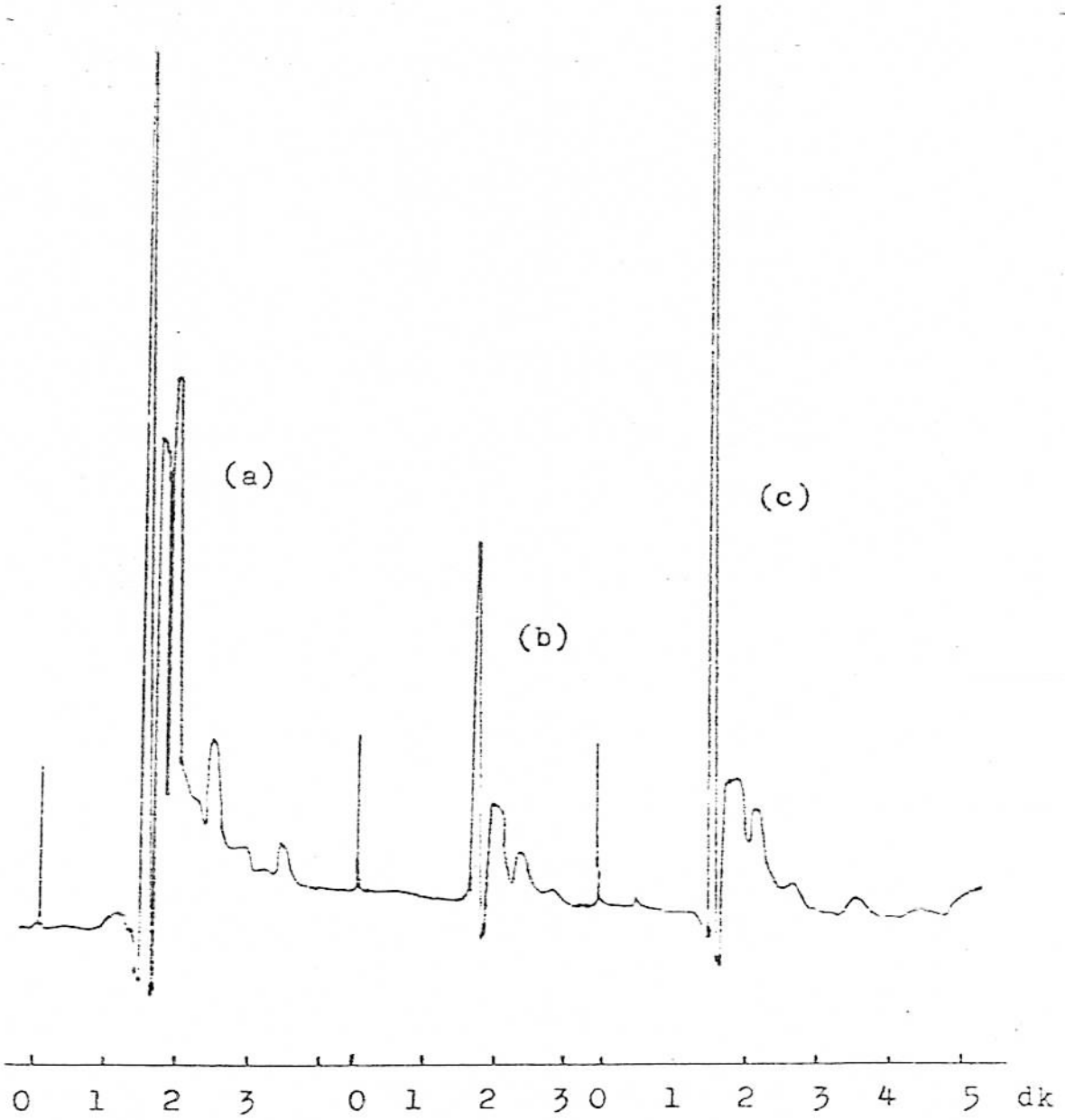
(a) kayısı ekstraktı (b) Kayısı ekstraktı

(c) sentetik vitamin karışımı



Şekil 3-3. Kayısı ekstraktlarının Etanol-Su 60:40 (v/v) sistemindeki ayrılması.

