

**T.C  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**BAZI DİOKSİN/FURAN VE DİOKSİN BENZERİ  
BİLEŞİKLERİN BAZI SENTETİK VE DOĞAL  
ADSORBANLARLA ADSORBSİYONU**

**Dursun KIRIŞIK**

**Danışman  
Yrd. Doç. Dr. Orhan HAZER**

**Yozgat 2014**



**T.C  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**BAZI DİOKSİN/FURAN VE DİOKSİN BENZERİ  
BİLEŞİKLERİN BAZI SENTETİK VE DOĞAL  
ADSORBANLARLA ADSORBSİYONU**

**Dursun KIRIŞIK**

**Danışman  
Yrd. Doç. Dr. Orhan HAZER**

**Bu çalışma, Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından I.F.E/2011-52 kodu ile desteklenmiştir**

**Yozgat 2014**

**T.C.**  
**BOZOK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TEZ ONAYI**

Enstitümüzün Kimya Anabilim Dalı 70110110002 numaralı öğrencisi Dursun KIRIŞIK'ın hazırladığı “**Bazı dioksin/furan ve dioksin benzeri bileşiklerin bazı sentetik ve doğal adsorbanlarla adsorbsiyonu**” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezi ile ilgili TEZ SAVUNMA SINAVI, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği uyarınca 22/05/2014 Perşembe günü saat 10:00’te yapılmış, tezin onayına OY BİRLİĞİYLE karar verilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. İsmail AKDENİZ



Üye : Yrd. Doç. Dr. Orhan HAZER (Danışman)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Ali DELİBAŞ



ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../20..... tarih ve ... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../20.....

(Ünvanı, Adı Soyadı)

Müdür

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	vi
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	iv
TABLOLAR LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ .....	1
2. DİOKSİN/FURAN VE DİOKSİN BENZERİ BİLEŞİKLER.....	4
2.1. Dioksin/Furan ve Dioksin Benzeri Poliklorlu Bifenillerin (PCB'lerin) Oluşumları.....	7
2.1.1. Gaz Fazında Oluşum .....	9
2.1.1.1. Gaz Fazında Yüksek Sıcaklıkta Oluşum (Pyrosynthesis >500 °C) .....	9
2.1.2. Katalitik Oluşum .....	11
2.1.2.1. Ön oluşturucu (precursor) Oluşum.....	11
2.1.2.2. Moleküler Karbon İle Katalitik Oluşum (De novo synthesis) .....	17
2.2. Dioksin/Furan ve Dioksin Benzeri Poliklorlu Bifenillerin (PCB'lerin) Kullanım Alanları .....	20
2.3. Dioksin/Furan ve Dioksin Benzeri Poliklorlu Bifenillerin (PCB'lerin) Toksik Etkileri.....	20
2.4. Dioksin/Furan ve Dioksin Benzeri Poliklorlu Bifenillerin (PCB'lerin) Maruziyet Bilgileri .....	25
3. ZENGİNLEŞTİRME YÖNTEMLERİ .....	27
3.1. Zenginleştirme.....	27
3.2. Poliklorlu Dioksin/Furan ve Bifenillerin Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri .....	28
3.2.1. Sıvı Sıvı Ekstraksiyon.....	28
3.2.2. Soğuk Ekstraksiyon .....	29
3.2.3. Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu (ASE).....	29
3.2.4. Mikrodalga Ekstraksiyonu .....	30
3.2.5. Katı Faz Ekstraksiyonu.....	30
3.2.5.1. Katı Faz Ekstraksiyonunun Üstünlükleri.....	32
3.2.5.2. Katı Faz Ekstraksiyonunun Kullanım Amacı .....	33
3.2.5.3. Katı Faz Ekstraksiyonu Metodunda Maddelerin Ayrılma Prensipleri .....	36
3.2.5.3.1. Normal Faz Katı Faz Ekstraksiyonu.....	37
3.2.5.3.2. Ters Faz Katı Faz Ekstraksiyonu.....	37

3.2.5.3.3. İyon Değişimi Katı Faz Ekstraksiyonu .....	38
3.2.5.3.4. Moleküler Eleme Katı Faz Ekstraksiyonu .....	38
3.2.5.4. Katı Faz Ekstraksiyonunda Sabit Faz Seçimi .....	39
3.2.5.5. Genel Olarak Katı Faz Ekstraksiyonu İşlemlerinin Basamakları .....	41
3.2.5.5.1. Katı Fazın Şartlandırılması .....	42
3.2.5.5.2. Analitin Katı Fazda Tutulması (Besleme).....	44
3.2.5.5.3. Katı Fazda Tutulmayan Türlerin Giderilmesi (Yıkama).....	45
3.2.5.5.4. Analitin Katı Fazdan Sıyırılması (Sıyırma) .....	46
3.2.5.6. Katı Faz Üzerinde Adsorpsiyon Desorpsiyon İşlemleri.....	48
3.2.5.7. Adsorpsiyonu Etkileyen Faktörler .....	49
3.2.5.8. Katı Faz Ekstraksiyonunun PCDD/PCDF ve PCB Analizi Uygulaması..	50
<b>4. GAZ KROMATOĞRAFİSİ.....</b>	<b>56</b>
4.1. Kromatografi .....	56
4.1.1. Gaz–Katı Kromatografisi .....	61
4.1.2. Gaz–Sıvı Kromatografisi .....	61
4.2. Gaz Kromatografisi .....	62
4.2.1. Taşıyıcı Gaz .....	62
4.2.2. Elektronik Basınç Kontrolü (EPC).....	64
4.2.3. Enjeksiyon Bloğu .....	65
4.2.4. Sabit Faz (Kolon) .....	68
4.2.5. Fırın .....	73
4.2.6. Dedektör .....	73
4.3. Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (GCMS).....	75
4.3.1. GC-MS Ara Bağlantıları .....	76
4.3.2. İyon Kaynağı .....	77
4.3.3. Kütle Analizörü.....	78
4.3.4. Dedektör .....	80
4.3.5. Vakum sistemleri .....	80
4.3.6. Veri İşleme Sistemi .....	81
4.4. Gaz Kromatografisi Yüksek Rezolüsyonlu Kütle Spektrometresi (GCHRMS) .....	81
<b>5. MATERYAL METOT .....</b>	<b>83</b>
<b>6. DENEYSEL BÖLÜM.....</b>	<b>87</b>
6.1. Kolonların Hazırlanması .....	87
6.2. Sentetik Polimerlerin Hazırlanması .....	88
6.2.1. Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinilpiridin-ko-divinilbenzen) (PTMVD) Reçinesinin Sentezi ve Karakterizasyonu .....	88

6.2.2. Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) (PTMAD) Reçinesinin Sentezi ve Karakterizasyonu .....	90
6.2.3. Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) (PTAAD) Reçinesinin Sentezi ve Karakterizasyonu .....	92
6.2.4. Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) (PTAAAD) Reçinesinin Sentezi ve Karakterizasyonu .....	95
6.2.5. XAD-1180 Ticari Polimeri .....	97
6.3. Doğal Adsorbanlar .....	98
6.3.1. Spropolen .....	98
6.3.2. Koyun Tüyü .....	98
6.3.3. İnsan Saçı .....	98
6.3.4. Karbon Kolon.....	99
6.4. Katı faz Ekstraksiyonunun (Power Prep) Aşamaları .....	99
6.5. Zenginleştirme.....	113
6.6. Örneklerin Enjeksiyonu ve Sonuçlar .....	114
6.6.1. Cihazın kullanılması.....	114
6.6.2. Enjeksiyon.....	117
6.6.3. Verilerin İşlenmesi .....	117
6.6.4. Geri Kazanım Çalışması .....	117
6.6.5. Adsorbanların Kromatogram Görüntüleri.....	118
6.6.5.1. Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinilpiridin-ko-divinilbenzen) (PTMVD) Reçinesinin Adsorpsiyon Kromatogramı .....	118
6.6.5.2. Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) Reçinesinin Adsorpsiyon Kromatogramı .....	118
6.6.5.3. Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) Reçinesinin Adsorpsiyon Kromatogramı .....	119
6.6.5.4. Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) Reçinesinin Adsorpsiyon Kromatogramı .....	120
6.6.5.5. Polen Adsorpsiyon Kromatogramı.....	120
6.6.5.6. Amberlite XAD-1180 Adsorpsiyon Kromatogramı.....	121
6.6.5.7. Koyun Tüyü Adsorpsiyon Kromatogramı .....	121
6.6.5.8. İnsan Saçı Adsorpsiyon Kromatogramı .....	122
6.6.5.9. Karbon Adsorpsiyon Kromatogramı.....	122
7. SONUÇ .....	124
KAYNAKLAR .....	126
ÖZGEÇMİŞ.....	130

# BAZI DİOKSİN/FURAN VE DİOKSİN BENZERİ BİLEŞİKLERİN BAZI SENTETİK VE DOĞAL ADSORBANLARLA ADSORBSİYONU

**Dursun KIRIŞIK**

**Bozok Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**2014; Sayfa: 130**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Orhan HAZER**

## ÖZET

Dioksin/Furan ve dioksin benzeri bileşiklerin tayininde clean-up aşamasında silika, alumina ve karbon içerikli kolonlardan faydalanılmaktadır. Bu kolonlardan farklı çözücü içeriklerinin geçirilmesiyle dioksin/furan ve dioksin benzeri bileşiklerin farklı fraksiyonlarda ayrımı sağlanmaktadır. Böylece dioksin ve benzeri bileşiklerin kantitatif analizinde en önemli aşama gerçekleştirilmiş olur.

Bu çalışmada kolon dolgu maddesi olarak kullanılan silika, alumina ve karbon gibi kolon dolgu maddelerinden karbonun yerine laboratuvar ortamında hazırlanan doğal adsorbanlar ve sentezlenen çapraz bağlı sentetik adsorbanlar kullanıldı. Çeşitli ayırma ve deriştirme işlemleri kullanılarak vialde alınan numune, GCHRMS ile 10000 rezolüsyonda ölçüm alındı. Numune olarak tüm kolonlarda 2,3,7,8 TCDD standardı kullanılmış olup elde edilen sonuçların geri kazanım değerleri kullanılarak doğal ve sentetik adsorbanların karbona göre performansları değerlendirildi.

Doğal adsorbalardan polen, insan saçı ve koyun tüyü, sentetik polimer olarak poli(1,3-tiazol-2-ilmetakrilamid-ko-4-vinilpiridin-ko-divinilbenzen) (PTMVD), poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) (PTMAD), poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) (PTAAD), poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) (PTAAAD) ve XAD-1180 ticari polimerleri kullanıldı ve mevcut yöntemde kullanılan karbon kolon ile kıyaslandı.

**Anahtar Kelimeler:** Dioksin, Furan, Dioksin Benzeri Bileşikler, 2,3,7,8 TCDD, GCHRMS



# **ADSORPTION OF SOME DIOXIN/FURAN AND DIOXIN-LIKE COMPOUNDS BY SOME SYNTHETIC AND NATURAL ADSORBENTS**

**Dursun KIRIŞIK**

**Bozok University  
Graduate School of Natural  
and Applied Sciences  
Department of Chemistry  
Master of Science Thesis**

**2014; Page: 130**

**Seminar Supervisor: Assist. Prof. Orhan HAZER**

## **ABSTRACT**

In determination of dioxin/furan and dioxin-like compounds, the carbon, silica and alumina content columns are utilized in clean-up phase. By passing different solvent contents from these columns, separation of dioxin/furan and dioxin-like compounds are provided in different fractions. Thus, the most important stage is carried out in quantitative analysis of dioxin-like compounds.

In this study, the natural adsorbents and synthesized cross-linked synthetic adsorbents, which are prepared in laboratory, has been used instead of carbon among these materials; silica, alumina and carbon that are used as column lutes. The sample has been taken into a vial by using several separation and concentration processes and measured at 10000 resolution by GCHRMS. The 2,3,7,8 TCDD standard has been used in all samples' columns and by means of recycling values of these obtained results, the performance of natural and synthetic adsorbents has been evaluated according to carbon.

As a natural adsorbent; pollen, human hair, sheep hair and as a synthetic adsorbent; extraction poly (1,3-thiazol-2-yl methacrylamide-co-4-vinyl pyridine-co-divinylbenzene) (PTMVD), poly(1,3-thiazol-2-yl methacrylamide-co-acrylonitrile-co- divinylbenzene) (PTMAD), poly(1,3-thiazol-2-yl acrylamide-co-acrylonitrile-co- divinylbenzene)(PTAAD), poly(1,3-thiazol-2-yl acrylamide-co-acrylicacid -co- divinylbenzene)(PTAAAD) and furthermore XAD-1180 commercial polymers have been used and they have been compared with carbon column in current method.

**Key Words:** Dioxin, Furan, Dioxin-like compounds, 2,3,7,8 TCDD, GCHRMS

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalıŐmasının planlanması ve gerçekleŐtirilmesinde öneri ve yardımları ile desteğini esirgemeyen değerli hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Orhan HAZER'e teşekkür ederim.

Çalışmanın yapıldığı Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı Dioksin Birimi'ne sağladığı imkânlardan dolayı teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasında ve düzenlenmesinde yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Dilara DEMİR'e teşekkür ederim.

Tezimin devamı boyunca bana her türlü desteği veren değerli eŐim Nuran KIRIŞIK'a teşekkür ederim.

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.1:</b>	2,3,7,8-Tetrakloro Dibenzo p-Dioksin (2,3,7,8- TCDD) .....	2
<b>Şekil 2.1:</b>	Dioksin/Furan ve PCB'lerin genel yapısı.....	4
<b>Şekil 2.2:</b>	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD .....	7
<b>Şekil 2.3:</b>	1,2,3,4,7,8-HxCDD .....	7
<b>Şekil 2.4:</b>	Atık içinde bulunan dioksin/furanın tam olarak parçalanamaması sonucu oluşum. ....	9
<b>Şekil 2.5:</b>	Yanma sırasında oluşan, ya da atık içinde bulunan ön oluşturucu.....	10
	bileşiklerden, gaz fazında (yaklaşık 700°C) dioksin/furan oluşumu....	10
<b>Şekil 2.6:</b>	Poliklorlubifenil (ön oluşturucu) ve PCDF oluşumu. ....	10
<b>Şekil 2.7:</b>	Dioksin/furan'ın uçucu kül üzerinde yoğunlaşan ön oluşturucu bileşikler ile katalitik oluşumu. ....	11
<b>Şekil 2.8:</b>	Klor içermeyen ön oluşturucuların klor vericilerin varlığında yanması ile oluşum. ....	12
<b>Şekil 2.9:</b>	Ön oluşturucu bileşiklerin yüzey klorlanması.....	12
<b>Şekil 2.10:</b>	PCDF'nin uçucu kül üzerinde katalitik oluşumu .....	13
<b>Şekil 2.11:</b>	HCl konsantrasyonu ile klorlu fenol oluşumu arasındaki ilişki .....	15
<b>Şekil 2.12:</b>	Klorlufenol konsantrasyonu ile PCDD konsantrasyonu arasındaki ilişki .....	15
<b>Şekil 2.13:</b>	Organik maddenin yanması ile PCDD/F oluşumu .....	16
<b>Şekil 2.14:</b>	Moleküler karbon ile katalitik oluşum (De Novo Synthesis).....	17
<b>Şekil 2.15:</b>	PCDD/F 'in moleküler karbon ile katalitik oluşumu. ....	18
<b>Şekil 2.16:</b>	Oksidatif parçalanma sırasında ön oluşturucu bileşiğin oluşumu. ....	18
<b>Şekil 2.17:</b>	Seveso kazasına maruz kalan İtalyan çocuk (Prof Paolo Mocarelli) ...	23
<b>Şekil 2.18:</b>	Ukrayna Başkanı Viktor Yushchenko'nun zehirlenme öncesi ve.....	23
	zehirlenme sonrası görüntüsü .....	23
<b>Şekil 3.1:</b>	SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri .....	34
<b>Şekil 3.2:</b>	Analiz edilecek örneğin özelliğine göre seçilmesi gereken SPE ayırma tekniği. (SCX: strong cation exchanger, kuvvetli katyon değişimi yapan; SAX: strong anion exchanger, kuvvetli anyon değişimi yapan).....	39
<b>Şekil 3.3:</b>	Katı Faz Ekstraksiyonu Aşamaları.....	42
<b>Şekil 3.4:</b>	Su molekülleri ile etkileşmiş oktilsilan sabit fazının görünümü .....	43
<b>Şekil 3.5:</b>	Su molekülleri ile etkileşmiş oktilsilan sabit fazının görünümü .....	43
<b>Şekil 3.6:</b>	Ortama metanol ilave edildiğinde oktilsilan sabit fazının görünümü ..	43
<b>Şekil 3.7:</b>	Katı faz üzerinde adsorpsiyon ve desorpsiyon işlemleri .....	49

<b>Şekil 3.8:</b>	Otomatik Katı Faz Ekstraksiyon Sistemi (Power Prep).....	51
<b>Şekil 4.1:</b>	Van Deemter Eğrisi. Denklemdaki değişkenlerin tabaka yüksekliğine etkisi .....	60
<b>Şekil 4.2:</b>	Gaz kromatografi şematik gösterimi. ....	62
<b>Şekil 4.3:</b>	Taşıyıcı gaz cinsinin kromatografik ayırma etkileri. ....	64
<b>Şekil 4.4:</b>	Enjeksiyon bloğu çalışma sistemi .....	65
<b>Şekil 4.5:</b>	Split (Bölmeli) Enjeksiyon.....	66
<b>Şekil 4.6:</b>	Splitless (Bölmesiz) Enjeksiyon.....	67
<b>Şekil 4.7:</b>	Kuadropol GC- MS sisteminin şematik gösteriliş.....	76
<b>Şekil 4.8:</b>	Elektron bombardımanı ile iyonizasyon (EI) .....	78
<b>Şekil 4.9:</b>	Kuadropol kütle analizörü. ....	79
<b>Şekil 4.10:</b>	Gaz Kromatografisi Yüksek Rezolüsyonlu Kütle Spektrometresi (GCHRMS).....	82
<b>Şekil 5.1:</b>	Power Prep saflaştırma ünitesi .....	85
<b>Şekil 5.2:</b>	TurboVapII evaporasyon ünitesi .....	85
<b>Şekil 5.3:</b>	Gaz Kromatografisi Yüksek Rezolüsyonlu Kütle Spektrometresi (GCHRMS) .....	86
<b>Şekil 6.1:</b>	Mini karbon kolonu gösterimi.....	88
<b>Şekil 6.2:</b>	1,3-tiazol-2-il metakrilamid monomeri sentez reaksiyonu.....	89
<b>Şekil 6.3:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinilpiridin-ko-divinil benzen) reçinesinin sentez reaksiyonu .....	89
<b>Şekil 6.4:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) ....	90
<b>Şekil 6.5:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) ....	91
<b>Şekil 6.6:</b>	1,3-tiazol-2-il akrilamid monomeri sentez reaksiyonu.....	92
<b>Şekil 6.7:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) .....	93
<b>Şekil 6.8:</b>	1,3- Tiazol-2-il akrilamid monomerinin FT-IR spektrumu.....	94
<b>Şekil 6.10:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) .....	96
<b>Şekil 6.11:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) .....	97
<b>Şekil 6.12:</b>	İki üniteli Power Prep Saflaştırma Cihazı .....	99
<b>Şekil 6.13:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 1. aşaması.....	101
<b>Şekil 6.14:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 2. aşaması.....	102

<b>Şekil 6.15:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 3. aşaması.....	103
<b>Şekil 6.16:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 4. aşaması.....	104
<b>Şekil 6.17:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 5. aşaması.....	105
<b>Şekil 6.18:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 6. aşaması.....	106
<b>Şekil 6.19:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 7. aşaması.....	107
<b>Şekil 6.20:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 8. aşaması.....	108
<b>Şekil 6.21:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 9. aşaması.....	109
<b>Şekil 6.22:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 10. aşaması.....	110
<b>Şekil 6.23:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 11. aşaması.....	111
<b>Şekil 6.24:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 12. aşaması.....	112
<b>Şekil 6.25:</b>	Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 13. aşaması.....	113
<b>Şekil 6.26:</b>	Turbowap Azot altında solvent uçurma ünitesi.....	114
<b>Şekil 6.27:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinilpiridin-ko-divinilbenzen) reçinesinin adsorpsiyon kromatogramı .....	118
<b>Şekil 6.28:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) .. reçinesinin adsorpsiyon kromatogramı .....	119
<b>Şekil 6.29:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) .. reçinesinin adsorpsiyon kromatogramı .....	119
<b>Şekil 6.30:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) .. reçinesinin adsorpsiyon kromatogramı .....	120
<b>Şekil 6.31:</b>	Polen adsorpsiyon kromatogramı .....	120
<b>Şekil 6.32:</b>	Amberlite XAD-1180 adsorpsiyon kromatogramı.....	121
<b>Şekil 6.33:</b>	Koyun tüyü adsorpsiyon kromatogramı .....	121
<b>Şekil 6.34:</b>	İnsan saçı adsorpsiyon kromatogramı .....	122
<b>Şekil 6.35:</b>	Karbon adsorpsiyon kromatogramı .....	123

## TABLULAR LİSTESİ

<b>Tablo 2.1:</b>	PCDD, PCDF ve PCB'ler için Başlıca Emisyon Kaynakları .....	8
<b>Tablo 2.2:</b>	Dioksin, Furan ve Dioksin benzeri PCB'lerin toksik eşdeğerlik değerleri.....	21
<b>Tablo 3.1:</b>	SPE metodunda sıklıkla kullanılan çözücüler görülmektedir.....	40
<b>Tablo 3.2:</b>	Katı Faz Ekstraksiyonunda Kullanılan Katı Fazlar .....	41
<b>Tablo 3.3:</b>	Katı faz ayırması için ekstraksiyon ve ayırma sorbentleri .....	47
<b>Tablo 3.4:</b>	SPE'nin ekstraksiyon ve saflaştırma tekniği uygulamaları.....	52
<b>Tablo 4.1:</b>	Kolon kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması .....	57
<b>Tablo 6.1:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesinin elementel analiz sonuçları.....	91
<b>Tablo 6.2:</b>	Reçine bileşim oranları .....	91
<b>Tablo 6.3:</b>	1,3- tiazol-2-il akrilamid monomerinin elementel analiz sonuçları.....	93
<b>Tablo 6.4:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesinin elementel analiz sonuçları.....	95
<b>Tablo 6.5:</b>	Reçine bileşim oranları .....	95
<b>Tablo 6.6:</b>	Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) reçinesinin elementel analiz sonuçları.....	97
<b>Tablo 6.7:</b>	Reçine bileşim oranları .....	97
<b>Tablo 7.1:</b>	Kullanılan adsorbanların geri kazanım değerleri.....	125

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>AHR</b>	:	Aril Hidrokarbon Reseptör
<b>IARC</b>	:	Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi
<b>KOK</b>	:	Kalıcı Organik Kirletici
<b>PCB</b>	:	Poli Klorlu Bifenil
<b>PCDD</b>	:	Poli Klorlu Dibenzo Dioksin
<b>PCDF</b>	:	Poli Klorlu Dibenzo Furan
<b>PCP</b>	:	Penta Kloro Fenol
<b>TCP</b>	:	Tri Kloro Fenol
<b>TEF</b>	:	Toksik Eşdeğerlik Faktörü
<b>TEQ</b>	:	Toksik Eşdeğerlik Konsantrasyonu
<b>PAH</b>	:	Poli Aromatik Hidrokarbon
<b>HxCDD</b>	:	Hekza Kloro Dibenzo Dioksin
<b>HpCDD</b>	:	Hepta Kloro Dibenzo Dioksin
<b>SCX</b>	:	Kuvvetli Katyon Değiştirici
<b>SAX</b>	:	Kuvvetli Anyon Değiştirici
<b>SPE</b>	:	Katı Faz Ekstraksiyonu
<b>SCF</b>	:	Gıda Bilim Komitesi
<b>FAO</b>	:	Dünya Tarım Örgütü
<b>JACFA</b>	:	Gıda Katkısı Uzman Komitesi

<b>TDI</b>	:	Tolere Edilebilir Günlük Alım Miktarı
<b>ASE</b>	:	Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu
<b>Kc</b>	:	Dağılma Katsayısı
<b>t<sub>R</sub></b>	:	Alıkonma Zamanı
<b>GLC</b>	:	Gaz Sıvı Kromatografi
<b>GSC</b>	:	Gaz Katı Kromatografi
<b>WCOT</b>	:	Duvarı Kaplı Açık Tübüler Kolon
<b>SCOT</b>	:	Destek Kaplı Açık Tübüler Kolonlar
<b>FSOT</b>	:	Silica Birleştirilmiş Açık Tübüler Kolonlar
<b>SIM</b>	:	Seçilmiş İyon Taraması
<b>TIC</b>	:	Toplam İyon Taraması
<b>(PTMVD)</b>	:	Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinilpiridin-ko-divinilbenzen)
<b>(PTMAD)</b>	:	Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen)
<b>(PTAAD)</b>	:	Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen)
<b>(PTAAAD)</b>	:	Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen)



## 1. GİRİŞ

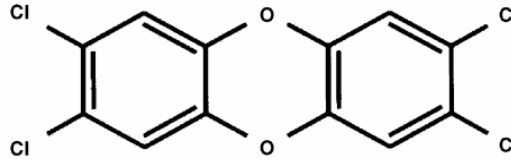
Türkiye, 125 ülkeninde taraf olduğu Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP) altında, kalıcı organik kirleticilerin emisyonlarını azaltacak, ya da ortadan kaldıracak olan küresel nitelikli bir anlaşma olan, Stockholm Sözleşmesini imzalamış bulunmaktadır.

Stockholm konvensiyonunda 2025 yılına kadar KOK'ların kullanımının tamamen durdurulması ve kirlenmiş alanların iyileştirme çalışmalarının tamamlanması temel hedef olarak gösterilmiştir.

KOK'lar, doğa koşullarında bozunmaya karşı oldukça dirençli olmaları ve yarı uçucu yapıları nedeniyle çevrede uzun süre bozunmadan kalan, yağda çözünme özelliklerinden dolayı besin zincirinde üst basamaklara aktararak biyolojik birikime uğrayan, bu yolla da insan sağlığı ve çevre üzerinde zararlı etkilere yol açan kimyasal bileşiklerdir.

KOK grubunda çok sayıda organik madde bulunmasına karşılık, organik klorlu pestisitler, poliklorlu bifeniller (PCB'ler) ve poliklorlu dioksin ve furanlar (Poliklorludibenzo-p-dioksinler/Furanlar (PCDD/F's)) özellikle yaban hayat ve insan sağlığı üzerinde yarattıkları etkiler nedeniyle pek çok ülkede onlarca yıldır süregelen biyoizleme çalışmalarının başlatılmasına neden olmuşlardır. Bu bileşiklerde özellikle PCDD/F'ler, endüstriyel yan ürünler olup çeşitli yanma prosesleri sonucu atmosfere atılmakta ve atmosferik dağılım/birikim mekanizmaları sonucu uzun mesafelere yayılıp geniş çaplı çevresel kirliliğe yol açabilmektedirler. Poliklorludibenzo-para-dioksinler (PCDD), poliklorludibenzo furanlar (PCDF) ve poliklorlu bifeniller (PCB) suda çok az çözündüklerinden metabolik ve çevresel yıkımlanmalara dayanıklı ve doğada kararlı durumda bulunan yüksek derecede zehirli, geniş yayılım alanına sahip çevresel kirleticilerdir [1]. Bu bileşikler toprak, su ve havanın yanı sıra özellikle canlıların yağ dokularında birikim gösterirler. Yağ dokuda birikme nedenleri yapılarındaki klor varlığıdır. Dioksin ve benzeri bileşiklerin en zehirlisi olan 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksin bu konu ile ilgili çalışmalarda model olarak kullanılmaktadır. Endüstrinin gelişmesiyle beraber çevreye yayılan dioksin

miktarlarının insan ve hayvan sağlığı üzerinde kanser oluşumu, immun sistem bozuklukları, kloroakne oluşumu, hormon ve üreme sistemi fonksiyon bozuklukları oluşturmak gibi birçok olumsuz etkileri mevcuttur. Bu nedenle özellikle suda kararlı durumda kalabilen ve su canlılarında birikim yapma özelliği gösteren dioksin ve benzeri bileşiklerin kaynakları, toksikokinetiği, etki şekli, kabul edilebilir günlük alım miktarları ve oluşturduğu sağlık risklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir [2].



**şekil 1.1.** 2,3,7,8-Tetrakloro Dibenzo p-Dioksin (2,3,7,8- TCDD)

Bugüne kadar 75 PCDD, 135 PCDF ve 209 PCB üyesi bileşik tanımlanmıştır. Bunlardan sadece 2,3,7,8 pozisyonuna klor bağlanan 7 PCDD, 10 PCDF ve 12 PCB üyesinin karakteristik olarak dioksin benzeri zehirlenmelere neden olduğu bildirilmiştir [3]. Dioksin bileşikleri, yapılarında karbon, oksijen, hidrojen atomları bulunduran ve yapılarındaki karbon atomlarının klorlanmasıyla şekillenen, sıvı haldeyken renksiz ve kristalize görünümlü kimyasallardır.

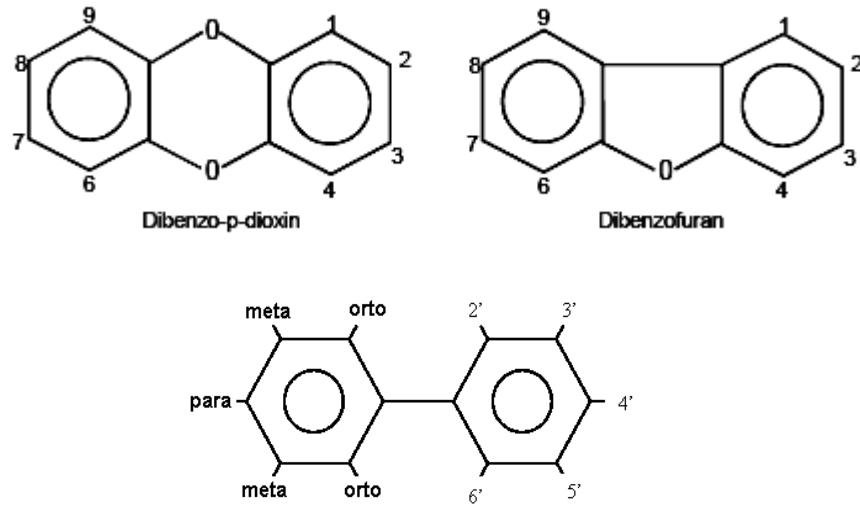
Dioksinleri çevredeki dağılımları ve uğradıkları dönüşümlere ilişkin olarak laboratuvar, çevresel ortamlar ve izleme araştırmalarının sürekli artmasına karşılık, çevresel açıdan tehlikeli bu bileşiklerin dağılımları ve taşınma yolları henüz tam olarak anlaşılabilmış değildir. PCDD/F bileşiklerinin, yağdaki çözünürlüklerinin, sudaki çözünürlüklerine göre daha yüksek olması nedeniyle bu bileşikler toprak, sediment ve su ortamlarında temel olarak partiküller halinde ve organik maddelere bağlı olarak bulunurlar. Bunun yanı sıra bunlar kadar yoğun olmasa da önemli ölçüde gaz fazında buldukları da bildirilmiştir [2].

Dioksin/Furan ve dioksin benzeri bileşiklerin tayininde clean-up aşamasında silika, alumina ve karbon içerikli kolonlardan faydalanılmaktadır. Bu kolonlardan farklı çözücü içeriklerinin geğerilmesiyle dioksin/furan ve dioksin benzeri bileşiklerin farklı fraksiyonlarda ayrımı sağlanmaktadır. Böylece dioksin ve benzeri bileşiklerin kantitatif analizinde en önemli aşama gerçeleştirilmiş olur.

Bu çalışmada kolon dolgu maddesi olarak kullanılan silika, alumina ve karbon gibi kolon dolgu maddelerinden karbonun yerine laboratuvar ortamında hazırlanan ve sentezlenen doğal ve çapraz bağlı sentetik adsorbanlar kullanılmıştır. Çeşitli ayırma ve deriştirme işlemleri kullanılarak vial ortamına alınan numune, GCHRMS ile 10000 rezolüsyonda ölçüm alınmıştır. Numune olarak tüm kolonlarda 2,3,7,8 TCDD standardı geçirilerek adsorbsiyon sonuçların geri kazanım değerleri bulunmuştur. Doğal ve sentetik adsorbanların karbona göre performansları değerlendirilmiştir.

## 2. DİOKSİN/FURAN VE DİOKSİN BENZERİ BİLEŞİKLER

Dioksinler, Furanlar ve Bifeniller iki benzen halkası içeren klorlu aromatik bileşiklerdir. Dioksin molekülünde benzen moleküller iki oksijen atomu ile bağlanırken, Furan molekülünde benzen halkaları tek oksijen atomu ile bağlanır. Bifenil grubu ise iki benzen halkasının oksijen olmadan direk bağlanmasıyla oluşan dioksin benzeri bir bileşiktir. Poliklorlu dibenzo-p-dioksin (PCDD) ve poliklorlu dibenzofuran (PCDF), 1-8 klor atomlu trisiklik aromatik hidrokarbonların bir grubudur [4]. Yapılarına farklı sayıda klor bağlanmasıyla konjenerleri oluşmaktadır. Tabii aynı zamanda toksisite değerleride değişmektedir.



**Şekil 2.1.** Dioksin/Furan ve PCB'lerin genel yapısı

Genel anlamda “dioksin” terimi; kimyasal yapı olarak benzerlik gösteren poliklorlu dibenzo-p-dioksinler (PCDD veya dioksinler), poliklorlu dibenzofuranlar (PCDF veya furanlar) ve poliklorlu bifenil (PCB) gruplarını kapsayan halojenli aromatik hidrokarbonların bir sınıfı olarak tanımlanmaktadır [3].

Dioksin ve furanların su, toprak, sediment ve bitkilerdeki oranı, bu bileşiklerin moleküler ağırlığı, buhar basıncı ve sudaki çözünürlükleri ile tahmin edilebilir. Bu bileşikler emisyon salınımları ile çevreye bir kez girdiği zaman fiziksel ve biyolojik proseslerin sonucu olarak çevrede dağılırlar. Dioksin/furan ve diğer kalıcı organik bileşikler, suda çözünmeyen, yarı uçucu (semi volatile) bileşikler olarak

sınıflandırılır ve vücutta birikme eğilimi gösterirler. Atmosfere salınan PCDD/F bileşikleri, çevresel koşullara göre, partikül ya da gaz fazında olabilirler ve atmosferde uzun mesafelerde taşınır; toprak, bitki ve diğer yüzeylerin üzerinde ıslak ya da kuru olarak depolanırlar. Toprak ve sedimentte sıkı bir şekilde adsorbe oldukları için, bu bileşiklerin hareketliliği azalır. Onların hareketi, organik solventlerin, örneğin mineral yağların varlığında artabilir. Toprakta adsorbe olan bu bileşikler, buharlaşma ya da askıda katı madde olarak tekrar atmosfere karışabilirler. Atmosferik taşınım ve depolama bu bileşiklerin çevrede dispersiyonu için birincil yoldur. Dioksin/furan ve benzeri bileşikler çoğu yerleşim yerinde (kırsal alanlarda dahil) ıslak ve kuru depolama olarak ölçülmektedir. Dioksinin atmosferde kalma süresi 2-21 gün, furanın ise 7-21 gün olarak belirtilmiştir [4].

Bileşikte klor sayısı arttıkça buhar basıncı azalır, bileşik partikül özelliği gösterir ve kuru olarak toprak, sediment, su ve bitkilerin üzerinde depolanır. Bu nedenle hepta ve okta klorlu dioksin/furan bileşikleri kuru olarak depolanırlar. Düşük klorlu bileşikler ( $Cl_4$ - $Cl_8$ ), gaz fazında bulunurlar ve ıslak depolama prosesleri ile depolanırlar. Kaynaktan uzaklık arttıkça, bileşiklerin çökme özelliği gösterdiği bulunmuştur. Kaynaktan çıkan düşük klorlu bileşikler, atmosferde taşınırken, kaynaktan uzaklık arttıkça, diğer bileşiklerle reaksiyona girerek, kimyasal yapısında değişiklik olup, örneğin klor sayısı artıp, çökme özelliği gösterebilir. Yapılan çalışmalarda özellikle endüstriyel ülkelerde, toprakta yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. Sediment gibi toprak da bu bileşikler için en iyi tutulma ortamıdır. Eğer toprak ya da sediment organik maddece zenginse (>%0.1 organik karbon) dioksin/furan toprakta sıkı bir şekilde adsorbe olur.

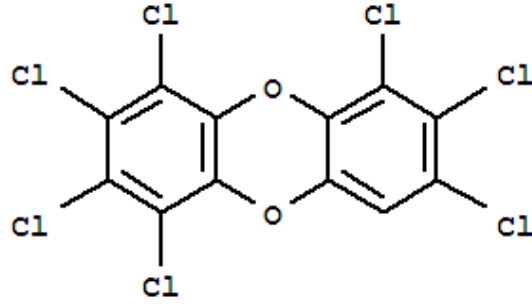
Bu bileşikler bitki yüzeyinde de tutulurlar ve bu bitkilerle beslenen hayvanların yağ dokularında biyolojik olarak birikirler. Özellikle gaz fazında bulunan düşük klorlu bileşiklerin, bitki üzerinde tutulması dominanttır. Bu bileşikler su bünyelerine, atmosferden direkt depolama (ıslak-kuru depolama), deşarj ya da erozyon ile girerler. Su içinde, dip sedimentinde adsorbe olurlar ya da su kütlesi içinde, askıda katı madde olarak bulunurlar. Su kütlesi içinde, çözülmüş organik madde (karbonhidrat, yağ asitleri, amino asit, peptit) ya da partikül halde (ölü ya da canlı organizmalar, erozyon ile suya katılan organik maddeler, atıksu deşarjı ile suda bulunan askıda

organik maddeler) bulunan organik maddelere tutunurlar. Aynı zamanda, yüzeysel sulardan buharlaşma ile tekrar atmosfere karışabilir ya da dip sedimentinde, gömülü olarak kalırlar. Sediment, dioksin/furan bileşikleri için çökme yeri olarak görev yapar. Balıklar da sediment ve askıda katı halde bulunan bu maddelerle beslenerek, temas ederek ya da bu bileşikleri içeren organizmaları (fitoplankton, zooplankton) tüketerek, dioksin/furan ve benzeri ekotoksik bileşikleri vücutlarında biyolojik olarak biriktirirler. Dioksin/furan ve benzeri bileşikler lipofilik, yarı uçucu (semi-volatile) ve biyolojik ve kimyasal bozulmaya karşı dirençli olmaları ile karakterize edilirler. Atmosfere salınan dioksin/furan bileşikleri, çevresel şartlara bağlı olarak, hem partikül hem de gaz fazında olabilirler ve atmosferde uzak mesafelere (>1000km) taşınabilirler [4].