- a) Kayısı ekstraktı
- b) 1. kayısı ekstraktı
- 2. vitamin B₂

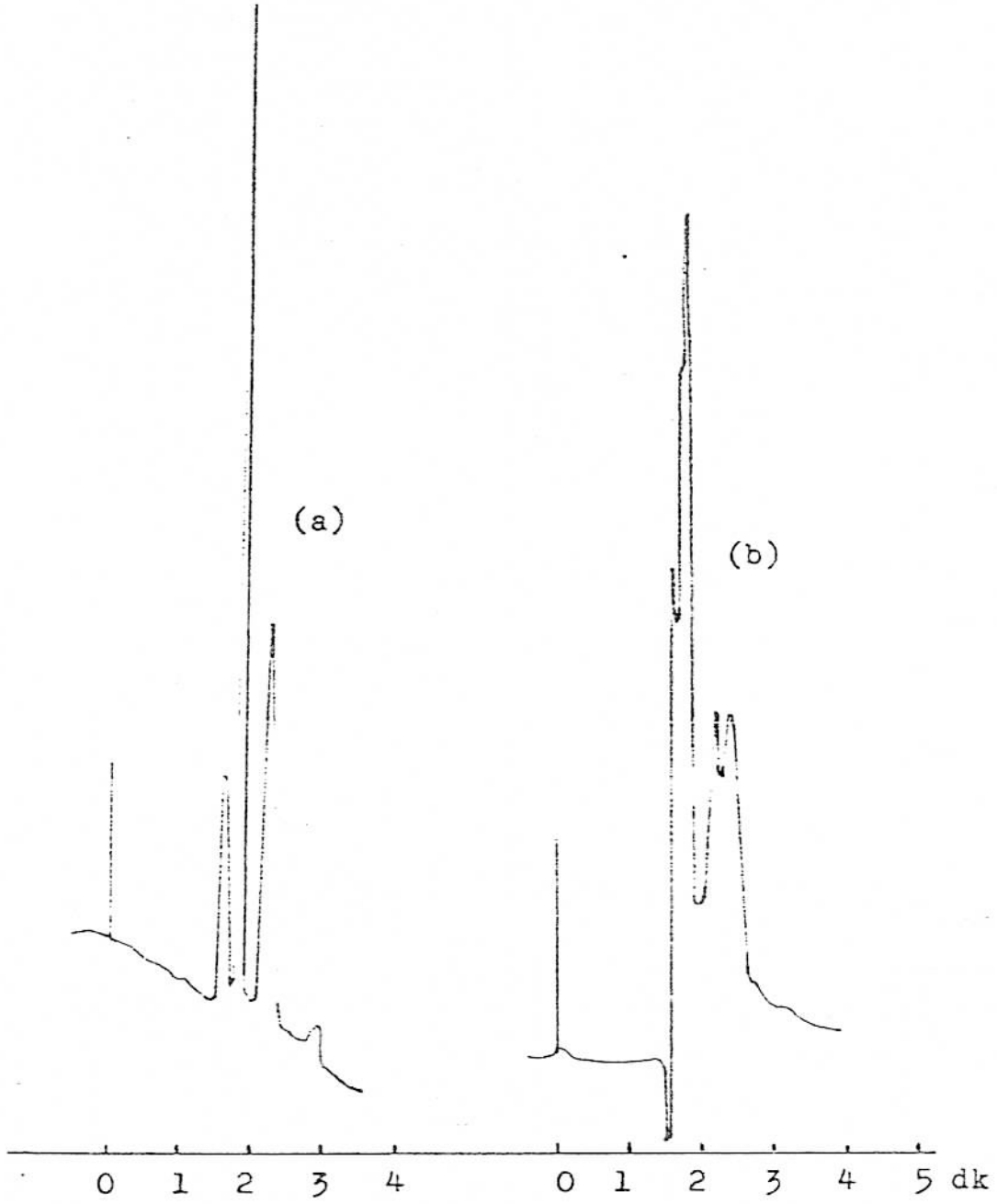


Şekil 3.4. 0.05M KH_2PO_4 -metanol 50:50 (v/v) çözgen sistemiyle ayırma

(a) Vitamin karışımı

(b) Kayısı ekstraktı

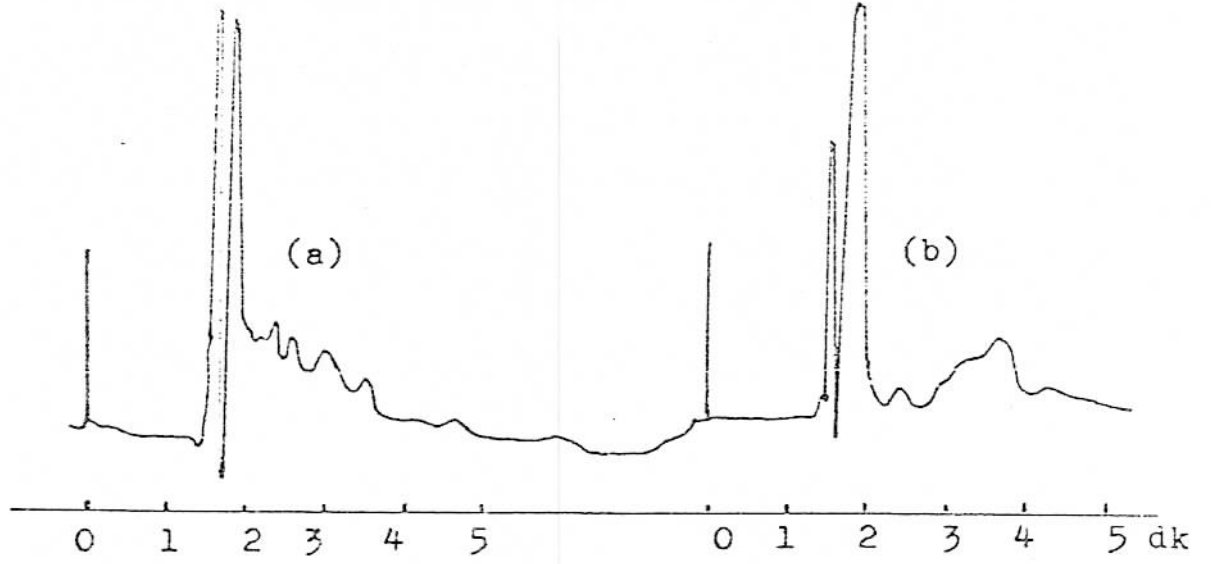
(c) C vitamini eklenmiş kayısı ekstraktı



Şekil 3.5. Etanol- 0.1 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (50:50 v/v) çözgen sisteminde ayırım.

a) Vitamin karışımı

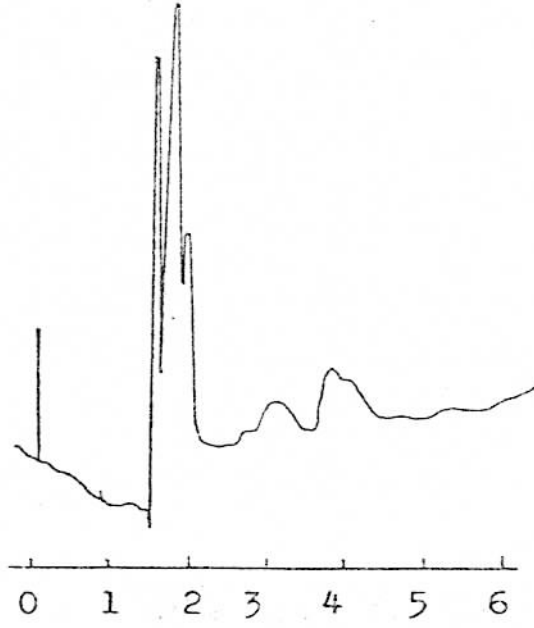
b) Kayısı ektraktı



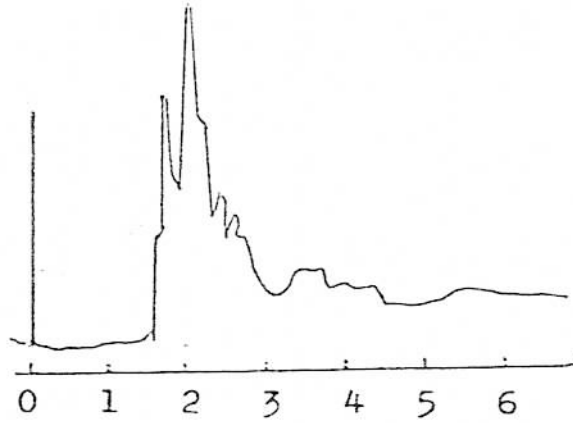
Şekil 3.6. %0.1 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ -Etanol (75:25) (v/v)
çözgen sisteminde ayırım.

a) Kayısı Ekstraktı

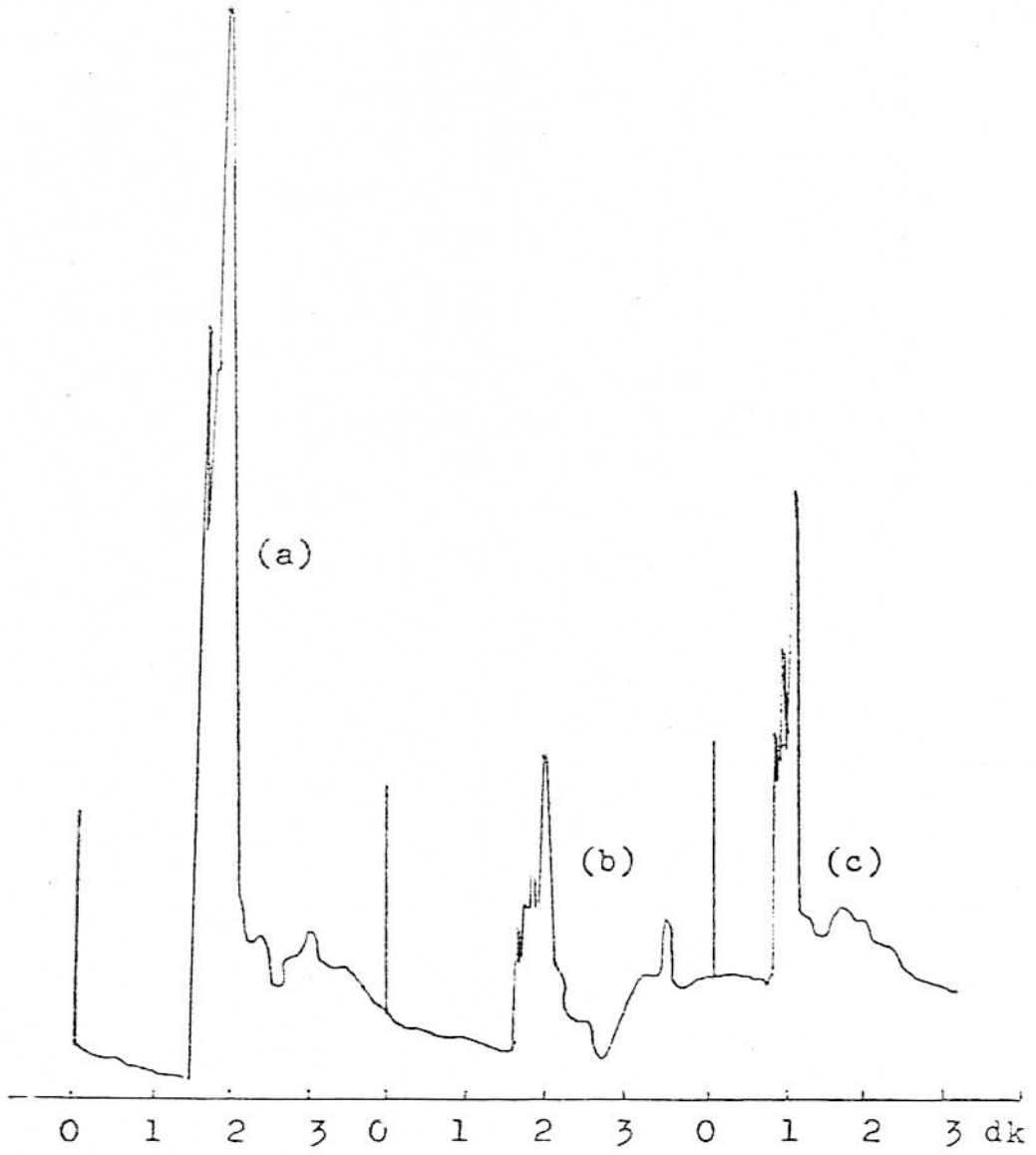
b) Kayısı ekstraktı



Şekil 3-7. %75 Etanol- %25 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (%1) v/v
çözgen sisteminde kayısı ekstraktının ayrılması.

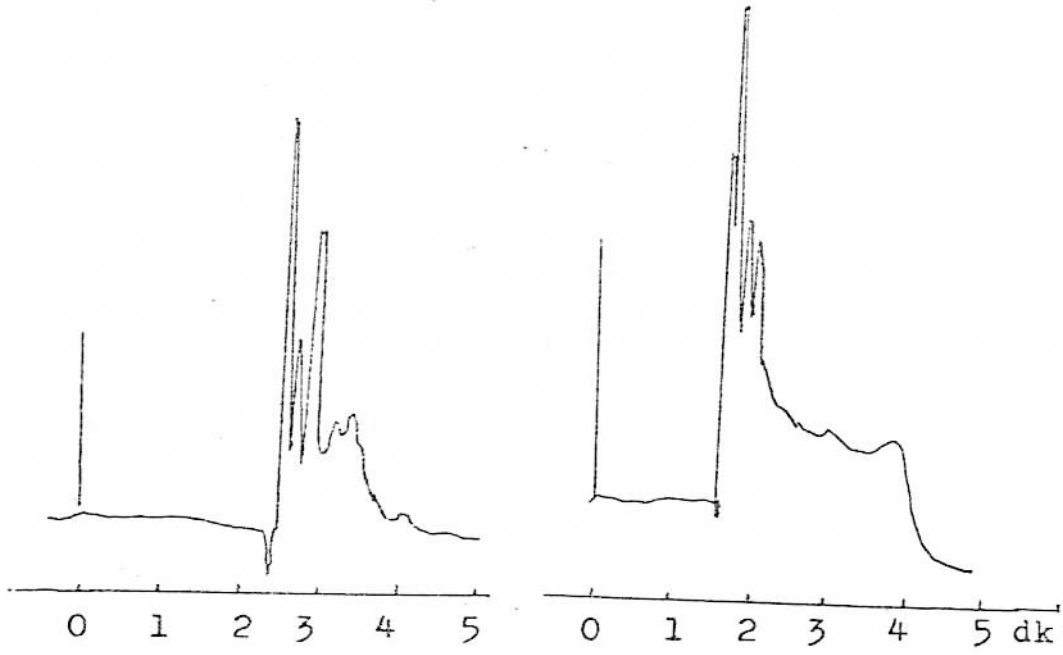


Şekil 3-8. Etanol-%0.1 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (10/90 v/v)
çözgen sistemiyle ayırım. örnek hacmi 5µl kayısı ekstraktı