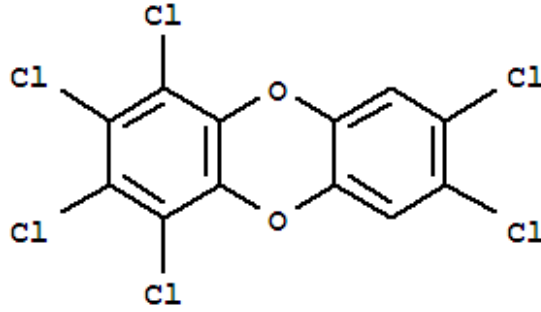
PCB'ler ise yarı uçucu özelliklerinden dolayı gaz ve/veya partikül fazda bulunabilirler. Böylece atmosferdeki reaksiyonları, dönüşümleri, taşınımları ve çökelmeleri meteorolojik şartlara da bağlı olarak değişim gösterebilir. Kararlı özellikleriyle atmosferde uzun süreler kalıp uzak mesafelere taşınabilirler. Temiz su kaynakları ve birçok yüzeysel alanlara çökerek bu yüzeylerin de kirlenmesine sebep olurlar. Deniz, göl, baraj ve nehir gibi doğal su kaynaklarının yüzeyiyle temas eden PCB'ler, sıvı-gaz değişim kapasiteleri, sıcaklık ve konsantrasyon eğilimlerine (Gradyanlarına) bağlı olarak kolaylıkla suya geçebilirler [5].

Bu bileşikler, çevresel koşullar altında biyolojik olarak konsantre olup, ilgili konsantrasyonlarda toksik olabilirler. 4-8 klorlu dioksin/furan bileşikleri, poliklorlubifenillere göre daha düşük buhar basıncına sahiptir. Bu nedenle daha çabuk çöküp (kuru depolama), toprak ve sedimentte birikirler [6].

Bu bileşiklerin toksik güçleri, klor gruplarının molekülde bağlandıkları karbon atomlarına göre değişiklik gösterir. Örneğin 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD bileşiğinin TEF değeri 0,01 iken 1,2,3,4,7,8-HxCDD'nin Toksik Eşdeğerlik Faktörü (TEF) değeri 0,1 olup bu bileşik 1,2,3,4,5,7,8-HpCDD bileşiğinden 100 kat daha zehirlidir [7]. Bu bileşikler içinde en zehirli olanı 2,3,7,8-TCDD olup renksiz, kokusuz ve sıvı haldeyken kristalize görünümlü bir bileşiktir [3].



Şekil 2.2. 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



Şekil 2.3. 1,2,3,4,7,8-HxCDD

### 2.1. Dioksin/Furan ve Dioksin Benzeri Poliklorlu Bifenillerin (PCB'lerin) Oluşumları

Dioksin ve benzeri bileşikler en fazla yanma sistemlerinde oluşmaktadır. Başlıca; atık yakma (kentsel katı atıklar, lağım pisliği, tıbbi atıklar ve tehlikeli atıklar gibi); yakıt yakma (kömür, odun, petrol gibi) ve diğer yüksek ısı kaynakları (çimento ocakları, bina yangınları, herhangi bir klorlu bileşiğin yanması gibi) sırasında dioksinler ortaya çıkmaktadır [7-8-9]. Bu gün sadece atık yakma tesisleri değil termal–endüstriyel proses kategorisinde bütün yanma proseslerinde 180°C'nin üzerindeki sıcaklıkta yanma sırasında, klorun karbon kaynakları ile kombinasyonu PCDD/F'in potansiyel kaynağıdır [4].

Dioksin ve benzeri bileşikler demir cevheri katılaştırılması, çelik üretimi, hurda metal geri kazanımını içeren birincil ve ikincil metal işlemlerinin çeşitli tipleri sırasında oluşabilmektedir.

Dioksin ve benzeri bileşikler, kağıt hamurunun klorla beyazlatılması, ayrıca klor ve klorlu fenoller, PCB'ler, fenoksi herbisitler, klorlu benzenler, klorlu alifatik bileşikler, klorlu katalizörler ve halojenli difenil eterler gibi klorlu bileşiklerin üretimi sırasında yan ürün olarak oluşabilmektedirler [7].

Dioksin ve benzeri bileşiklerin kalıcı ve hidrofobik yapıda olmaları, toprakta, sedimentlerde ve organik maddelerde birikim yapmalarına ve atıkların toplandığı alanlarında yıllarca bozulmadan kalmalarına neden olmaktadır. "Rezervuar" adı verilen bu ortamlardaki dioksin bileşikleri, tozlar veya sedimentlerin taşınmasıyla doğaya yeniden dağılılabirler. Bu bileşikler, küresel anlamda önemli bir kaynak olmamakla birlikte, yerel olarak oldukça önemli bir duruma gelebilirler. Örneğin, sedimentlerden havaya karışarak doğal yollardan, ya da bir takım sondaj işlemleri sırasında dioksin bileşikleri ortaya çıkabilmektedir [2].

**Tablo 2.1.** PCDD, PCDF ve PCB'ler için başlıca emisyon kaynakları [4]

---

Atık yakılması
Demirli ve demirsiz metal üretimi
Elektrik üretimi ve ısınma
Mineral (kireç, çimento, seramik, cam ve asfalt karışımı) üretimi
Ulaşım (trafik araçları)
Kontrolsüz yanma prosesleri (biyomas yakılması, atık yakılması, kaza ile olan yangınlar)
Kimyasalların ve tüketici gıdalarının üretimi (Kağıt ve pulp endüstrisi, tekstil ve deri endüstrisi, kimyasal endüstri)
Düzenli depolama ve biriktirme (çamur arıtımı, kompostlama, atık yağların birikimi)
Sigara dumanı, biyomas kurutulması

---

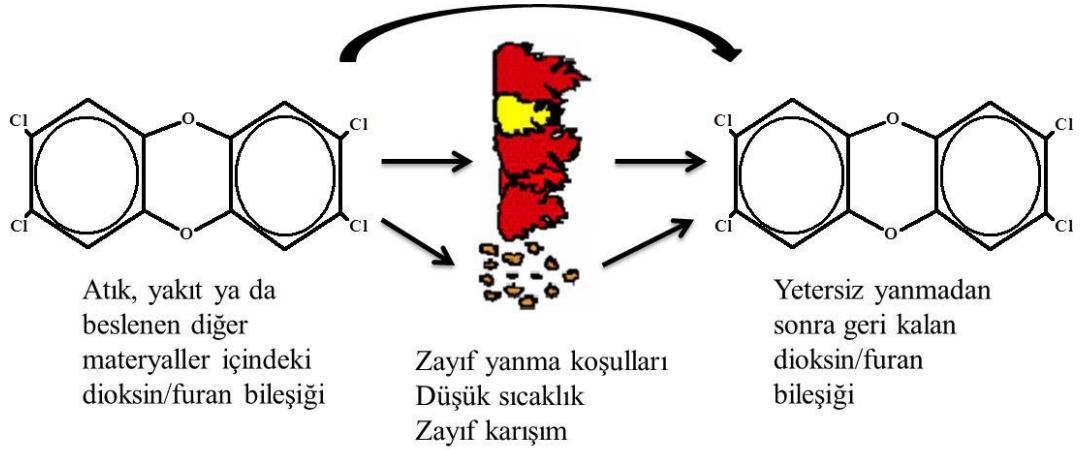
PCDD/F oluşumu en çok yanma proseslerinde gerçekleşmektedir. Yanma proseslerinde ise gaz fazında oluşum ve katalitik fazda oluşum en önemli PCDD/F kaynağını oluşturmaktadır.



## 2.1.1 Gaz Fazında Oluşum

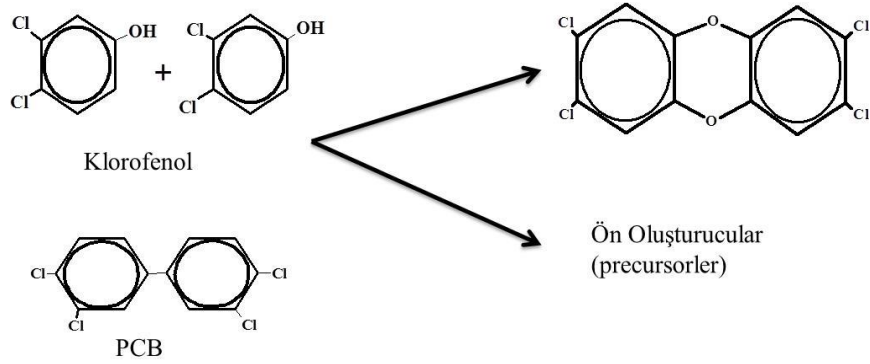
### 2.1.1.1 Gaz Fazında Yüksek Sıcaklıkta Oluşum (Pyrosynthesis >500 °C)

Atık içinde ya da yakıtta bulunan PCDD/F'in, tam olmayan yanma koşullarında, termal olarak parçalanamaması sonucu olan oluşumdur.



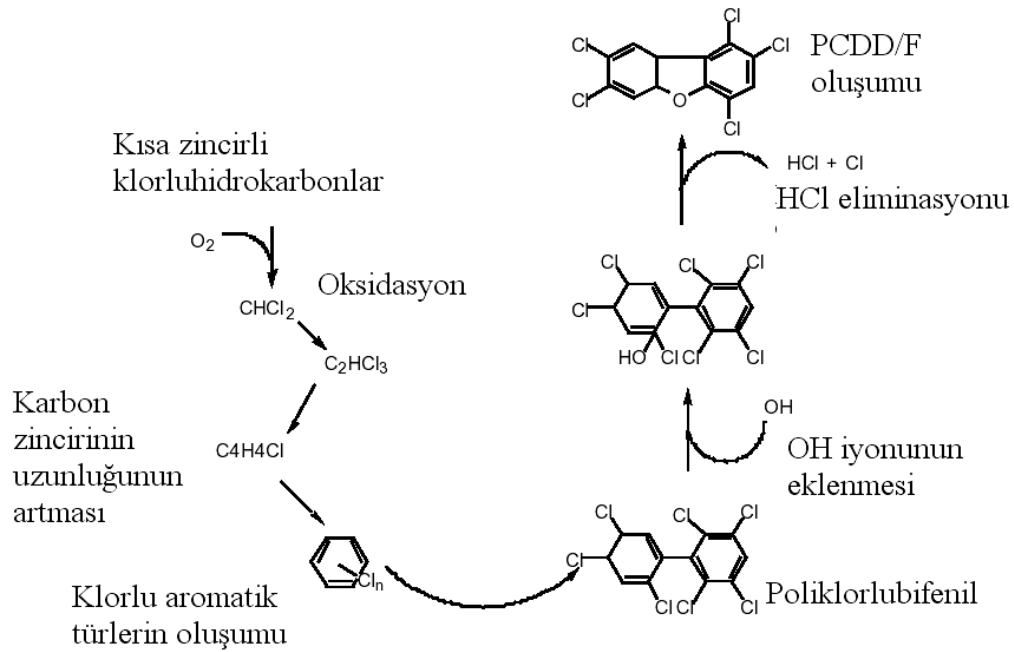
**Şekil 2.4.** Atık içinde bulunan dioksin/furanın tam olarak parçalanamaması sonucu oluşum.

Aynı zamanda gaz fazında yanma sırasında, etkisiz yanma koşullarında, ön oluşturucu bileşiklerde oluşur. Bu bileşiklerin tam olarak yanmaması ile dioksin/furan oluşur. Ön oluşturucu bileşikler (klorofenol, klorobenzen, poliklorlubifenil), yakılacak olan atık içinde de bulunabilir ve etkisiz yanma koşullarında, bu bileşikler dioksin/furana dönüşür. Bu ön oluşturucu bileşikler ile gaz fazında oluşum > 500 °C, yaklaşık olarak 700-750°C civarında olur. Ön oluşturucu bileşiklerin bir kısmı da, uçucu kül üzerinde adsorplanarak, soğuk bölgeye taşınır. Soğuk bölgede, katalitik oluşum sıcaklığı daha düşüktür. <500 °C, yaklaşık olarak 300-350 °C aralığındadır.



**Şekil 2.5.** Yanma sırasında oluşan, ya da atık içinde bulunan ön oluşturucu bileşiklerden, gaz fazında (yaklaşık 700°C) dioksin/furan oluşumu.

Termokimyasal analizlere göre, PCDD/F oluşumu için çeşitli reaksiyonlar oluşmaktadır. PCDD/F oluşumunda HCl eliminasyonu ve Cl kaybı oluşur. Bu reaksiyonlar, OH<sup>-</sup> radikalinin eklenmesi ile oluşur. OH<sup>-</sup> radikalinin eklenmesi ile oluşan reaksiyonlar ile, halkanın birleşmesi sağlanır. Yine bu OH<sup>-</sup> radikali halkaların ayrılması ve türlerin parçalanmasından da sorumludur. Bu reaksiyonlar PCDD/F'in gaz fazında ki oluşumudur ve oldukça önemlidir. Yapılan çalışmalarda, gaz fazında kısa zincirli klorlu hidrokarbonlardan oluşan ön oluşturucunun (precursor), PCDD/F'e dönüşümü açıklanmıştır. Kısa zincirli hidrokarbonlardan poliklorlubifenil oluşumu ve ardından PCDF oluşumu Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



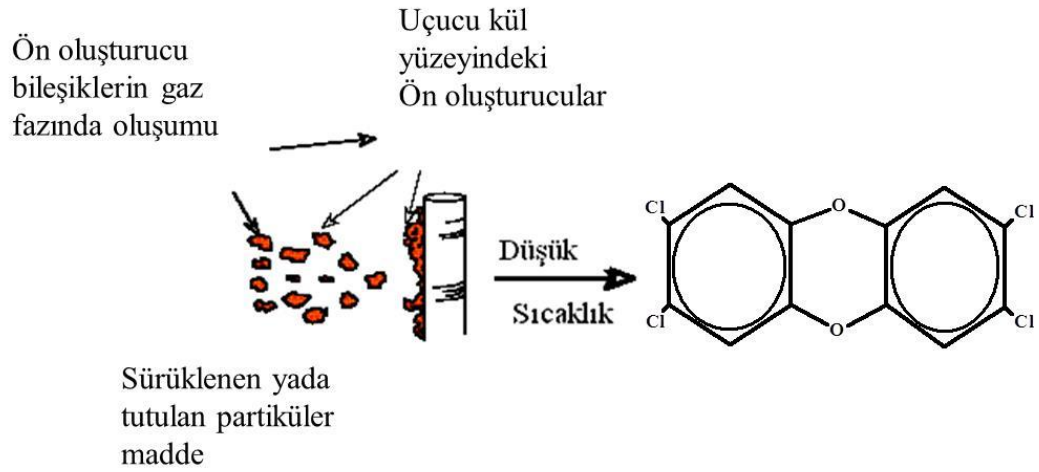
**Şekil 2.6.** Poliklorlubifenil (ön oluşturucu) ve PCDF oluşumu.

## 2.1.2 Katalitik Oluşum

PCDD/F'in uçucu kül yüzeyinde, katalizör reaksiyonları ile oluşumu, özellikle yakma tesislerinde önemlidir. 2 katalitik proses vardır.

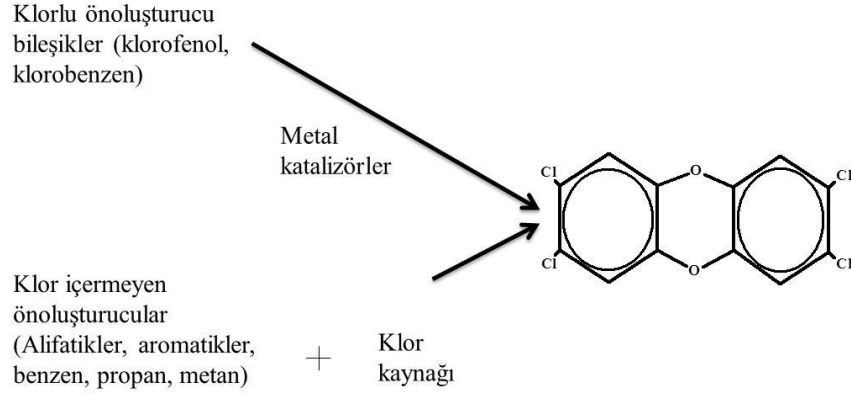
### 2.1.2.1 Ön oluşturu (precursor) Oluşum

Klorofenol ve klorobenzen gibi bileşiklerin yüzey-katalizör reaksiyonlarını içerir. PCDD/F, klorofenol, klorobenzen ve klorlubifenil gibi ön oluşturu bileşiklerden oluşabilir. Bu ön oluşturu bileşikler, tam olmayan yanmanın ürünleridir ve yüksek sıcaklıkta  $> 400\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, çoğunlukla  $750^{\circ}\text{C}$ 'de oluşurlar ve yanma odasından sonra ki daha düşük sıcaklıkta ki bölgelerde reaksiyona girerler [10].



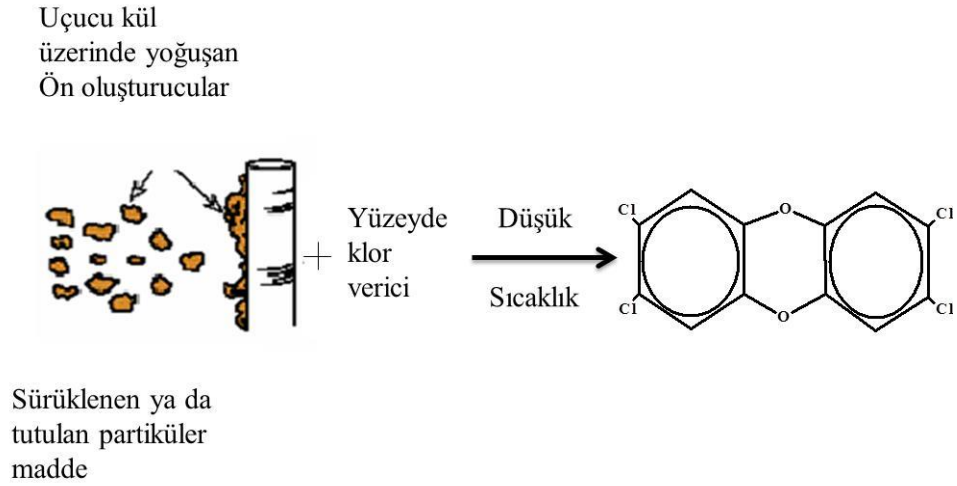
**Şekil 2.7.** Dioksin/furan'ın uçucu kül üzerinde yoğuşan ön oluşturu bileşikler ile katalitik oluşumu.

İki klor içermeyen organik maddeler (alifatikler, aromatikler, propen, benzen, metan, selüloz, lignin), klor vericilerin varlığında yandığı zamanda dioksin/furan oluşur.



**Şekil 2.8.** Klor içermeyen ön olüştürücülerin klor vericilerin varlığında yanması ile oluşum.

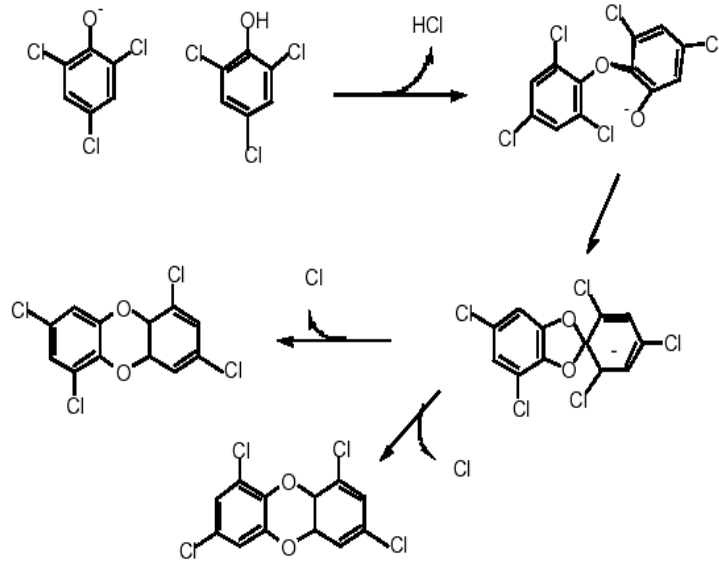
Ön olüştürücü moleküllerin, uçucu kül üzerinde yoğunlaşması ve metallere reaksiyona girmesiyle PCDD/F oluşur. Oluşan ön olüştürücü bileşikler klor içermeyebilir, bu bileşikler uçucu kül yüzeyinde adsorbe olarak da klorlanabilirler, buna yüzey klorlanması denir. PCDD/F oluşumu, ön olüştürücülerin konsantrasyonuna ve reaksiyon sıcaklığına bağlıdır [11].



**Şekil 2.9.** Ön olüştürücü bileşiklerin yüzey klorlanması.

PCDD/F oluşumunda önemli olan ön olüştürücü bileşiklerden biri klorofenollerdir. Bu bileşikler, fenolik karakterli yapıya bağlanan, 1 ya da daha fazla klor atomu içeren monosiklik bileşiklerdir. Pentaklorofenol(PCP), dioksinin en önemli potansiyel ön olüştürücüsü olarak kabul edilir. PCP'nin üretimi 1940'da başlamış olup, 1970'de pik değere ulaşmış ve 1980'de üretimi durdurulmuştur. PCP, pek çok

uygulamada vardır. Örneğin kereste ağartımı, boya ve pigmentlerde, odun arıtımında, kanalizasyon çamurlarında, ve PCP içerikli odunun yanması sırasında gözlenir [12]. PCDD oluşumu, klorlu fenolat anyonlarının katalitik yüzeye bağlanması ve ardından oksidatif halkanın kapanması olarak açıklanmaktadır. Burada katalizör, 2 aromatik halkanın birleşmesi için elektron transfer oksidantı olarak görev yapar. Dioksin oluşumu, HCl ve Cl eliminasyonu reaksiyonlarını takiben görülür. Bu reaksiyonlar Şekil 2.10'da görülmektedir. Şekilde 2,4,6-triklorofenol reaksiyonu sonucu 1,3,7,9-TCDD ya da 1,3,6,8-TCDD oluşur. Alkali kül, poliklorlufenolü daha fazla adsorplar ve PCDD oluşumu artar. Şekil 2.10 reaksiyon süresi yaklaşık olarak 1 saniyedir.

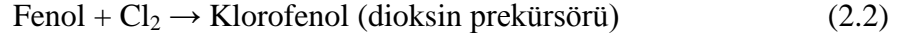


**Şekil 2.10.** PCDF'nin uçucu kül üzerinde katalitik oluşumu

Ulman(I) reaksiyonları, klorlubifenillerin oluşumu için yoğunlaşma (condensation) reaksiyonlarını kolaylaştırır. Ulman(II) reaksiyonları klorludifenil eterlerin oluşumunu kolaylaştırır ve bu bileşikler PCDF oluşumu için hızlı bir şekilde dekompoze olurlar. Uçucu külde, elektrofilik klorinasyonun olduğu söylenir. Ön oluşturucu (precursor) mekanizma ile PCDD/F oluşum adımları aşağıda açıklanmıştır. Deacon Reaksiyonları ile HCl'den Cl<sub>2</sub> oluşur.

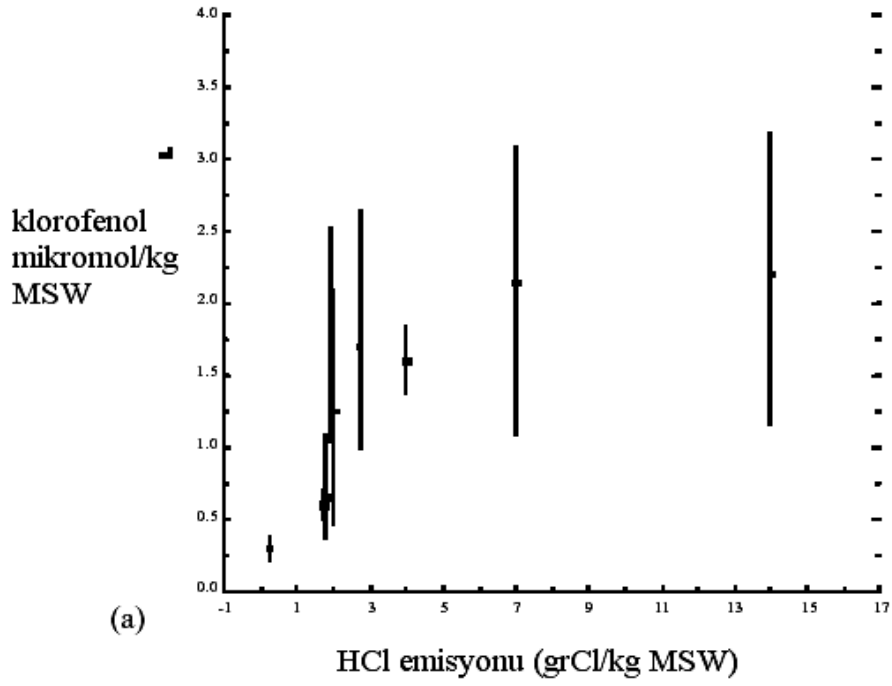


Fenolik bileşikler, uçucu kül yüzeyinde adsorplanır ve adsorplanan bileşikler klorlanarak dioksin oluşumu için ön oluşturucu bileşikleri oluştururlar. Ön oluşturucu bileşiklerin termal parçalanması ve moleküler olarak yeniden düzenlenmesi ile dioksin/furan oluşur. Bu reaksiyonlarda  $\text{CuCl}_2$  katalizör olarak davranır ve reaksiyonları hızlandırır.

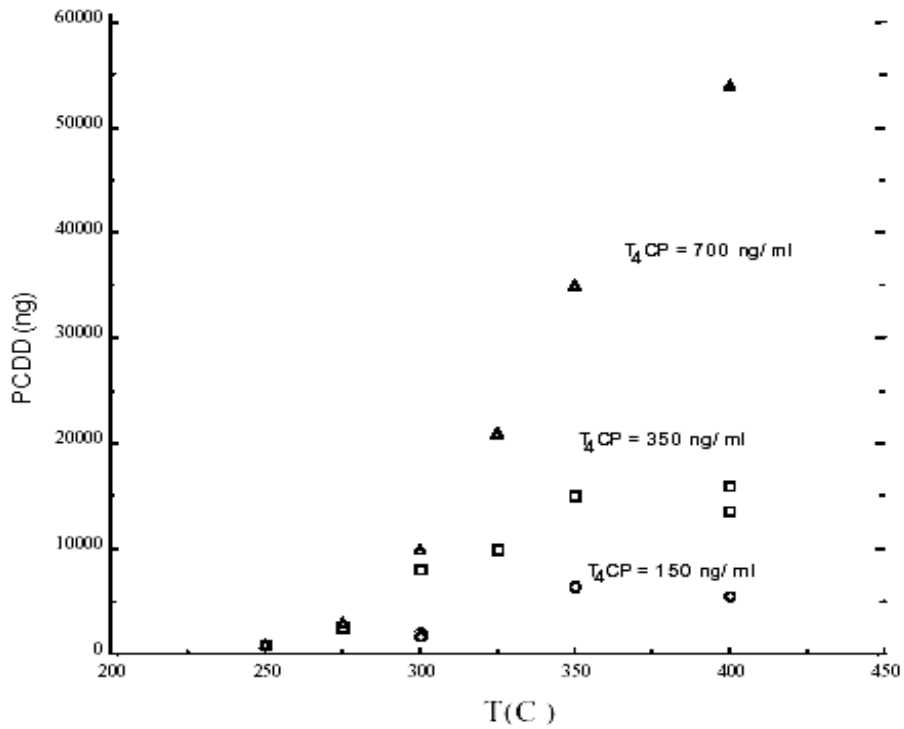


Dioksin/furan, klorlu aromatik hidrokarbonlar olarak tanımlanan halkalı ön oluşturucu bileşiklerin termal parçalanması ile oluşur. Halkalı ön oluşturucu bileşikler ise, tam olmayan yanma sonucu oluşan bileşiklerin, tam olmayan oksidasyonu sonucunda oluşurlar. Ön oluşturucu bileşikler, yanma bölgesinde (fırın) oluşurlar ve soğuk bölgeye (post combustion) taşınırlar. Bu bileşikler ya uçucu kül üzerinde adsorplanırlar ya da baca gazı ile sürüklenirler. Soğuk bölgede (post combustion zone), heterojen reaksiyonlar ile de dioksin/furan oluşur.

Organik klorun çoğu, inorganik klorun bir kısmı, belediye katı atıklarının yanması sırasında HCl olarak salınırlar. Tipik olarak belediye katı atıkları(MSW)'nin yanması sonucu oluşan emisyonlar 2.8 gr HCl / kg ıslak MSW. Yanma sırasında HCl, tam olmayan yanma ürünleri (CO, yanmamış hidrokarbonlar, ikincil H-C bileşikleri) ile reaksiyona girerek, PCDD/F oluşumunu sağlayan, klorobenzen ve klorofenol oluşumuna öncülük eder. Bu prekürsör reaksiyonlar  $850^\circ\text{C}$ 'nin altında, çoğunlukla  $750^\circ\text{C}$ 'de olur. HCl konsantrasyonu ile klorofenol oluşumu arasındaki ilişki Şekil 2.11'de gösterilmiştir. HCl konsantrasyonu arttıkça, klorofenol konsantrasyonu artmış, ancak bu artış HCl'nin belli bir konsantrasyonuna kadar olmuştur. HCl'nin belli bir konsantrasyonundan sonra, klorofenol konsantrasyonu değişmemiştir. Şekil 2.12'de de klorofenol konsantrasyonu arttıkça, PCDD oluşumunun arttığı gözlenmiştir.

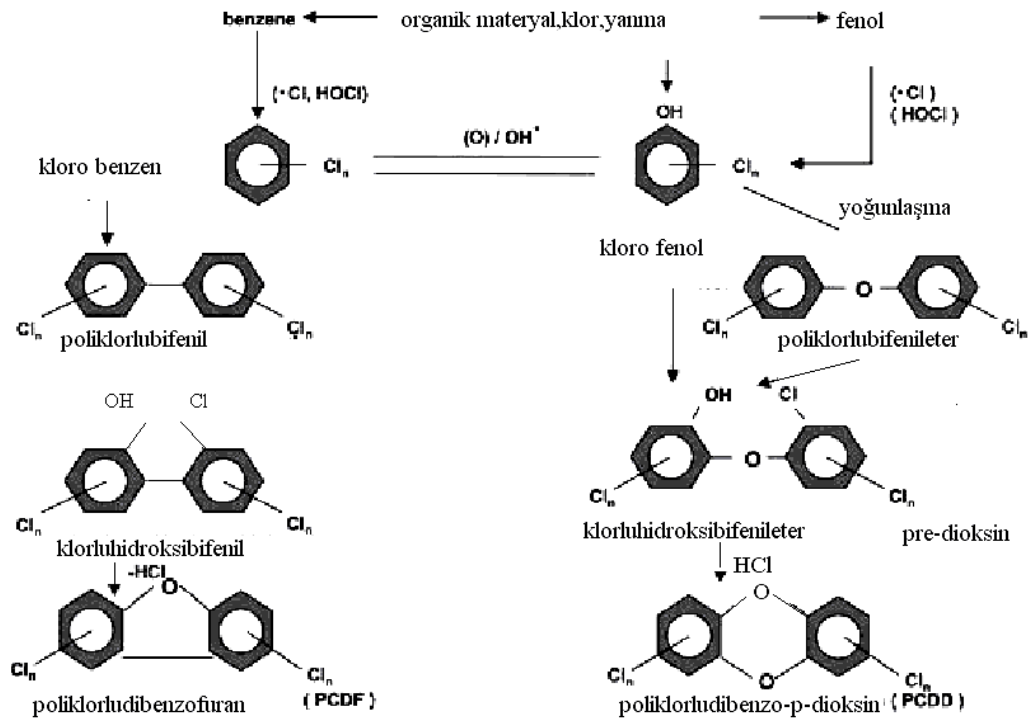


Şekil 2.11. HCl konsantrasyonu ile klorlu fenol oluşumu arasındaki ilişki [13].



Şekil 2.12. Klorlufenol konsantrasyonu ile PCDD konsantrasyonu arasındaki ilişki [11].

Baca gazında ki HCl ile uçucu kül içindeki PCDD/F arasında uygun korelasyon bulunmuştur [4]. HCl'nin yüksek konsantrasyonu ile klorlu fenollerin oluşumu artmış ve prekürsör oluşum yoluyla PCDD/F oluşumu artmıştır [10]. Ön oluşturuca bileşikler (klorofenol, klorobenzen, poliklorlubifenil) 750 °C'de oluşur. Bu bileşiklerden PCDD/F oluşumu, daha düşük sıcaklıklarda, yakma tesislerinin soğuk bölgelerinde, 200-450°C aralığında, maksimum 300 °C'de oluşur. Dioksin oluşumu, ön oluşturuca bileşiklerin konsantrasyonuna bağlıdır [11]. Yapılan bir çalışmada uçucu külde bulunan PCDD ekstrete edilerek, PCP klorun sadece metal tuzları (NaCl, KCl) formunda bulunduğu uçucu kül ile reakte edildiğinde, dioksin oluşumu gözlenmiştir. Bu çalışma, dioksin oluşumunun, uçucu külün katalitik aktivitesi ile ilgili olduğunu, klor içeriği ile ilgili olmadığını göstermiştir. PCDD/F ön oluşturuca bileşiklerin uçucu kül üzerinde yoğunlaşması ile oluşursa, bu oluşum, uçucu külün katalitik yapısına, ön oluşturuca konsantrasyonuna ve yakma tesisinin işletme koşullarına bağlıdır, doğrudan yakma tesisindeki atığın klor içeriğine bağlı değildir [4].



Şekil 2.13. Organik maddenin yanması ile PCDD/F oluşumu[4]

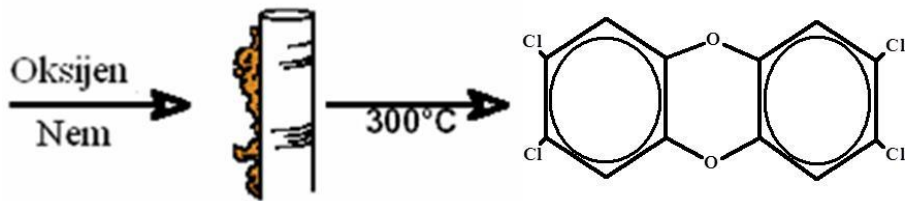


### 2.1.2.2. Moleküler Karbon İle Katalitik Oluşum (De novo synthesis)

Karbon, oksijen, hidrojen ve klor kombinasyonu ve reaksiyonu ile oluşum olarak açıklanır. PVC ve diğer klorokarbonların reaksiyonları ya da klor içermeyen organik maddelerin örneğin polistiren, selüloz, lignin, kömür ve partiküler karbonun, klor vericilerin varlığında yanması ile oluşur.

Prekürsör reaksiyonlar yüksek sıcaklıkta PCDD/F oluşumu için birincil mekanizma olarak kabul edilir, ardından daha düşük sıcaklıkta karbon ile katalitik oluşum (de novo) reaksiyonları önemlidir. Gaz fazında ki reaksiyonların önemi ise daha azdır. Sonuç olarak, PCDD/F oluşumunun mekanistik yolları; gaz fazında ki reaksiyonlar ile, ön oluşturucular ve moleküler karbondan katalitik reaksiyonlar ile oluşum mekanizmalarını içerir [4].

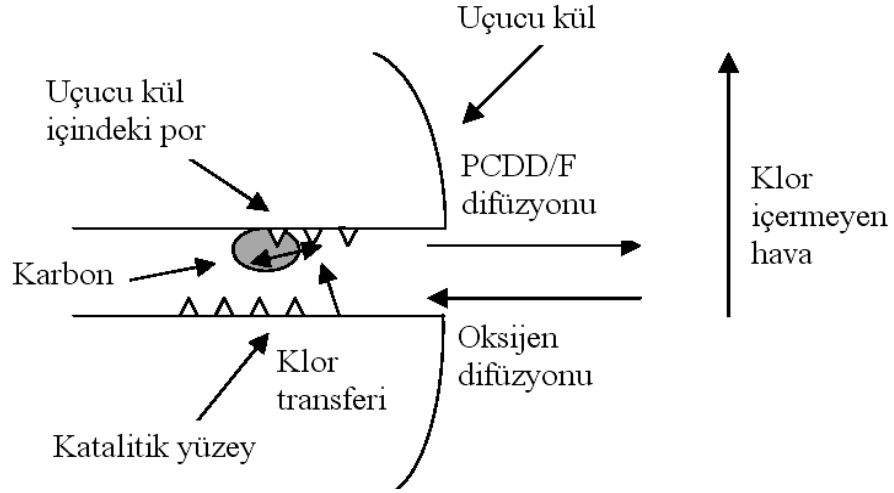
Karbon ile katalitik oluşum, oksidatif bozunma ve makro molekül karbon yapısından aromatik bileşiklere dönüşüm olarak tanımlanır [14]. Bu oluşum mekanizması; karbon, oksijen, hidrojen, klor ve metal katalizörleri içeren uçucu kül üzerindeki heterojen reaksiyonlarla oluşur. Bu reaksiyonlar sırasında aromatik halkalı yapılar formlanır. Tam olmayan yanma ürünleri olan alifatik bileşikler başlangıçtaki basit halkalı moleküllerin oluşmasında rol oynar. Ardından basit halkalı moleküllerden kompleks aromatik prekürsörlere geçiş olur [4].



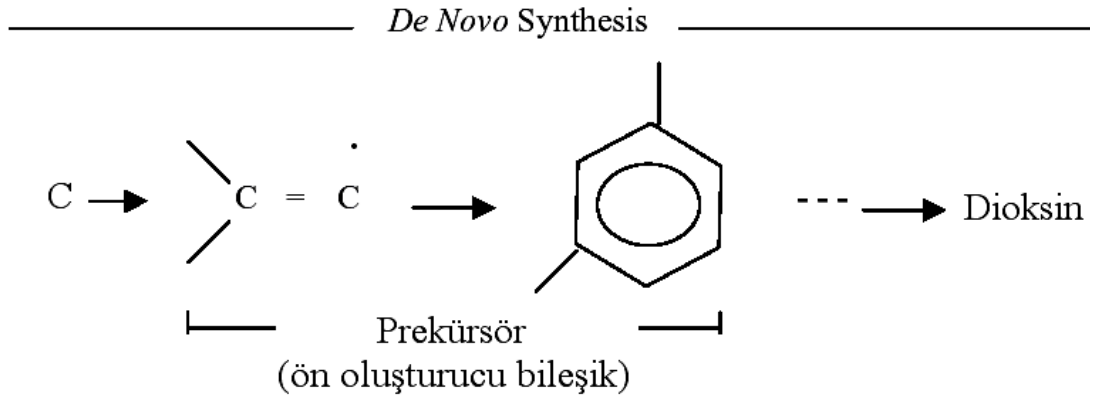
**Şekil 2.14.** Moleküler karbon ile katalitik oluşum (De Novo Synthesis)[4]

Özellikle yakma tesislerinde karbon ile oluşum, dioksin oluşumu için dominant mekanizma olarak kabul edilir. Kalıntı karbon uçucu külün partiküllerinin porları içinde, katalitik yüzeylere bağlanır. Kalıntı karbon oksijenle birlikte reaksiyona girerek, aromatik halkanın ayrılması tamamlanır. Dioksin ve furanlar, karbonun oksidatif parçalanması sırasında karbon çatısındaki aromatik karbon-oksijen gruplarından oluşur [14]. Uçucu kül içindeki karbonun oksidasyonu sırasında

prekürsör bileşiklerde sentezlenir (Şekil 2.16), ve bu bileşiklerin yoğunlaşma (condensation) reaksiyonları ile dioksin/furan oluşur. Aynı zamanda uçucu kül üzerinde metal klorür ligandlarından klor, aromatik halkaya transfer olur. Bu reaksiyonlar yakma tesislerinin soğuk bölgelerinde oluşur. 200-450 °C arasında ve optimum değer 300 °C'dir. Bu reaksiyonlar için oksijen mutlaka gereklidir [4].