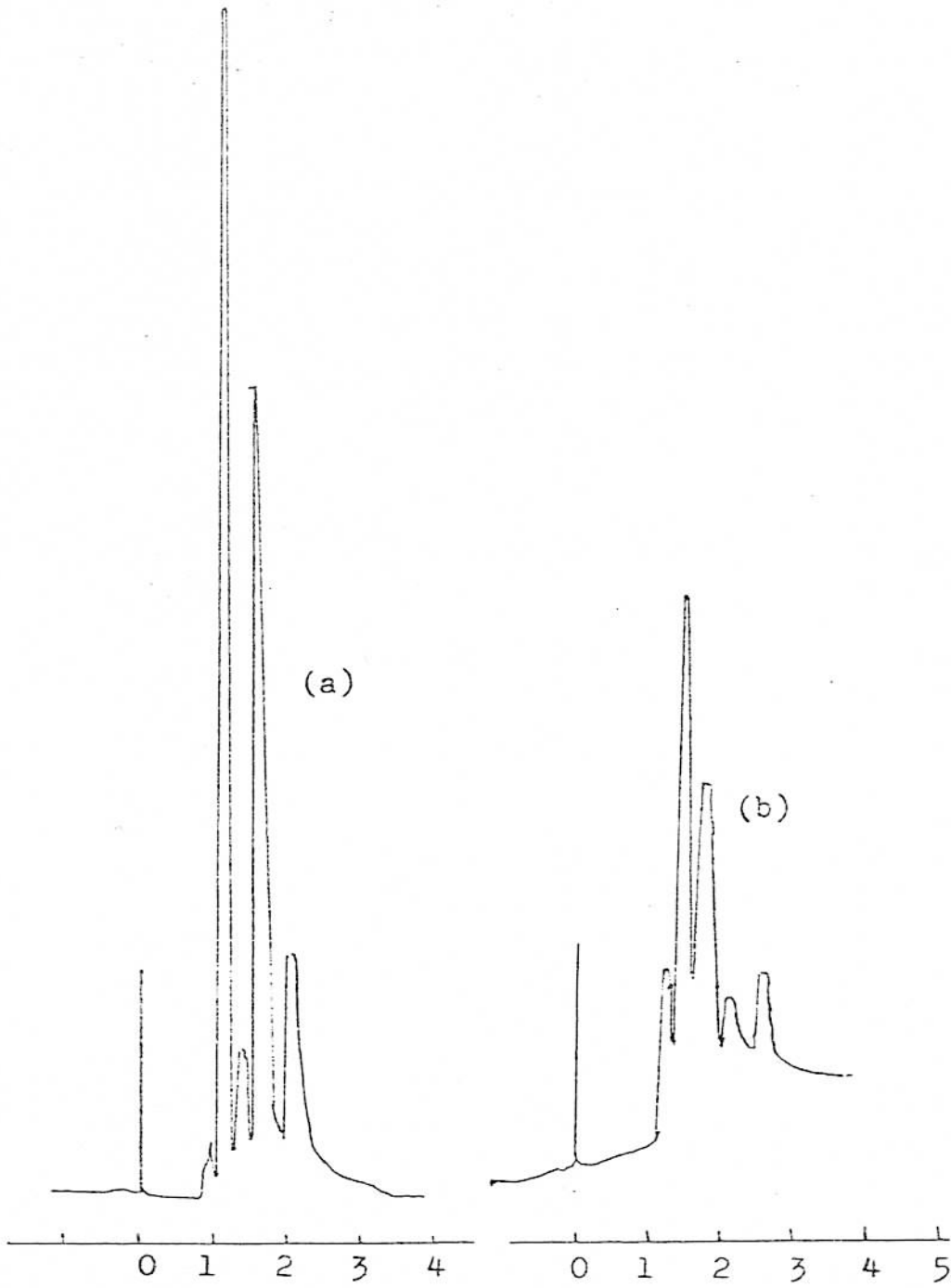


Şekil 3-9. Etanol-%0.1 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (12.5/87.5 v/v) çözücü sisteminde ayırım.

- a) 10 μL kayısı ekstraktı
- b) 1/5 seyreltilmiş kayısı ekstraktı
- c) 20 μL kayısı ekstraktı çözücü hızı 2ml/dk.



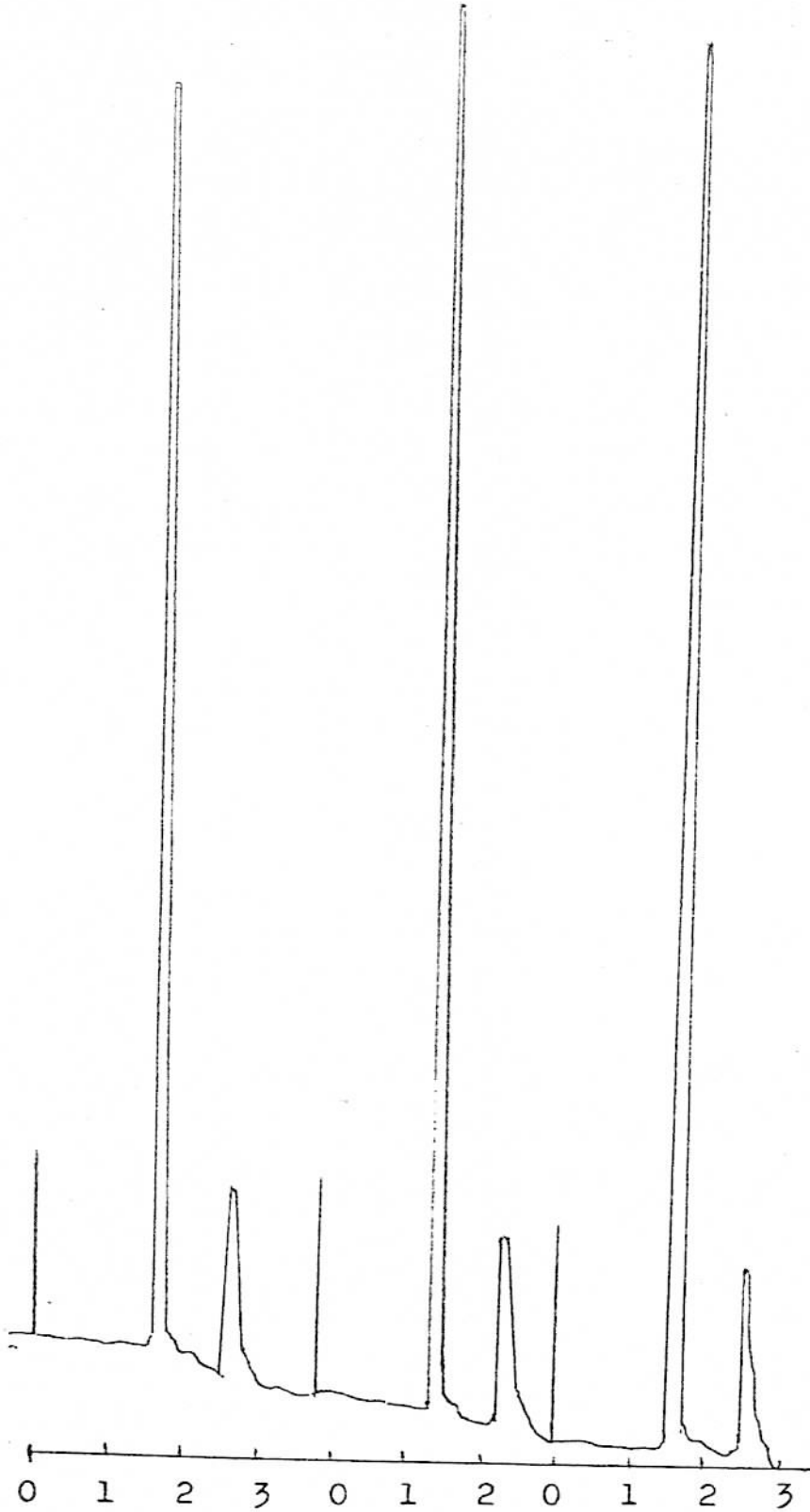
Şekil 3-10. %0.1 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ Çözgen Sisteminde Ayırım



Şekil 3-11. %0.05 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ çözgen sisteminde ayırım

(a) sentetik vitamin karışımı

(b) kayısı ekstraktı



Şekil 3-12. C ve B₂ vitamini karışımının %0.05 (NH₄)₂CO₃ çözgen sisteminde ayrılması.

3.4.2 Kayısı Ekstraktları ile Yapılan Çalışmalar.

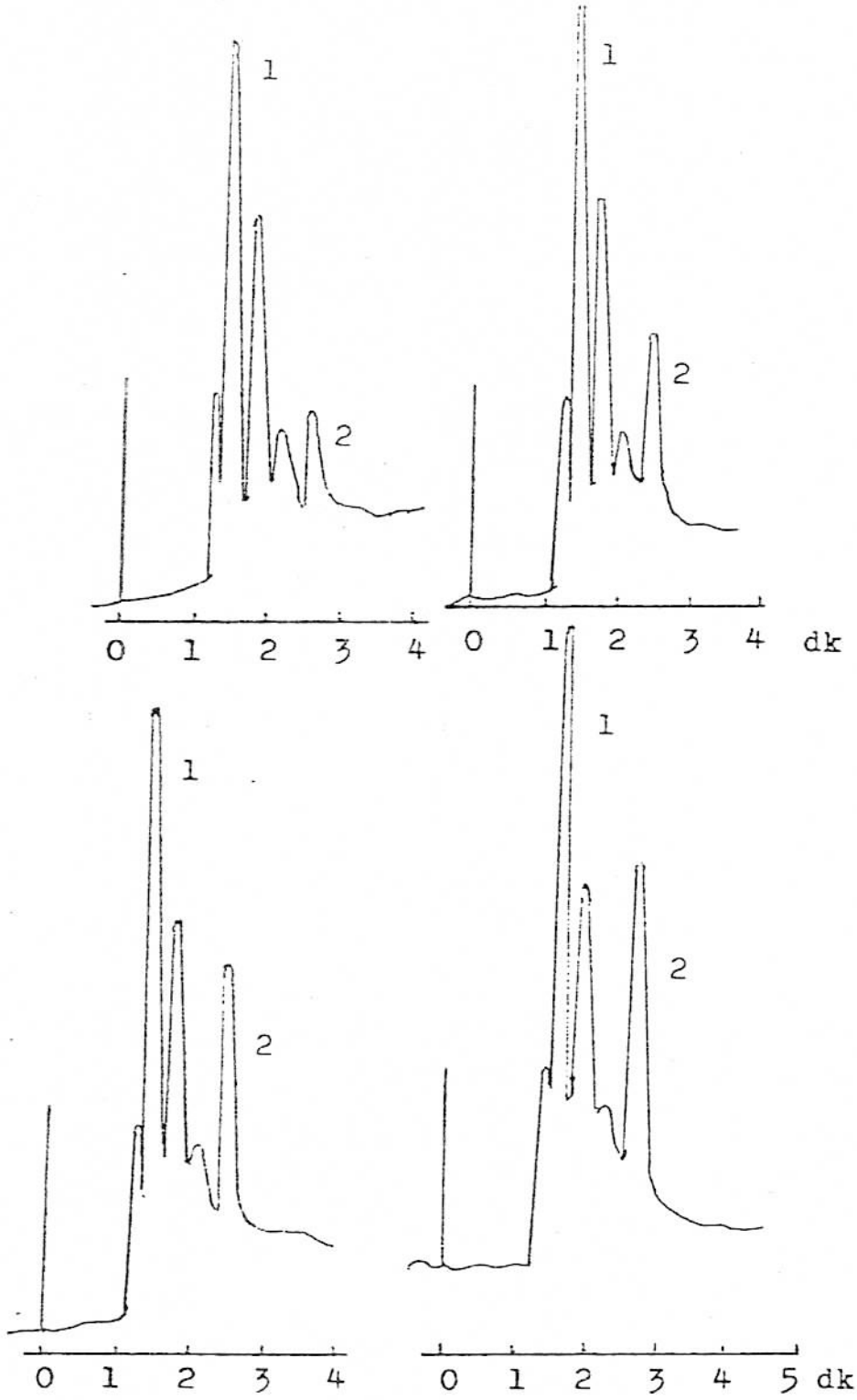
İşlem görmüş kayısıların kıyılmasından sonra 20-40 g kadar tartıldı. Blenderde 100 ml %1 lik HPO_3 çözeltisiyle 10 dk homojenize edildi. Homojenize edilmiş örnek kapaklı erlenmayere alındı. Blenderin kabı 50 ml çözelti ile yıkanıp yıkama çözeltisi erlenmayere eklendi. Ekstraksiyonu tamamlamak için çalkalayıcıda 15 dakika çalkalandı. Çalkalamadan sonra süzgeç kağıdından süzüldü ve süzüntü 250 ml ye tamamlandı. Bu çözeltiden 20 ml kadar tekrar süzüldü standart ekleme yapılarak 10 ul lik şırınga ile kolona enjekte edildi. Pik yükseklikleri çözelti konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilerek örnekteki vitamin miktarı hesaplandı.

3.4.3 Standart Vitamin Örnekleri ile Yapılan Analizler

Bu deneyde standart B_2 ve C vitamini içeren çözeltilere $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ çözeltisi eklenerek SO_2 nin B_2 ve C vitaminine etkisi incelendi. Ölçümler Perkin Elmer 600 UV-VIS Spektrofotometresiyle yapıldı.