Şekil 2.15. PCDD/F 'in moleküler karbon ile katalitik oluşumu.



Şekil 2.16. Oksidatif parçalanma sırasında ön oluşturuucu bileşiğın oluşumu.

Metal ligandlarına ek olarak, yanma gazlarından olan HCl, klor kaynağı olarak görev yapabilir. HCl, oksijenle reaksiyona girerek (bakır katalizör üzerinde) klor oluşturur (Deacon Reaksiyonları ). Deacon Reaksiyonları aşağıda gösterilmiştir.





Korinasyon reaksiyonu,



Difüze olan havayla oksijen, uçucu külün poru içinde, karbonla reaksiyona girer. Karbon, klor içerikli katalitik yüzeylerle temas eder. Oksijen, karbon ve klorür tuzları arasındaki reaksiyonların detayları henüz iyi bir şekilde anlaşılmasına rağmen, iyi bilinen oksidasyon reaksiyonları klor transferi ile birlikte, metallerin katalizör etkisi aracılığıyla oluşur. Oluşum süresi yaklaşık olarak 1 saattir. Formlanan PCDD/F'in bir kısmı gaz fazına difüze olur, geri kalan kısmı uçucu külde kalır. Bu nedenle uçucu kül büyük miktarlarda PCDD/F içermektedir. PCDD/F oluşumu reaksiyon sıcaklığına bağlıdır. Maksimum oluşum 300-325°C civarında gözlenmiştir [11]. Karbon ile katalitik oluşum mekanizması, proseslerin soğuk bölgelerinde gerçekleşir. Örneğin elektrostatik filtrelerde ve fırının içinde katalitik reaksiyonlar ile oluşumun, uçucu kül partikülünün por yapısı içinde, karbon olduğu zaman oluştuğu söylenir. Fırında tamamlanmış yanma (tam yanma) gerçekleşirse, soğuk bölgede, moleküler karbondan, katalitik oluşum reaksiyonları için, daha az karbon elde edilir. PCDD/F 'in oluşum hızları, uçucu külün aktivitesi ve yanma proseslerinde meydana gelen karbonun morfolojisi aracılığıyla tanımlanır. Ön oluşturucu bileşikler ile oluşum mekanizması, dioksin oluşumunda etkiliyken, moleküler karbon ile katalitik oluşum mekanizması, furan oluşumunda etkilidir. Denemeler sonucunda görülmüştür ki, bu oluşum mekanizması ile PCDD/F oluşumunda, yanma gazlarından CO ve CO<sub>2</sub>'in etkisi yoktur. Moleküler karbon ile katalitik oluşum reaksiyonları, uçucu külde ki materyaller ve havadan difüze olan O<sub>2</sub> arasında olmaktadır. Bu mekanizma ile PCDD/F oluşumu, minimize edilebilir.

Minimize etme yolları

- Yüksek sıcaklıkta üniform yakıt yakma.
- Daha uzun bekletme süreleri.
- Düşük Cl/S oranı.

Örneğin Kanada’da pulp ve kağıt endüstrisinde atık 950–1150 °C’de 8 saniyelik bekletme sürelerinde, düşük Cl/S oranlarında yakılmaktadır ve daha düşük miktarlarda PCDD/F oluşmaktadır [6].

## **2.2. Dioksin/Furan ve Dioksin Benzeri Poliklorlu Bifenillerin (PCB’lerin) Kullanım Alanları**

Dioksin ve Furanların bilinen kullanımları yoktur. PCB bileşiklerinin kullanımı ise WHO tarafından üç kategoriye ayrılmaktadır. Bunlardan birincisi tamamen kapalı sistemle (kapasitör ve transformatör gibi elektrik ekipmanlarında). İkincisi kısmen kapalı sistemler (hidrolik ve ısı transfer sistemlerinde, vakum pompalarında). Üçüncüsü ise sonu açık olan uygulamalarda (PVC üretimi, yüzey kaplamaları, mürekkep, boya, yapıştırıcı gibi maddelerde). Genel olarak kapasitör ve transformatörde PCB bileşikleri triklorobenzenle karıştırılarak yağlı bir akışkan olarak dielektriğin işlenmesini sağlamak için istenen viskoziteyi sağlamakta kullanılır. Genel olarak kapasitörde %75 Aroclor, %25 triklorobenzen bulunmaktadır. PCB bileşikleri klor ve hidrokarbon kaynaklarını içeren pek çok kimyasal proseste yan ürün olarak oluşabilmektedir [15].

## **2.3. Dioksin/Furan ve Dioksin Benzeri Poliklorlu Bifenillerin (PCB’lerin) Toksik Etkileri**

Bugüne kadar 75 PCDD, 135 PCDF ve 209 PCB üyesi bileşik tanımlanmıştır. Bunlardan sadece 2,3,7,8 pozisyonuna klor bağlanan 7 PCDD, 10 PCDF ve 12 PCB üyesinin karakteristik olarak dioksin benzeri zehirlenmelere neden olduğu bildirilmiştir [16].

Dioksin ve benzeri bileşikler içerisinde en yüksek toksiteye sahip olanı 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksindir (2,3,7,8-TCDD veya TCDD). Çoğu kez “dioksin” olarak adlandırılan bu bileşik diğer bileşikler için de bir model olarak kullanılmaktadır. Geri kalan diğer bileşiklerin zehirlilikleri TCDD’e göre oranlanarak hesaplanan Toksik Eşdeğerlik Faktörü (TEF) ile ifade edilmektedir [17-18].

Dioksin ve furanların 2,3,7,8 pozisyonlarına karşılık gelenleri oldukça toksik maddelerdir. Çevrede her yere yayılırlar ve besin zincirinde hızlı bir şekilde

biyoakümüle olurlar. PCDD/F, ekosistemin bütün bölümlerinde (hava, su, toprak, sediment) bulunmuştur. Bu maddelerin hava ile taşınımı, diğer alanlarda çevresel yüklemeye katılım sağlar [4]. Bu bileşikler toprakta, suda ve havada parçalanmaya dirençli oldukları için, besin zinciri ile balıklara, diğer memeli hayvanlara geçmekte ve yağ dokularında birikmektedir. Kalıcı olan dioksin/furan bileşikleri, sadece hayvanların vücudunda birikmekle kalmayıp, hayvansal gıdalarla beslenen insanların yağ dokularında da birikmektedir. Bu bileşikler insanların ve hayvanların yağ dokularında uzun yıllar kalmakta, ancak stres ve açlık neticesinde kana geçip, uzun yıllar sonra bile toksik etkilerini sürdürmektedirler.

WHO tarafından toksik olarak belirtilen Dioksin Furan ve dioksin benzeri PCB bileşenlerinin TEF (Toksik Eşdeğerlik Faktörü) değerleri Tablo 2.2’de verilmiştir:

**Tablo 2.2.** Dioksin, Furan ve Dioksin benzeri PCB’lerin toksik eşdeğerlik değerleri

<b>Bileşik</b>	<b>WHO 1998 TEF</b>	<b>WHO 2005 TEF*</b>
<b>Klorlu dibenzo-p-dioksinler</b>		
2,3,7,8-TCDD	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	0.01
OCDD	0.0001	0.0003
<b>Klorlu dibenzofuranlar</b>		
2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1
1,2,3,7,8-PeCDF	0.05	0.03
2,3,4,7,8-PeCDF	0.5	0.3
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	0.01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.01
OCDF	0,0001	0.0003
<b>Non-orto PCBler</b>		
3,3',4,4'-tetraCB (PCB 77)	0.0001	0.0001
3,4,4',5-tetraCB (PCB 81)	0.0001	0.0003
3,3',4,4',5-pentaCB (PCB 126)	0.1	0.1
3,3',4,4',5,5'-hekzaCB (PCB 169)	0.01	0.03
<b>Mono-orto-PCBler</b>		
2,3,3',4,4',-pentaCB (PCB 105)	0.0001	0.00003
2,3,4,4',5-pentaCB (PCB 114)	0.0005	0.00003

2,3',4,4',5-pentaCB (PCB 118)	0.0001	0.00003
2,3,4,4',5-pentaCB (PCB 123)	0.0001	0.00003
2,3,3',4,4',5-hekzaCB (PCB 156)	0.0005	0.00003
2,3,3',4,4',5'-hekzaCB (PCB 157)	0.0005	0.00003
2,3',4,4',5,5'-hekzaCB (PCB 167)	0.00001	0.00003
2,3,3',4,4',5,5'-heptaCB (PCB 189)	0.0001	0.00003

İnsan popülasyonları üzerinde yapılan çalışmalarda, birkaç mg PCDD/F'ye maruz kalındığında, ciltte, gözlerde ve davranışlarda çeşitli etkilere neden olduğu gözlenmiştir. Çoğu etkinin tersinir olmasına rağmen, normale dönme uzun yıllar almaktadır. Dioksin/furan, PCB, PAH gibi kalıcı organik bileşiklerin, son yıllarda insanlar için çok daha önem kazanan toksik etkileri ise, endokrin (iç salgı bezleri) sistemini bozan etkileridir. Kadın ve erkek hormonlarının sentezlerini azaltarak üremeyi azalttıkları, gelişmeyi engelledikleri, bağışıklık sistemini ve santral sinir sistemini negatif yönde etkiledikleri, karaciğer ve böbrek yetmezliklerine neden oldukları belirlenmiştir. Kadınlar, yüksek konsantrasyonda furana maruz kaldıklarında, üreme sistemlerinde anomalilere ve bebeğin ölümüne neden olurlar [19]. Dioksinler, insan vücudunda biyoakümüle olurlar, insan embriyosunun gelişimini etkilerler.

Laboratuarda, hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, dioksinlerin düşük konsantrasyonlarda bile, oldukça toksik olduğunu göstermiştir. En toksik olarak bilinen dioksin bileşeni 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksin, vücut içinde hücrelerin stoplazmasında, reseptör proteinle bağlanarak, TCDD ve reseptör kompleksi oluşturur. Oluşan kompleks, hücre çekirdeğine girerek DNA'ya bağlanır ve ardından protein sentezinin durmasına neden olur [4].

Dioksinler IARC tarafından kanserojen (IARC, Grup 1), furanlar ise, olası kanserojen (IARC, Grup 2B) olarak sınıflandırılmaktadır. İnsanlarda, dioksine maruz kalma sonunda görülen akut etkiler klorakne, bulantı, gözde kızarıklık, kilo kaybıdır. Klorakne, ciltte siyah nokta oluşumu ve kızarıklık şeklinde görülen hastalıktır. Kuzey İtalya'da meydana gelen Seveso kazasında 37000 kişi bu hastalıktan etkilenmiştir. Farklı bir maruziyet ise zehirlendiği tahmin edilen Ukrayna eski başbakanı Yuschenko'nun kanında normal bir insandan ellibin kat fazla Dioksin(TCDD) olduğu tahmin edilmektedir.



**Şekil 2.17.** Seveso kazasına maruz kalan İtalyan çocuk (Prof Paolo Mocarelli) [1].



**Şekil 2.18.** Ukrayna Başkanı Viktor Yushchenko'nun zehirlenme öncesi ve zehirlenme sonrası görüntüsü [1].

Kronik etkiler; böbrek, karaciğer ve pankreasta değişikliktir [4]. Dioksine çok sık maruz kalınması sonunda görülen bazı etkiler; akciğer yetersizliği, bulantı, baş ağrısı, işitme kaybı, uyku düzensizliği, yorgunluk, depresyon ve iştah kaybı, kişilik değişikliği, anormal enzim düzeyleridir [20]. 1520 işçi üzerinde yürütülen bir araştırmada, solunum sistemi kanserleri ve yumuşak doku tümörlerine bağlı ölümlerde anlamlı derecelerde yükseklik saptanmıştır. İtalya'nın Seveso kentindeki

endüstri kazasının ardından, kaza bölgesindeki gençler izlenmiş, tiroid kanserleri ve myeloid lösemide artış gözlenmiştir.

İnsanlar bu bileşiklere soluma, deri teması, içme suyu ve gıda tüketimi ile maruz kalmaktadır. Bunların içinde en önemlisi, hayvansal gıdalar örneğin balık, et, süt ve süt ürünlerinin tüketilmesidir. PCDD/F'in havadan soluma ile alımı, düşük seviyelerde bulunmuştur. Avrupa'da ortalama konsantrasyon 0.1 pg I-TEQ/m<sup>3</sup> hava olarak belirlenmiştir. ABD içinde benzer konsantrasyon, Japonya içinse daha yüksek değerler bulunmuştur. 1 kişinin günde 20m<sup>3</sup> hava soluduğu kabul edilirse, bulunan değer 2 pg I-TEQ/kişi-gün'dür. İç ortamlarda da spesifik durumlar söz konusu olabilir. Örneğin odunun hazırlanması sırasında PCP kullanıldığında, ya da ahşap kaplamalarda PCB kullanılmış ise, iç ortam havasında, bu bileşikler olabilir. Yapılan çalışmalarda alım, 50 pg I-TEQ/gün olarak oranlanmıştır. WHO, PCDD/F'in içme suyu ile günlük alımını, ihmal edilir seviyede bulmuştur. Elde edilen oran 0,003pg TEQ/litre'dir. Günde 20 sigara içen biri, 3pg I-TEQ/gün konsantrasyona maruz kalmaktadır. Günlük tolere edilebilen miktarlar Mayıs 2001'de Scientific Commite for Food (SCF), 2 pg ITEQ/kg-gün, Haziran 2001'de The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 2,3 pg I-TEQ/kg-gün, 1998 'de World Health Organisation (WHO) 1-4 pg ITEQ/kg-gün olarak açıklanmıştır. İnsanların günlük besin tüketimi ile dioksin/furana ne kadar maruz kaldıkları ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçları, geniş aralıkta çeşitlenmektedir. Avrupa Birliğine (EU) üye ülkelerde günlük gıda tüketimi ile alım, ortalama 70 kg vücut ağırlığında ki yetişkin için, 0,9-3 pg I-TEQ/kg-gün aralığında değişmektedir. Öncelikle çeşitli gıda örneklerinde ölçümler yapılmış ve tüketim ile ne kadar maruz kalınacağı ile ilgili oranlamalar yapılmıştır. Örneğin bulunan değerler Hollanda için 69 pg I-TEQ/gün İspanya için 210 pg I-TEQ/gün olup, bu değerler ortalama 70 kg ağırlığındaki insan için sırasıyla 0,98 pg I-TEQ/kg-gün ve 3 pg I-TEQ/kg-gün değerlerine karşılık gelmektedir. Hayvansal gıdaları, aşırı miktarda (%95-97,5) tüketen insanlar için bireysel risk tanımlandığında, Hollanda için bulunan değer 3,1 pg I-TEQ/kg-gün ve İngiltere için 1,7-2,6 pg I-TEQ/kg-gün olup, PCB'lerde göz önünde bulundurulduğunda, değerlerin WHO'nun belirlemiş olduğu 1-4 pg I-TEQ/kg-gün değerini aşacağı belirtilmiştir [4].



#### **2.4. Dioksin/Furan ve Dioksin Benzeri Poliklorlu Bifenillerin (PCB'lerin) Maruziyet Bilgileri**

Dioksinler ve dioksin benzeri PCB'ler için insan sağlığı risk tayinleri sağlık kriterlerini göz önünde bulundurarak maruziyet limitlerini 1-4 pg WHO-TEQ/kg vücut ağırlığı/gün olarak açıklamıştır [21]. Bütün insanların ölçülebilir seviyelerde dioksin ve benzeri maddelere maruz kaldığı düşünülürse, bu nedenle tolere edilebilir günlük alımının(TDI) tespiti çok önemli bir karardır.

PCDD ve PCDF'ler çevrede pek çok kompartımda nanogram ve pikogram ile ifade edilebilecek düşük düzeylerde bulunurlar. Bu nedenle insan ve diğer canlılar için çok düşük miktarlarda maruziyet solunan havayla, et ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle, kontamine olmuş materyallere temasla mümkün olabilmektedir. Genel popülasyonun %90'ı dioksin ve furanları et, süt ve balık tüketimiyle alırlar. Diğer bir deyişle ana maruziyet kaynağı özellikle yağlı besinlerdir. PCDD'ler oldukça düşük miktarlarda meyve ve sebzelerde de bulunabilirler. Ancak bu yolla yüksek düzeylerde maruz kalmak için poliklorlanmış dioksin ve furanları safsızlık olarak içeren pestisit ve herbisit gibi kimyasallarla kontamine olmuş ürünlerin tüketilmesi gerekmektedir. Bu kimyasallar inek sütü, bebek maması gibi ürünlerde kirlilik şeklinde bulunabilmektedirler. Bu durum da diğer bir maruziyet kaynağı olarak belirlemektedir. Bu maddelerin suda çözünürlükleri yok denecek kadar az olduğu için içme sularında rastlamak mümkün değildir.

Bu bileşiklerle oluşan maruziyetin diğer bir kaynağı ise kontamine olmuş toprak, klorlu pestisitler ve herbisitler ya da Pentaklorofenol (PCP) kullanılmış alanlar veya PCB'li trafo sıvılarına cilt yoluyla temas oluşturabilmektedir [20]. PCDD ve PCDF'ler hava veya suyla kıyaslandığında yüksek oranda toprakta buldukları tespit edilmiştir. Kırsal alanda ise çok daha düşük düzeylerde olduğu saptanmış kiş mevsimiyle birlikte odun ve fosil kaynaklı fuil oil gibi yakıtların yakılmasına bağlı olarak havadaki konsantrasyonlarının arttığı gözlemlenmiştir [1]. Özellikle Amerika Birleşik Devletleri'nde endüstrileşmiş alanlarda yapılan ölçümlerde ortalama miktarı 2.3 pg/m<sup>3</sup> olarak tespit edilmiştir. 2,3,7,8-TCDD şehir veya kırsal alan havasında ölçülebilir düzeylerde bulunmamakla birlikte atık yakma tesislerinin olduğu bölgelerde ve yoğun trafik yaşanan otoyol kenarlarında havadaki düzeyleri yüksek

miktarlarda tespit edilmiştir. Özellikle bu tür bölgelerde yaşayan insanların maruz kalma düzeyleri yüksek olmakla birlikte sigara kullanan insanların veya sigara dumanına maruz kalan insanların daha ciddi oranda bu maddeleri aldıkları bilinmektedir [22].

Fenoksi herbisitlerin ve pestisitlerin, üretim, kullanım ve bertarafı 2,3,7,8-TCDD içeren atıkların bertarafı ve 2,4,5-triklorfenol (2,3,5-TCP) ile oluşan endüstriyel kaza ve polikloranmış dioksin ve furanların kontamine olduğu gıdaları tüketmek maruziyeti arttıran diğer faktörlerdir [20-22].

Kimyasal üretim yapılan fabrika, tehlikeli atık yakma ve depolama tesisleri, klor kullanan PVC tesisleri, kağıt üretim fabrikaları, tekstil ve deri işleme fabrikaları etrafında yer alan nehir, deniz, göllerde yaşayan balıklarda, midye ve kabuklu deniz canlılarında, kuşlarda ve memelilerde PCDD ve PCDF'lere rastlanmıştır. Bu alanlarda balıkçılık yapılmasının ve bu balıkların gıda olarak tüketilmesinin de maruziyet miktarlarını ciddi oranda arttırdığı belirlenmiştir [22].

### 3. ZENGİNLEŞTİRME YÖNTEMLERİ

#### 3.1. Zenginleştirme

Zenginleştirme, eser elementin büyük bir hacimden alınarak çok daha küçük bir hacme toplanması ile konsantrasyonunun artırılması işlemidir. Zenginleştirme ile eser elementin konsantrasyonunun artırılmasının yanında matriksten ayrılması da sağlanır [23]. Analitin cihazın tayin aralığında olmaması, kalibrasyon için uygun standartların bulunmaması, analitin bulunduğu matriks ortamının uygun olmaması ve örneğin doğrudan tayinler için fiziksel ve kimyasal bakımdan uygun olmaması gibi nedenlerden dolayı ayırma ve zenginleştirme yöntemlerine ihtiyaç duyulur.

Eser elementlerin zenginleştirilmesi işlemlerinde zenginleştirmenin verimliliği, geri kazanım ve zenginleştirme katsayısı terimleri ile ifade edilir. Geri kazanım (R), eser elementin birinci ortamdan ayrılmasının bir ölçüsü olup, ikinci ortama çekilen miktarının numunedeki başlangıç miktarına oranıdır. Eşitlik olarak;

$$R = \frac{q_c}{q_s} \quad (3.1)$$

şeklinde ifade edilir. Burada, eser elementin ikinci ortamdaki miktarı  $q_c$ , numunedeki miktarı ise  $q_s$ 'dir. Yüzde geri kazanım ise;

$$\% R = \frac{q_c}{q_s} \cdot 100 \quad (3.2)$$

şeklinde ifade edilir [23].

Zenginleştirme ya matriksi uzaklaştırarak ya da eser elementi ayırarak yapılır. Bir numunede bulunan ve analizi istenen elementler yerine matriks elementlerinin numuneden ayrılması sağlanıp, eser elementlerin sulu fazda bırakılmasına matriks ayırması denir. Bir tayinde hangi yöntemin seçileceği numunenin yapısına ve zenginleştirme yöntemine bağlıdır. Matriks basit bir yapıdaysa yani asıl bileşen olarak bir ya da iki element içeriyorsa bu durumda matriks uzaklaştırılır. Eğer matriks; mineraller, alaşımlar ve topraklar gibi çok fazla element içeriyorsa eser elementler zenginleştirilir. Çöktürme gibi bazı zenginleştirme yöntemleri ise eser

elementlerin zenginleştirilmesi için daha uygundur. Çünkü matriks çöktürmesi yapıldığında bir miktar eser element de matriksle beraber çökebilir ve bu eser elementin sulu fazda kalan konsantrasyonunu azaltarak hataya neden olur [24].

Eser elementlerin zenginleştirilmesi ve ayrılmasında kullanılan başlıca yöntemler birlikte çöktürme, çözücü ekstraksiyonu ve sorpsiyondur. Sorpsiyon yöntemi eser elementlerin zenginleştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sorpsiyon yönteminin basitliği, hızlılığı ve büyük zenginleştirme katsayısına sahip olması gibi üstünlükleri vardır. Sorpsiyon metodunun zenginleştirmede kantitatif olarak değerlendirilmesinde dağılma katsayısı kullanılır. Belirli miktardaki sorbent ile belirli konsantrasyondaki çözelti karıştırıldığında çözeltideki çözülmüş maddenin bir kısmı sorbent tarafından tutulur, bir kısmı da çözeltide kalır. Sorbent tarafından tutulan madde miktarının, çözeltide kalan madde miktarına oranı dağılma katsayısı olarak bilinir. Bir sorbentin zenginleştirme amacıyla kullanılabilmesi için dağılma katsayısının yeterince büyük olması gerekir. Sorpsiyon yöntemi ile zenginleştirme üç yolla yapılmaktadır. Bunlar beç, filtrasyon ve kolon yöntemleridir. Sorpsiyon yönteminde kullanılan sorbentler aktif kömürler, sentetik iyon değiştiriciler, gözenekli organik polimerler, kompleks oluşturan sorbentler ile selüloz ve kitin gibi doğal polimerlerdir. Ayrıca flotasyon, filtrasyon, buharlaştırma, membran ayırması, elektrokimyasal ve pirometalurjik yöntemler de kullanılan diğer zenginleştirme metotlarıdır [23-25].

### **3.2. Poliklorlu Dioksin/Furan ve Bifenillerin Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri**

Dioksinler yağda absorblanan bir bileşik grubu olduklarından ayırma ve zenginleştirme işlemi örnek ortamından yağın ayrılması ve elde edilen yağdan dioksin bileşiklerinin fraksiyonlar halinde ayrılarak analiz edilmesi aşamalarından oluşmaktadır. Aşağıda dioksin bileşiklerinin ayrılması ve zenginleştirilmesinde kullanılan yöntem ve teknikler yer almaktadır.

#### **3.2.1. Sıvı Sıvı Ekstraksiyon**

Birbiri ile karışmayan iki sıvı arasındaki dağılma derecelerinin birbirinden önemli ölçüde farklı olması esasına dayanan bir ayırma ve saflaştırma metodudur. Sıvı-sıvı

ekstraksiyonunda, büyük hacimde çözücü ile bir tek ekstraksiyon yerine çözücünün küçük hacimlerini birkaç defa kullanarak daha etkin bir ekstraksiyon yapılabilir [26].

Sıvı sıvı ekstraksiyon hayvansal ürünlerde çok sık kullanılan bir yöntemdir. Hayvansal ürünler dioksin bileşiklerinin en fazla bulunduğu canlı grubu olduğu düşünülürde bu yöntem hayvan ürünlerinden yağ elde etme işleminde oldukça önemlidir. Özellikle deniz ürünleri yüksek oranda bünyesinde dioksin bulunduran canlılardır.

Sıvı sıvı ekstraksiyon yönteminde hayvanların yenilebilir yağlı et tabakalarından yağların ayrılması amaçlanmaktadır. Hayvanın yenilebilir kısmının yaklaşık yağ miktarına göre alınan numune sikloheksan ve 2-propanol ile bir balonda birleştirilerek döner parçalayıcı ile bir süre karıştırılır. Üzerine saf su eklenerek tekrar döner parçalayıcı ile karıştırılır. Karışmış haldeki çözelti soğutmalı santifüjde santifüj edilir. Üstte solventle(sikloheksan ve 2-propanol) karışmış yağ fazı altta ise numune atığı ve su fazı yer almaktadır. Üstteki faz pipetle ucuna cam yünü tıkanmış susuz sodyum sülfat ihtiva eden huniden darası alınmış balona süzülür. Burada susuz sodyum sülfat kullanma sebebi olası su fazından çekilme ihtimalinde suyun tutulmasıdır. Bu işlem 2 defa daha tekrar edilir. Yani kalan kısma bir miktar siklo heksan ilave edilerek tekrar santifüjlenir üstteki kısım süzülerek varsa kalan yağın alınması sağlanır. Elde edilen solvent-yağ karışımından döner buharlaştırıcı yardımıyla çözücü uzaklaştırılır ve sıvı yağ elde edilmiş olur.

### **3.2.2. Soğuk Ekstraksiyon**

Bitkisel ve hayvansal katı yağlar, yumurtanın sarı kısmı gibi numuneler pentan, dietil eter, sikloheksan, etil asetat ve toluen gibi solventlerle direk temas ettirilerek yağın solvante geçmesi sağlanır. Ortamda bulunabilecek su varlığına göre tercihen susuz sodyum sülfattan süzülür. Elde edilen solvent-yağ karışımından döner buharlaştırıcı yardımıyla çözücü uzaklaştırılır ve sıvı yağ elde edilmiş olur.

### **3.2.3. Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu (ASE)**

Klasik ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olarak geliştirilen bir yöntemdir. Ekstraksiyon süresi, çözücü tüketimi, verim ve tekrarlanabilirlik gibi avantajları

bulunmaktadır. Yöntemin etkinliğini artırmak amacıyla yüksek basınç ve sıcaklıkta organik çözücüler kullanılmaktadır. Sıcaklığın artması, ekstraksiyonun kinetiğini hızlandırırken, yükseltelen basınç çözücüyü sıvı halde tutarak güvenli ve hızlı bir ekstraksiyon sağlamaktadır. Ayrıca yüksek basınç, çözücünün, deney materyalinin iç kısımlarına kadar nüfuz etmesine imkân sağlamaktadır. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (accelerated solvent extraction-ASE) bu yöntemin bir şeklidir. Dioksin analizlerinde özellikle yem ve tahıl grubu numunelerde kullanılmaktadır.

#### **3.2.4. Mikrodalga Ekstraksiyonu**

Mikrodalga ısıtmasının avantajı moleküllerin kutuplarındaki yükseltgenen zayıf hidrojen bağlarının bozundurulmasıdır. Klasik temas yoluyla ısı iletimi yöntemlerinin aksine, mikrodalgalar örneğin tamamını aynı anda ısıtılmaktadır. Mikrodalga yardımıyla ekstraksiyon iki farklı sistemle gerçekleştirilmektedir. En yaygın sistem, sıcaklık ve basınç kontrol edilebilen kapalı bir kap içerisinde yapılan kapalı sistem ekstraksiyonudur. Diğer yöntem ise atmosferik basınç altında açık kap içerisinde gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemin avantajı, ekstraksiyon süresinin ve kullanılan çözücü miktarının büyük oranda az olmasıdır [27]. Dioksin analizinde et ürünlerinden yağ elde etmede kullanılmaktadır.

#### **3.2.5. Katı Faz Ekstraksiyonu**

Kimyasal analizi yapılacak plazma, serum, idrar gibi biyolojik; su, toprak, hava gibi çevresel ve gıda, farmasotik ürünler gibi diğer numuneler, genellikle aranan madde dışında birçok bileşenin yer aldığı karışık bir matris içerirler. Çözünen maddelerin sulu bir numuneden organik bir çözücü ile ekstrakte edilmesi, yaklaşık 100 yıldır kullanılmakta olan bir tekniktir. Yıllardan beri sıvı-sıvı ekstraksiyon ve bunu takiben çözücülerin çeşitli şekillerde uzaklaştırılması, numune hazırlamada en çok kullanılan yöntem olmuştur. Fakat geleneksel sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulamalarının fazla miktarda organik çözücü harcanması, çok zaman alması, yüksek maliyetli olması, çözücülerin suyu ve havayı kirletmeleri bir tarafa, bu çözücüler ile çalışmak oldukça zor ve riskli bir iştir. Ayrıca bu yöntemler, ekstraksiyon sırasında emülsiyon faz oluşması, gerekli saflığa sahip olmayan ekstraktlar elde edilmesi, çözücülerin yeterince uzaklaştırılmaması ve duyarlı kantitatif sonuçlar elde edilememesi gibi istenmeyen durumlara da neden olabilmektedir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu dışında

santrifüj etme, süzme, distilasyon, liyofilizasyon gibi diğer önemli ekstraksiyon metotları da benzer sakıncalara sahiptir.

Bu metotlara alternatif olarak, 1970'li yılların ortalarında yeni bir teknik olan katı faz ekstraksiyon (solid phase extraction, SPE) metodu kullanılmaya başlanmıştır. Bu tarihlerde, XAD reçineleri ile doldurulmuş kolonlar kullanılarak çok düşük konsantrasyonlardaki organik kirleticiler konsantre edilmiştir. 1970'li yıllardan önce, organik çözünenleri analizden önce konsantre etmek için aktif karbon kullanılmaktaydı. 1980'li yılların sonunda ve 1990'lı yıllarda, analitik katı-faz ekstraksiyonu oldukça yaygınlaşmıştır. SPE ile ilgili onlarca makale yazılmış ve sempozyumlar düzenlenmiştir. Günümüzde SPE, hiç şüphesiz vazgeçilmez bir ayırma ve saflaştırma metodudur [28].

SPE yöntemi, temel olarak yüzeyine organik grupların bağlı olduğu silika türevleri veya organik polimerik tutucu maddelerin (adsorban) ekstraksiyon kolon veya disklerine doldurulması ve sıvı numunelerin istenmeyen bileşenlerden ayırma (temizleme), yoğunlaştırma ve ileriki analiz aşamaları için örnek matriks yapısının değiştirilmesi amaçlarıyla hazırlanmış olan kolon ve disklerden geçirilmesi esasına dayanmaktadır [29].

Katı faz ekstraksiyonu (SPE), iki faz arasında çözünenin dağılımını kapsayan sıvı-sıvı ekstraksiyonuna benzerdir. Ancak sıvı-sıvı ekstraksiyonunda karışmayan iki sıvı yerine, katı faz ekstraksiyonunda bir sıvı (numune ve matriks) ve bir katı (sorbent) faz mevcuttur. Bu teknik, katı bir sorbent ile çözelti içindeki analitin saflaştırılmasını ve konsantre edilmesini mümkün kılmaktadır. Temel yaklaşım sıvı numunenin analiti tutan bir adsorbent içeren bir kolon, bir kartuş veya bir tüp veya disk içinden geçirilmesini içermektedir. Tüm numune sorbent içinden geçtikten sonra, tutulmuş olan analit uygun bir çözücü ile elue edilir.

Katı faz ekstraksiyonu birçok önemli sıvı-sıvı ekstraksiyonuna alternatif bir yöntemdir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu metal iyonları ve/veya matriks (analiz edilecek madde dışında kalan bileşenler) zenginleştirilmesi veya ayrılması için klasik bir metottur. Katı faz ekstraksiyonu numune hazırlanmasındaki süreyi, çözücü kullanımını, çözücüye maruz kalmayı, ve atık maliyetini azaltır. Bu nedenle,

özellikle su numunelerinde katı faz ekstraksiyonu metal iyonlarının ayrılmasında ve hassas olarak tayininde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.

Katı faz ekstraksiyonu kimya, çevre, klinik, gıda ve endüstriyel kimya alanlarında ayırma amacıyla kullanılabilir [23].

### **3.2.5.1. Katı Faz Ekstraksiyonunun Üstünlükleri**

1) Bu yöntemde daha az çözücü ve ayıraç madde kullanıldığından daha ekonomik bir örnek hazırlama yapılabilir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda kullanılacak çözücü miktarı en az; 200 mL iken, SPE' de bu miktar; 1-20 mL 'dir.

2) SPE metodu klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemine göre 2/3 daha hızlı sonuç verir ve örnek hazırlama süresinin oldukça kısalmasını sağlar.

3) Çok sayıda örneğin aynı anda ve tekrarlanabilir şekilde işlenebilmesine olanak sağlayacak şekilde çok kolay otomasyon sağlanabilir. Peristaltik pompa, bağlantı elemanları ve UV Spektrofotometresi gibi bir dedektör ile işlemler kesintisiz bir şekilde yürütülebilir.

4) İstenen türün ayrılması sıvı-sıvı ekstraksiyon sistemlerine göre daha spesifikdir: Katı faz olarak kullanılacak materyalin çeşitliliği ve rejenere edici çözücülerin çeşitliliği polar, apolar ve iyonik türlerin ayrılması/saflaştırılması işlemleri için tekniği daha spesifik bir hale getirmektedir.

5) SPE ile analit, minimum veya hiç buharlaşma kaybı olmadan ekstrakte edilebilir.

6) Geri kazanım oranı yüksektir ve istenilen yoğunlukta örnekler elde edilebilir. En az düzeyde örnek transferi yapıldığından yüksek geri kazanımlar ile yüksek yoğunluk ve saflıkta örnekler elde edilebilmektedir. SPE ile elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliği daha yüksektir.

7) SPE' de kullanılan katı materyaller rejenere edilerek tekrar tekrar kullanılabilirler.

8) Çözücü ve örneklerin az miktarlarda kullanılmasından dolayı zehirli maddelerle temas daha azdır ve ayrıca daha az cam malzeme kullanılması nedeniyle analizi



yapanlar için oldukça güvenli bir metottur. Ayrıca çevreyi kirletme riski daha düşüktür.

9) Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda sıkça karşılaşılan emülsiyonun ayrılmaması problemi SPE’de yoktur.

10). SPE metodunda en az düzeyde evaporasyona ihtiyaç duyulduğundan kararsız örnek oluşumu nadirdir.

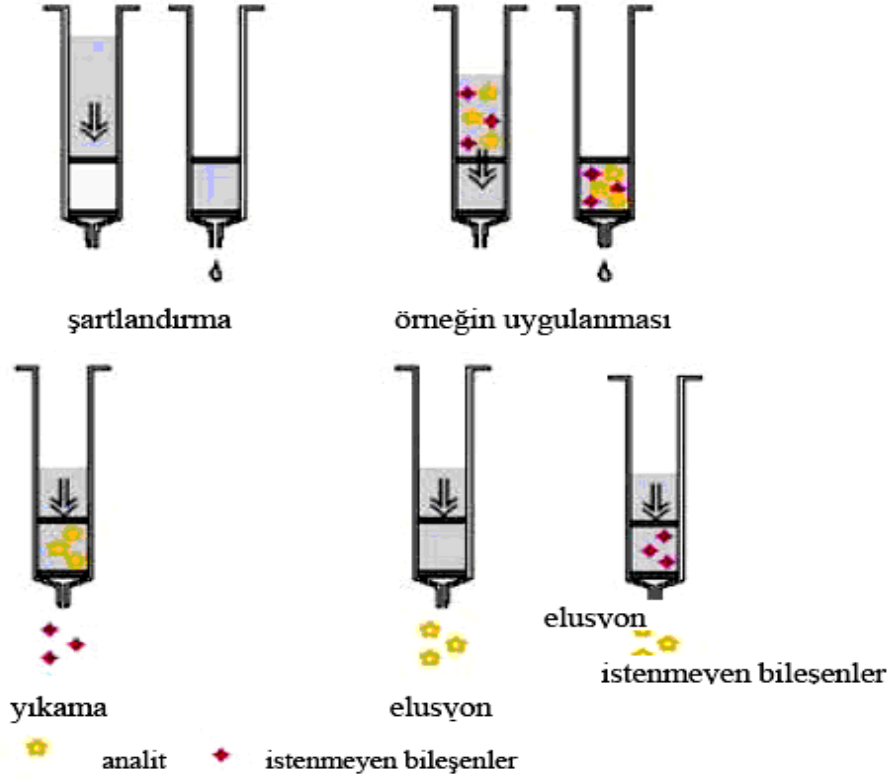
11) SPE, çok pratik ve bütün laboratuarlarda kolaylıkla uygulanabilir bir metottur.

12) Bu yöntemde daha az çözücü ve ayıraç madde kullanıldığından daha ekonomik bir örnek hazırlama yapılabilir

13) Örnek, tutucu madde ve çözücüler arasında çapraz bulaşma riski düşük olduğundan yüksek doğrulukta sonuçlar alınabilir [29].

### **3.2.5.2. Katı Faz Ekstraksiyonunun Kullanım Amacı**

Katı faz ekstraksiyonu, günümüzde etkili bir numune hazırlama yöntemi olarak birçok laboratuarda kullanılmaktadır. Katı faz ekstraksiyon metodu, klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında daha hızlı, az çözücüye ihtiyaç duyan, emülsiyon oluşumun şekillenmediği, çok daha ucuz bir tekniktir. Bunun yanında katı faz ekstraksiyonu ile daha temiz ekstrakt ve yüksek geri kazanım oranları elde edilebilmektedir. SPE metodunda kolondan geçirilme sırasında örnek molekülleri ile tutucu madde arasında kimyasal bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşimden faydalanarak maddelerin ayrılma işlemi başlıca üç yolla gerçekleştirilir. Birinci yöntemde ilk aşamada, analiz edilecek bileşik tutucu maddeye bağlanarak kolon içinde tutulurken, çözelti ve istenmeyen bileşenler bu madde ile herhangi bir etkileşime girmezler. Daha sonra istenmeyen bileşenler uygun yıkama çözeltisi ile uzaklaştırılır ve analiz edilecek bileşen tutucu maddeden uygun bir çözelti yardımıyla çözdürülerek alınır.



**Şekil 3.1.** SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri [30].

Daha az tercih edilen ikinci yöntemde ise, istenmeyen bileşenlerin tutucu madde ile etkileşimi söz konusudur. Özellikle atık yağlar gibi matriksden ayrılması zor olan maddelerin analizinde kullanılan bu yöntemde, matriksteki istenmeyen bileşenler tutucu madde tarafından sıkı şekilde bağlanırlar. Asıl aranan madde ise tutucu madde ile etkileşime girmez ve uygun çözelti yardımıyla çözdürülerek toplanır. Bu yöntemde, kolon içerisindeki tutucu maddenin oluşturduğu katı faz filtre işlevi görmektedir. Üçüncü yöntemde ise; numune, SPE kolonuna beslenir ve numunedeki tüm türler kolonda tutulur. Daha sonra uygun bir sıyırma reaktifinin kolona beslenmesi ile sadece hedef madde sıyrılır [29].

Şekilde de görüldüğü üzere, her üç ayırma yönteminde de SPE kolondaki tutucu maddenin önce şartlandırılması gerekmektedir. Şartlandırma işlemi, kolondan uygun çözelti geçirilerek tutucu maddenin aktif hale getirilmesi ve matriksteki maddeler ile tekrarlanabilir etkileşim için gerekli ortamın sağlanabilmesi amacıyla yapılmaktadır. Polar olmayan tutucu maddeler, kolon hacminin 2-3 katı miktarda suyla karışabilen

metanol, tetrahidrofur, isopropanol gibi polar çözücüler ile; polar tutucu maddeler ise polar olmayan çözücülerle şartlandırılmaktadır [30-31].

SPE ile herhangi bir türün derişimini birkaç bin kat arttırmak mümkündür. Bu, genellikle enstrümantal analizlerde başvuru olan bir tekniktir. Çünkü özellikle doğal kaynaklardan elde edilen numunelerdeki madde miktarı çoğu zaman, kullanılan spektrofotometrelerin tayin sınırının altındadır. Bu amaç için uygun boy ve çapta bir kolon seçilir, bu da birkaç denemeyle tayin edilebilir. Şunu da belirtmek gerekir ki; bu tür işlemlerde numuneden katı faza geçen tür, uygun bir sıyırma reaktifi ile katı fazdan elue edilir. Deriştirme işlemlerinde çoğu zaman numune matriksi değişir. Doğal numunelerin buldukları matriks, enstrümantal analiz için çoğu zaman elverişli değildir. Çünkü bu numunelerde bir dizi girişim kaynağı söz konusudur. Enstrümantal analizlerde sıkça başvuru olan yöntemlerden biri de ilgilenilen türün bulunduğu matriksin değiştirilmesidir. Sulu bir numunede bulunan uçucu bileşiklerin gaz kromatografik analizlerinden önce SPE kolonunda tutturulması ve sonra sıcak inert bir gaz ile kolondan sıyırılarak analiz için gaz kromatografisinin kolonuna gönderilmesi buna örnek olarak verilebilir [29].

Katı maddelerin sorpsiyon özellikleri ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve hâlâ yapılmaktadır. Bu tür işlemler genellikle kesikli yöntemlerle yapılmakta ve oldukça zor bir dizi basamaktan oluşmaktadır. Aşağıdaki sürekli SPE yöntemlerinden yararlanarak katıların sorpsiyon özellikleri kolayca incelenebilir:

1) Numune kolona beslenir ve çeşitli zaman dilimlerinde kolonun çıkışından örnekler alınarak analize tabi tutulur.

2) Numune kolona beslenir ve kolondan akan kısım kesiksiz bir şekilde uygun bir detektörden geçirilir. Bu işlemlerin sonucunda "Breakthrough Eğrileri" denilen eğriler elde edilir ve sorpsiyonun mekanizmasında bu eğrilerden elde edilen veriler kullanılır. Katı faz ile sıvı fazın birbiriyle etkileştirilme tarzına göre iki tür katı faz ekstraksiyonunun yönteminden söz edilebilir:

1) Kesikli Yöntem

2) Sürekli Yöntem

Kesikli yöntemde; katı faz sıvı numune ile aynı kap içerisinde iyice karıştırılır. Numunede bulunan maddelerin her iki faza karşı gösterdiği ilginin farklı olması, fazlar arasında madde transferini sağlayan temel etmendir. Maddelerin iki faz arasında dağılmasına (daha doğru bir ifadeyle “bulunmasına”) ilişkin denge oluşuncaya kadar sıvı fazdan katı faza madde geçişi devam eder. Denge kurulunca, birim zamanda fazlar arasında aktarılan madde miktarları eşitlenir.

Sürekli yöntemde ise sıvı numune katı bir madde ile doldurulmuş bir kolondan akıtılır ve bu esnada sıvı fazdan katı faza doğru madde geçişi olur. Kolondaki katı faz ile etkileşen sıvı numune kolondan hareket ettikçe içerdiği madde miktarı giderek azalır. Bu yöntemde; sıvı fazın katı faz ile etkileşmesi genelde kısa sürdüğünden, katı faza madde transfer etmiş çözelti kısmı ile katı faz arasında madde geçişine ilişkin dengenin oluşması için yeterli süre yoktur. Sürekli yöntemdeki denge kesikli yöntemdekinden farklıdır. Çünkü kesikli yöntemde tekli bir denge söz konusu iken, sürekli yöntemdeki denge, çoklu bir dengedir. Bunun sebebi, çözünenlerin kolonda ilerlerken sürekli olarak yeni katı parçacıklar ile ve aynı şekilde katı parçacıkların da sürekli olarak yeni çözelti kısımları ile etkileşmesidir. SPE sadece sıvı bir numuneden çözünenlerin katı bir faza ekstrakte edildiği sistemlerle sınırlandırılmamalıdır. Hava veya diğer gaz numunelerinin kolondan geçirilmesiyle organik buharlar veya numunede bulunan diğer bileşikler de ekstrakte edilebilir [28,29].

### **3.2.5.3. Katı Faz Ekstraksiyonu Metodunda Maddelerin Ayrılma Prensipleri**

SPE metodunda maddelerin birbirinden ayrılması, analizi yapılacak maddenin molekülleri ile tutucu maddedeki etkin gruplar arasındaki moleküller arası etkileşimler sayesinde açıklanır. Analizi yapılacak madde molekülleri tutucu maddelerdeki etkin gruplara iyonik, hidrojen, dipol-dipol, dipol-indüklenmiş dipol ve indüklenmiş dipolindüklenmiş dipol (Van Der Waals) bağları ile bağlanır. Bu şekilde aranan madde, matriksteki istenmeyen bileşikler ve çözücüler birbirinden ayrılmış olur.

SPE metodunda kromatografik yöntemlere benzer şekilde, analiz edilecek madde, çözücü ve tutucu maddelerin özelliklerine göre çeşitli ayırma mekanizmaları rol oynar. Belli başlı ayırma mekanizmaları olarak 4 grup sayılabilir.

1. Normal faz katı faz ekstraksiyonu
2. Ters faz katı faz ekstraksiyonu
3. İyon değişim katı faz ekstraksiyonu
4. Moleküler eleme katı faz ekstraksiyonu

#### **3.2.5.3.1. Normal Faz Katı Faz Ekstraksiyonu**

Normal faz; polar bileşiklerin polar olmayan matrikslerden ayrılması işlemidir. Şartlandırma aşaması polar olmayan çözücüler, toplama aşaması ise daha polar çözücüler yardımıyla gerçekleştirilir. Bu yöntemde en fazla kullanılan tutucu madde silikadır. Florosil ise pestisitler için en uygun tutucu maddedir. Karbonhidratça zengin bazı aşırı polar örnekler için ise silika, alumina gibi tutucu maddelere çeşitli grupların eklenmesi ile elde edilen siyano, diol ve amino grubu tutucu maddeler tercih edilmektedir. Bu maddelerdeki polar gruplar, polar olmayan organik çözücüler (hekzan/dietileter gibi) içerisindeki orta derecede polar olan örnek moleküllerini tutarlar. Hekzanda çözünmüş yağ asitlerinin ekstraksiyonu buna örnek olarak verilebilir. Yağ asidi numunesi, polar gruplar içeren katı bir madde ile doldurulmuş kolondan geçirilir ve sonra kolonda tutulmuş yağ asitleri uygun bir polar çözücü ile kolondan sıyrılır ve istenen konsantrasyona getirilir. Yani; normal faz SPE’de sabit faz polar, numune matriksi ise görece daha düşük polariteye sahiptir [32].

#### **3.2.5.3.2. Ters Faz Katı Faz Ekstraksiyonu**

Ters faz SPE’de amaç; polar olmayan türleri görece daha polar numune matriksinden ayırmaktır. Oktadesil (C18) bu teknik için en fazla kullanılan madde olmakla birlikte, oktil (C8), sikloheksil, bütil, fenil ve siyano da çeşitli örnekler için seçici olmaları nedeniyle tercih edilirler. Ters faz, klinik ve çevresel örneklerdeki organik kalıntıların analizinde çok yaygın şekilde kullanılan bir ayırım tekniğidir. Buna örnek olarak, fenollerin sulu bir numuneden hidrofobik karakterli katı bir faz yardımıyla

ekstrakte edilmesi verilebilir. Bu teknikte sabit faz apolar ve numune matrisi ise görece daha polar özelliktedir. Normal faz SPE numune hazırlama için ilk kullanılan SPE tekniğidir. Apolar numune matrislerinden görece daha polar türlerin SPE ile ekstraksiyonu çok eskilere dayanmaktadır ve o zamanlar “katı-sıvı ekstraksiyonu” olarak isimlendirilmekteydi. Özellikle, hidrofobik gruplar içeren silika türevlerinin sentezlenmesiyle, polar numune matrislerinden görece düşük polariteye sahip türler de ekstrakte edilebilmiştir.

### **3.2.5.3.3. İyon Değişimi Katı Faz Ekstraksiyonu**

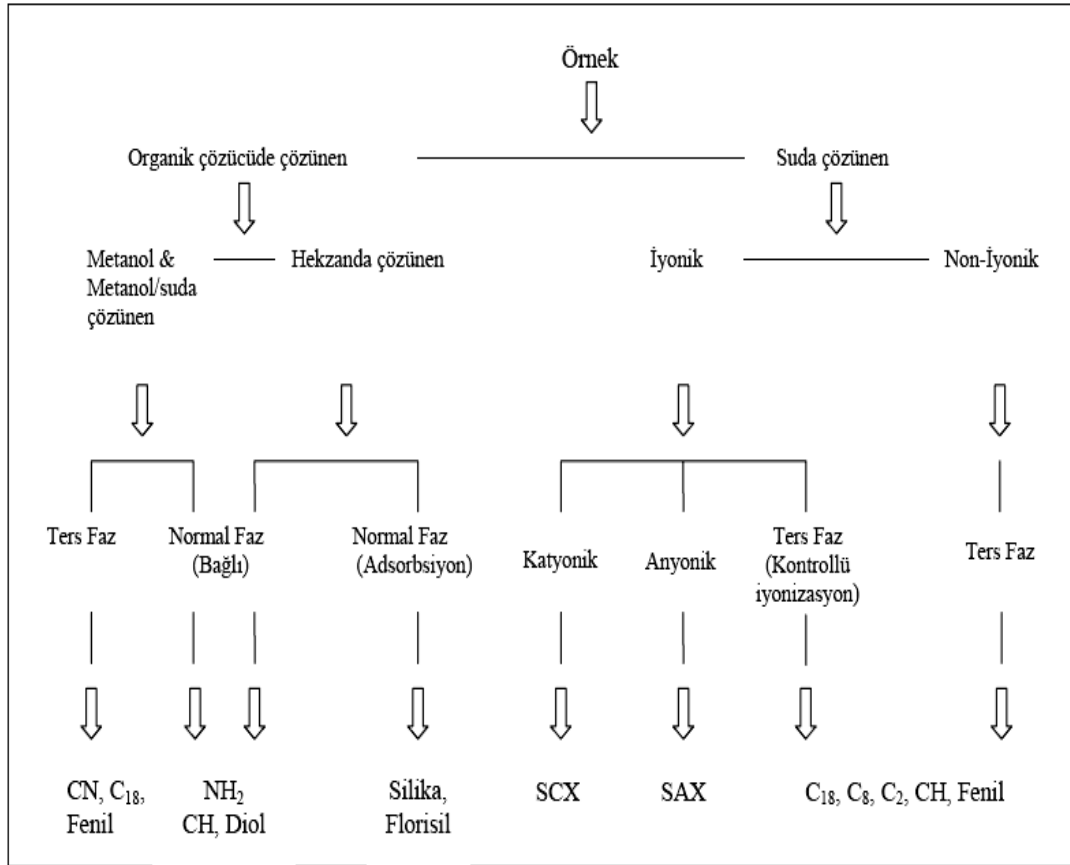
Bu teknikte amaç, iyonik ya da iyonlaşabilme özelliğine sahip hedef türü veya türleri numune matrisinden ayırmaktır. Bu amaçla kullanılan katı faz, iyon değiştirici gruplar içerir. Bu teknik ile anyonlar veya katyonlar uygun bir sabit faz ile numune matrisinden ayrılabilir. İyon değişim, özellikle asit ve bazların matristen elde edilmesi amacıyla kullanılan ve iki molekül arasındaki iyonların karşılıklı değişimi esasına dayanan bir tekniktir.  $\text{SO}_3^-$  ve  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  gibi etkin gruplar bağlanmış aşırı polar silika benzeri tutucu maddeler iyon değişim için uygundur.  $\text{SO}_3^-$  grubu, örnek çözeltisinden aranan temel maddelerin ayrılması için kuvvetli katyonik değişimi (SCX, strong cation exchanger),  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  grubu ise asitlerin bağlanması için kuvvetli anyonik değişimi (SAX, strong anion exchanger) sağlamaktadır. İyon değişim tekniğinde pH, zıt yüklü olma, iyonik kuvvet, organik çözücünün özelliği ve örneğin kolondan geçiş hızı gibi faktörler önem taşımaktadır. Başarılı bir iyon değişiminin sağlanabilmesi için, tutucu madde ile analiz edilecek maddenin zıt yüklerde olması ve örnek çözeltisindeki zıt iyon yoğunluğunun düşük olması gerekmektedir [29].

### **3.2.5.3.4. Moleküler Eleme Katı Faz Ekstraksiyonu**

Moleküler eleme tekniğinde ise dekstran jel gibi maddeler, içerdikleri gözenekler (porlar) sayesinde örnek çözeltisi içerisindeki maddelerin molekül büyüklüklerine göre ayrılmasını sağlar. Örnek çözeltisi içerisindeki molekül ağırlığı 10000'den düşük maddeler bu gözeneklere girebilirken, daha büyük maddeler direkt kolondan geçer. Böylece büyük maddeler ayrılırken, küçük molekül ağırlıklı maddeler kolonda kalmakta ve bu şekilde ayırım gerçekleşmektedir. Bu teknikte, ideal olarak maddelerin tutulması ya da diğer moleküler etkileşimlerin olmaması istenir.

Moleküler eleme, genellikle bağılı olmayan radyoizotopların ve protein çözeltilerinden tuzların ayrılmasında kullanılan bir tekniktir [32].

Karışık matrislerden analizi yapılacak maddelerin istenilen düzeyde ayrılarak, ideal bir örnek hazırlama basamağının gerçekleştirilmesi için doğru ayırım tekniğinin kullanılması çok önemlidir [29].



**Şekil 3.2.** Analiz edilecek örneğin özelliğine göre seçilmesi gereken SPE ayırım tekniği. (SCX: strong cation exchanger, kuvvetli kation değişimi yapan; SAX: strong anion exchanger, kuvvetli anyon değişimi yapan) [31].

#### 3.2.5.4. Katı Faz Ekstraksiyonunda Sabit Faz Seçimi

Numunenin ve hedef maddenin özellikleri belirlendikten sonra uygun bir SPE sabit fazının seçilmesi oldukça kolaylaşır. Örneğin; numune matrisi apolar ve hedef madde görece polar karakterde ise polar özellikte bir SPE sabit fazı seçilir ve numune bu faz ile etkileştirilerek hedef tür ayrılır, sonra polaritesi yüksek bir çözücü ile sıyrılarak istenen konsantrasyon aralığına getirilebilir. SPE metodunda ayrılma

işleminin gerçekleşmesi için tutucu madde ve çözücüler büyük önem taşımaktadır [29].

**Tablo 3.1.** SPE metodunda sıklıkla kullanılan çözücüler görülmektedir [32].

Polarite	Çözücü	Suyla Karışabilme
Nonpolar	Hekzan	Hayır
	İzooktan	Hayır
	Petrol eteri	Hayır
	Siklohekzan	Hayır
	Karbon Tetra Klorür	Hayır
	Kloroform	Hayır
	Metil Klorür	Hayır
	Tetrafüran	Evet
	Dietil Eter	Hayır
	Etil Asetat	Zayıf
	Aseton	Evet
	Asetonitril	Evet
	İzopropanol	Evet
	Metanol	Evet
	Su	Evet
Polar	AsetikAsit	Evet



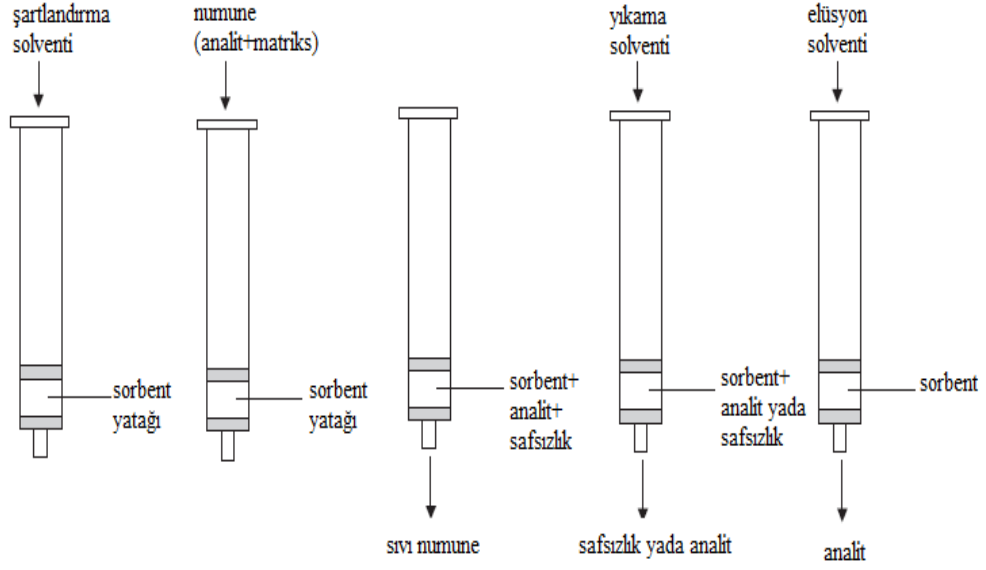
**Tablo 3.2.** Katı Faz Ekstraksiyonunda Kullanılan Katı Fazlar [32].

Adsorban	Formülü
Silikajel	SiOH
Alimuna	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Florisil	MgSiO <sub>3</sub>
Oktadesil	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> CH <sub>3</sub>
Oktil	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>3</sub>
Etil	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
Siyano	-CN
Fenil	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
Sikloheksil	-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>
Amino	-NH <sub>2</sub>
Diol	-COHCOH
Kuarterner Amin	-N <sup>+</sup>
Aromatik Sülfonil Asit	-C <sub>6</sub> HSO <sub>3</sub> H
Karboksilik Asit	-COOH

### 3.2.5.5. Genel Olarak Katı Faz Ekstraksiyonu İşlemlerinin Basamakları

Bir SPE işlemi genel olarak 4 basamaktan oluşur:

1. Katı Fazın Şartlandırılması
2. Analitin Katı Fazda Tutulması
3. Katı Fazda Tutulmayan Türlerin Giderilmesi
4. Analitin Katı Fazdan Sıyırılması

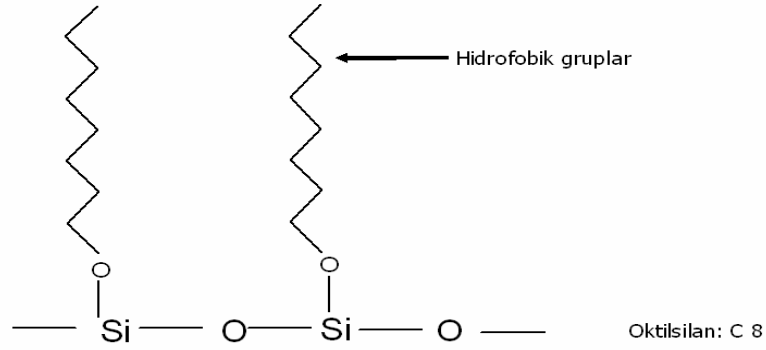


**Şekil 3.3.** Katı Faz Ekstraksiyonu Aşamaları [33].

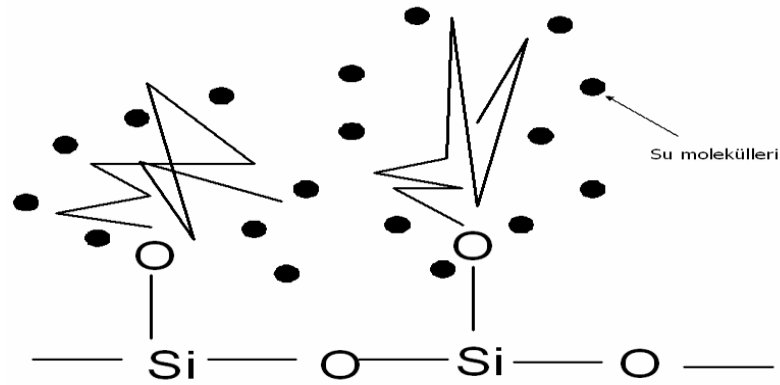
### 3.2.5.5.1. Katı Fazın Şartlandırılması

Katı faz ile numune matriksi arasında tekrarlanabilir etkileşmeler sağlamak için katı fazın hazırlanmasıdır. Bu, uygun bir çözücü veya çözücü karışımının SPE kolonundan geçirilmesiyle gerçekleştirilebilir. Fakat son zamanlarda üretilen bazı katı fazlar ile bu basamağa gerek kalmadan bu tür SPE işlemleri yapılabilmektedir ve bu “şartlandırmasız katı faz ekstraksiyonu (NC-SPE)” olarak bilinir. Katı fazı şartlandırmanın önemi aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir. Örnek olarak sabit faz C8 (oktilsilan) verilebilir. Oktil grupları, polaritesi düşük fonksiyonel gruplardan bir tanesidir ve sulu numunelerden hidrofobik etkileşmeler ile polaritesi görece düşük olan türlerin ekstrakte edilmesinde kullanılabilir. Fakat hidrofobik karakterdeki oktil grupları su ile karşılaşınca büzüşür ve uygun etkileşme yüzeyi oluşturamadığından verimli bir ekstraksiyon elde edilemez. Bu nedenle numune, sabit faz ile etkileştirilmeden önce, sabit fazı metanol veya asetonytril gibi bir çözücü ile etkileştirmek gerekir. Böylece; bu çözücü molekülleri su moleküllerine karşı oktil grupları etrafında adeta bir kalkan oluşturur ve büzüşmelerini önler. Etkileşme yüzey alanı artar ve bu da beraberinde daha verimli bir ekstraksiyonu getirir. Şunu da belirtmek gerekir ki; sabit fazı başlangıçta metanol ile etkileştirmek yeterli değildir. Çünkü; oktil gruplarına hidrofobik etkileşmeler ile tutunmuş metanol molekülleri, sulu numune kolona beslendiğinde suyun etkisiyle yıkayıp kolondan

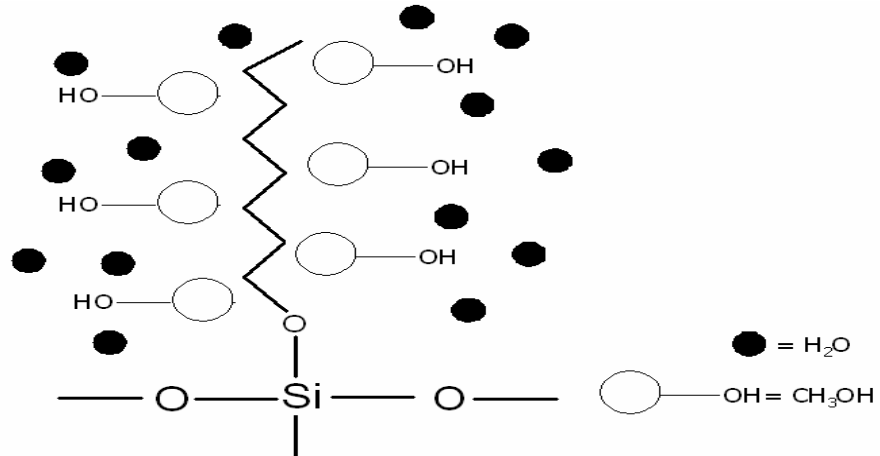
uzaklaştırılacaktır. Bunu önlemek için numuneye de yaklaşık % 5-10 (w/w) oranında metanol ilave edilmelir ve böylece daha verimli sonuçlar alınabilir [29].



Şekil 3.4. Su molekülleri ile etkileşmemiş oktilsilan sabit fazının görünümü [29].



Şekil 3.5. Su molekülleri ile etkileşmiş oktilsilan sabit fazının görünümü [29].



Şekil 3.6. Ortama metanol ilave edildiğinde oktilsilan sabit fazının görünümü [29].

Şartlandırma sırasında dikkat edilmesi gereken hususlar aşağıdaki gibi sıralanabilir

- Çözücü sonraki adımda kullanılan numune çözücüsü ile aynı olmalıdır.
- Maddenin (sorbentin) ıslatılması ve fonksiyonel grupların solvatasyonu ve sorbent üzerindeki kirliliklerin uzaklaştırılması açısından bu adım önemlidir.
- Şartlandırma çözücü ve katı sorbentin yapısına bağlıdır. Örneğin; oktadesil bağlı silika sorbenti için önce metanol, sonra su ve iyonik şiddetin numune çözeltisine benzer sulu tampon çözeltisi şartlandırma amacıyla kullanılır.
- Şartlandırma yapıldıktan sonra sorbent kurutulmamalıdır. Aksi takdirde verim ve geri kazanım düşük olur. Birkaç dakika bekleme olursa tekrar şartlandırma gerekecektir. [23].

#### **3.2.5.5.2. Analitin Katı Fazda Tutulması (Besleme)**

Analiti içeren numune matriksinin kolona beslenmesi ve başta analit olmak üzere diğer matriks bileşenlerinin de fiziksel ve kimyasal etkileşmeler ile katı faz tarafından tutulmasıdır. SPE işlemlerinde sadece hedef maddenin katı fazda tutulduğu, diğer türlerin hiç tutulmadığı ideal koşulları yakalamak genellikle zordur.

Besleme işlemi çeşitli şekillerde yapılabilir:

- 1) Çözeltinin yerçekiminin etkisiyle kolonda ilerlemesi
- 2) Çözeltinin vakum ile kolonda ilerlemesi
- 3) Çözeltinin basınç ile kolonda ilerlemesi

Besleme basamağı, bazen “adsorpsiyon basamağı” olarak da anılır. Özellikle besleme basamağında olmak üzere, SPE işlemlerinin tüm basamaklarında çözeltinin akış hızı son derece önemlidir. Çünkü akış hızı ile teorik tabaka sayısı arasında önemli bir ilişki vardır. Bu nedenle SPE işlemlerinde uygun bir akış hızının belirlenmesi gereklidir. Bunun için sadece akış hızının değiştiği ve diğer parametrelerin sabit kaldığı ardıl denemeler yürüterek, hedef türün en fazla tutulduğu dolayısıyla, teorik tabaka sayısının en fazla olduğu akış hızı belirlenebilir. Daha basit

bir yöntem, renkli bir maddeyi kolona beslemektir. Renkli madde kolonda bant olarak belirecektir. Bu bandın yayvan veya dar olması akış hızının uygun olup/olmadığı ile ilgili bilgiler verir. Şöyle ki; akış hızını düşürerek yayvan bir bant, dar bir banda dönüştürülebilir. Ayrıca; sabit faz olarak kullanılan katının parçacık boyutu daha da küçültülürse, bantlar daha da sıkı bir görünüm arz edecektir. Bu da, parçacık boyutunun SPE’de ne kadar önemli olduğunun göstergesidir [32].

Yükleme veya sorpsiyon işlem basamağındaki önemli hususlar aşağıda belirtilmiştir:

- Sisteme bağlı olarak 1 mL’den 1 L’ye kadar hacimde numune normal akış, pompalama veya vakum yardımı ile birlikte kolondan geçirilir.
- Akış hızı yeterli miktarda olmalıdır (fazla veya az değil).
- Bu sırada numune sorbent üzerinde konsantre olmalıdır.
- Matriks bileşenleri de belli oranda tutulabilir ancak hepsi tutulmamalıdır [23].

### **3.2.5.5.3. Katı Fazda Tutulmayan Türlerin Giderilmesi (Yıkama)**

Katı fazda tutunmuş hedef maddeyi (analitin) etkilemeden, girişim yaparak tutunmuş diğer türlerin uygun çözücü veya çözücü karışımları ile katı fazdan uzaklaştırılmasını kapsar [29]. Düşük eluasyon kuvvetine sahip uygun bir çözücü ile sorbent yıkanır. Bu sırada tutunmuş olan matriks bileşenleri ayrılır. Ancak analit yer değiştirmeden tutunmuş olarak kalır. Yıkama sonrasında, tutunmuş olan suyu uzaklaştırmak amacıyla bazen kurutma tavsiye edilebilir [23].

Örneğin; ters faz SPE işlemlerinde bu amaç için yaygın olarak kullanılan çözücülerden biri sudur. Su, zayıf olarak tutulmuş inorganik türleri kolondan yıkayabilir fakat organik karakterdeki türleri yıkamak için genelde yeterli değildir. Bu durumda, su içerisine % 5, 10 veya 20 oranında (w/w) organik bir çözücü ilave edilerek yıkama işlemi başarılı bir şekilde yürütülebilir. Organik çözücünün fazla ilave edilmesi, hedef türün kolondan yıkanmasına da yol açacağından, fazla miktarda organik çözücü kullanımından kaçınılmalıdır [29].

#### **3.2.5.5.4. Analitin Katı Fazdan Sıyırılması (Sıyırma)**

Analit ile katı faz arasındaki etkileşimleri kırmak için özel olarak seçilmiş bir çözücü ile analitin seçimli olarak katı fazdan uzaklaştırılmasını kapsar [29]. Elüsyonda denilen bu olay, katı sorbent üzerinde tutulmuş analit veya istenen bileşenin ayrılması amacıyla yapılır [23]. Bu amaç için kullanılan çözücünün enstrümantal analiz için uygun koşulları sağlaması gerekmektedir. Bazı durumlarda, sulu bir numuneden katı faza ekstrakte edilen maddeyi sıyırmak için, su ile karışmayan organik bir çözücü kullanmak gerekebilir. Bu durumda sıyırma işleminden sonra iki fazlı bir karışım elde edilecektir ki, bu da istenmeyen bir durumdur. Bu olumsuzluğu gidermek için, besleme basamağından sonra kolonda kalan suyun uzaklaştırılması gerekir. Bu da, ya vakum ile ya da kolonu santrifüj ederek gerçekleştirilebilir. Fakat bu sefer de kolondaki katı faz kurumuş olacağından, organik sıyırma çözücüsünün çok yavaş bir akış hızında kolona beslenmesi gerekir. Aksi takdirde, katı fazda kanallaşmalar meydana gelir ve bu da hiç istenmeyen bir durumdur. Sıyırma basamağında kullanılacak çözücü, hedef türü mümkün olan en az miktarda ve tamamen sıyırabilmelidir. Yani; hedef maddenin kapasite faktörü mümkün olduğunca sıfıra yakın olmalıdır. Ayrıca; sıyırma reaktifinin enstrümantal analizin seyrini bozabilecek safsızlıklar içermemesi de son derece önemlidir. Ters faz SPE işlemlerinde metanol, yaygın olarak kullanılan bir sıyırma reaktifidir. Bir SPE işleminin verimini etkileyen en önemli basamaklardan biri, sıyırma basamağıdır. Bu nedenle etkili bir sıyırma reaktifi ile yürütülen SPE işlemleri tercih edilir. Sıyırma reaktifi katı fazı çözmemeli ve yapısını bozmamalıdır [32].

Sıyırma işlemleri sıcak inert bir gaz ve elektrik akımı ile de yapılabilir. Örneğin katyon iyon değişimi SPE işlemlerinde aktif bölgelere elektrostatik etkileşimler ile tutulmuş metal iyonlarını sıyırmak için HCl yaygın olarak kullanılır. HCl'ye alternatif olarak, metal iyonları ile kompleks oluşturabilen EDTA'da kullanılabilir [29].

Buna göre önemli noktalar aşağıda belirtilmiştir.

- Matriks bileşenlerini ayırmadan analitin elüsyonu yapılır.

- Çözücü hacmi kantitatif olarak analitin ayrılmasına ve daha az seyreltilmesine göre ayarlanmalıdır.
- Akış hızı verimli elüsyona göre ayarlanır [23].

**Tablo 3.3.** Katı faz ayırması için ekstraksiyon ve ayırma sorbentleri [33]

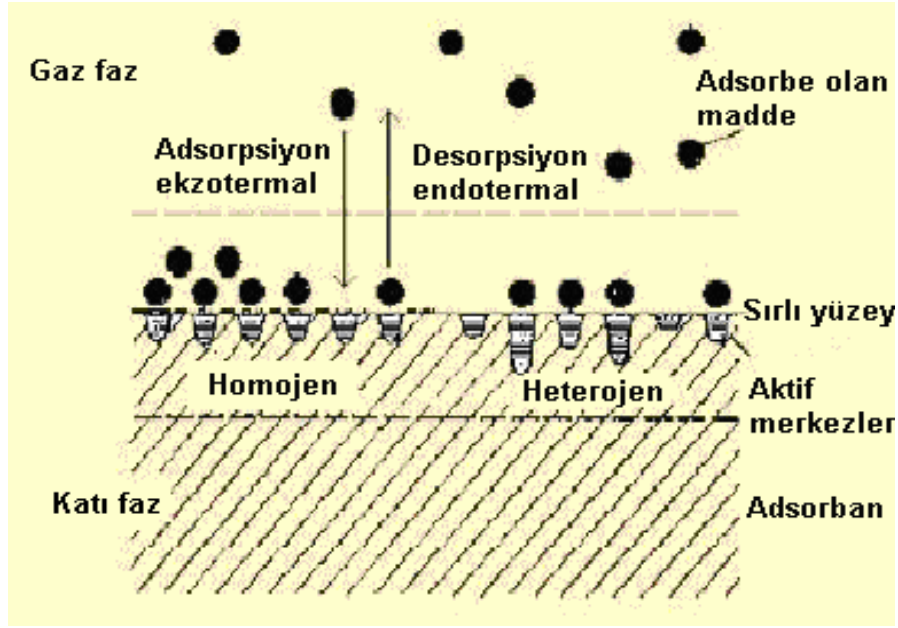
SORBENT	YAPI	ANALİT TİPİ	ÇÖZME SOLVENTİ	ELÜSTON SOLVENTİ
Ters Faz				
Oktadesil(C <sub>18</sub> )	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> CH <sub>3</sub>	Polar	Metanol/su,	Polar olmayan
Oktil(C <sub>8</sub> )	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>3</sub>	olmayan	Asetonitril/su	analitler için;
Etil(C <sub>2</sub> )	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>			hekzan,
Sikloheksil	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -			kloroform
Fenil	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>			Polar analitler için; metanol
Normal Faz				
Siyano(CN)	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CN	Zayıf polar-	Hekzan,	metanol
Amino (NH <sub>2</sub> )	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	orta polar-	kloroform	
Diol (COHCOH)	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> OCH <sub>2</sub> CHOHCH <sub>2</sub> OH	güçlü polar		
Normal Faz				
Kselgur	-SiOH	Zayıf polar-	Hekzan,	metanol
Silikajel	-SiOH	orta polar-	kloroform	
Florosil	-Mg <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	güçlü polar		
Alumina	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>			
İyon değiştiriciler(Anyanik ve Katyonik değiştirici)				
Amino(NH <sub>2</sub> )	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	Anyon	Su veya	1)Tampon
1 <sup>0</sup> ,2 <sup>0</sup> -Amino (NH/NH <sub>2</sub> )	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>3</sub>	değiştirici-	tampon	(pH=pKa+2)
		İyonik asit	pH=pKa+2	2)Analit yada

Kuarterner Amin(N <sup>+</sup> )	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>			solventin nötr olduğu pH
Karboksilik Asit (COOH)	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COO <sup>-</sup>			3)Yüksek iyonik güçteki solvent
Propil Sülfonik asit(SO <sub>2</sub> OH)	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> O <sup>-</sup>	Katyon	Su veya	1)Tampon
Aromatik Sülfonik Asit(ArSO <sub>2</sub> OH)	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> -SO <sub>2</sub> O <sup>-</sup>	değiştirici-iyonik baz	tampon pH=pKa-2	(pH=pKa-2) 2)Analit yada solventin nötr olduğu pH 3)Yüksek iyonik güçteki solvent

### 3.2.5.6. Katı Faz Üzerinde Adsorpsiyon Desorpsiyon İşlemleri

Adsorpsiyon, yapılan diğer tanımların yanı sıra, bir katı adsorbanın bağlı yüzeyinde adsorplanmak suretiyle çözünen maddelerin zenginleştirilmesidir. Aktif merkez olarak adlandırılan adsorbanın yüzeyi üzerinde yer alan atomlar arasındaki bağ kuvvetleri tamamen doyurulmamıştır. Bu aktif merkezlerde yabancı moleküllerin adsorpsiyonu yer alır. Adsorban üzerinde adsorplanmış bir madde, kendisine oranla daha şiddetle adsorplanan bir madde tarafından yer değiştirir. Yer değiştiren madde karbon tarafından desorplanır veya serbest bırakılır. Bu olay daha çok tercih edilen türlerin adsorpsiyonu boyunca devam eder. Kimyasal adsorpsiyon, adsorplanan maddenin fonksiyonel gruplarından dolayı oluşur ve adsorban kararlı bir bağ oluşturmak için etkileşir. Desorpsiyon olayı, kimyasal olarak adsorplanan maddelerden daha çok fiziksel olarak adsorplanan maddeler için daha uygundur. Katı faz üzerindeki adsorpsiyon ve desorpsiyon işlemleri Şekil 3.7' de şematik olarak gösterilmiştir [23].





Şekil 3.7. Kati faz üzerinde adsorpsiyon ve desorpsiyon işlemleri [18].

### 3.2.5.7. Adsorpsiyonu Etkileyen Faktörler

Adsorpsiyonu etkileyen bazı faktörler şunlardır:

#### pH

Hidronyum ve hidroksil iyonları kuvvetle adsorbe olduklarından, diğer iyonların adsorpsiyonu çözelti pH'ından etkilenir. Ayrıca asidik veya bazik bileşiklerin iyonizasyon derecesi de adsorpsiyonu etkiler.

#### Sıcaklık

Adsorpsiyon işlemi genellikle ısıveren bir tepkime biçiminde gerçekleşir. Bu nedenle azalan sıcaklık ile adsorpsiyon büyüklüğü artar. Açığa çıkan ısının genellikle fiziksel adsorpsiyonda yoğunlaşma veya kristalizasyon ısıları mertebesinde, kimyasal adsorpsiyonda ise kimyasal reaksiyon ısıları mertebesinde olduğu bilinmektedir.