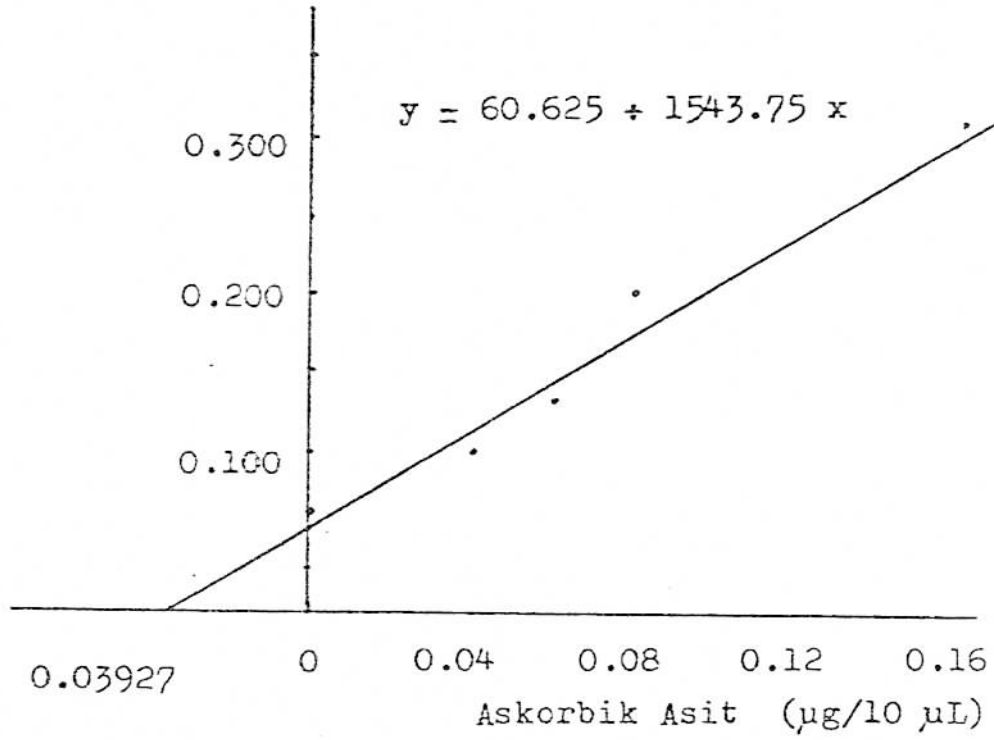
25 lik balon jojeye 20mg/250 ml askorbik asit çözeltisinden 10 ml alındı ve üzerine 12.5 g/litre $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ çözeltisinden 0,1,2,3,4,5 ml eklendi. Çözeltiler saf su ile 25 ml ye tamamlandı. Referans hücreye konacak çözelti aynı yöntemle hazırlandı. UV-259 nm de bu çözeltilerin absorbansları ölçüldü.

B_2 vitamini içeren çözeltiler 5 mg/250 ml B_2 çözeltisinden 15 er ml alınarak üzerine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ çözeltisinden 0, 2.5 , 5, 7.5, 10.0 ml eklendi çözeltiler 25 ml ye tamamlandı. 379 nm ve 440 nm de ölçüm yapıldı.



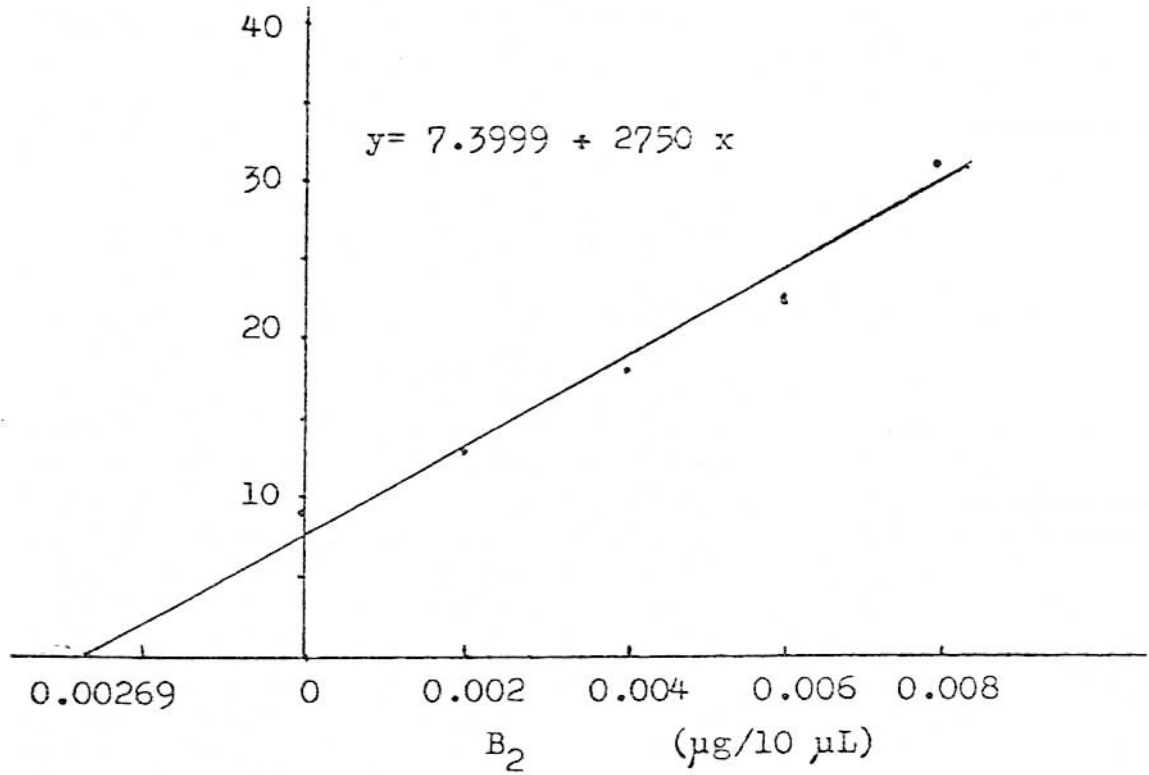
Şekil 3-14. Kayısı Ekstraktının Standart Ekleme ile Kantitatif Analizi. 1) Askorbik Asit 2) Riboflavin(B_2)

vitamin C $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$	h(cm)
0.00	69
0.04	105
0.06	140
0.08	210
0.16	304

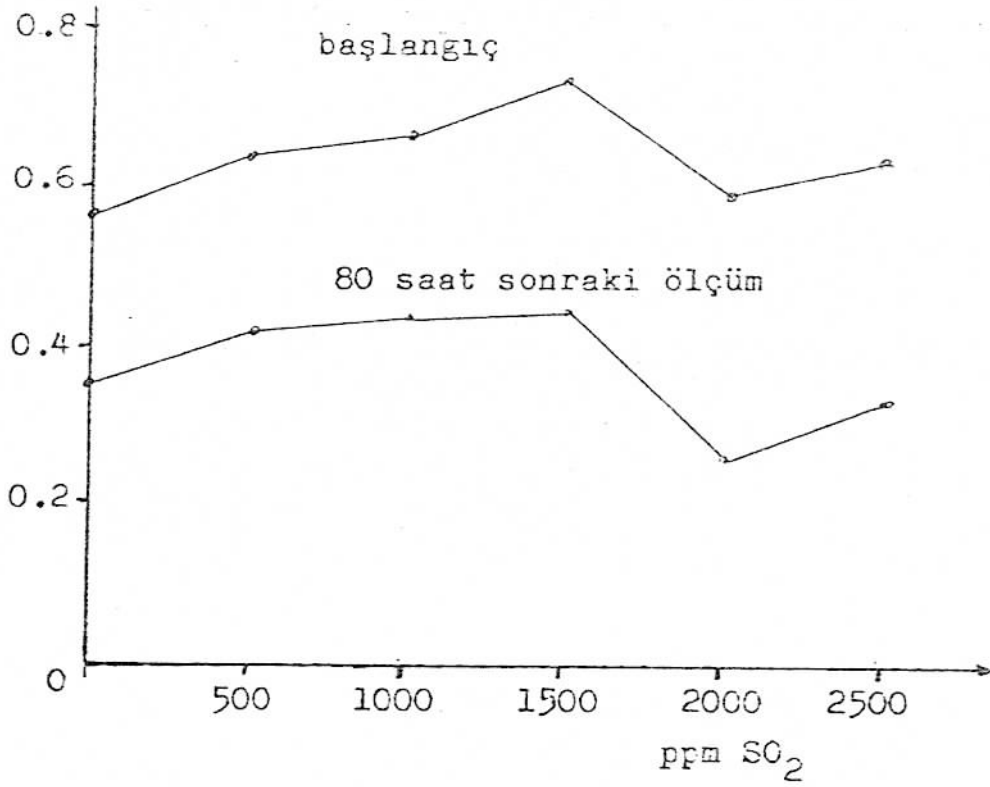


Şekil 3-15. Standart ekleme ile kayısı ekstraktında C vitamini analizine ait kalibrasyon eğrisi.

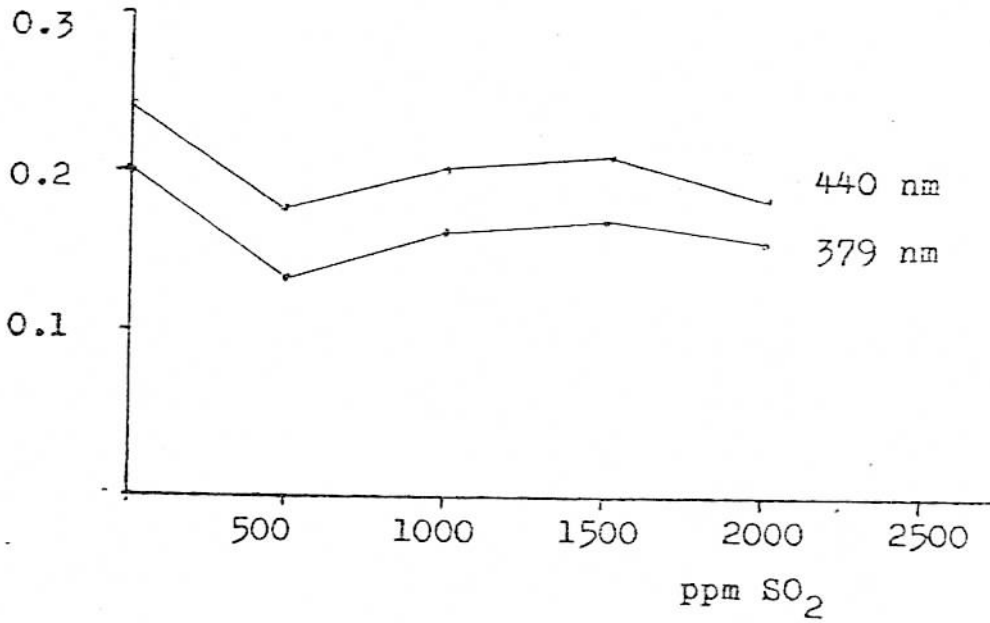
B ₂ vitamini µg/10 µL	pik yüksekliği cm
0.000	8
0.002	13
0.004	18
0.006	22
0.008	31



Şekil 3-16. Standart ekleme ile kayısı ekstraktında B₂ vitaminine ait kalibrasyon eğrisi.



Şekil 3-17. Süflitlenmiş standart C vitamini örneğinin absorbans değışimleri.



Şekil 3-18. Süflitlenmiş standart B₂ vitamini örneğinin absorbans değışimi.

4. DENEY SONUÇLARININ YORUMU

Çözgen seçimi için yapılan denemelerde elde edilen kromatogramlar incelendiğinde şekil 3-11. de gösterilen %0.05 $(NH_4)_2CO_3$ çözgen sistemiyle ayırım bileşenlerin ayrılmalarda uygunluk göstermektedir. 1.4 dakikada gözlenen C vitamini ile 2.5 dakikada gözlenen B vitamini standart katma yöntemiyle analizlenebilmektedir. Akış hızını değiştirmekle iyi bir ayırma elde edilememektedir. Şekil 3.7 de görüleceği gibi çözgen hızı değiştirilmesi ayırmaya fazla etki etmemektedir. Daha iyi bir ayırma elde etmek için çözücü programlaması gerekmektedir.

Kolona verilen örneğin konsantrasyonunun ayırma üzerine etkisi yine şekil 3.9. dan görülebilir. Anlaşılacağı gibi normal konsantrasyon aralığında ayırım aynı kalmaktadır.

Şekil 3-12. de B_2 ve C vitamin örneklerinden 5 er µl hacimlerde kolona verilerek pik yüksekliklerinin tekrarlanabilirliği gösterilmiştir.

Kayınsının İşlenmesinde Uygulanan Temel İşlemlerle İlgili Değişmeler

Çizelge 4.1. incelendiğinde B_2 ve C vitamin içeriğindeki değişmeler termal bozunma reaksiyonlarına dayandırılabilirki gerçektende H.R. BOLIN çalışmasında benzer değişimi saptamıştır.

Kükürtleme ile ilgili değişmeler Çizege 4.1 den hacihaliloğlu, hasanbey, ve çöloğlu türleri için incelenildiğinde kurutma işlemlerindeki miktara göre daha az bulunmaktadır. Sayed A. Salem kükürtleme sonucunda kayınsının C vitamin içeriğinin azaldığını göstermiştir ki bu sonuç bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Güneşte kurutma işlemindedi doğal kurutmaya oranla vitamin içeriklerindeki düşüş termal bozunma yanında foto kimyasal reaksiyonlarında önemli olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4-1. Hacıhaliloğlu, hasanbey, çöloğlu türü kayısı-
larda B₂ ve C vitamini düzeyleri (mg/100 g kayısı).

		hacıhaliloğlu	hasanbey	çöloğlu*
Ascorbik Asit	SO ₂	1910	1327	1644
	yapay kurutma	22.12 ± 0.99	19.42 ± 1.2	17.35
	güneş kurusu	10.30 ± 0.79	8.58 ± 0.83	5.77
	kükürtlü	6.31 ± 0.83	6.74 ± 0.64	5.24
Riboflavin	yapay kurutma	0.25 ± 0.017	0.27 ± 0.03	0.17
	güneş kurusu	0.16 ± 0.019	0.17 ± 0.03	0.14
	kükürtlü	0.42 ± 0.075	0.54 ± 0.021	0.49

* Analiz edilen örnek sayısı az olduğundan standar sapma değerleri hesaplanmamıştır.