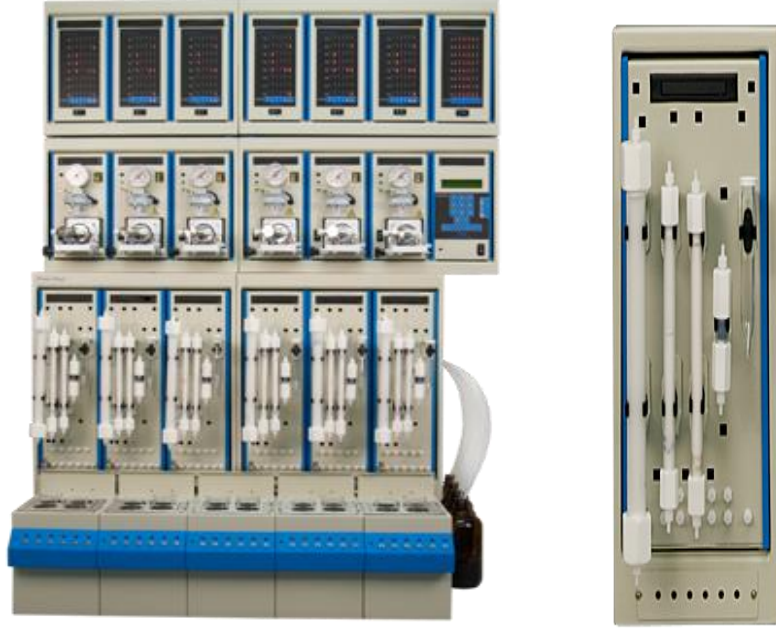
#### Yüzey Alanı

Adsorpsiyon bir yüzey işlemi olduğundan, adsorpsiyon büyüklüğü spesifik yüzey alanı ile orantılıdır. Adsorplayıcının tanecik boyutunun küçük, yüzey alanının geniş ve gözenekli yapıda olması adsorpsiyonu artırır [23].

### **3.2.5.8. Katı Faz Ekstraksiyonunun PCDD/PCDF ve PCB Analizi Uygulaması**

PCDD/PCDF ve PCB analizinde adsorban olarak kullanılan kolonların uygun solvent türleriyle şartlandırılması, numune bileşiminin kolonlara gönderilerek adsorblama işleminin yapılması, adsorban üzerinde tutulan analitin uygun solventle elüe edilmesi aşamaları yer almaktadır. PCDD/PCDF ve PCB analizinde tek kullanımlık kolonlar kullanılmaktadır. Bu kolonların içerisinde ise silika, alimuna ve karbondan oluşan adsorblayıcı maddeler vardır.

PCDD/PCDF ve PCB analizlerinde analitin matriks bileşenlerinden ayrılması işleminde otomatik katı faz ekstraksiyonu (Power Prep) sistemi konjener bazında kantitatif tayin için önemli bir yer tutmaktadır. Power prep sistemiyle on numuneye kadar analiz imkanı mevcuttur. Her numune için bağımsız bir modül mevcut olup, bütün modüller ama kontrol panelinden bilgisayar kontrolü ile kontrol edilmektedir. Her bir modülde solvent akışını sağlayan valfler ve pompa vardır. Sistemin iç basıncının 35 psi değerini aşmaması için basınç göstergesi tarafından gözlemlenmektedir. Solvent akış hızı, solvent cinsi ve akış oranı bilgisayar kontrollü ana kontrol panelinden kontrol edilmektedir. PCDD/PCDF ve PCB analizinde Power prep sistemine bağlı 4 adet kolon mevcuttur. Bu kolonlar asidik silika, yarı asidik yarı bazik silika, alimuna ve karbon kolonlardır. Bu kolonlar teflondan yapılmış olup ana amacı numuneden analiti ayırmaktır [34].



**Şekil 3.8.** Otomatik Katı Faz Ekstraksiyon Sistemi (Power Prep)

PCDD/PCDF ve PCB analizinde dioksinler, furanlar ve non orto poliklorlu bifeniller A fraksiyonunda toplanırken, mono orto poliklorlu bifeniller ve indikatör poliklorlu bifebiller B fraksiyonunda toplanırlar. PCDD/PCDF ve PCB analizinde kantitatif tayin edilen bazı konjenerler aşağıda yer almaktadır.

*PCDD konjenerleri:* 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,4,7,8-HxCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDD, 1,2,3,7,8,9-HxCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD.

*PCDF konjenerleri:* 2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,7,8,9-HxCDF, 2,3,4,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF, OCDF.

*Mono-orto PCB konjenerleri:* 2,3,3',4,4'-PeCB (105); 2,3,4,4',5-PeCB (114); 2,3',4,4',5-PeCB (118); 2',3,4,4',5-HxCB (123); 2,3,3',4,4',5-HxCB (156); 2,3,3',4,4',5'-HxCB (157); 2,3',4,4',5,5'-HxCB (167); 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189).

*Non-orto PCB Konjenerleri:* 3,3',4,4'-TeCB (77); 3,4,4',5-TeCB (81); 3,3',4,4',5-PeCB (126); 3,3',4,4',5,5'-HxCB (169).

*Dioksin benzeri PCB konjenerleri:* 2,2',4-TrCB (17); 2,2',5-TrCB (18); 2,4,4'-TrCB (28); 2,4,6-TrCB (30); 2,2',3,4-TeCB (41); 2,2',3,5'-TeCB (44); 2,2',4,4' + 2,2',4,5-TeCB (47 + 48); 2,2',4,5'-TeCB (49); 2,2',5,5'-TeCB (52); 2,3,4,4'-TeCB (60); 2,3,4',6-TeCB (64); 2,3',4,4' + 3,3',5,5'-TeCB (66 + 80); 2,3',4',5-TeCB (70); 2,4,4',5-TeCB (74); 2,2',3,4,4'-PeCB (85); 2,2',3,4,5'-PeCB (87); 2,2',3,4',6-PeCB (91); 2,2',3,5',6-PeCB (95); 2,2',3',4,5-PeCB (97); 2,2',4,4',5-PeCB (99); 2,2',4,4',6-PeCB (100); 2,2',4,5,5'-PeCB (101); 2,2',3,3',4,4'-HxCB (128); 2,2',3,3',5,6'-HxCB (135); 2,2',3,3',6,6'-HxCB (136); 2,2',3,4,4',5-HxCB (137); 2,2',3,4,4',5' + 2,3,3',4',5,6-HxCB (138 + 163); 2,2',3,4,5,5'-HxCB (141); 2,2',3,4',5,5'-HxCB (146); 2,2',3,4',5',6-HxCB (149); 2,2',3,5,5',6-HxCB (151); 2,2',4,4',5,5'-HxCB (153); 2,2',4,4',6,6'-HxCB (155); 2,2',3,3',4,4',5-HpCB (170); 2,2',3,3',4,4',6-HpCB (171); 2,2',3,3',4,5,5'-HpCB (172); 2,2',3,3',4,5,6'-HpCB (174); 2,2',3,3',4,6,6'-HpCB (176); 2,2',3,3',4',5,6-HpCB (177); 2,2',3,4,4',5,5'-HpCB (180); 2,2',3,4,4',5',6-HpCB (183); 2,2',3,4',5,5',6-HpCB (187); 2,2',3,3',4,4',5,5'-OCB (194); 2,2',3,3',4,4',5,6-OCB (195); 2,2',3,3',4,5',6,6'-OCB (200); 2,2',3,3',4',5,5',6-OCB (201); 2,2',3,3',5,5',6,6'-OCB (202); 2,2',3,4,4',5,5',6 + 2,2',3,3',4,4',5',6-OCB (203 + 196) [35].

**Tablo 3.4.** SPE'nin ekstraksiyon ve saflaştırma tekniği uygulamaları [33].

Matriks tipi	Analit tipi	Ekstraksiyon tekniği	Temizleme tekniği	Son analiz
Toprak, sediment	PAH'lar, PCB'ler, Pestisitler	Basınçlı sıvı ekstraksiyonu	SPE(farklı sorbent yataklarının karşılaştırılması C <sub>18</sub> ,Ph,NH <sub>2</sub> , Diol, Al, CN+Al, C <sub>18</sub> +AlPh+Al, Diol+Al, Diol+C <sub>18</sub> +Al, Ph+C <sub>18</sub> +Al	GC-MS
Su	Pestisitler	C <sub>18</sub> ,stiren-divinil benzen	-	GC-MS
Su	Pestisitler	SPE	-	GC-NPD GC-ECD

Akarsu	Pestisitler, Triazinler, Organo klorlu bileşikler	SPE	-	GC-ECD
İçme suyu	Pestisitler	SPE(C <sub>18</sub> )	-	HPLC-DAD
Su	PCB'ler	SPE(47mm disk C <sub>18</sub> , n-pentan ve n-heptan)	SPE (Florosil)	GC-ECD
Su	Herbisitler, Pestisitler, PCB'ler	Sonikasyon	-	GC-NPD GC-MS
Toprak	Pestisitler	Sonikasyon (Aseton)	SPE(C <sub>18</sub> ,C <sub>8</sub> )	GC-ECD
Toprak	Pestisitler	Sıvı ekstraksiyon(LE) (metanol)	SPE (C <sub>8</sub> için 47-mm disk)	GC-ECD GC-NPD
Bitki	Triazin herbisitler	Sonikasyon	SPE (Güçlü anyon değiştirici)	LC
Şerbetçiotu	Fungusit	Sonikasyon	SPE(İzopropil amin)	GC-MSD
Buğday, mısır	Organo- fosforlu Pestisitler	Süperkritik sıvı ekstraksiyon(SFE), sıvı ekstraksiyon (aseton/metanol)	SPE	GC-FPD
Meyveler	Pestisitler	Sonikasyon	SPE(Grafit edilmiş karbon, polimer)	GC-MS
Meyveler, sebzeler, (elma, bezelye, yeşil muz, portakal, çilek mandalina, havuç, buğday)	Pestisitler	Sonikasyon (Diklorometan/ petrol eteri)	SPE yatakları: grafitlenmiş siyah karbon(GCB), GCB+NH <sub>2</sub> , GCB+ SAX (Güçlü anyon değiştirici)	GC-FPD GC-ITMS
Meyve, sebzeler	Pestisitler	Matriks katı faz ekstraksiyon dağılımı	SPE(GCB,C <sub>18</sub> )	GC-ECD

Meyve, sebzeler	Pestisitler	Sonikasyon (aseton)	SPE: Çapraz bağlı polistiren divinil benzen)	GC-MS
Sebzeler	Pestisitler	LE(hekzan)	SPE(Silikajel)	GC-ECD
Portakal, tatlı patates, yeşil muz	Pestisitler	SFE	SPE(Oktildesil silan, diol, tenax, porarakQ)	GC-iyontrap-MS
Elma, kabak, üzüm, yeşil biber, erik	Pestisitler	LE(Metil klorür/petrol eteri)	SPE (C <sub>18</sub> , GCB, C <sub>18</sub> -NH <sub>2</sub> )	GC-ECD GC-MS
Domates	Organo klorlu Pestisitler	Sonikasyon	SPE(Florosil)	GC-ECD
Patates	Pestisitler	LE (hafif petrol/diklorometan)	SPE(C <sub>8</sub> )	GC-FID GC-NPD
Elma	Pestisitler	LE (etil asetat)	SPE(polistiren divinil benzen, sülfürük asit ile doyurulmuş silikajel)	GC-MS GC-ECD
Baharat tozu	Organo klorlu Pestisitler	LE (Hekzan/diklorometan)	SPE( Silica, Florosil)	GC-ECD
Tereyağ, Mısır yağı	Pestisitler	SFE	SPE(Florosil)	GC-ECD GC-ELCD
Soya yağı	Pestisitler, Organo klorlu bileşikler	Extrelut-3, C <sub>18</sub> , C <sub>18</sub> ve Extrelut kombinasyonu	-	GC-ECD
Yağlı yiyecekler (tavuk, domuz eti)	PCDD/F	Sokzalet ekstraksiyonu	SPE(C <sub>18</sub> , Florosil)	GC-MS
Balık yemekleri, domuz yağı	PCB	Basınçlı sıvı ekstraksiyonu (hekzan)	SPE( sülfürük asitle (%40v/v) muamele edilmiş silikajel)	GC-ECD
Balık (dil balığı,	PCB	Sokzalet ekstraksiyonu	SPE (Alimuna)	GC-MS

morina balığı)				
Süt tozu	PCB, PCDD/F	Sokzalet ekstraksiyonu	SPE: SiO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Florosil	HRGC-HRMS
İnsan sütü	DDT, DDE, Hekza kloro benzen, Hekza kloro sikloheksan, Pestisitler	LE(Hekzan/Aceton)	SPE(Florosil, Alumina, C <sub>18</sub> )	GC-ECD
İnek sütü, insan sütü	PCDD, PCDF, PCB	1.Sokzalet ekstraksiyonu(pentan/dikloro metan) 2.SPE (C <sub>18</sub> ) 3.Birleştirilmiş saflaştırma ve ekstraksiyonu	SPE(Yüksek kapasiteli tek kullanımlık silika kolon(HCDS), Karbon kolon)	GC-HRMS
İnsan sütü	Pestisitler	LE(Hekzan/Aceton)	SPE(Florosil, Alumina, C <sub>18</sub> )	GC-ECD
Bal arısı	Pestisitler	SPE(Diatom toprağı)	GPC(Jel Yürütme Kromatografisi) (Biyoyataklar)	GC-NPD GC-ECD
Yumurta	Organo klorlu pestisitler	SPE, LE(Asetonitril)	SPE: C <sub>18</sub> , Florosil	HRGC-ECD
Yumurta	Pestisitler	LLE(Sıvı-sıvı ekstraksiyon) (Asetonitril)	SPE(Florosil)	GC-ECD GC-NPD
Serum, İnsan gıdası	PCB	Sokzalet ekstraksiyonu, LLE	SPE(Florosil, asidik silika, biyoyatak SX-3)	GC-MS
İnsan kanı	Dioksinler (PCDD/F, PCB)	LE(Aseton/Hekzan,kloroform/metanol ve PLE(aseton/hekzan, etanol/hekzan)	SPE (ardarda basitleştirilmiş çoklu silikajel (TS-ML-AC))	GC-MS
Lanolin	Pestisitler	SPE (Selit, hekzan/diklorometan)	SPE(Silikajel)	GC-ECD

## 4. GAZ KROMATOĞRAFİSİ

### 4.1. Kromatografi

Kromatografi ilk defa 1906 yılında bir Rus Botanist olan Tswett tarafından bitkilerin renk verici bileşenlerinin ayrılmasında kullanıldı. Tswett renkli maddelerin ayrışmalarını elde ettiği için yöntemini kromatografi olarak isimlendirdi. Yöntemler renksiz maddelere tatbik edildiği zaman bu yanlış bir isimdi, fakat o kadar kesin bir şekilde yerleşmişti ki, yerini başka bir isme bırakmadı. 1931 yılında Kuhn ve Lederer, Tswett'in tekniğini karotenlerin ve ksantofillerin preparatif ölçüde ayrılması için başarı ile kullandı [36].

Kromatografi; bir karışımda bulunan maddelerin, hareketli ve sabit faz arasında dağılıma, adsorbsiyon veya iyon değişimine ve bunun gibi bazı mekanizmalara bağlı olarak ayrılması esasına dayanır [37]. Kromatografik metotlarda numune gaz, sıvı veya bir süperkritik akışkan olan hareketli bir faz ile taşınır. Hareketli faz ise kolon veya bir katı yüzeyinde sabitleştirilmiş kendisi ile karışmayan bir durgun faz içinden geçmeye zorlanır. Bu sırada durgun faz tarafından kuvvetli tutulan numune bileşenleri, hareketli fazın akışıyla çok yavaş hareket ederler. Buna karşılık durgun faz tarafından zayıfça tutulan bileşenler hızlı hareket ederler. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu, numune bileşenleri farklı bant veya bölgeler halinde birbirinden ayrılırlar. Kromatografinin sınıflandırılması kullanılan durgun ve hareketli fazların tipleri ve fazlar arasında madde akışını sağlayan dengelerin cinsine göre yapılır. Buna göre kromatografinin üç genel tipi; sıvı kromatografiyi, gaz kromatografi ve süperkritik akışkanlı kromatografi. Bu isimlerde geçtiği gibi bu üç teknikte hareketli faz sırası ile sıvı, gaz ve süperkritik akışkandır.

Kromatografinin daha temel sınıflandırılması kullanılan durgun ve hareketli fazların tipleri ve fazlar arasında madde aktarımını sağlayan dengelerin cinslerine göre yapılır.

Tablo 4.1 kromatografinin üç temel tipini göstermektedir: sıvı kromatografi, gaz kromatografi ve süperkritik akışkanlı kromatografi.



**Tablo 4.1.** Kolon kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması [38].

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 yüzeyine bağlanmış organik türler	Sıvı ve bağlı yüzey arasında dağılma
	Sıvı-katı veya adsorpsiyon	Katı	Adsorpsiyon
	İyon değişimi	İyon değiştirici reçine	İyon değişimi
	Boyut eleme	Polimer bir katının gözeneklerindeki sıvı	Dağılma /eleme
Gaz kromatografisi (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 akışkan kromatografisi (SFC )		Katı yüzeyine bağlanmış organik türler	Süper kritik akışkan ve bağlı yüzey arasında dağılma

Kromatografide alıkonma zamanı ( $t_R$ ) numune enjekte edildiği andan dedektörde sinyalinin görüldüğü ana kadar geçen zaman olarak tanımlanır. Moleküller arası kuvvetler, molekül içi kuvvetler, sıcaklık, taşıyıcı gazın hızı, molekül büyüklüğü, polarite vb. etkiler alıkonma zamanını belirleyen faktörlerdir [39].

$$t_R = \text{Kolon boyu (L)} / \text{Hareketli faz hızı (VH)}$$

Bir maddenin dağılma katsayısı ( $K_c$ ), ne kadar büyükse, moleküllerin ortalama hızı o kadar küçüktür. Sıfırdan büyük  $K_c$  değerine sahip olan bir madde kolon içerisinde mutlaka alıkonacaktır. Burada alıkonma zamanı  $t_R$  enjeksiyondan pik maksimumuna kadar geçen süreyi ifade eder. Kolondan hiç tutulmayan ( $K_c=0$ ) maddenin alıkonma zamanı önemlidir. Bu zaman  $t_0$  olarak gösterilir. Bütün denge sabitleri gibi dağılma sabiti de sıcaklıkla değişir. Sıcaklığın kontrolü ile alıkonma zamanı kontrol edilir [40].

Kromatografik çalışmalar yapılırken kolon sabit sıcaklıkta tutulabildiği gibi belli bir sıcaklık programı uygulanarak da çalışılabilir. Maksimum sıcaklık kolonun dayanabileceği sıcaklık olmalıdır. Kolonun etkinliği pik genişliği ile ölçülür. Dar pikler elde edildikçe kolon etkinliği artar. Kolonu ayırıcılığı ise teorik tabaka sayısına bağlıdır.

$$N = 16 (t_R / w)^2$$

Yukarıdaki eşitlikte  $N$ ; teorik tabaka sayısı,  $w$ ; pik genişliğidir. Buna bağlı olarak teorik tabakaya eşdeğer yükseklik ( $H$ ); kolon boyu ( $L$ ) ile eşdeğer teorik tabaka sayısının birbirine oranıdır [37].

$$H = L / N$$

Kromatografik pikler kinetik olarak kontrol edilen üç işlem nedeniyle genişler; bunlar: (1) girdap difüzyonu, (2) boylamasına difüzyon ve (3) dengesiz kütle transferidir. Bu etkilerin büyüklüklerini akış hızı, dolgu maddesinin tanecik büyüklüğü, difüzyon hızları ve sabit fazın kalınlığı gibi kontrol edilebilen değişkenler belirler. Bu üç işlemi de kapsayacak şekilde kromatografik kolonların verimini hesaplamada kullanılabilecek çeşitli denklemler geliştirilmiştir. Bunlardan ilk bulunanı ve en basit olanı "Van Deemter" denklemidir ve gaz-sıvı kromatografisi için çıkarılmıştır; denklem, akış hızı  $m$  ile tepsi yüksekliği  $H$  arasında yaklaşık bir ilişki verir; burada  $A$  girdap difüzyonu ile,  $B$  boylamasına difüzyon ile ve  $C$  dengesiz kütle transferi ile ilgili terimlerdir. Klasik Van Deemter eşitliği aşağıdaki gibidir [41];

$$H = A + B / m + C.m$$

H: Teorik tabaka (tepsi) yüksekliği

A: Eddy (Girdap) difüzyon katsayısı

B: Boyuna difüzyon katsayısı

C: Kütle transfer katsayısı

m: Akış hızı

Destek dolgusu içermeyen açık tübüler kolonlar için, “A” terimi yoktur ve bu durumda eşitlik Golay eşitliği adını alır.

$$H = B / m + C.m$$

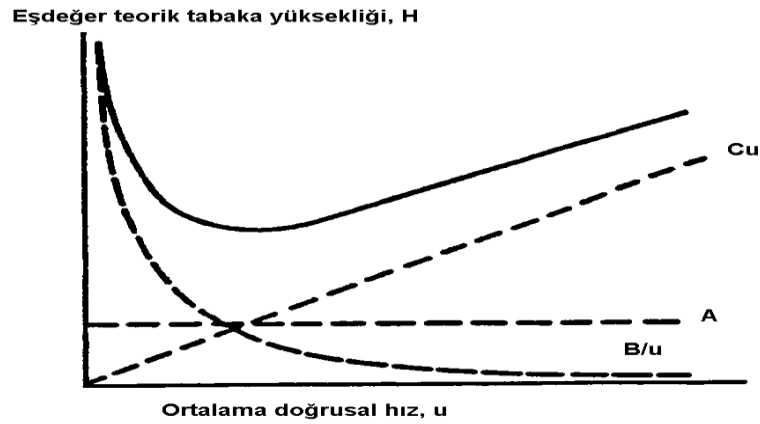
A (Eddy difüzyon katsayısı); kolonu doldurmak için kullanılan taneciklerin büyüklüğü ve tekdüzeliğinin bir fonksiyonudur. Dolgu kolonlarda bu terim geçerli olup, kılcal kolonlarda etkin değildir [37]. Bir molekülün dolgulu bir kolondan geçerken karşılaştığı patikaların sayısı artıkça girdap difüzyonu etkisiyle bölge genişlemesi meydana gelir. Bu patikaların uzunlukları farklıdır; bunun sonucu olarak aynı maddeye ait moleküllerin kolonda alıkonma süreleri de farklı olur. Böylece tüm moleküllerin kolonun sonuna ulaşmaları bir zaman aralığında gerçekleşir ve çıkan band da geniş bir şekil alır. Bir kolon doldurulurken küçük ve küresel, dar aralıklı boyutlarda dolgu maddesinin kullanılarak girdap difüzyonu nedeniyle oluşan band genişlemesi en düşük düzeye indirilebilir. Kolondaki dolgu maddesinin aralarında açık kanallar bulunmamalıdır. Özenle doldurulan bir kolonda girdap difüzyonu çok düşük seviyelerdedir [41].

B (Boylamasına difüzyon katsayısı); boylamasına difüzyon bir bandın yoğun merkez kısmındaki moleküllerin, bandın iki tarafındaki daha seyreltik bölgelere doğru göç etme eğilimlerinden kaynaklanır. Hareketli ve sabit fazların her ikisinde de oluşabilen bu tip difüzyonun yarattığı band genişlemesi oldukça fazladır. Boylamasına difüzyon hareketli fazın gaz olduğu bir ortamda çok önem kazanır,

çünkü gaz fazındaki difüzyon hızlarının büyüklüğü sıvılara göre birkaç derece fazladır. Difüzyon miktarı zamanla artar; akış hızı azaldıkça band genişlemesi de artar [41]. Hareketli faz gaz ise bu etki daha fazladır. Taşıyıcı gaz akış hızı artırılarak bu etki en aza indirilebilir [37].

C (Dengesiz kütle transfer katsayısı); kromatografik bandların genişlemesine yol açan bir diğer neden de hareketli faz akışının çok hızlı olması ve fazlar arasında gerçek bir dengenin kurulamamasıdır. Örneğin, hareketli fazın taze sabit fazla karşılaştığı band bölgesinin ön tarafında henüz denge konumuna ulaşılmamıştır. Bu durumda madde, kolonun gerçek dengeye gelindiği halde bulunması gereken kısmından daha ileride bir yerde bulunur. Benzer şekilde, bölgenin sonunda, sabit fazdaki maddeler taze hareketli fazla karşılaşırlar. Yine, madde taneciklerinin fazlar arasındaki geçişi hemen gerçekleşemez ve denge konumuna gelmesi için yeterli zaman olmadığından bölgenin uzantısı yayılır.

Dengesiz kütle transferinin etkisi akış hızı düşürülerek küçültülebilir, çünkü dengeye ulaşılabilmesi için daha fazla zamana gereksinim vardır. Ayrıca, hareketli fazın aktığı kanalların dar olması halinde madde moleküllerinin sabit faza difüzyonları daha kolay olacağından denge konumuna daha çabuk ulaşılır. Aynı nedenle, sabit bir faz üzerine akmayan sıvıların kaplandığı hallerde sıvı tabakaların mümkün olduğu kadar ince olması gerekir [41].



**Şekil 4.1.** Van Deemter Eğrisi. Denklemdaki değişkenlerin tabaka yüksekliğine etkisi

#### **4.1.1. Gaz–Katı Kromatografisi**

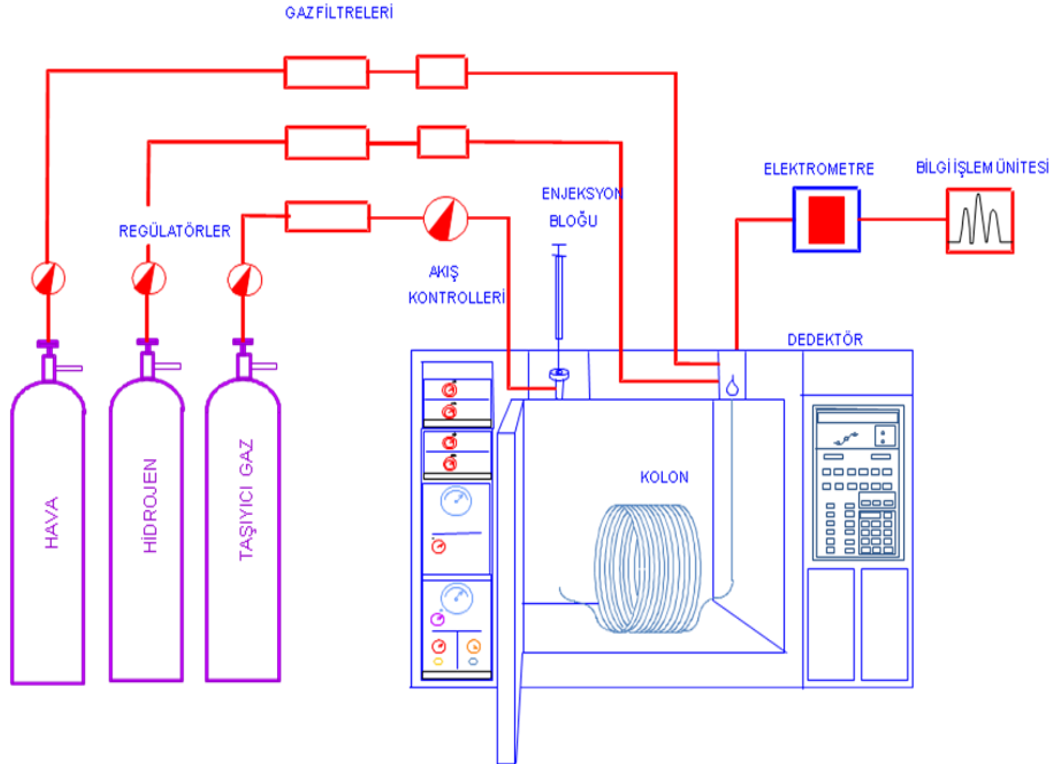
Gaz-katı (GSC) kromatografide hareketli faz bir gaz olup, durgun faz ise analitleri fiziksel adsorpsiyon ile tutan bir katıdır. Aktif veya polar moleküllerin yarı-kalıcı tutulmaları ve adsorpsiyonun doğrusal olmayan niteliği sonucu, elüsyon tepelerinin önemli şekilde kuyruk oluşturmamasından dolayı gaz-katı kromatografinin uygulaması kısıtlıdır. Böylece bu teknik, bazı düşük molekül ağırlıklı gaz türlerinin ayrılması dışında yaygın uygulama bulamamıştır. Gaz-katı kromatografisi hava bileşenleri, hidrojen sülfür, karbon monoksit ve azot oksitler gibi düşük molekül ağırlıklı gazların ayrılması ve tayinini sağlar.

#### **4.1.2. Gaz–Sıvı Kromatografisi**

Gaz-sıvı (GLC) kromatografide, hareketli faz bir gaz olup durgun faz ise inert bir katı yüzeyine adsorpsiyon veya kimyasal bağ ile tutulmuş bir sıvıdır ve hareketli faz ile durgun faz arasından analitin dağılımına dayanır. Gaz–sıvı kromatografisi kavramı ilk kez 1941 yılında Martin ve Synge tarafından ileri sürülmüştür. Buna göre gaz–sıvı kromatografisinin deneysel olarak uygulanması için 10 yıldan fazla bir süre geçmiştir. 1955’de ilk ticari gaz–sıvı kromatografisi cihazı piyasaya sunulmuştur. Gaz–sıvı kromatografisi bilimin tüm dallarında yaygın olarak uygulanır ve genellikle adı gaz kromatografisi (GC) olarak kısaltılır. Uygulamalarda %95’in üzerinde gaz-sıvı kromatografisi kullanılmaktadır.

GC’nin önemini anlayabilmek için yöntemin oynadığı iki farklı rolü iyi ayırt etmek gerekir. Öncelikle yöntem ayırma amacı ile kullanılmaktadır. Bu anlamda, kendisi veya bir türevi buharlaşabilen maddelerden oluşmuş kompleks organik sistemlerin, metal–organik maddelerin ve biyokimyasal sistemlerin ayırımında paha biçilemez ölçüde yararlıdır. İkinci önemli rolü ise bu yöntemin, ayrılan maddelerin teşhisini ve tayinini sağlamasıdır. Kalitatif analiz için alıkonma zamanları veya hacimleri kullanılır. Pik yükseklikleri veya alanları ise kantitatif amaçla değerlendirilirler. Madde teşhisinde ise yüksek potansiyele sahip kütle, infrared ve NMR spektrometreleri gibi cihazların GC ile beraber kullanılması eğilimi ağırlık kazanmaktadır.

Gaz kromatografisi de öteki kromatografi dalları gibi bir karışımda bulunan maddeleri ayırmaya yarar. Burada numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilir. İnert bir hareketli gaz faz ile elüsyon yapılır. Diğer kromatografik yöntemlerin aksine gaz faz analitin molekülleri ile etkileşmez; gazın tek işlevi, analiti kolon boyunca taşımaktır [38].



Şekil 4.2. Gaz kromatografisi şematik gösterimi.

## 4.2. Gaz Kromatografisi

Gaz kromatografisi tekniği, uçucu olan veya uçucu hale getirilebilen maddelerin belirli bir sıcaklıkta, bir taşıyıcı gazın akışı yardımıyla, sabit bir faz içinde ayrılmaları esasına dayanır [42]. Gaz kromatografisinde hareketli faz gazdır. Gaz kromatografisi aşağıda anlatılacağı gibi ayırma ve analiz bölümlerinden oluşmaktadır.

### 4.2.1. Taşıyıcı Gaz

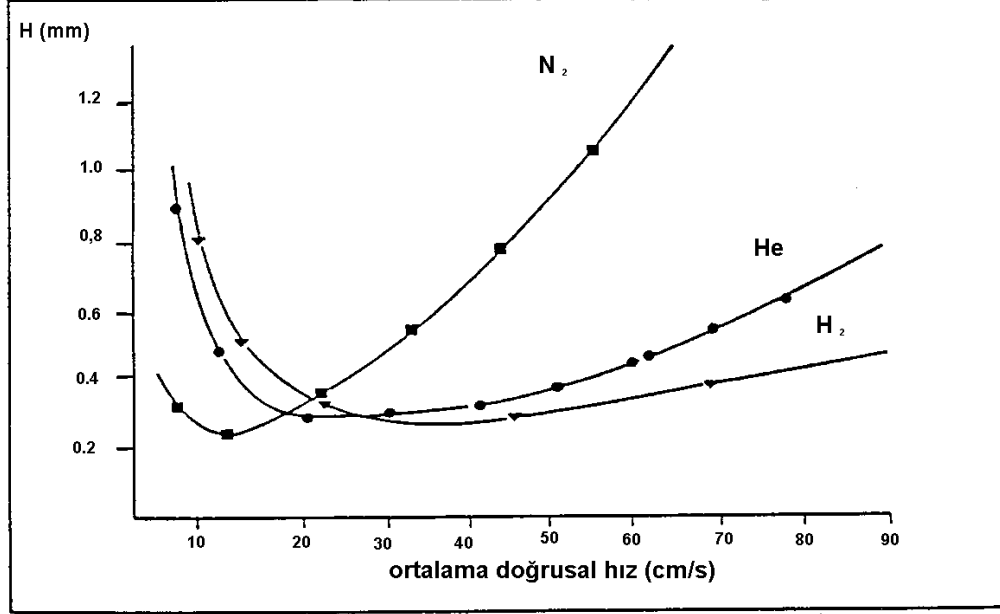
GC ile çalışan kişilere zarar verici bir risk oluşturmaması için taşıyıcı gaz, kimyasal olarak inert olmalı, toksik ve yanıcı olmamalıdır. Kullanıldıktan sonra atıldığı için ucuz olmalıdır. Molekül ağırlığı büyük olan gazlar difüzyonu daha az olacağı için

ayırım etkinliğini arttırmaları. Gaz kromatografisinde taşıyıcı gaz olarak genellikle azot, helyum ve hidrojen kullanılır. Taşıyıcı gaz, enjekte edilen bileşenlerin kolonda taşınmasını ve madde ya da maddelerin sabit fazla etkileşimini sağlar [37].

Gaz seçimi, kullanılan dedektör tipine göre yapılır. Taşıyıcı gaz tüpüne bağlı halde, basınç ayarlayıcılar, göstergeler ve akış sayaçları bulunur. Bunlara ek olarak, su veya diğer safsızlıkları gidermek için gaz sisteminde çoğu zaman moleküler elek bulunur. Oksijen safsızlığının giderilmesi de gerek ayırma ve gerekse kolondaki sıvı fazın yükseltgenerek bozulmasını önlemek açısından zorunludur. Gaz kromatografisinin güvenilirliği kullanılan taşıyıcı gazın akışının ve basıncının ayarlanmasına bağlıdır. Akış hızı kontrolü, normal olarak gaz silindirene bağlı iki basamaklı basınç ayarlayıcıları ve kromatografa bağlı akış regatörleri ile yapılır. Gaz akımı ayarlayıcısı dakikada 200 mL'ye kadar gaz verebilir. Giriş basınçları, genelde 10-50 psi (oda basıncının 1-5 atmosfer üzerinde ) arasında değişir ve taşıyıcı gaz hızı açık boru tipi kapiler kolonlarda 1-25 mL/dakika, dolgu kolonlarda ise 25-150 mL/dakika kadardır. Genel olarak, giriş basıncının sabit kalması halinde akış hızının değişmeyeceği varsayılır. Gaz akış hızı ve kolon girişi gaz basıncı ayarlanarak kontrol edilir ve bilyeli rotametreler veya kolon çıkışında bir sabun köpüğü büreti ile ölçülür [38].

Taşıyıcı gazın ayırım üzerindeki etkisi Golay eşitliğinin hareketli faz difüzyon terimlerini inceleyerek açıklanabilir. Kullanılan taşıyıcı gazın cinsinin kromatografik ayırım üzerine etkileri Şekil 4.3'de gösterilmektedir. En yüksek verimlilik azot gazı kullanılarak elde edilmektedir (minimum H). Bu minimum değer düşük taşıyıcı gaz doğrusal hızlarında görülmekte ve artan doğrusal hızla orantılı olarak, verimlilik de hızla düşmektedir. Bu nedenle, azot gazı kılcal kolonun kullanıldığı GC'de çok sık hareketli faz olarak seçilmez. Diğer taraftan, hidrojen gazının daha düşük viskozitesine bağlı olarak, taşıyıcı gaz hızındaki değişiklikler kolon ayırıcılığını belirgin olarak etkilemeyecektir. Hidrojen verimlilik eğrisinin minimumu daha geniş bir aralıkta ve daha yüksek doğrusal hızlarda ortaya çıkabilmektedir. Ancak hidrojen gazının patlayıcı özelliği kısıtlayıcı bir etkidir. Bu nedenle çalışmalarda azot ve hidrojenin dezavantajlarına sahip olmayan ve verimlilik eğrisinin minimumu azota

göre daha geniş aralıkta ve daha yüksek doğrusal hızlarda ortaya çıkan helyum gazı kullanılmaktadır [37].



Şekil 4.3. Taşıyıcı gaz cinsinin kromatografik ayırma etkileri.

#### 4.2.2. Elektronik Basınç Kontrolü (EPC)

Gaz kromatografisinde taşıyıcı gaz akışı, performansı pek çok yönden etkileyeceği için, akışın kesin ve belirgin olarak kontrolü gerekmektedir. Diğer taraftan taşıyıcı gaz akışının kontrol altında olması alıkonma zamanlarındaki kararlılık için de gerekli olup miktar tayinlerini de hem pik şekilleri, hem de dedektör cevabı üzerinden etkileyebilir.

Sabit basınçta çalışma, düşük kolon akış hızlarında iyi bir performans sağlayabilir. Ancak, sıcaklık programlı analizlerde kolon akışları değişecektir. Basıncın tekrarlanabilir şekilde ayarlanması mekanik basınç ayarlayıcıları ile zor olmaktadır [37].

Teknolojideki son gelişmeler, kılcal kolonlu gaz kromatografisi için elektronik basınç kontrolü (EPC) sistemlerinin tasarımını sağlamıştır. EPC, basınç ve akış ayarlamalarında mükemmel bir kesinlik ve kararlılık sağlayarak elektronik basınç programlamasına (EPP) izin verir. Bu yolla taşıyıcı gazın akışı, sıcaklık artışı



sırasında sabit tutulabilir veya basınç gerek duyulan ayırımları, analiz sürelerini veya çalışma sıcaklıklarını sağlamak için ek bir yöntem parametresi olarak kullanılabilir.