5. SONUÇ

Çalışmamızda kayısı türlerinden örnek olarak seçilen ve yörede yaygın olarak yetiştirilen hacihaliloğlu, hasanbey, ve çöloğlu türleri için önemli vitamin bileşenleri analizine ışık tutacak sıvı kromatografik yöntemin uygulama koşulları verilmeye çalışılmış ve ayrıca uygulanan işlemlerin değinilen bileşenlere etkisi analiz sonuçlarına göre gösterilmeye çalışılmıştır.

Sunulan bu analiz yöntemiyle Malatya ilinde yetişen diğer türlerin yaş meyvalarının analizleri yapılarak değinilen bileşenlerin çevresel şartlara göre değişimleri incelenebilecek, kurutma ve kükürtleme işlemleri yanında soğutma v.b. diğer işlemlerle muhafazası sırasındaki değişimlerin araştırılmasında optimize ettiğimiz bu metodun kullanılabileceği kanısındayım.

6. BIBLİYOGRAFYA

1. Amin, Monir, " High-performance Liquid Chromatography of Water-soluble Vitamins.", Analyst, 112, 1987, 989
2. Bolin, H. R., Jackson, R., " Factors Affecting Sulfur Diokside Binding in Dried Apples and Apricots.", Journal of Food Proc. and Preserv., 9, 1985, 25-34.
3. Bolin, H. R., Stafford, A. E., " Effect of Processing and Storage on Provitamin A and Vitamin C in Apricot ", J. Food Sci., 39, 1974, 1034-1036.
4. Bushway, A. A., Serreze, D. V., McGann, D. F., True, R. H., Work, T. M., Bushway, R. J., "Effect of Processing Method and Storage Time on the Nutrient Composition of Fiddlehead Greens", J. Food Sci, 50, 1985, 1491-1492.
5. Callmer, K., Davies, L., " Seperation and Determination of Vitamin B₁, B₂, B₆ and Nicotinamide in Commercial Vitamin Preperation Using High Performance Cation-Exchange Chromatography", Chromatographia, 7,11, 1974, 644-650.
6. Dennison, Daniel B, Brawley, Troy G., Hunter, George L. K., " Rapid High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Ascorbic Acid and Combined Ascorbic Acid-Dehydroascorbic Acid in Beverages", J. Agric. Food Chem., 29, 1981, 927-929.
7. Doner, Landis W., Hicks, Kevin B., " High-Performance Liquid Chromatographic Seperation of Ascorbic Acid, Erythorbic Acid, Dehydroascorbic Acid, Diketoglulonic Acid and Diketogluconic Acid", Analytical Biochemistry, 115 1981, 225-230.
8. Duygu, Ergin, Sıvı Kromatografisi, Kimya Mühendisleri Odası, 1986.
9. Ekşi, Aziz, Artık, Nevzat, " Kayısı ve Şeftali Palper posası ile Atılan Besin Ögesi Miktarı", Gıda, 3, 1982 99-102.

10. Esen, Türkan, Güçer, Şeref, " Malatya Kayısılarının iz Element İçerikleri", Yüksek Lisans Tezi, Malatya, İnönü Üniversitesi, 1987.
11. Finley, J. W., Duang, E., " Resoltion of Ascorbic, Dehydroascorbic Acid and Diketogulonic Acids by Paired Ion Reversed-Phase Chromatography", Journal of Chromatography, 207, 1981, 449-453.
12. Geigert John, Hirano, Davis S., Neidleman, Saul L., " High-Performance Liquid Chromatographic Metod for the Determination of L-ascorbic acid and D-isoascorbic Acid" , Journal of Chromatography, 206, 1981, 396-399.
13. Harel, S., Kranner, J., Juven, B. J., Golan R., "Long-term Preservation of High-moisture Dried Apricots with and without Chemical Preservatives", Lebensm.-Wiss.u- Technol., 11, 1978, 219-221.
14. Harper, K. A., Beattie, B. B., Pitt, I. J., Best, D. J., " Texture Changes in Canned Apricots Following Infection of the Fresh Fruit with *Rhizopus stolonifer*", J. Sci. Fd. Agric, 23, 1972, 311-320.
15. Huong Mai, Nguyen, Bui, "Application of High-Performance Liquid Chromatography to the Seperation of Ascorbic Acid from Isoascorbic Acid ", Journal of Chromatography 196, 1980, 163-165.
16. Heimann, W., Fundamentals of Food Chemistry, USA, Ellis Horwood, 1980.
17. Lee, Change M., Lee, Tung-Ching, Chichester, Clinton O. "Kinetics of the Production of Biologically Active Maillard Brownd Products in Apricot and Glucose-L-Tryptophan", J. Agric. Food Chem., 27,3, 1979, 478-482.
18. Odonmazig, P., Ebringerova, Anna, Badga D., Janecek, Frantisek, "Carbohydrate Components of Mongolian Apricot Fruit (*Armeniaca sibirica* L.). Fractional Extraction and General Characteristics", J. Sci. Food Agric. , 36, 1985, 575-582.

19. Pachla, Lawrence A., Kissinger, Peter T., "Determination of Ascorbic Acid in Foodstuffs, Pharmaceuticals and Body Fluids by Liquid Chromatography with Electrochemical Detection", Analytical Chemistry, 48,2, 1976 364-367.
20. Pelletier, Omer, Brassard, Rene, "Determination of Vitamin C in Food by Manual and Automated Photometric Methods", Journal of Food Science, 42,6, 1977, 1471
21. Rose, R. C., Nahrwold, "Quantitative Analysis of Ascorbic Acid and Dehydroascorbic Acid by HPLC", Analytical Biochemistry, 114, 1981, 140-145.
22. Salem, S. A., Hegazi, S. M., "Chemical Changes Occuring During the Processing of Sun-dried Apricot Juice", J. Sci. Fd. Agric., 24,1973, 123-126.
23. Skoog, Douglas A., Principles of Instrumental Analysis, 3rd ed., Japan, Holt Saunders, 1985.
24. Sood, S. P., Sartori, L.E., Wittmer, D.P., Haney, W. G. "HPLC Determination of Ascorbic Acid in Selected Foods and Multivitamin Products", Analytical Chemistry, 48, 6, 1976, 796-798.
25. Tang, C. S., Jenings, W. G., "Volatile Components of Apricot", J. Agr. Food Chem., 15, 1, 1967, 24-28.
26. Wachob, George D., "The Solid Phase Extraction of Water-Soluble Vitamins from Multivitamin and Mineral Tablets", JC, 1, 2, 1985, 110-112.
27. Williams, R. C., Baker, D. R., "Analysis of Water-Soluble Vitamins by High-Speed Ion-Exchange Chromatography", J. Chromatographic Science, 11, 1973, 618-624.
28. Wills, Ron B. H., Scriven Frances M., Greenfield, Heater, "Nutrient Composition of Stone Fruit (Prunus spp.) Cultivars: Apricot, Cherry, Nectarine, Peach and Plum", J. Sci. Food Agric., 34, 1983, 1383-1389.