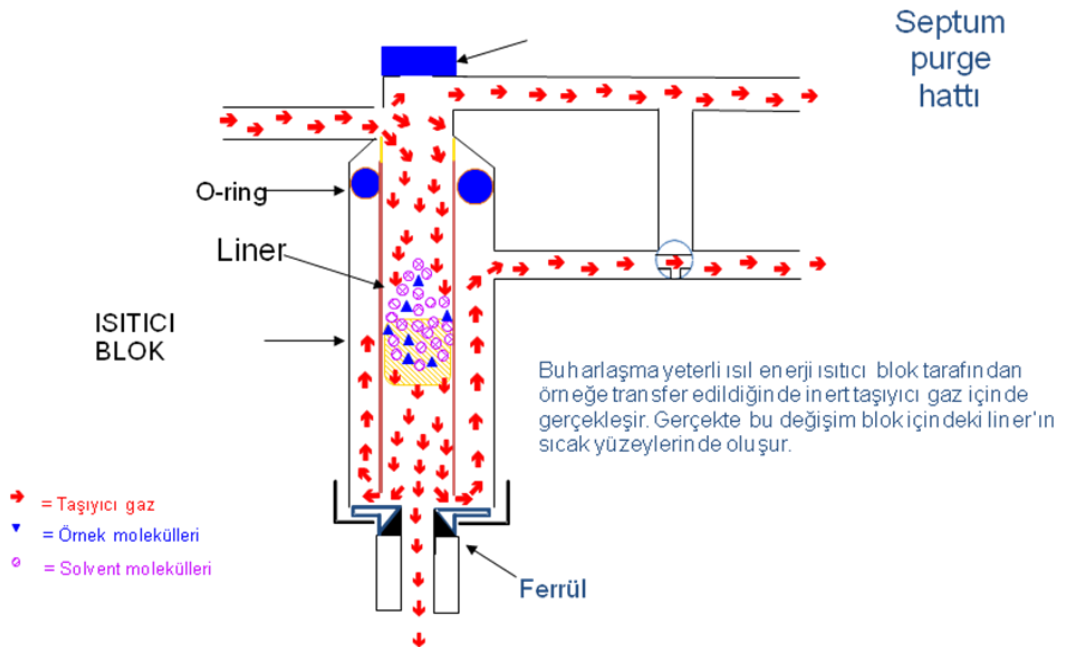
EPC sistemi, kolonların yanı sıra basınç düzenini sağlamak amacıyla dedektörlerde de kullanılmaya başlanmıştır.

Elektronik basınç kontrolü nitel ve nicel analizlerde alıkonma zamanını ve pik alanlarındaki tekrarlanabilirliği sağlar. Gaz kromatografisi sisteminde fırın sıcaklığının artışı ile birlikte taşıyıcı gazın viskozitesi de artar. Bu sırada eğer giriş basıncı sabit tutulursa sıcaklık programlı bir analizde kolon gaz akışı azalacaktır. Basıncı değiştirerek kolon gaz akışını sabit kalması veya akışı belli bir hızda değiştirerek basıncın sabit kalması sağlanabilir.

Apolar kolonlarda sıcaklık artışı ayırımı azaltmaktadır. Ayrıca sabit akış veya basınç programı kullanılarak analiz süresinde kısalma sağlanmaktadır [39].

#### 4.2.3. Enjeksiyon Bloğu

Enjeksiyon bölgesinde, kolona gidecek madde miktarı belirlenir. Bu belirleme çeşitli enjeksiyon tipleriyle sağlanır.



Şekil 4.4. Enjeksiyon bloğu çalışma sistemi

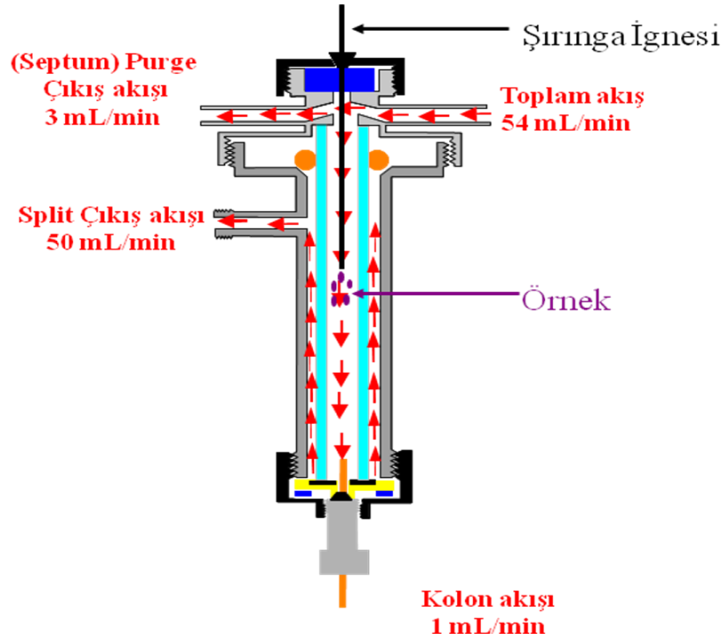
Enjeksiyon bloğundan numune beş şekilde verilmektedir:

- Bölmeli enjeksiyon (Split enjeksiyon)
- Bölmesiz enjeksiyon (Splitless enjeksiyon)
- Kolona enjeksiyon
- Doğrudan enjeksiyon
- Sıcaklık programlı buharlaşmalı enjeksiyon

Bölmeli enjektör, ani bir buharlaştırma aletidir. Sıvı örnek, enjektörle sıcak enjeksiyon bloğuna girer ve burada hızlıca buharlaşır. Buharlaşan örneğin küçük bir miktarı kolona girerken, büyük miktarı atık olarak uzaklaştırılır. Bölme oranı, kullanıcı tarafından kolon akışından kontrol edilir. Bölme oranları kolon özellikleri ve kapasitelerine göre ayarlanır.

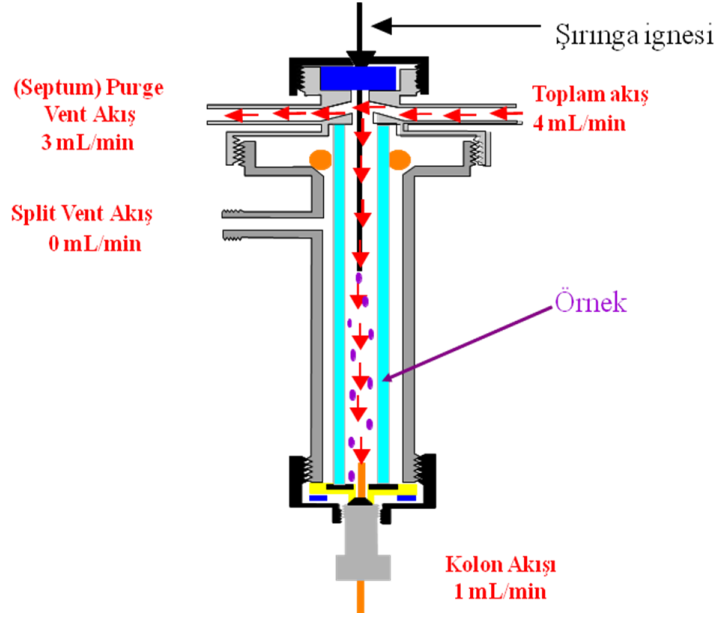
$$\text{Bölme oranı} = \text{Kolon akışı} / \text{Kolon giriş akışı}$$

Bu teknikte dar piklerin oluşma olasılığı yüksektir. Bölmeli enjeksiyon daha çok yüksek derişimlerde uygulanır. Böylece kolonun kirlenmesi önlenmiş olur.



Şekil 4.5. Split (Bölmeli) Enjeksiyon

Bölmesiz enjeksiyon sistemi, enjektörün bölme kapakçığının enjeksiyon sırasında kapatılması yoluyla çalışmaktadır. Örnek buharlaşma kısmında buharlaştırılıp hareketli faz akışı ile kolona gönderilmektedir. Bu tip enjeksiyon daha çok eser madde analizlerinde tercih edilmektedir.



Şekil 4.6. Splitless (Bölmesiz) Enjeksiyon.

Kolona enjeksiyon soğuk enjeksiyon tipidir. Numune kolon içine doğrudan sıvı halinde enjekte edilir. Enjeksiyon sırasında enjekte edilen kısım soğuktur. Fırın sıcaklığı arttıkça kolon girişinde bulunan madde yavaş yavaş buharlaşır. Bu tür enjeksiyon bütün kılcal kolonlara uygulanabilir.

Doğrudan enjeksiyonlarda, enjektörün girdiği kısım fırından bağımsız olarak ısıtılır ve bu sıcaklık hızlıca buharlaşmaya neden olur. Bu teknik yalnızca çok geniş çaplı kolonlara uygulanabilir.

Sıcaklık programlı buharlaşmalı enjeksiyonda, numune cam yoğunlaştırıcı içine enjekte edilir. Enjektör bloğu soğuktur ve enjektör çekildikten sonra çözücü ve maddeyi uçurmak için hızlıca ısıtılır. Daha çok büyük hacimli enjeksiyonlarda kullanılır [37].

Enjektörün numuneyi deriştiriciye sağlıklı bir şekilde bırakması için enjeksiyon bölmesinin üzerine yerleştirilen, enjektörün girmesini sağlayan ve özel bir maddeden yapılmış tıpya “septum” denir. Septum, taşıyıcı gaz kaçağını, sisteme hava ve nem girişini önler. Septumdan sonra numune deriştiriciye gelir. Numune deriştirici, enjekte edilen numunenin, aerosol oluşturmasını engelleyerek homojen buharlaşmayı ve taşıyıcı gaz ile karışmasını sağlamaktadır. Yoğunlaştırıcı içine yerleştirilmiş olan silillenmiş cam veya kuartz pamuğu, kolonun kirlenmesine veya tıkanmaya neden olan küçük partiküllerin tutulmasını sağlamaktadır. Bu yolla pik şekillerinin düzgün eldesi, pik alanı hesaplamalarında ise tekrarlanabilirlik ve doğruluk artmaktadır. Enjeksiyon ve taşıyıcı gazın hızı, elektronik basınç kontrolü ile ayarlanmaktadır [39].

#### **4.2.4. Sabit Faz (Kolon)**

Gaz kromatografisinde iki tür kolon kullanılır; dolgulu ve kapiler kolonlar. Dolgulu kolonlarla kıyaslandığında kapiler kolonların;

- Daha büyük ayırma gücü,
- Daha kısa analiz süresi,
- Daha büyük seçimliliği gibi avantajları ve
- Daha düşük örnek kapasitesi gibi dezavantajları vardır.

Kromatografik kolonların boyları 2-50 m veya daha büyük olabilir. Paslanmaz çelikten, camdan, erimiş silisten veya teflondan kolonlar yapılabilir. Bu kolonlar ısı kontrolü yapılan bir fırına yerleştirebilmek için 10-30 cm çapında spiraller haline getirmek gerekir.

Kolonlarda kullanılan sabit fazlar ayrılacak analitlerin yapısına göre seçilir. Apolar maddeleri ayırmak için apolar kolonlar ve polar maddeleri ayırmak için ise polar kolonlar kullanılır.

Çok boyutlu kromatografi ise; karmaşık analitlerin, örneğin izomerlerin, enantiyomerlerin veya kaynama noktaları yakın olan analitlerin ayrılmasında son yıllarda kullanılmaya başlayan bir teknik olup, genellikle iki boyutta çalışmaktadır.

Birinci boyutta normal apolar bir kolonda kaynama noktalarına göre ayırma yapılırken, ikinci boyutta ise polar kısa bir kolonda polaritelerine göre ayırma yapılarak karmaşık numunelerin analizleri yapılmaktadır. İki boyutlu GC ile TOF/MS' in birleşmesi sonucu, uçucu yağ gibi karmaşık analitlerin analizi ve karakterizasyonu oldukça kolay bir hal almıştır.

En az hata ile çalışabilmek için, 0,1 derece duyarlılıkta kontrol edilmesi gereken bir başka önemli parametre kolon sıcaklığıdır. Bu nedenle kolon, sıcaklığı kontrol edilebilen bir bölmeye yerleştirilir. Optimum kolon sıcaklığı numunenin kaynama sıcaklığına ve istenen ayırma verimine bağlıdır. Kabaca, numunenin ortalama kaynama sıcaklığının biraz üstündeki bir sıcaklıktaki kolonda maddelerin elüsyon zamanı 2-30 dakika arasında değişebilir. Çok geniş bir kaynama noktası ağırlığındaki numuneler için sıcaklık programı yapmak gerekir. Sıcaklık programlanmasında kromatografik ayırım devam ederken kolon sıcaklığı sürekli veya basamaklar halinde arttırılır [38].

GC'de dolgu ve kılcal kolon olmak üzere iki tip kolon bulunmaktadır.

*Dolgulu kolonlar;* cam, bakır, paslanmaz çelik yada alüminyum borulardan yapılırlar. Rutin analizlerde kullanılan dolgulu kolonların iç çapı 2-9 mm arasında değişmektedir. Metal boruların numunenin bozunmasına sebep olabileceği yüksek sıcaklıklarda enjeksiyon kısmına bir cam parçası ilave edilmesi koşuluyla yüksek sıcaklıklarda cam kolonlar kullanılabilir. Cam parçası ilave edilmezse numune kolona ulaşmadan önce bozunur.

Dolgulu kolonlarda sıvı sabit, poröz, inert destek katısı üzerine adsorplanır. Sıvı faz şu özelliklere sahip olmalıdır:

- Örnek bileşenlerini iyi çözmelidir.
- Örnek bileşenleri için iyi bir ayırıcı çözücü olmalıdır, bileşenlerin çözünürlükleri arasındaki fark, iyi bir ayrımı sağlamaya yetecek büyüklükte olmalıdır.
- Uçucu olmalıdır. Buhar basıncı 0,01-0,1mmHg olmalıdır.

- Çalışma sıcaklığında numuneye karşı kimyasal açıdan inert olmalıdır.
- Isıl kararlılığı yüksek olmalıdır.

Destek katısı, ince sıvı filminin taşınmasını sağlar ve şu özellikleri taşımaktadır:

- Mekanik dayanıklılığı yüksek olmalı, kolay kırılmamalıdır.
- Geniş, spesifik yüzey alanına sahip olmalıdır.
- Gözenekli yapıda olmalı, gözeneklerin çapı 10 µm veya daha küçük olmalıdır.
- Ayrılacak bileşenlere hiçbir reaksiyon vermemeli ve adsorblanmamalıdır.
- Tanecik şekli ve büyüklüğü düzgün olmalıdır.

*Kapiler kolonlar (kılcal kolonlar):* Genel olarak camdan, paslanmaz çelikten, fused silikadan ve bakırdan yapılabilir. Kapiler kolonlar kompleks karışımların ve izomerlerin ayırımında çok iyi sonuç verirler. Kapiler kolonlar, 0,1-0,5 mm iç çapında, 10-300 metre boyunda olabilir. Kapiler kolonlarda 0,1-1,5 µm kalınlığında uçucu olmayan sıvı tabaka ince bir film halinde kolon çeperlerine emdirilir. Kapiler kolonlar üç tiptedir.

1. WCOT (Wall-Coated Open Tubular): Sıvı faz ince film halinde iki ucu açık tüp şeklindeki kolonun çeperlerine kaplanmıştır.
2. SCOT (Support-Coated Open Tubular): Sıvı faz ince film halinde destek katısı üzerine emdirilerek kolona doldurulmuştur.
3. FSOT (Fused-Silica Open Tubular): Kuartz materyalinden yapılmıştır.

Kapiler kolon iç çaplarına göre üç gruba ayrılabilir.

- ✓ Mikro çaplı (iç çapı < 0,100 mm)
- ✓ Kapiler (0,53 mm > iç çapı > 0,180 mm)
- ✓ Mega çaplı (iç çapı > 0,53 mm)

Diğer ticari isimler altında pazarlanan kapiler kolonları seçerken apolar sabit fazları daha dengeli olduğu, yüksek ve düşük çalışma sıcaklığının sabit olduğu unutulmamalıdır. Apolar fazlar, polar fazlara göre daha yüksek kolon verimine sahiptir. Apolar fazlar oksitlenmeye karşı daha dayanıklıdır. Genellikle, yanlış depolama ve septum kaçaklarında, kolon yapısı bozulmadığından kullanılabilirliği artmaktadır [43].

*Megabor kolonlar:* Dolgulu kolonlara alternatif olarak piyasaya çıkartılan bu kolonlar çok saf erimiş silika camından bükülebilir olarak yapılmışlardır ve kolon yüzeyi destek katısı olarak kullanılır. Sabit faz destek yüzeyine kimyasal olarak bağlanmıştır. Bir mikrolitre civarında örnek enjekte edilebilir, dolgulu kolondan daha çabuk ve iyi ayırmayı gerçekleştirirler. Kolonda aktif yüzey bırakılmadığı için piklerde kuyruklanma olmaz. Kolondan kolona ve enjeksiyondan enjeksiyona tekrarlanabilirliği fazladır. Fakat az miktarda maddeleri ayırabildikleri için kolon çıkışından bileşenleri ayrı ayrı toplama olanağı yoktur. Megabor kolonlarda doğrudan buharlaştırma ve sıcak kolona örnek verme sistemleriyle enjeksiyon yapılabilir [43].

Gaz kromatografisi kolonlarında 3 önemli özelliğinin bulunması gerekmektedir:

1. Sabit faz, olabildiğince inert bir destek yüzeyini tamamen kaplayan tekdüze kalınlıktaki film tabakası ile oluşturulmalıdır.
2. Kolon film tabakasının yüksek sıcaklıklarda bozunma ve buharlaşmaya karşı ısıl kararlılığı olmalıdır. Bu sabit faz moleküllerini destek materyaline kimyasal veya fiziksel olarak bağlayarak polimere benzeyen bir film tabakası oluşturarak gerçekleştirilir.
3. Geri dönüşümsüz olarak numune bileşenlerinin adsorpsiyonuna neden olan ve metalik elementleri, özgün bileşenlerin bozunması için katalitik kısımlar olarak rol oynayan aktif bölgelerin olmaması gerekmektedir.

Eğer kolon, sıcaklık sınırlarının üzerinde uzun süre kalırsa ve WCOT kolonlarda kolon duvarlarında yumuşak, tekdüze bir sıvı kaplaması başarılacaksa aktif bölgeler ortaya çıkacaktır.

Polar ve apolar sabit faza sahip olan WCOT kolonlar yüksek verimliliğe sahiptir. Polisiloksan fazlarının ısısal kararlılık ve düşük buhar basıncı özelliklerini ise, Si-O bağ enerjisinin C-C bağ enerjisinden fazla olması sağlar.

Kolonlara yeni doldurulmuş sabit fazın, küçük molekül ağırlığına sahip sıvı faz bölümleri ile çözücülerin fazla kısımlarını tutmamaları için kullanmadan önce ısı şartlanması gerekmektedir. Eğer şartlanma yapılmazsa bu ürünler dedektörde temel çizgi (baseline) yükselmesi ve fazla piklere neden olur. Eski kolonların da numune veya saf olmayan taşıyıcı gazdan dolayı kolonda tutulabilecek uçucu olmayan maddelerin birikmesini engellemek için aralıklarla şartlanması gerekmektedir. Şartlama sıcaklığının yüksek olması daha kararlı temel çizgilerin elde edilmesini sağlamakla birlikte, kolon ömrünü kısaltacağından sıcaklığın dikkatli seçilmesi gerekmektedir. Ayrıca bu seçimde çalışma sıcaklığı da göz önünde bulundurulmalıdır. Kolonlar saklanırken sıvı faza difüze olabilecek oksijen veya diğer kirlilikleri engellemek için uçları uygun bir şekilde kapatılmalıdır [39].

Gaz kromatografisinde esas istenen şey numune bileşenlerinin kolon boyunca buhar fazında ilerlemesidir. Bundan dolayı, kolon sıcaklığının, kaynama noktası en yüksek olan bileşenin taşıyıcı gaz içinde süratle buharlaşmasına imkan verecek kadar yüksek olmalıdır. Eğer kolon sıcaklığı uygun buhar baskısını temin etmek için çok düşükse, numune kolondan geçerken çok yavaş hareket edecek, bu da analiz süresinin uzamasına ve düşük hassasiyete sebep olacaktır. Eğer kolon sıcaklığı çok yüksek olursa numune bileşenlerinin buhar baskısı da çok yüksek olacak, bileşenler arasında uygun bir ayrılma temin etmek mümkün olmayacaktır. Sabit bir kolon sıcaklığında bir bileşiğin alıkonma zamanı veya çıkış zamanı bir numune bileşeninin tanınmasını temin eden özelliktir. Bir bileşiğin alıkonma zamanı sıcaklığın her 1°C artışında yaklaşık olarak %5 oranında azalır. Sıcaklığın bileşenin alıkonma zamanına etki yapmasından dolayı, pik yüksekliği de sıcaklık ile değişecektir.

Gaz kromatografisinde, kolon yüksek sıcaklıkta tutularak ayrılma işlemi gerçekleştirilip maddeler gaz haline geçirildiğinden, kaynama noktası 500°C'ye kadar olan bileşikler ayrılabilirler. Bunun sebebi de henüz bu sıcaklığa dayanabilecek sabit fazlar geliştirilemediğindedir. Gaz kromatografisi ile sadece molekül kütlesi yaklaşık olarak 500 g/mol'e kadar olan maddeler ayrılabilir.



Gaz Kromatografi metodu ile analiz yapmak için gerekli olan nispeten ufak hacimdeki numune birkaç farklı teknikten herhangi biri ile cihaz içine alınabilir. Sıvı numuneler normal olarak lastik bir serum başlığından geçen bir mikro şırınga ile cihaza gönderilebilir. Isıtılmış bir numune girişi kullanılır ve numune ani olarak buharlaştırılır. Numunenin hacmi azaldıkça gaz kromatografi kolonunda ayrılma kabiliyeti artar. Bu husus çok küçük miktarlardaki numunelerin kullanılmasına imkan verir. İç çapı 4-8 mm olan normal bir analitik kolonla 0.5-5 mL'lik bir gaz numunesi ve 0.02-0.002 mL'lik sıvı numune kullanılması uygundur. Numune miktarı kolon uzunluğunun karekökü ile orantılı olarak artırılabilir [43].

#### **4.2.5. Fırın**

Gaz kromatografisinde alıkonma zamanının ayarlanması için kullanılan yöntem, fırın sıcaklığının değiştirilmesidir. Sıcaklıktaki 20-30°C' lik bir artış alıkonma zamanında 2-3 kat azalmaya neden olur. Gaz kromatografisi fırınlarının en yüksek sıcaklık sınırı 450°C olduğundan, sıcaklık tek başına alıkonma zamanını 100 kat kadar değiştirebilecek güçtedir [42].

#### **4.2.6. Dedektör**

Dedektörler, kolondan taşıyıcı gazla birlikte çıkan maddelerin varlığını tespit ederek bu bilgiyi elektrik sinyaline çeviren ve bu maddelerin miktarları hakkında bilgi veren cihazlardır. Bir dedektörün duyarlılığının yüksek ve geniş bir konsantrasyon aralığında doğrusal, her çeşit bileşiğe duyarlı, sağlam ve ucuz olması, gaz akış hızı ve sıcaklık değişimlerinden etkilenmemesi istenir.

Kullanılan gaz kromatografi dedektörleri şunlardır:

1. Isıl İletken Dedektörü (TCD)
2. Alev İyonlaşma Dedektörü (FID)
3. Elektron Yakalama Dedektörü (ECD)
4. Azot-Fosfor Dedektörü (NPD)
5. Alev Fotometrik Dedektörü (FPD)

6. Elektrolitik İletken Dedektörü (ELCD)
7. Foto İyonlaşma Dedektörü (PID)
8. Kütle Seçici Dedektörü (MSD)
9. Kızılötesi Dedektörü (IRD)
10. Atomik Emisyon Dedektörü (AED)
11. Helyum İyonlaşma Dedektörü
12. Redoks Kimyasal Işıma Dedektörü
13. Termiyonik Dedektör

Duyarlılık, seçicilik ve dinamik alan dedektörlerin üç önemli değerlendirme özellikleridir. Duyarlılık, numunenin miktarı ile ilgili, seçicilik, dedektörün ne tür bileşiklere yanıt verebileceği ile ilgili bir ölçüdür. Bazı dedektörler hemen hemen tüm maddeleri ayırt etmesine rağmen, diğerleri ise sadece belirli bazı tür bileşiklere yanıt verirler. Dinamik alan, dedektörün doğru miktarsal ölçümü verdiği numune derişim bölgesidir [43].

**Isıl İletken Dedektörü (TCD):** Hemen hemen bütün maddeler için kullanılabilir. FID ise CO<sub>2</sub>, CS<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub> ve N<sub>2</sub> gibi maddelere karşı duyarsızdır. TCD tipik olarak tek tip gaz gerektirir(helyum gibi). Diğer dedektörlerle birlikte de kullanılabilir. Bu dedektörde taşıyıcı gaz elektrik ile ısıtılan filamentler üzerinden geçer. Madde dedektörden geçerken ortamın termel iletkenliğini azaltır.

**Alev İyonlaşma Dedektörü (FID):** Gaz kromatografisinde en çok kullanılan dedektörlerden biridir. FID'de kolon çıkışında organik maddeler hidrojen alevinde yakılarak iyonlaştırılır. Oluşan pozitif iyonlar polarize olan elektrotta akım değişimine neden olur. Oluşan akım elektronik devrelerle kuvvetlendirilerek birim zamanda alevden geçen karbon miktarı ile doğru orantılı olan elektrikselsel cevaba dönüştürülür. Bundan dolayı bu dedektör kütle hassasiyetlidir. Bu seçimli bir

dedektördür. Hemen hemen bir C-H bağı içeren bütün bileşiklere cevap verir. Kükürt bileşikleri, su, amonyak ve azot oksitlere karşı ise hassas değildir.

**Elektron Yakalama Dedektörü (ECD):** Sinyal artışı yerine sinyal kaybını ölçer. Taşıyıcı gaz(genellikle azot) radyoaktif bir ortamdan geçerken iyonize olur. Azot atomundan kopan elektronlar dedektörde bulunan kolektör tarafından toplanır ve bir akım oluşturur. Bu dedektör radyoaktivite nedeni ile kullanım için izin gerektirir [40].

### **4.3. Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (GCMS)**

Kütle Spektrometrisi ile ilgili ilk çalışmalar 1913 yılında J. J. Thomson'un kütle spektrometresinin yüklü parçacıkların elektriksel ve manyetik alanda hareketleri ile kararlı izotoplarının varlığını göstermesi ile başlamıştır. Aston 1920'de ve Symthe ve Mattanch 1926'da kütle spektrometresi terimini kullanmışlardır [37].

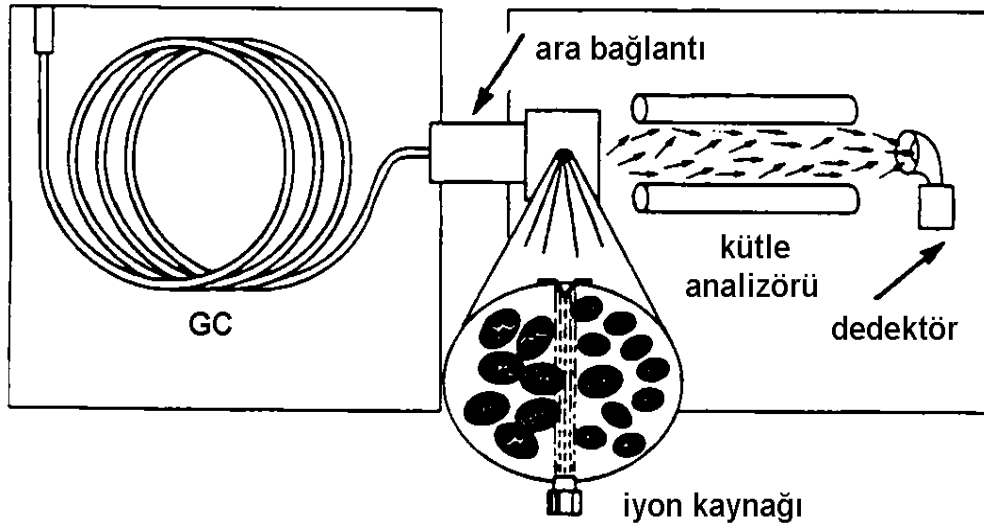
GC/MS isminden de anlaşıldığı gibi, kimyasal karışımların analiz edilmesine imkan sağlayan tek bir yöntemin oluşturulabilmesi amacıyla iki tekniğin birleştirilmesinden meydana gelir. Gaz kromatografi cihazı karışımdaki bileşenleri ayırır ve kütle spektroskopisi bileşenleri tek tek karakterize eder. Bu iki tekniği birlikte kullanan bir kimyacı çeşitli kimyasallardan oluşan bir çözeltiyi hem nitel hem de nicel olarak değerlendirebilir.

Kütle spektrometrisinde; gaz fazındaki numune, yüksek enerjili elektronlarla çarpıştıktan sonra elektronlarını kaybederek pozitif veya negatif yüklü çeşitli iyonlar haline dönüşmektedir. Hızlandırılan bu katyonlar manyetik ve/veya elektrik alanında sapırılmaktadır. İyonların sapması; kütlelerine, yüklerine ve hızlarına bağlıdır. Eğer yük, hız ve saptırıcı güç sabit ise, sapma ağır parçacıklarda az ve hafif parçacıklarda çok olacaktır. Kütle spektrometresi, evrensel, kütle bağımlı ve yıkıcı (parçalayan) bir dedektördür [42].

Kütle spektrumu gaz fazındaki iyonların belirli kütle/yük ( $m/z$ ) oranlarına göre kaydedilmesi ile elde edilir. İyonlar pozitif ve negatif olarak seçilen yöneme göre kaydedilir. Yaygın olarak pozitif iyonlar ile çalışılmaktadır [37].

Kütle spektrometresi şu kısımlardan oluşur:

1. Ara bağlantı
2. İyon kaynağı
3. Kütle analizörü
4. Dedektör
5. Vakum Sistemleri



Şekil 4.7. Kuadropol GC- MS sisteminin şematik gösteriliş

#### 4.3.1. GC-MS Ara Bağlantıları

GC ile MS arasındaki basınç farkından dolayı ara bağlantıya gerek vardır. GC atmosfer basıncında, MS ise çok düşük basınçta ( $10^{-6}$ - $10^{-8}$  torr) çalışmaktadır. MS'deki vakum koşullarının bozulmasını engellemek için GC'den gelen eluattan taşıyıcı gazın uzaklaştırılmasını ve bileşenlerin MS iyon kaynağına iletilmesini sağlamak için ara bağlantı kullanılır.

Kullanılan ara bağlantılar şunlardır:

- 1) Effusif ara bağlantı
- 2) Jet açıklıklı ara bağlantı

3) Geçirgen membranlı ara bağlantı

4) Doğrudan bölmeli ara bağlantı

5) Açık bölmeli ara bağlantı

6) Doğrudan kılcal kolon bağlantıları

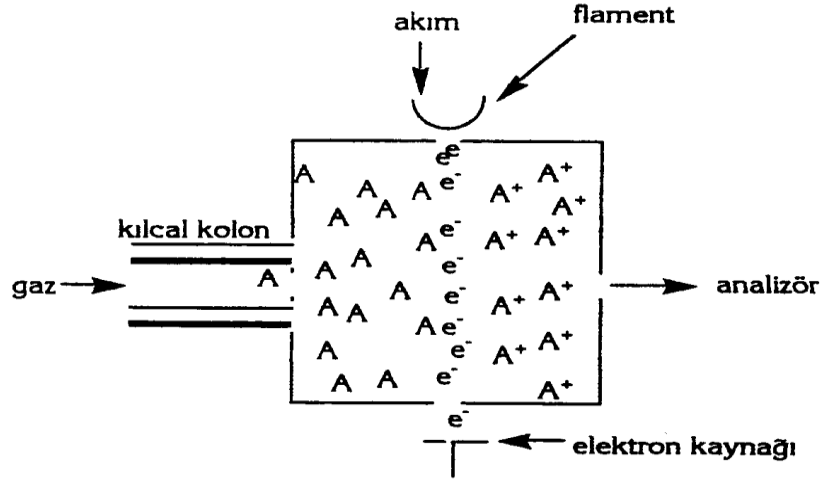
1-3 ml/dak gibi düşük taşıyıcı gaz akış hızları söz konusu olduğunda gerekli basınç düşmesi, kütle spektrometresinin vakum sistemi ile sağlanabilir. Bu nedenle de doğrudan bir ara bağlantı kullanılabilir. Bu durumda hem taşıyıcı gaz hem de numune, taşıyıcı gazın numune moleküllerinden daha büyük hızda pompalandığı kütle spektrometresinin iyon kaynağına girerler. Yüksek taşıyıcı gaz akışlarından dolayı dolgu kolona uygulanmaz [37].

#### **4.3.2. İyon Kaynağı**

Moleküllerin iyonlaştığı bölümdür. Bir molekül, atom veya iyondan bir elektron uzaklaşması olayına iyonizasyon denir. İyonlaştırma teknikleri; gaz, sıvı ve katı gibi maddenin farklı fiziksel durumuna ve maddenin ısısal kararlılığına bağlı olarak seçilir. Gazlar ve sıvılar için elektron ve foton bombardımanlı iyonlaştırma; katılar için ise termal, lazer desorpsiyon, atom bombardımanı, elektrik boşalım ve alan desorpsiyon iyonlaşma uygundur. Günümüzde en çok kullanılan iyonlaştırma teknikleri elektron iyonizasyon ve kimyasal iyonizasyondur.

**1) Elektron bombardımanı ile iyonizasyon (EI):** EI kısaca analit molekülünün enerjili elektronlarla bombardıman edildiği iyonizasyon yöntemi olarak tanımlanır. Sıcak bir flmandan çıkan elektronlar bölme boyunca odaklanır ve 70 eV'luk bir potansiyele sahip bir elektrot tarafından çekilir. Böylece herbir elektron 70 eV'luk bir enerji kazanır ve ortama giren numune ile çarpışarak bir seri parçalanma tepkimeleri oluşur. Moleküldeki bağların kırılması tüm pozitif ve negatif iyonların oluşmasını sağlar. Çoğu organik molekül için pozitif iyon oluşumu enerji açısından daha çok tercih edilir. Elektronun sahip olduğu enerji bütün bağları kırmak için yeterli enerjidir. 70 eV'luk enerjinin kullanılması kararlı, tekrarlanabilir ve moleküle özgü kütle spektrumlarının oluşmasını sağlar. Elektron bombardımanı ile oluşan iyonların

bağıl büyüklükleri, iyonize edici elektronların enerjileri ve iyonizasyonun olduğu sıcaklığa bağlıdır.



Şekil 4.8. Elektron bombardmanı ile iyonizasyon (EI)

**2) Kimyasal iyonizasyon (CI):** CI'nun esası iyon-molekül tepkimelerine dayanır. Yüksek enerjili iyonlar çarpıştıkları moleküle ya proton aktarırlar ya da ondan hidrür ve elektron koparırlar. Kimyasal iyonlaşmalı kütle spektrometresinde (CI-MS), iyon kaynağına reaktif gaz verilerek yüksek basınç elde edilmektedir. Reaktif gaz numune molekülleri ile iç etkileşime girecek reaktif iyonlarını oluşturmak üzere elektron demeti tarafından iyonize edilmektedir. Ortamdaki yüksek basıncın etkisiyle reaktif iyon ile numune iç etkileşime girer. EI'ya göre enerji daha düşüktür [37].

#### 4.3.3. Kütle Analizörü

İyon kaynağından çıkan analit iyonlarını ayırmak ve her birinin kütlelerini ölçmek için kütle analizörleri kullanılır. Analizör, kütle/yük ( $m/z$ ) oranlarına göre maddelerin ayırımının sağlandığı bölümdür. En çok kullanılan kütle analizörleri şunlardır;

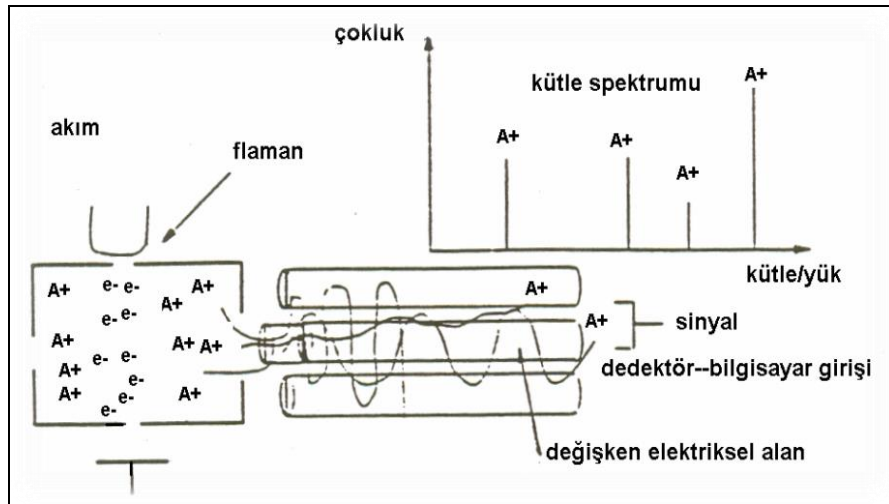
**1) Manyetik sektörlü kütle analizörü:** Elektronlar hızlandırıcı kullanılarak plakalardan ayrılıp, kütle ayırıcıya gelirler. Hızlandırma potansiyeli çok fazla olduğu için elektronlar aşağı yukarı eşit kinetik enerjiye sahip olurlar. İyonlar manyetik alana girince doğrusal yönden saparak dairesel bir yol izlerler. Bu dairesel yolun

yarıçapı, iyonların m/z oranlarına bağlıdır. Manyetik ayırıcılar tek ve çift odaklamalı olabilirler.

**2) Uçuş zamanlı kütle analizörü:** İyonlar uçuş tüpü adı verilen tüpün içinden geçerler ve bu sırada hızlandırıcının etkisiyle eşit momentuma sahip olurlar. Böylece kütleleri birbirinden farklı olan iyonların hızları da farklı olarak belirlenir.

**3) Kuadropol kütle analizörü:** Kuadropol, eksenlere simetrik olarak yerleştirilmiş olan 4 adet zenginleştirilmiş altın çubuktan oluşmaktadır. Kuadropol kütle analizörünün belirli bir kütle aralığında tarama yapması ve ayırım için radyo frekansı (RF) ve doğru akım (DC) voltajı uygulanır. X eksenindeki çubuklara pozitif, y eksenindeki çubuklara negatif gerilim uygulanarak iyonlaşan örnek moleküllerinin çubuklar arasında rezonansa gelmesi sağlanır. RF voltajının büyüklüğü iyonların kütlelerini belirtir. DC voltajının RF voltajına oranı, ayırımı belirtir [37].

Kuadropol kütle analizörü, yüksek duyarlılığa ve milisaniye aralıklar ile hızlı tarama özelliğine sahiptirler. Bu özellikler dar piklere sahip WCOT kolon takılmış gaz kromatografisi cihazlarına bağlamak için için çok uygundur. Kuadropol kütle analizörü şematik olarak Şekil 4.6 da gösterilmiştir [42].



Şekil 4.9. Kuadropol kütle analizörü.

#### 4.3.4. Dedektör

Kütle analizörlerinden geçen iyonlar elektron çoğaltıcı dedektöre ulaşır. Elektron çoğaltıcıda çarpışmadan dolayı oluşan akım önce analog voltaja, sonra da dijital sinyale dönüşür.

Kütle spektrometresi ile analizlerde 3 tip iyon tarama şekli vardır;

**1. Toplam iyon taraması (TIC):** Bir analiz sırasında ayırım yapmadan tüm iyonların istenilen atomik kütle birimlik (akb) aralığında taratılması ile gerçekleştirilir.

**2. Seçilmiş iyon taraması (SIM):** Aranılan bileşik için en karakteristik olan, kararlı ve çokluğu fazla olan m/z değerleri seçilip, taratılır. Seçici iyon taramasında seçilen iyonların tarama süresi (dwell time) analizci tarafından seçilir.

**3. Tek iyon taraması:** Tek iyon taratılır. Çok hassastır, ancak kesin tanımlama yapılamaz. Çalışmamızda 50-600 akb aralıkta TIC taraması yapılmıştır [42].

#### 4.3.5. Vakum sistemleri

Kütle spektrometresinde vakum sisteminin olmasını gerektiren nedenler şöyle sıralanabilir;

1. Flaman yüksek basınçtaki oksijen altında ısıtılırsa yükseltgenip yanabilir.
2. Basınç arttıkça kütledeki çoğaltıcı, kaynak ve analizörde yüksek voltaj kırılmaları olabilir.
3. Kütle spektrometresinin iyon kaynağında bulunan gaz, spektral geri zemine katılabilir (örn; su, azot ve oksijenden gelebilecek m/z:18, 28 ve 32).
4. Kütle spektrometresinde düşük basınç sağlamanın en önemli nedeni, analiz edilen iyonlar arasındaki çarpışmayı en aza indirmektir. Çünkü, iyon sürekli diğer moleküller ve yüzeyler ile çarpışıyorsa, iyonları belli bir yolda yönlendirmek için kullanılan güçler yetersiz olacaktır.
5. Yüksek basınç ile analizörün, iyon kaynağının ve odakların (slit) kirlenmesi artmaktadır.



6. Yüksek basınç ile spektrum almak ve yorumlamak zordur.
7. Basınç artarken iyon kaynağına doğru olan elektron akımı düzeltmeleri zorlaşır.
8. Vakum sistemi analizörün işlemini gerçekleştirmesi için gereken moleküler ortalama yolu sağlar.

Bu nedenlerden dolayı kütle spektrometresi için vakum sistemleri çok önemlidir. Kütle spektrometresinde cihaz içindeki basıncı  $10^{-6}$  torr civarında tutmak için değişik pompalar kullanılır. Bunlardan en çok kullanılanları pompalar, turbo moleküler ve difüzyon pompalarıdır [37].

#### **4.3.6. Veri İşleme Sistemi**

GC-MS veri işleme sistemi ile dedektörün açılıp kapatılması, bütün teknik ayrıntıların optimizasyonu, kuadropol kütle seçiminin yapılması, dedektörden veri alımı, kullanıcının kullanımına uygun veri elde edilmesi ve cihaza bilgi aktarılması sağlanmaktadır [42].

#### **4.4. Gaz Kromatografisi Yüksek Rezolüsyonlu Kütle Spektrometresi (GCHRMS)**

Yüksek rezolüsyonlu GCHRMS yöntemi dioksin, furan ve PCB analizlerinde günümüz teknolojilerinin en üst seviyesi olarak gösterilmektedir. Yüksek rezolüsyon sayesinde çok küçük miktarların ölçümlerine olanak sağlamaktadır. İzotop dilüsyon tekniği kullanılmaktadır.

HRMS cihazının kullanılmasının nedeni aranılan maddelerin birbirinin izomeri olmasından ötürü kütlelerinin çok yakın hatta bazen virgülden sonraki ilk hanenin bile aynı olmasıdır. Bu nedenle 10.000 rezolüsyonla çalışan HRMS sistemi kullanılır. Tespit limiti düşük olmasından dolayı maddelerin birbirinden ayrılmasına olanak vermektedir.



**Şekil 4.10.** Gaz Kromatografisi Yüksek Rezolüsyonlu Kütü Spektrometresi (GCHRMS)

## 5. MATERYAL METOT

Dioksin analizleri çeşitli yöntemlerle yapılabilmektedir. Bunlarda en çok kullanılanlardan biri konjener bazında kantitatif sonucun alınabildiği GCHRMS yöntemidir. Diğer yöntemlerde ise örneğin Calux yönteminde konjener bazında sonuç alınamamaktadır. Sadece toplam dioksin miktarı hakkında bilgi vermektedir.

Çalışmada EPA 1668 ve 1613 metotları kullanılmıştır. Bu metotlar uluslararası kabul görmüş metotlar olup farklı ülkelerin laboratuvar koşullarında geçerliliği ispatlanmış metotlardır.

Çalışmada laboratuvar ortamında hazırlanan içerisinde farklı adsorbanların bulunduğu kolonlar Power Prep cihazında karbonun bulunduğu yere yerleştirilir. Bu kolonlardan içerisinden işaretli 2,3,7,8 TCDD standardı ile beraber internal standart bir mezürde hekzan ortamında kolondan geçirilir. Kolonların katı faz ekstraksiyonu prensibiyle standartları farklı solventlere karşı standartları tutması ve elüe etmesi amaçlanmıştır. Power Prep aşamasıyla büyük tüplere elüe edilen analit ortamı Turbowap ile değiştirilir. Solventin uçurulmasıyla altta kalan analit ortamı daha küçük bir tüpe alınır. Bu tüpün uç kısmı sivri olduğundan ikinci kez uçurma işleminde (reaktitör ile solvent uçurma) dioksinin daha kolay alınmasını sağlar. Analit ortamı viallere alınırken 10 µl ile geri kazanım standardı ile vialle alınır. Kalibrasyon standartlarıyla HRMS cihazında 10000 rezolüsyonda enjeksiyon yapılır. Çalışmada dioksinlerin (PCDD/PCDF) kalitatif ve kantitatif hesaplanması amacıyla 7 noktalı kalibrasyon eğrisi kullanılmış olup konsantrasyon aralığı standart 1 için 0.02-0.20 pg/µl, standart 2 için 0.05-0.50 pg/µl, standart 3 için 0.10-1.0 pg/µl, standart 4 için 0.20-2.0 pg/µl, standart 5 için 0.50-5.0 pg/µl, standart 6 için 1.00-10.0 pg/µl, standart 7 için 2.0-20 pg/µl olarak belirlenmiştir. GCHRMS ile ölçüm yapıldıktan sonra elde edilen veriler proses yapılır. Bu aşamada piklerin yerleri eklenen internal standartlar yardımıyla tanımlanması ve doğru zamanda gelip gelmediği kontrol edilir. Proses bilgileri excel dosyasına yerleştirilerek miktar hesaplaması yapılır [44,45].

### **Stok Cözeltiler**

- ✓ İnternal Standart Dioxnop2A (<sup>13</sup>C Dioksin/Furan ve non orto PCB (konsantrasyon aralığı 0.10-0.20 pg/μL))
- ✓ Geri Kazanım Standardı RS2 (<sup>13</sup>C 1,2,3,4-TCDD ve <sup>13</sup>C 1,2,3,7,8,9-HxCDD (10 pg/μL))
- ✓ Analit <sup>37</sup>Cl<sub>4</sub> 2,3,7,8- TCDD (1pg/μL)

Çalışmamızda EPA metodunda kullanılan standartlar Cambridge Isotope Laboratuvarı'ndan (EDF-7999, EDF-8999, EC-4986, EC-4987, EC-5179, EC-4187, EC-4188, EC-4058, ED-911, ED-996, ED-907) temin edilmiştir.

### **Kullanılan Bazı Kimyasallar**

n-Hekzan (Merck 1.04371.2500)

Dikloro metan (Merck 1.06054.2500)

Toluen (Merck 1.08389.2500)

Etil Asetat (Merck 1.10972.2500)

### **Kullanılan Cihazlar**

Katı faz ekstraksiyonu aynı zamanda bir saflaştırma üniteside olan Power Prep (Fluid Management System Inc. Waltham, MA, USA) cihazında gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 5.1.** Power Prep saflaştırma ünitesi

Evaporasyon işlemi TurboVapII (Caper Life Sciences) adlı buharlaştırma cihazı ile 40<sup>0</sup>C’de 14 psi azot gazı basıncı altında yapılmıştır. Deriştirme işlemi ise azot altında kurutma düzeneği kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 5.2.** TurboVapII evaporasyon ünitesi

Enjeksiyonda kullanılan HRMS cihazı Autospec Ultima’dır. Kolon olarak 250 $\mu$ m $\times$ 0.25 $\mu$ m $\times$ 60m DB5MS (%5 fenil, %95 polidimetilsiloksan) kullanılmıştır. Taşıyıcı ve make up gaz olarak %99.9999 saflığında helyum kullanılmıştır. Enjeksiyon özelliği splitless’dır. İyonlaştırma elektron iyonizasyondur (70ev). Kütle seçici dedektör(MSD) kullanılmıştır.



**Şekil 5.3.** Gaz Kromatografisi Yüksek Rezolüsyonlu Kütle Spektrometresi (GCHRMS)

Gaz Kromatografisi Yüksek Rezolüsyonlu Kütle Spektrometresi ile Dioksinlerin konjener bazında kantitatif sonuçlar alınabildiği bir yöntemdir. Konjenerlerin kütlelerinin birbirine çok yakın olması ve ayırmadaki güçlük 10000 rezolüsyonlu bir ayırıcı ile aşılmış bir cihazdır. Cihaz otomatik örnekleyici, buharlaştırma ünitesi, kolon, elektron iyonizasyon, magnetik kütle ayırıcı, MS bir dedektörden oluşmaktadır.

## **6. DENEYSEL BÖLÜM**

Dioksin analizinde örneğe katı faz ekstraksiyonu uygulanır. Elde edilen fraksiyonlar deriştirme işlemlerinde geçirilerek viale alınır. GCHRMS ile ölçüm alınır.

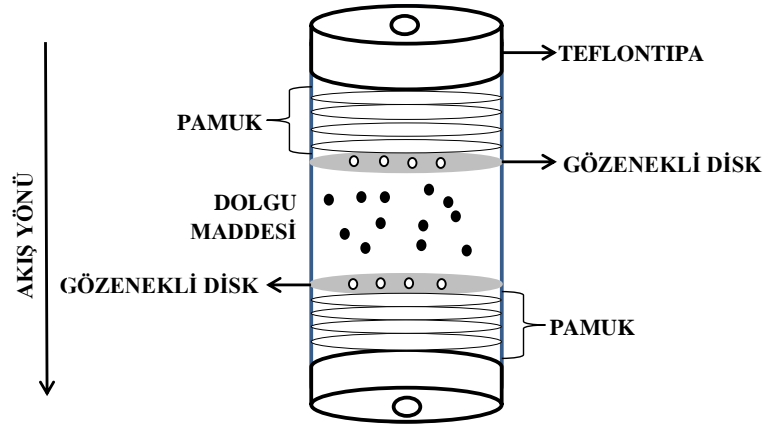
Dioksin analizleri çok zaman alıcı, bilgi gerektiren, maliyeti yüksek analizlerdir. Bunun sebebi ekstraksiyon aşamasının uzun sürmesi, saflaştırma ve fraksiyona ayırma işlemi için kullanılan Power Prep cihazının maliyetinin yüksek olması ve tek kullanımlık kolonlar kullanılması ve GCHRMS'te ölçüm alınmasıdır.

Çalışmada maliyeti yüksek olan kolonlar üzerinde araştırma ve geliştirmeler yapılmıştır. Dioksin analizlerinde kullanılan büyük asidik silika, yarı asidik yarı bazik özellikteki küçük silika, alumina ve uzunluğu daha kısa olan karbon kolonları kullanılmaktadır. Bu kolonlardan büyük asidik silika ve yarı asidik silika ortamdaki varsa yağın yanmasını sağlamaktadır. Karbon kolon ise dioksinleri farklı solventlere karşı önce tutar ayırma işlemini yapar sonra da uygun bir solventle elüsyonunu sağlar. Tipik bir katı faz ekstraksiyonu işlemi görür. İşlemin son basamağında çok önemli bir işleve sahiptir. İşte bu yüzden çalışmamızda karbon kolon yerine kullanılabilir alternatif adsorbanlar denenmiş çalışmalar bu yönde yürütülmüştür.

Çalışma GCHRMS yöntemiyle ve EPA metodu baz alınarak yapılmıştır. İzotop dilüsyon tekniği kullanılmış olup, HRMS ile 10000 rezolüsyonda ölçüm yapılmıştır. Analiz basamakları adsorbanların hazırlanması, kolonlara yerleştirilmesi, katı faz ekstraksiyonu ve saflaştırma, azot altında deriştirme ve yüksek rezolüsyonda ölçüm işlemlerinden oluşur.

### **6.1. Kolonların Hazırlanması**

Karbon mini kolonların içleri boşatılıp temizlendi. Temizlenen kolonlar içerisine sentezlenen kopolimerler ve doğal polimer ile doldurularak uygulamaya hazır hale getirildi.



Şekil 6.1. Mini karbon kolonu gösterimi

## 6.2. Sentetik Polimerlerin Hazırlanması

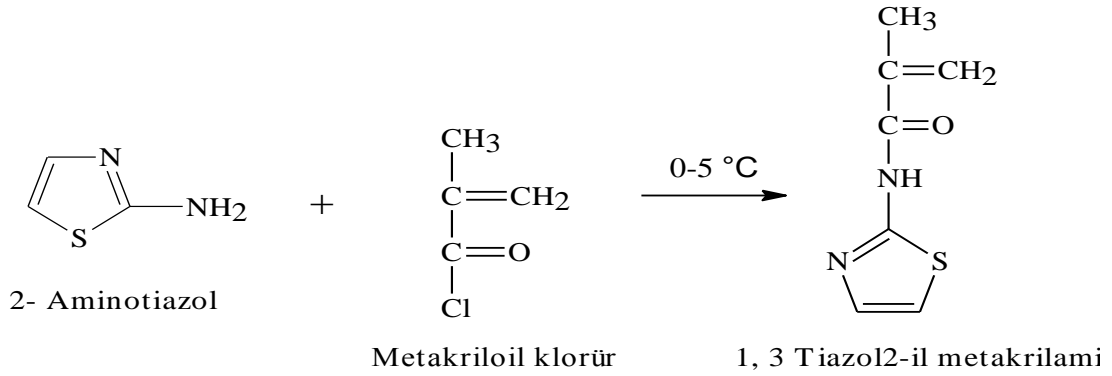
Tez çalışmasında 5 adet sentetik polimer sentezlenerek veya ticari olarak temin edilip karbon kolon içerisine doldurulmuş ve karbon kolon referans çalışma olarak alınıp kıyaslanmıştır.

### 6.2.1. Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinilpiridin-ko-divinilbenzen) (PTMVD) Reçinesinin Sentezi ve Karakterizasyonu[46]

#### Monomer sentezi;

5.000 g (0.050 mol) 2-aminotiazol 50 mL diklormetanda çözüldü. Üzerine 20 mL trietilamin ilave edildi. Damlatma hunisine diklormetan içerisinde 5.3 mL (0.05 mol) metakriloil klorür karışımı konularak damla damla 2-aminotiazol çözeltisi üzerine ilave edildi. 0-5°C'de esterleşme reaksiyonu ile 3-tiazol-2-il metakrilamid monomeri sentezlendi. 24 saat desikatör içerisinde kurutuldu koyu kahverenginde monomer elde edildi.

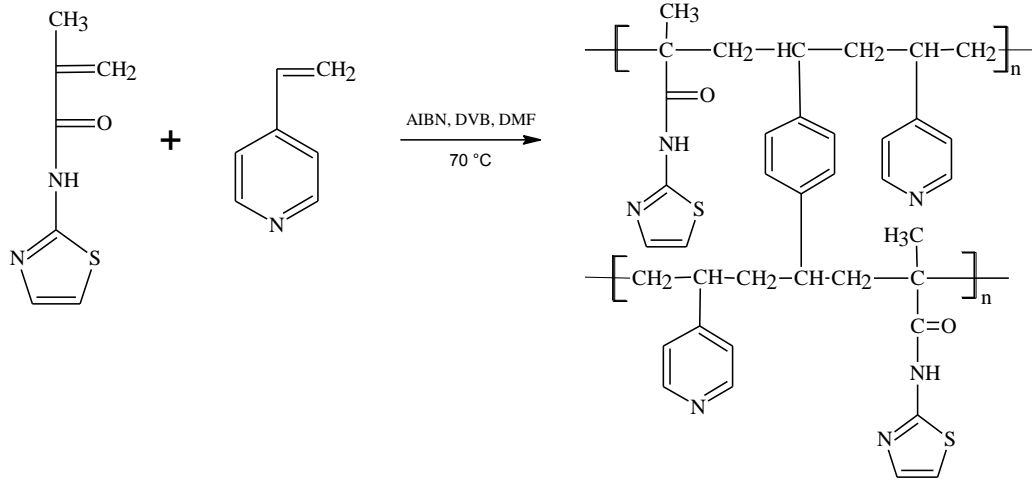




**Şekil 6.2.** 1,3-tiazol-2-il metakrilamid monomeri sentez reaksiyonu

Reçine sentezi:

1.336 g (0.008 mol) 1,3 tiazol 2-il metakrilamid ve 0.839 g (0.008 mol) 4-vinilpiridin monomerleri, 0.521 g (0.004 mol) divinil benzen çapraz bağlayıcısı 10 mL DMF içerisinde çözülerek 70 °C’ de 0.033 g AIBN ilave edilerek polimerizasyon gerçekleştirildi. Turuncu-sarı renkli poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinil piridin-ko-divinilbenzen) reçinesi saf su ile yıkanarak 40 °C’de 24 saat kurutuldu. Literatürde belirtildiği şekilde hazırlanan reçine adsorban olarak kullanılmıştır.

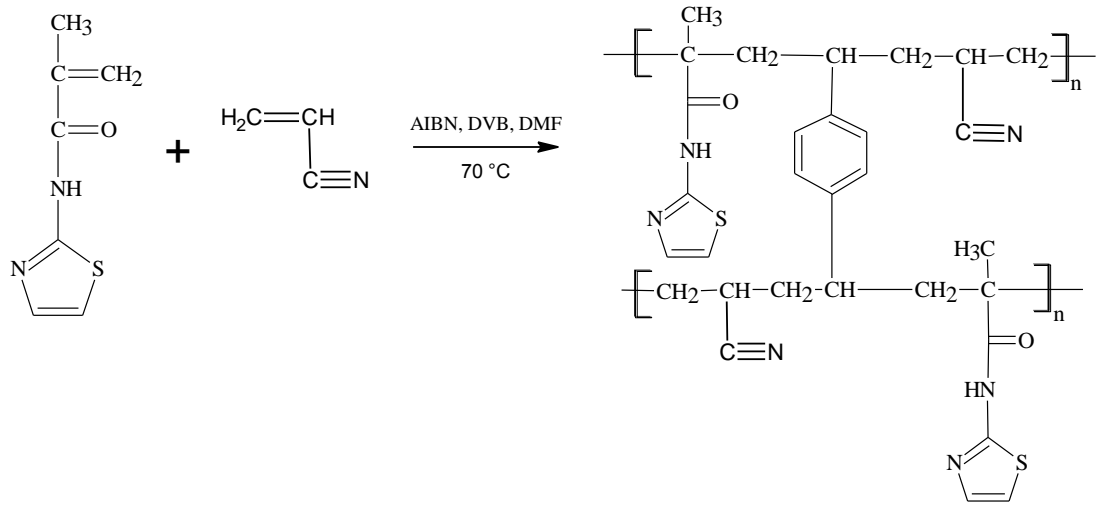


Poli(1, 3-Tiazol-2-il metakrilamid-ko4-vinil piridin-ko-divinil benzer

**Şekil 6.3.** Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinil piridin-ko-divinil benzen) reçinesinin sentez reaksiyonu

### 6.2.2. Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) (PTMAD) Reçinesinin Sentezi ve Karakterizasyonu

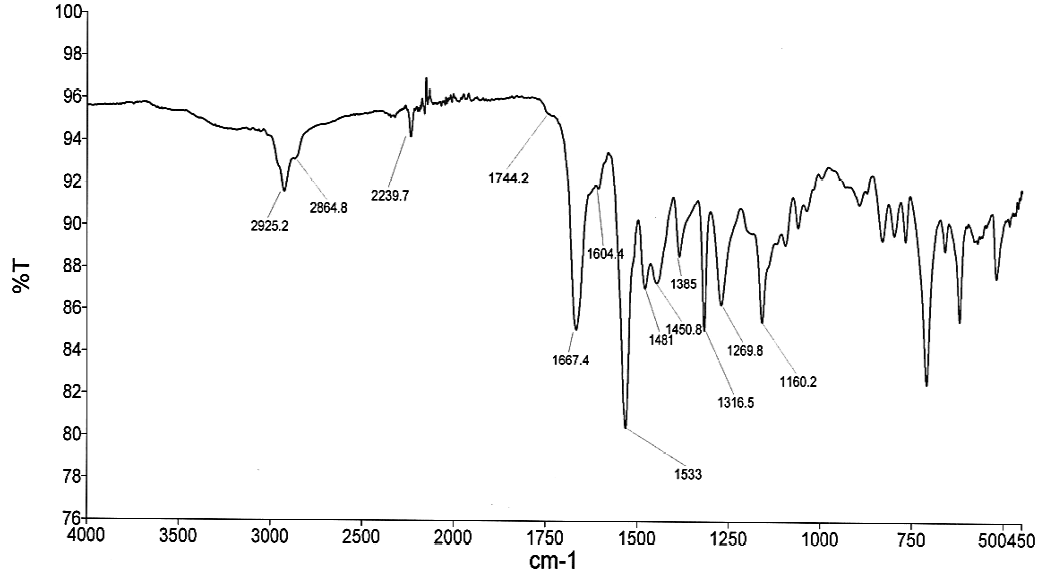
1.336 g (0.008 mol) 1,3 tiazol 2-il metakrilamid(Şekil 6.2) ve 0.421 g (0.008 mol) akrilonitril monomerleri, 0.521 g (0.004 mol) divinil benzen çapraz bağlayıcısı 10 mL DMF içerisinde çözülerek 70 °C' de 0.033 g AIBN ilave edilerek polimerizasyon gerçekleştirildi. Turuncu-sarı renkli poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesi saf su ile yıkanarak 40 °C'de 24 saat kurutuldu.



Poli( 1, 3-Tiazol- 2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinil benzen)

#### Şekil 6.4. Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesinin sentez reaksiyonu

Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-akrilonitril-ko-divinil benzen) reçinesinin Şekil 6.5'de verilen IR spektrumunda 2925 cm<sup>-1</sup>'de N-H pikinin ve 1667 cm<sup>-1</sup>'de ise karbonil (C=O) bandlarının bulunduğu ayrıca polimerizasyon sonucunda literatürde verilen 1628 cm<sup>-1</sup>'de monomerde görülen alkil grubuna ait (C=C) pikinin kaybolduğu yapıya akrilonitrilin 2239 cm<sup>-1</sup> görülen (C≡N) piki ile dahil olması ve pik şiddetindeki azalma reçinenin oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca reçine Tablo 6.1'de verilen elemental analiz sonuçlarında verilen %C, %N ve %S değerleri dikkate alınarak reçine bileşimi belirlendi (Tablo 6.2).



**Şekil 6.5.** Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesinin FT-IR spektrumu

**Tablo 6.1.** Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesinin elemental analiz sonuçları

	%C	%H	%N	%S
<b>Poli (1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen)</b>	64.44	6.36	11.90	6.62

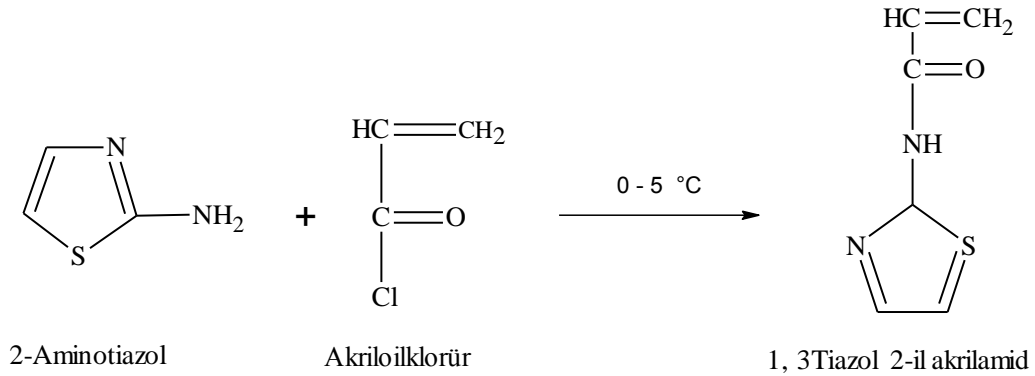
**Tablo 6.2.** Reçine bileşim oranları

Mol oranı (%)	1,3-tiazol-2-il metakrilamid	Akrilonitril	Divinil benzen
Besleme Oranı	40	40	20
Reçine Bileşimi	23	48	29

### 6.2.3. Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) (PTAAD) Reçinesinin Sentezi ve Karakterizasyonu

#### Monomer sentezi:

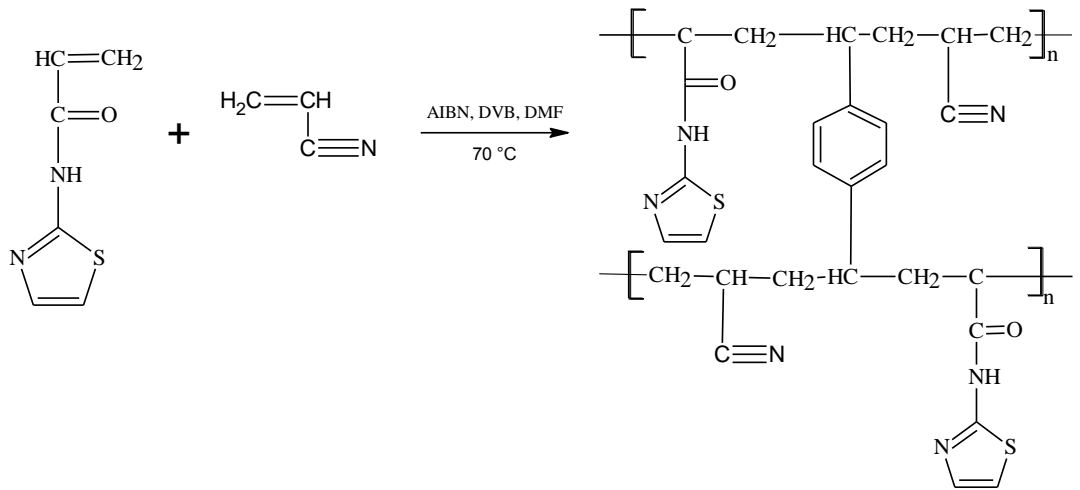
5.000 g (0.050 mol) 2-aminotiazol 50 mL diklormetanda çözüldü. Üzerine 20 mL trietilamin ilave edildi. Damlatma hunisine diklormetan içerisinde 4.6 mL (0.05 mol) akriloil klorür karışımı konularak damla damla 2-aminotiazol çözeltisi üzerine ilave edildi. 0-5°C'de esterleşme reaksiyonu ile 3-tiazol-2-il akrilamid monomeri sentezlendi. 24 saat desikatör içerisinde kurutuldu koyu kahve renginde monomer elde edildi.



Şekil 6.6. 1,3-tiazol-2-il akrilamid monomeri sentez reaksiyonu

#### Reçine sentezi:

1.232 g (0.008 mol) 1,3 tiazol 2-il akrilamid ve 0.424 g (0.008 mol) akrilonitril monomerleri, 0.521 g (0.004 mol) divinil benzen çapraz bağlayıcısı 10 mL DMF içerisinde çözülerek 70 °C' de 0.033 g AIBN ilave edilerek polimerizasyon gerçekleştirildi. Turuncu-kahve renkli poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçine saf su ile yıkanarak 40 °C'de 24 saat kurutuldu.



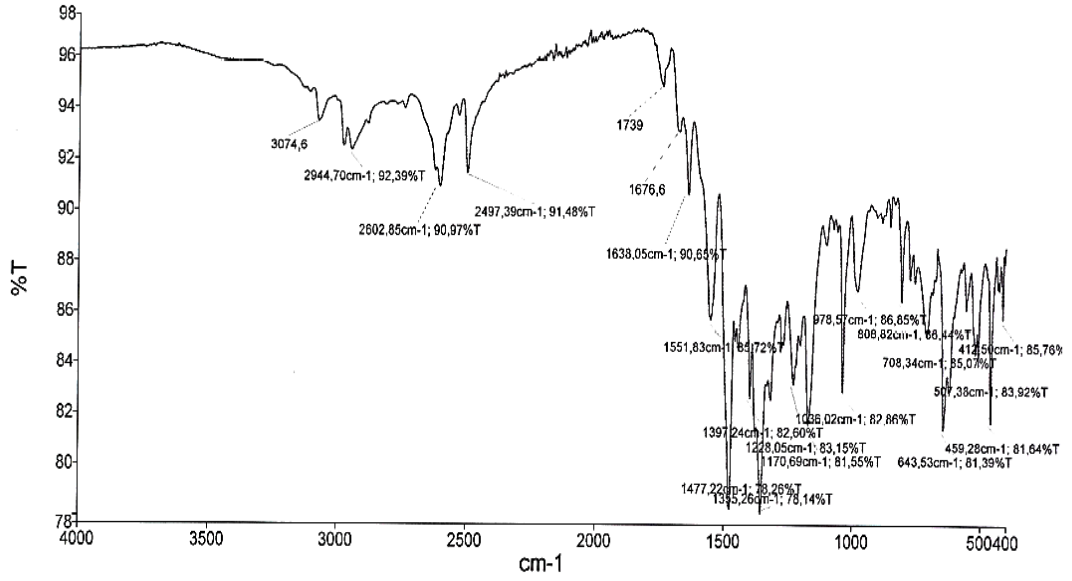
Poli(1, 3-Tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinil benzen)

**Şekil 6.7.** Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesinin sentez reaksiyonu

1,3- tiazol-2-il akrilamid monomerinin Şekil 6.6’da verilen IR spektrumunda 3074  $\text{cm}^{-1}$ ’de N-H pikinin ve 1739  $\text{cm}^{-1}$ ’de ise karbonil (C=O) 1638  $\text{cm}^{-1}$ ’de ise alkil grubuna ait (C=C) pikinin olduğu görüldü. Elde edilen bileşiğin yapısı FT-IR spektrumu ile uyumludur. monomerin Tablo 6.3’de verilen elementel analiz sonuçları ile yapısındaki C,H,N,S oranları kıyaslandığında yapı doğrulanmaktadır.

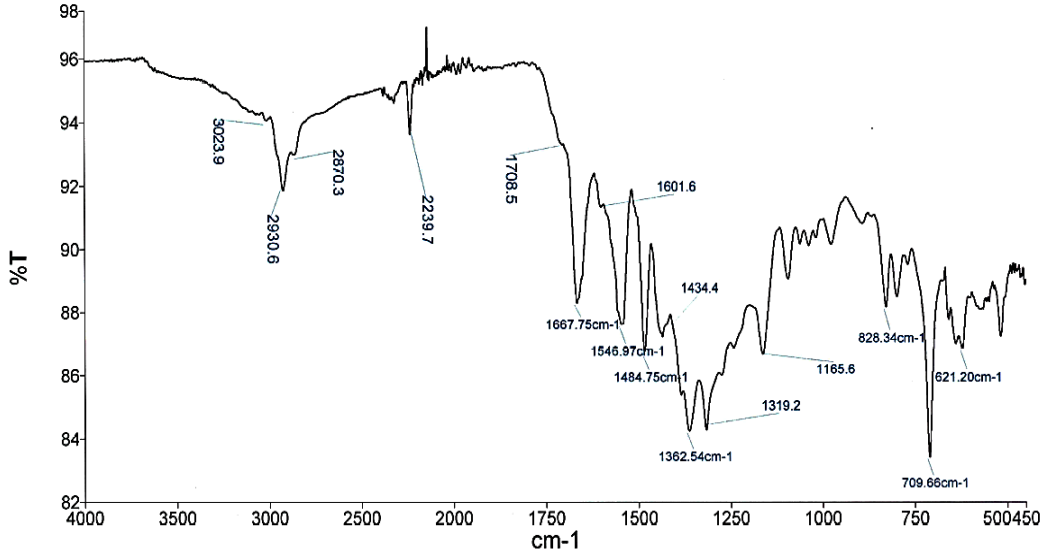
**Tablo 6.3.** 1,3- tiazol-2-il akrilamid monomerinin elementel analiz sonuçları

	%C	%H	%N	%S
<b>Bulunan</b>	45.56	5.66	15.54	13.65
<b>Hesaplanan</b>	46.74	3.92	18.17	20.80



**Şekil 6.8.** 1,3- Tiazol-2-il akrilamid monomerinin FT-IR spektrumu

Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinil benzen) reçinesinin Şekil 6.7’de verilen IR spektrumunda  $3023\text{ cm}^{-1}$ ’de N-H pikinin ve  $1708\text{ cm}^{-1}$ ’de ise karbonil (C=O) bandlarının bulunduğu ayrıca polimerizasyon sonucunda  $1637\text{ cm}^{-1}$ ’de monomerde görülen alkil grubuna ait (C=C) pikinin kaybolduğu yapıya akrilonitrilin  $2239\text{ cm}^{-1}$  görülen (C≡N) piki ile dahil olması ve pik şiddetindeki azalma reçinenin oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca reçinenin Tablo 6.4’de verilen elementel analiz sonuçlarında verilen %C, %N ve %S değerleri dikkate alınarak reçine bileşimi belirlendi (Tablo 6.5).



**Şekil 6.9.** Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesinin FT-IR spektrumu

**Tablo 6.4.** Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesinin elementel analiz sonuçları

	%C	%H	%N	%S
<b>Poli (1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen)</b>	60.41	6.20	13.25	5.48

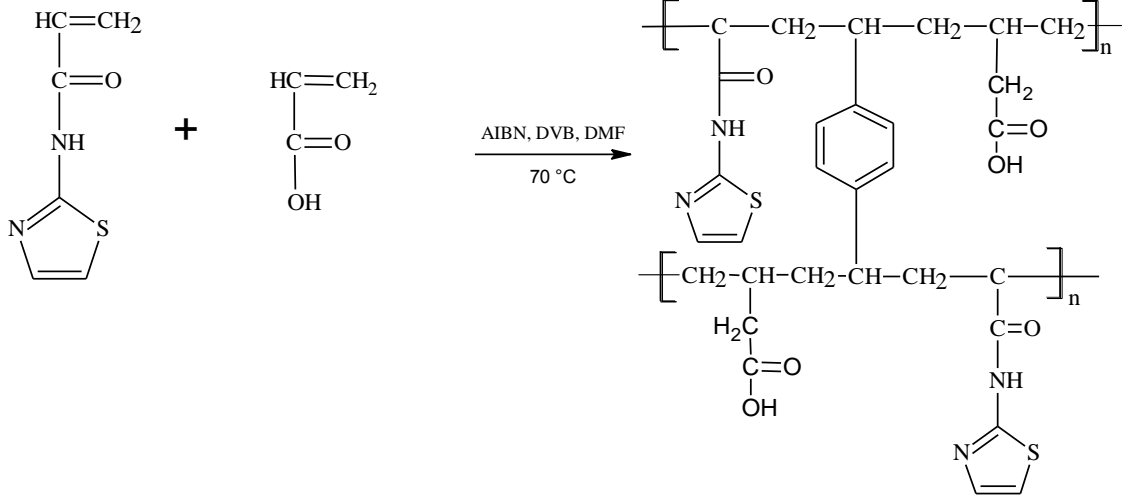
**Tablo 6.5.** Reçine bileşim oranları

Mol oranı (%)	1,3-tiazol-2-il akrilamid	Akrilonitril	Divinil benzen
Besleme Oranı	40	40	20
Reçine Bileşimi	17	61	22

#### 6.2.4. Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) (PTAAAD) Reçinesinin Sentezi ve Karakterizasyonu

1.232 g (0.008 mol) 1,3 tiazol 2-il akrilamid(Şekil 6.6) ve 0.576 g (0.008 mol) akrilikasit monomerleri, 0.521 g (0.004 mol) divinil benzen çapraz bağlayıcısı 10 mL DMF içerisinde çözülerek 70 °C' de 0.033 g AIBN ilave edilerek polimerizasyon

gerçekleştirildi. Turuncu-kahve renkli poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) reçine saf su ile yıkanarak 40 °C'de 24 saat kurutuldu.

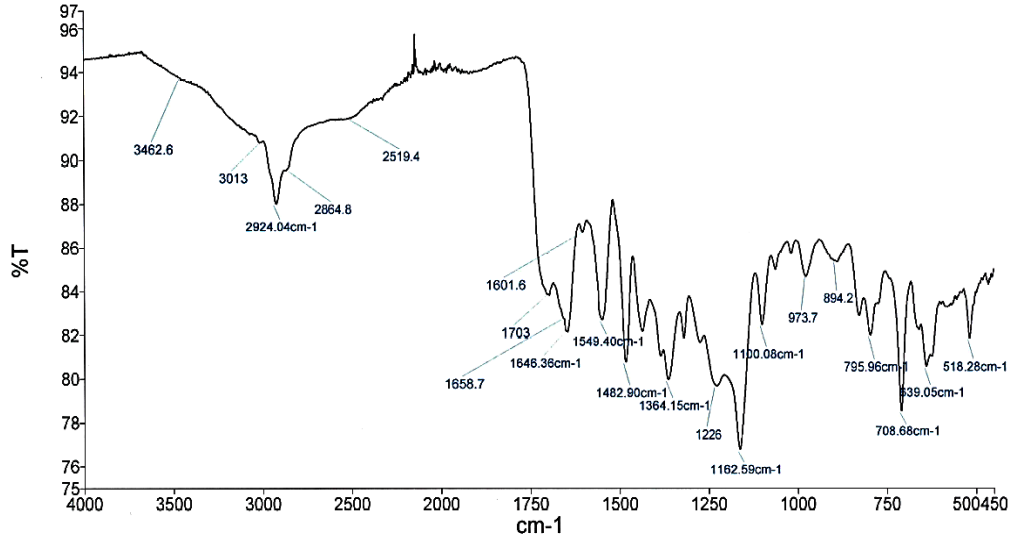


Poli(1, 3-Tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilik asit-ko-divinil benzer

**Şekil 6.10.** Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) reçinesinin sentez reaksiyonu

Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinil benzen) reçinesinin Şekil 6.10'da verilen IR spektrumunda 3013  $\text{cm}^{-1}$ 'de N-H pikinin bulunduğu ayrıca polimerizasyon sonucunda 1637  $\text{cm}^{-1}$ 'de monomerde görülen alkil grubuna ait (C=C) pikinin kaybolduğu, yapıya akrilik asitin 1703  $\text{cm}^{-1}$  ve 1658  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülen iki karbonil (C=O) bandlarının dahil olması ile pik şiddetindeki azalma reçinenin oluştuğu göstermektedir. Ayrıca kopolimerin Tablo 6.6'da verilen elementel analiz sonuçlarında verilen %C, %N ve %S değerleri dikkate alınarak reçine bileşimi belirlendi (Tablo 6.7).





**Şekil 6.11.** Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) reçinesinin FT-IR spektrumu

**Tablo 6.6.** Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) reçinesinin elementel analiz sonuçları

	%C	%H	%N	%S
<b>Poli (1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen)</b>	58.58	6.53	7.19	6.32

**Tablo 6.7.** Reçine bileşim oranları

Mol oranı (%)	1,3-tiazol-2-il metakrilamid	4-vinil piridin	Divinil benzen
Besleme Oranı	40	40	20
Reçine Bileşimi	17	74	9

### 6.2.5. XAD-1180 Ticari Polimeri

Farklı monomerler kullanılarak elde edilen Amberlite XAD kopolimerleri geniş yüzey alanlarına, sert ve homojen dağılımlı gözeneğe sahip, çapraz bağlı yapılardır. Spesifik yüzey alanı 650 m<sup>2</sup>/g dir. Apolar özellik göstermektedir. Hidrofobik bir yüzeye sahiptirler. Elüent olarak organik maddelerin kullanılması bu tür reçinelerin üstünlüğüdür. Bununla birlikte organik çözücülere, asidik ve bazik ortamlara karşı

kararlı olmaları ve gösterdikleri farklı polarite özellikleri ile son yıllarda ayırma ve zenginleştirme amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır [49]. Geniş yüzey alanı sayesinde adsorbant olarak kullanılır. XAD 1180 polimeri ticari olarak temin edilmiştir.

### **6.3. Doğal Adsorbanlar**

#### **6.3.1. Spropolen**

Yosun, eğrelti otu sporları ve birçok polen tanecikleri bir biyopolimer olan sporopollenini de içeren bir tabakaya sahiptir. Bu tabakaya sporoderm, exine denir. Sporopollenin enzimatik parçalanmalara ve kuvvetli asidik veya bazik ortamlardaki hidrolitik bozunmalara karşı oldukça dayanıklıdır.

Polen ve spordan elde edilen sporopolleninler yüksek pH değerlerine dayanıklı olmaları, nispeten eşboyutlu yapıları ve mekanik dayanıklılıkları dolayısıyla bir adsorban olarak avantajlara sahiptir. Sporopollenin yüksek hidrofilik grup içeriğiyle primer gurupların takılmasına ve katı faz biyopolimerlerin sentezine imkan tanır.

Sporopollenin hidrofilik olduğu kadar hidrofobik fonksiyonlarda gösterir. Suda kolaylıkla ıslanabilir olmasına rağmen şişme özelliği azdır. Alkoller ve aminler gibi amfifilik sıvılarda çok iyi şişerler [48].

#### **6.3.2. Koyun Tüyü**

Koyun tüyünde %33 keratin (yün proteini), %28 ter tuzları, %26 kir, %12 yün yağı, %1 anorganik maddeler bulunur. Doğal yağların çoğu, yağ asidlerinin bir trialkol olan gliserinle yapmış olduğu esterlerdir. Yün yağının bileşimi ise biraz daha farklı olup yağ asidlerinin monohidroksilli bir alkol olan kolesterol ve isokolesterol esterleridir. Gerçek yağlar, gliserin esterleri olduğundan kolesterol gibi büyük moleküllü bir alkolün yağ asidleri ile yaptığı bu esterler, yani yün yağı, bir vaks gibi kabul edilebilir [47]. Koyun tüyü ticari olarak temin edilmiştir.

#### **6.3.3. İnsan Saçı**

Saçı oluşturan keratin molekülleri farklı yapılarda ve değişik molekül ağırlıkları olan proteinlerdir. Saçın yapısında keratin proteinlerinden başka lipidler (fosfolipidler, kolesterol ve yağ asitleri) eser elementler ve %20 oranında su bulunur [50]. İnsan saçı bir erkek kuaföründen temin edilmiştir.

#### 6.3.4. Karbon Kolon

Aktif karbon, büyük kristal formu ve oldukça geniş iç gözenek yapısı ile karbonlu adsorbanlar ailesini tanımlamada kullanılan genel bir terimdir. Aktif karbonlar, insan sağlığına zararsız, kullanışlı ürünler olup, oldukça yüksek bir gözenekliliğe ve iç yüzey alanına sahiptirler. Yüzey alanı 400-1600 m<sup>2</sup>/g dır. Aktif karbonlar, çözültideki molekül ve iyonları gözenekleri vasıtasıyla iç yüzeylerine doğru çekebilirler ve bu yüzden adsorbant olarak adlandırılırlar. Karbon taneciğinin yüzeyi gaz, sıvı ve katı maddeleri çeker ve yüzeyde ince bir film tabakası oluşturur, yani adsorbe eder. Aktif karbonun adsorban olarak tercih edilmesinin başlıca iki nedeni vardır. Bunlar;

- Belirli maddeleri çekebilmesi için çekici bir yüzeye,
- Fazla miktarda maddeyi tutabilmesi için geniş bir yüzeye sahip olmasıdır [4].

Bu kolon hali hazırda analizlerde kullanılan ticari kolon olup bu çalışmada referans olması maksadı ile kullanılmıştır. Diğer adsorbanlar ile yapılan çalışmada bu kolona alternatif adsorban geliştirilmeside amaçlanmış idi.

#### 6.4. Katı faz Ekstraksiyonunun (Power Prep) Aşamaları

Saflaştırma ve ayırmanın sağlandığı otomatik bir katı faz ekstraksiyon sistemidir. Çalışmada karbon kolona alternatif olarak değerlendirilen kolonların performanlarının kontrolünde power prep sistemi kullanılmıştır. Power prep sistemi kontrolün sağlandığı bir bilgisayar ve her bir örnek için ayrı bir modülden oluşmaktadır. Modül bir pompa, altı tane valf ve teflon kolonlardan oluşmaktadır. Modüllerin ise bağlı olduğu bir ana kontrol kutusu bulunmaktadır.



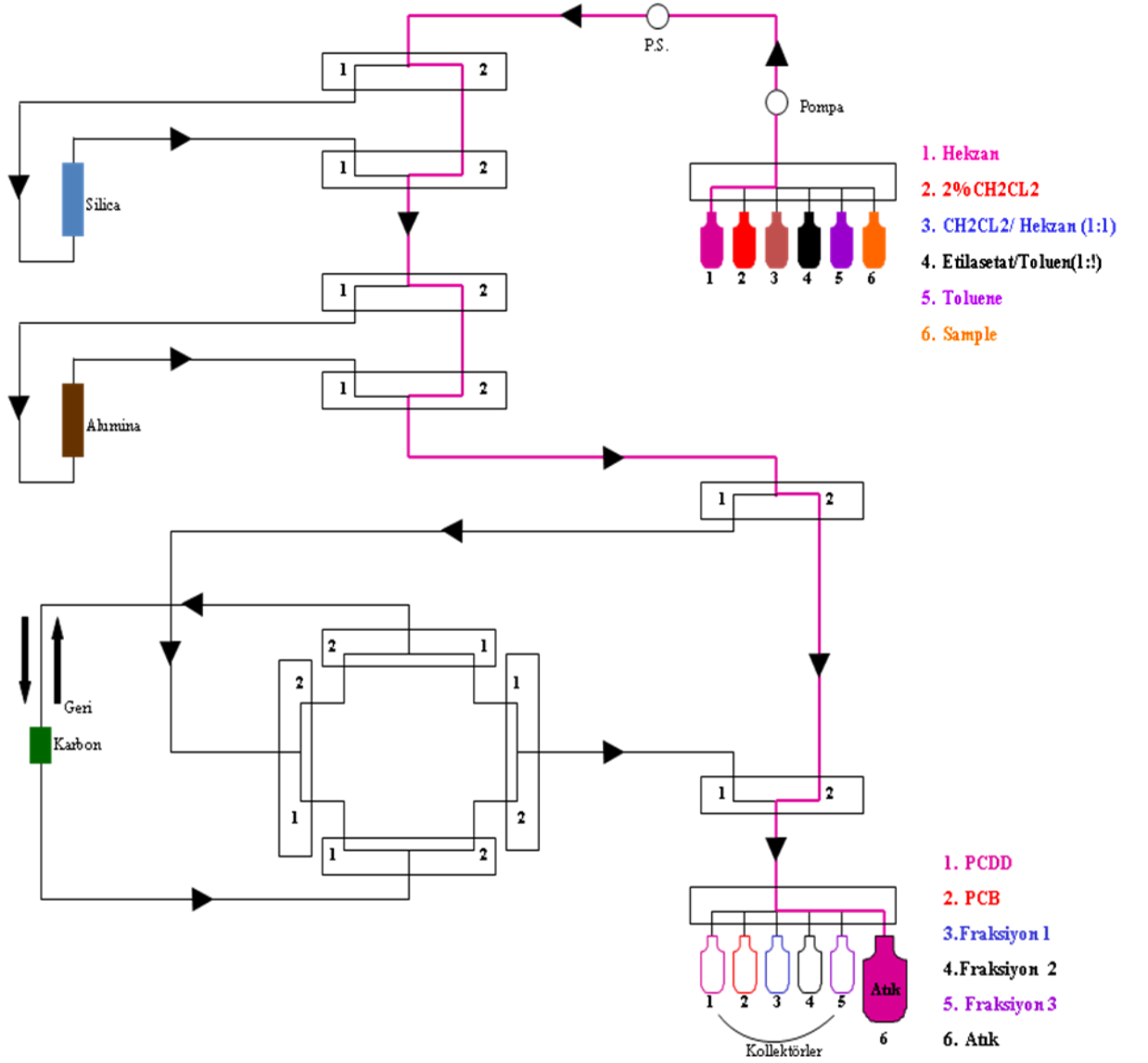
Şekil 6.12. İki üniteli Power Prep Saflaştırma Cihazı

Power Prep sisteminin esası polarite dereceleri farklı solventler kullanarak bir örnek ortamından istenilen analitleri ayrı fraksiyonlara ayırma işlemi şeklinde açıklanır.

Çalışmada karbon kolonun olduğu yere diğer hazırlanan kolonlar takılarak karbon kolona karşı performansları değerlendirilmiştir.

Hazırlanan kolonların referans kolon karbon kolonuyla beraber şartlandırılması sağlanmıştır. Şartlandırma sonrası kolonlar farklı solventlerle yıkanmıştır. Sonra örnek ortamı kolona verilmiştir. Örnek ortamının hazırlanması: 25 mL'lik bir mezür içerisine 40 µL analit <sup>37</sup>Cl<sub>4</sub> 2,3,7,8- TCDD (1pg/µL) ile 400 µL internal standart Dioxnop2A (<sup>13</sup>C Dioksin/Furan ve non orto PCB (konsantrasyon aralığı 0.10-0.20 pg/µL)) konularak hacim çizgisine kadar hekzanla doldurulur. Hazırlanan örnek ortamı kolonlara verilir. Kolona tutunmasını beklediğimiz analit tekrar farklı solventlerle yıkanır (Bu solventler aşağıda ayrıntılı verilmiştir). Son elüsyon aşamasında ise toluenle fraksiyona indirilir. Özetle anlatılan Power Prep aşaması aşağıda daha ayrıntılı ele alınmıştır.

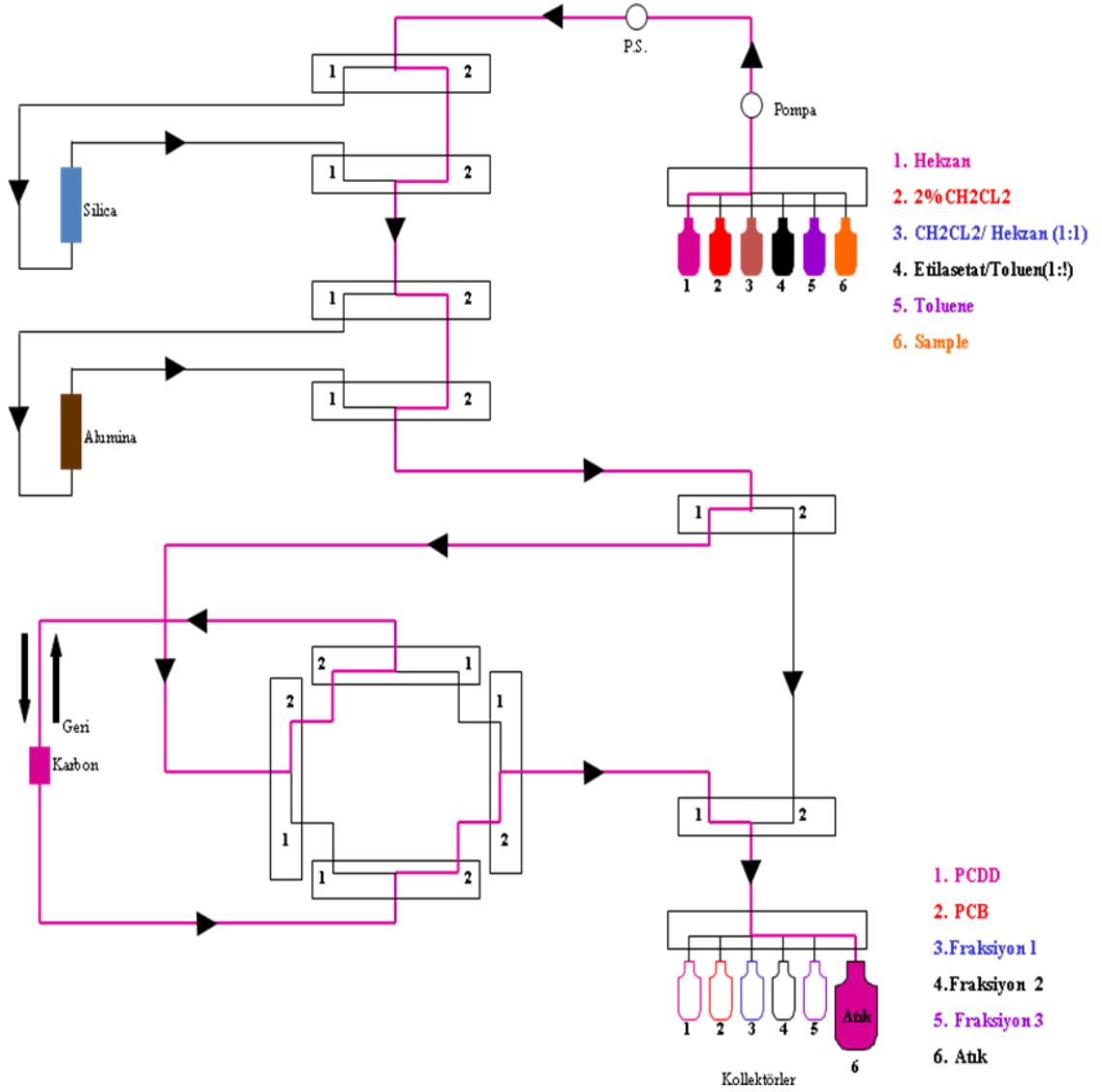
**1. Aşama:** Çalışmaya başlamadan sistemin iç aksamı istenilen sürede ve hacimde hekzan ya da uygun bir solventle yıkanır. Bu aşamayı biraz uzatmakta fayda vardır. Çünkü bir önceki çalışılan örnek bir sonraki örneğe göre daha kirli olabilir buda kontaminasyona sebep olabilir. Burada dakikada 10 mL hekzan geçecek şekilde 3 dk olarak oluşturulmuştur.



**Şekil 6.13.** Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 1. aşaması

**2. Aşama:** Çalışmada sadece karbon kolon ve alternatifleri kullanılacağından silika ve alumina kolonlar bypass geçilmiştir.

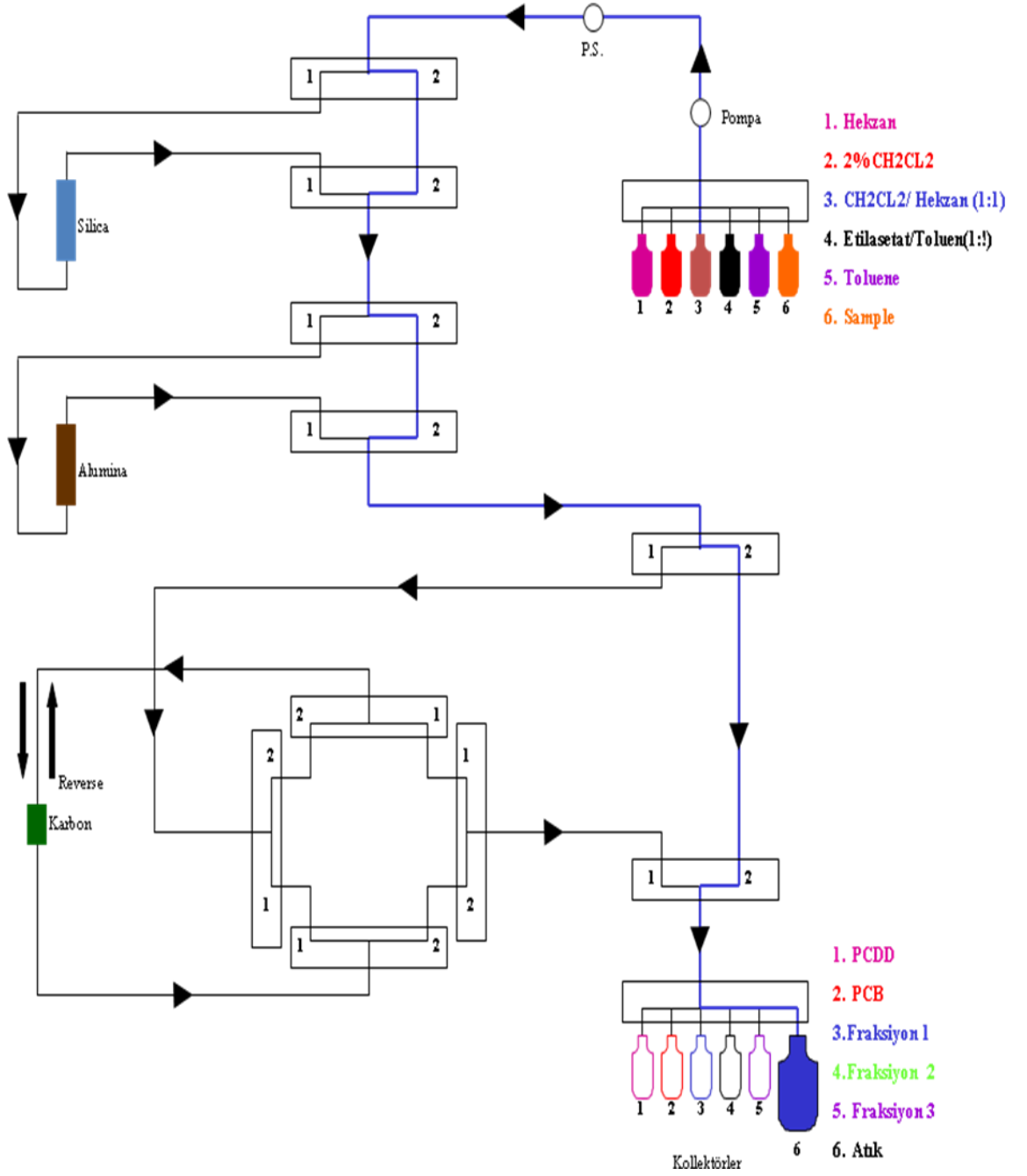
Bu aşamada kolonun şartlandırılması gerçekleşmektedir. Tabii şartlandırmayla beraber yıkama ve kontaminasyona karşı bir temizlemede söz konusudur. Şartlandırmada farklı solventler kullanılmaktadır. Solventle şartlandırma yapmadan önce sistem aynı solventle önce bypass edilir. Sonra şartlandırma yapılır.



**Şekil 6.14.** Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 2. aşaması

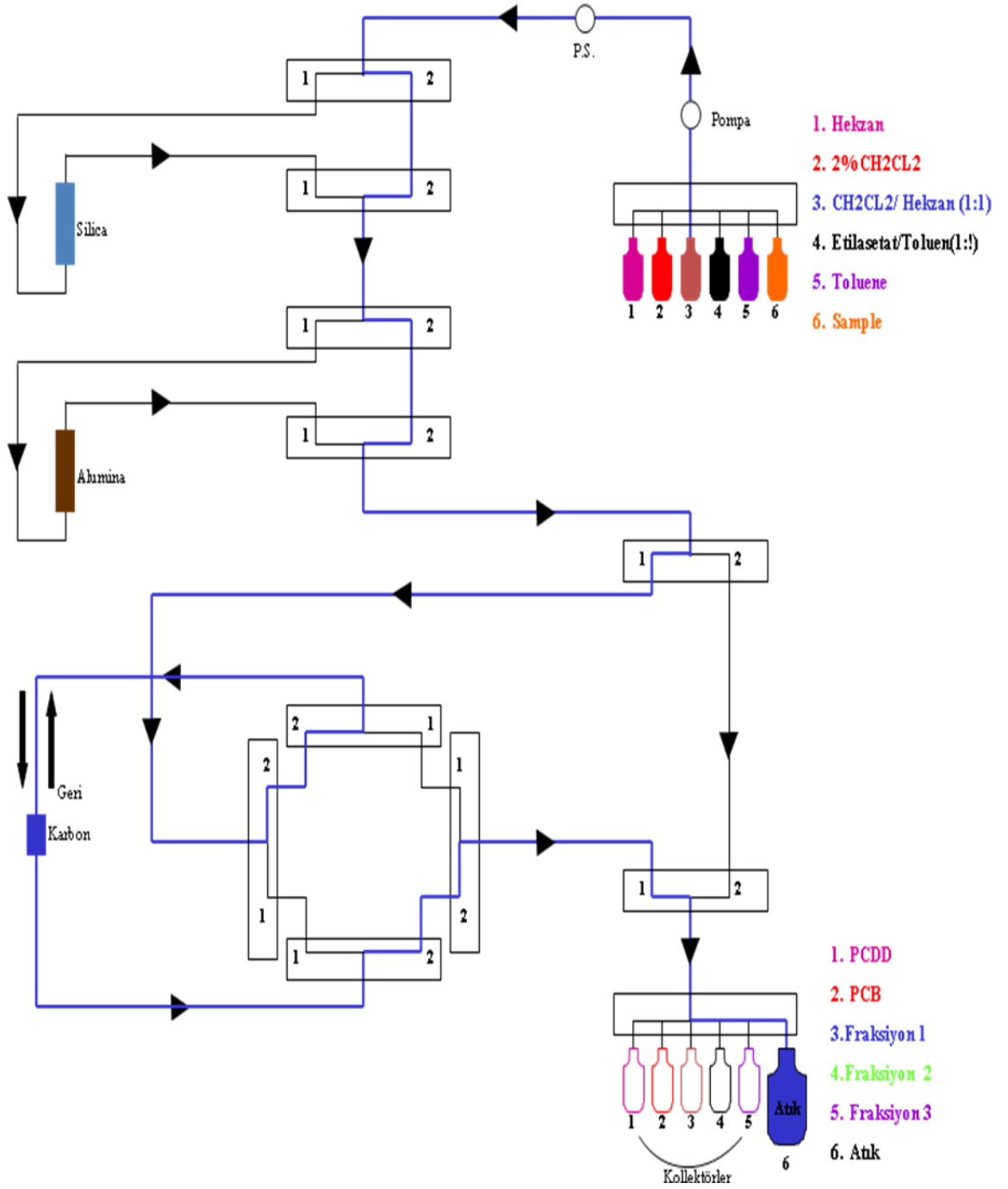
Bu aşamada kolondan dakikada 10 ml hekzan geçecek şekilde 20 dakika süre ile ayarlanmıştır. Referans kolon karbonla beraber hazırlanan diğer adsorbanlarda aynı işlemler uygulanmaktadır.

**3. Aşama:** Dikloro metan-hekzan karışımı (1:1) ile ana hat bypass edilir. Bu aşamada dakikada 10 ml dikloro metan-hekzan geçecek şekilde 1 dakika olarak ayarlanmıştır.



**Şekil 6.15.** Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 3. aşaması

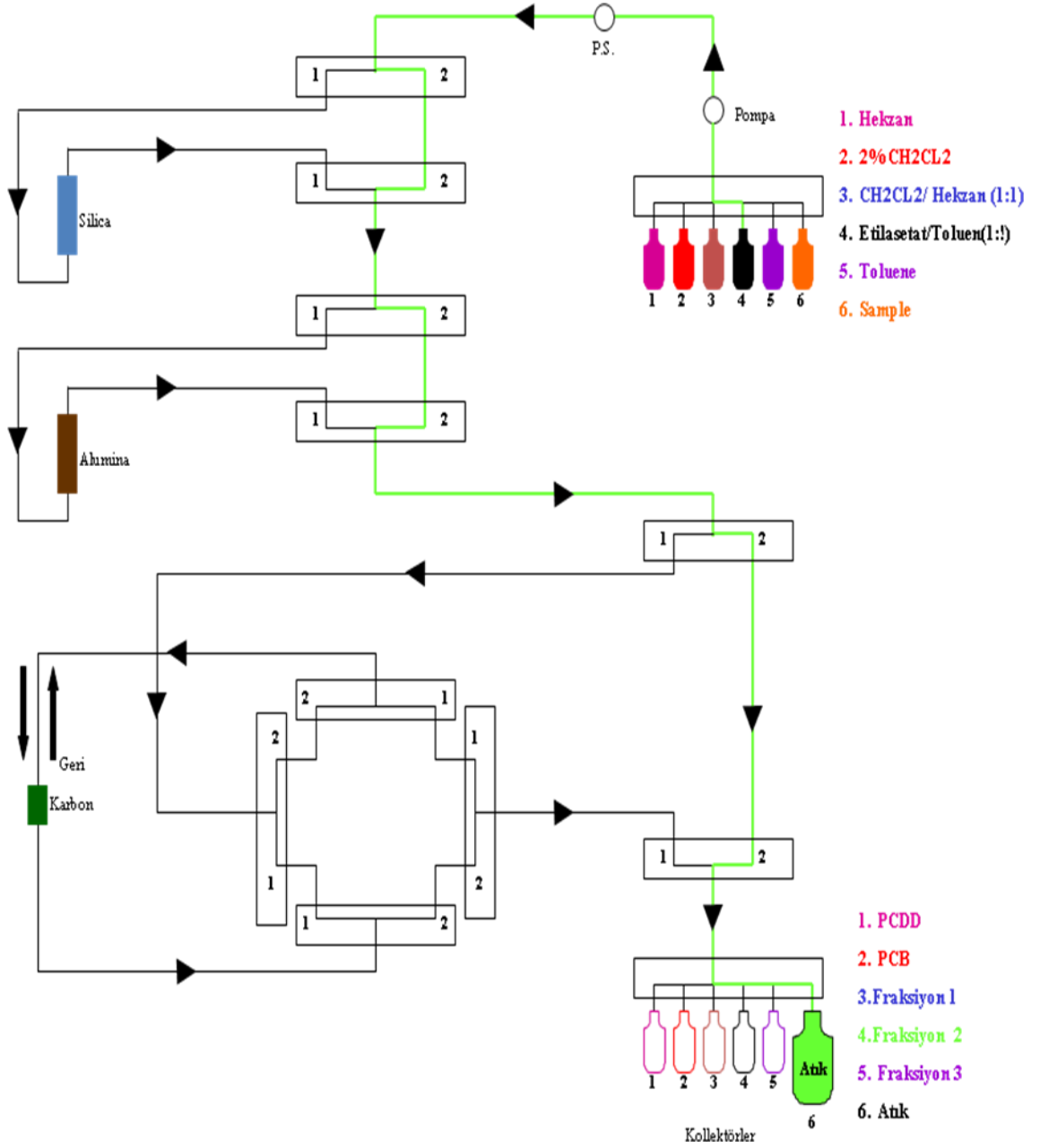
**4. Aşama:** Dikloro metan-hekzan karışımı (1:1) ile kolon şartlandırılır. Burada dakikada 10 ml dikloro metan-hekzan geçecek şekilde 5 dakika süreyle ayarlanmıştır.



Şekil 6.16. Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 4. aşaması

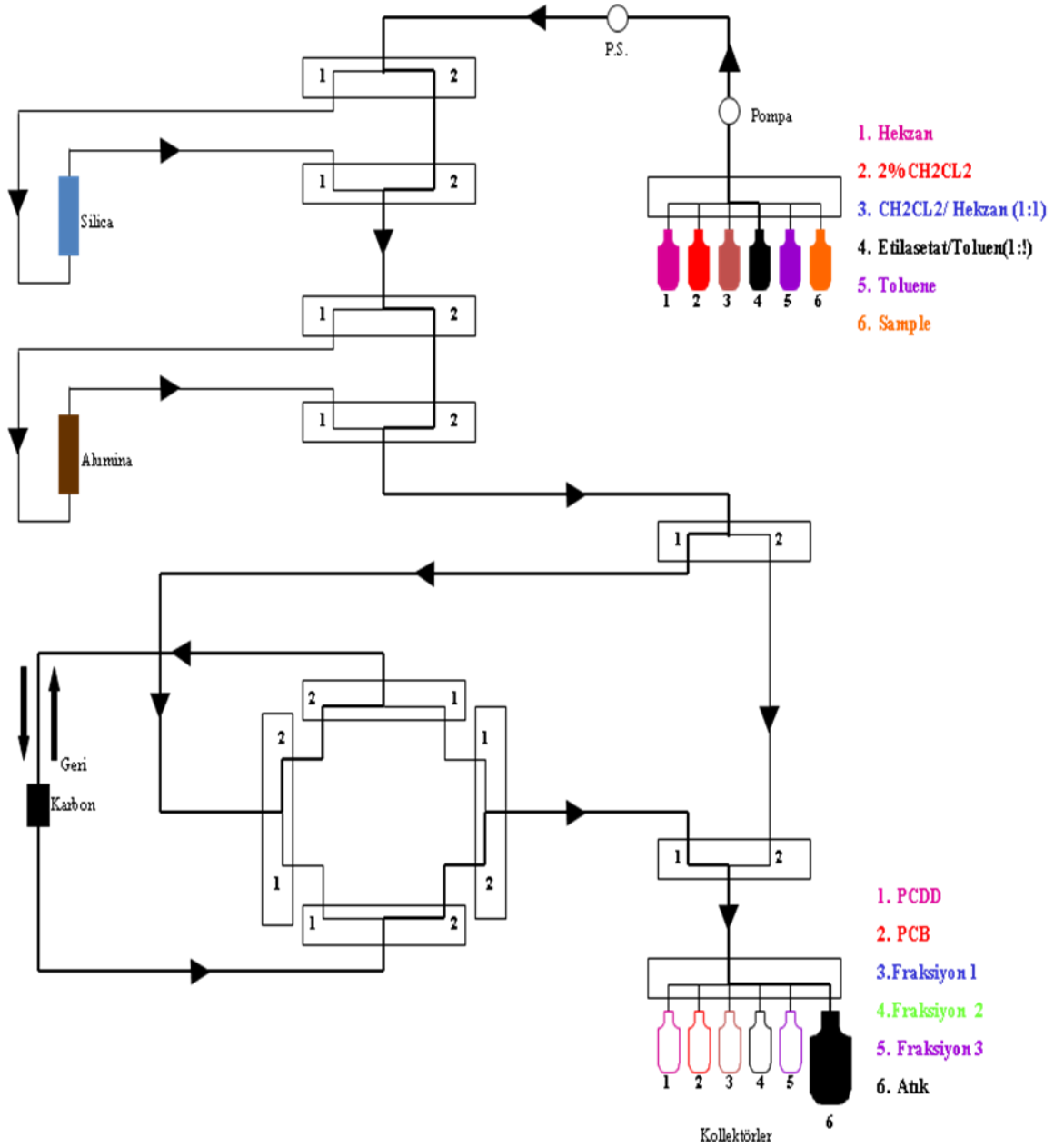
**5. Aşama:** Ana hat etil asetat-toluen(1:1) karışımıyla bypass edilir. Dakikada 10 ml etil asetat-toluen geçecek şekilde 1 dakika olarak sürelendirilmiştir.





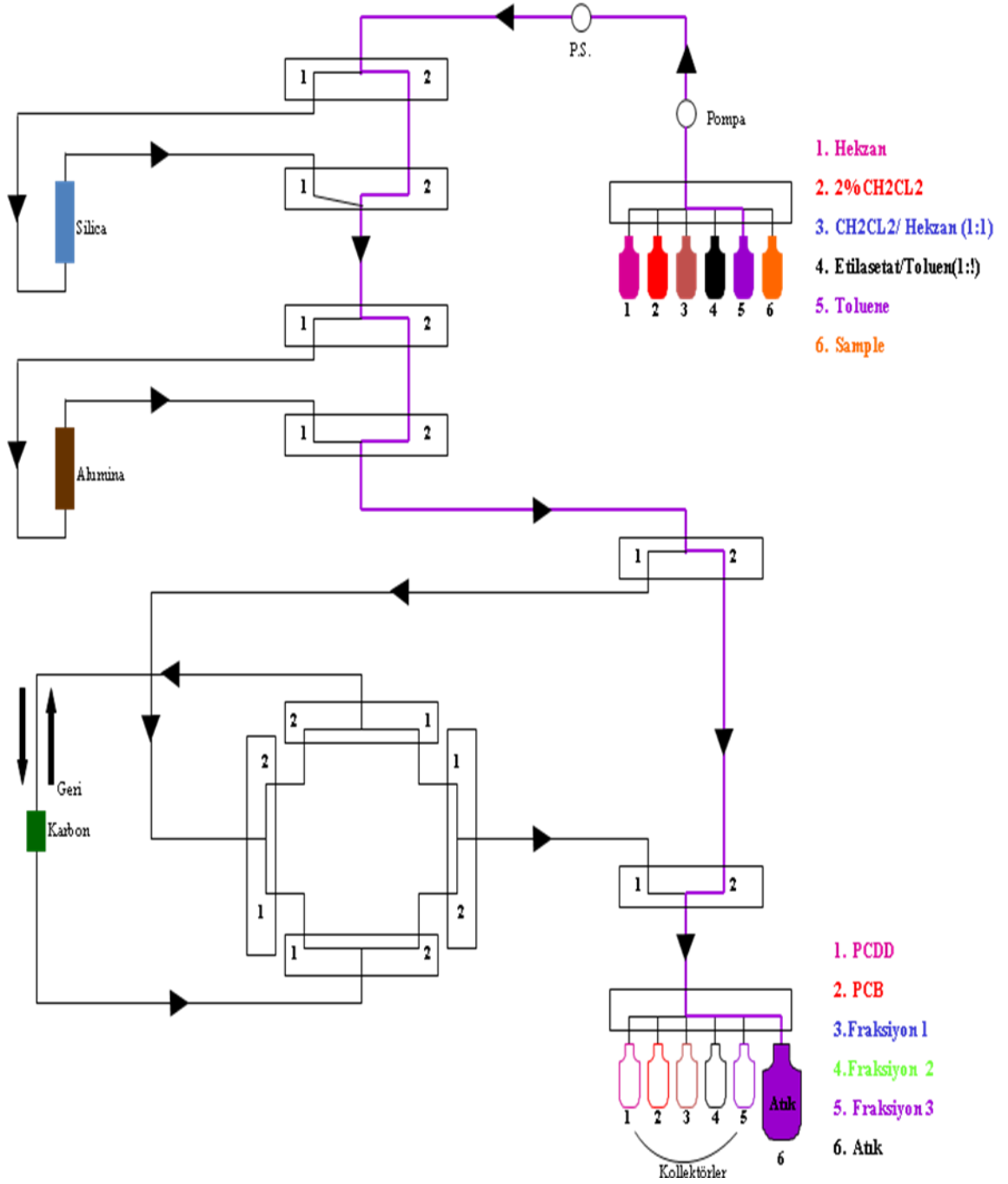
Şekil 6.17. Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 5. aşaması

**6. Aşama:** Kolon etil asetat-toluen(1:1) karışımıyla şartlandırılır. Dakikada 10 ml etil asetat-toluen geçecek şekilde 5 dakika olarak sürelendirilmiştir.



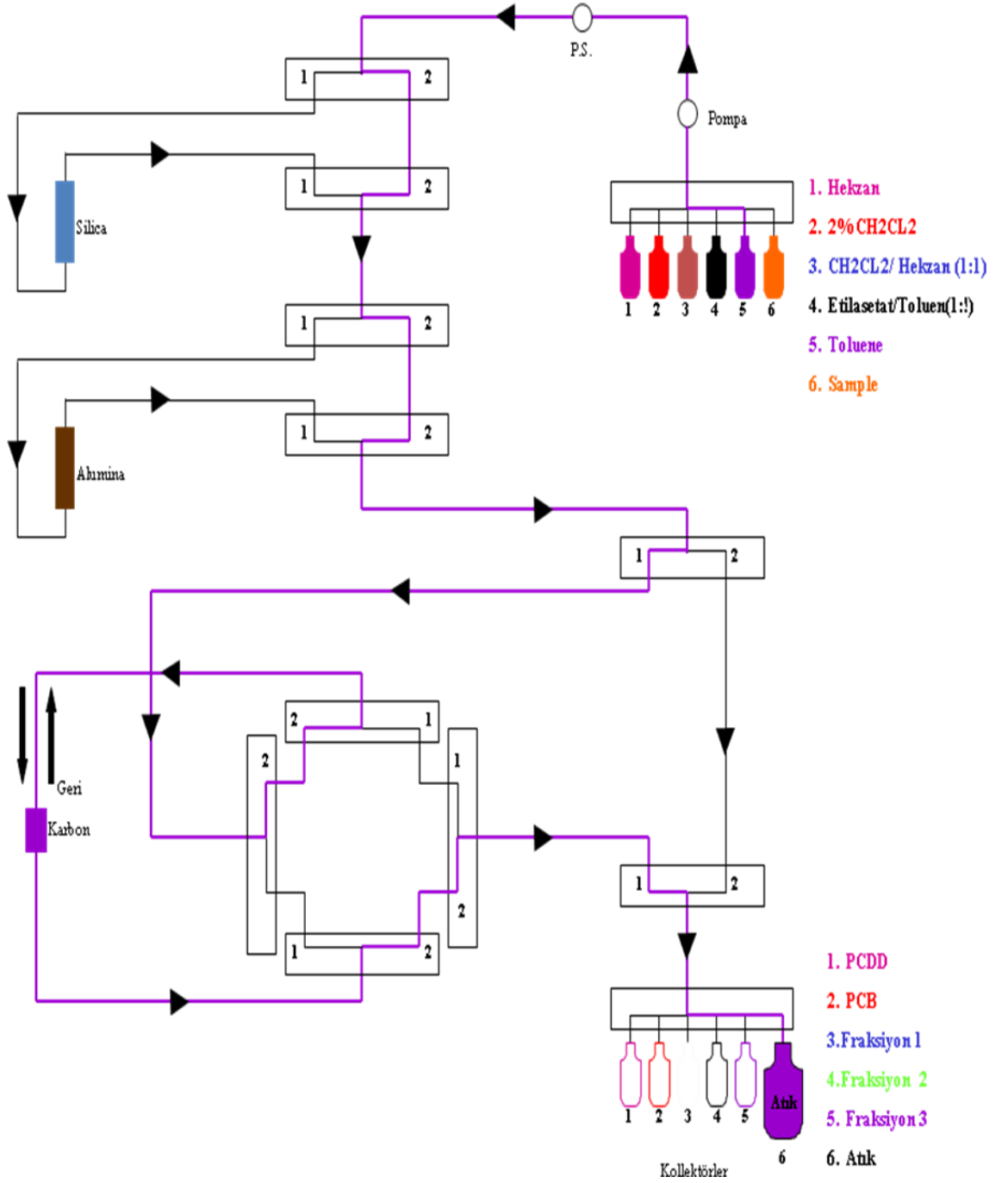
**Şekil 6.18.** Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 6. aşaması

**7. Aşama:** Ana hat toluenle bypass edilir. Dakikada 10 ml toluene geçecek şekilde 1 dakika süreyle sürelendirilmiştir.



**Şekil 6.19.** Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 7. aşaması

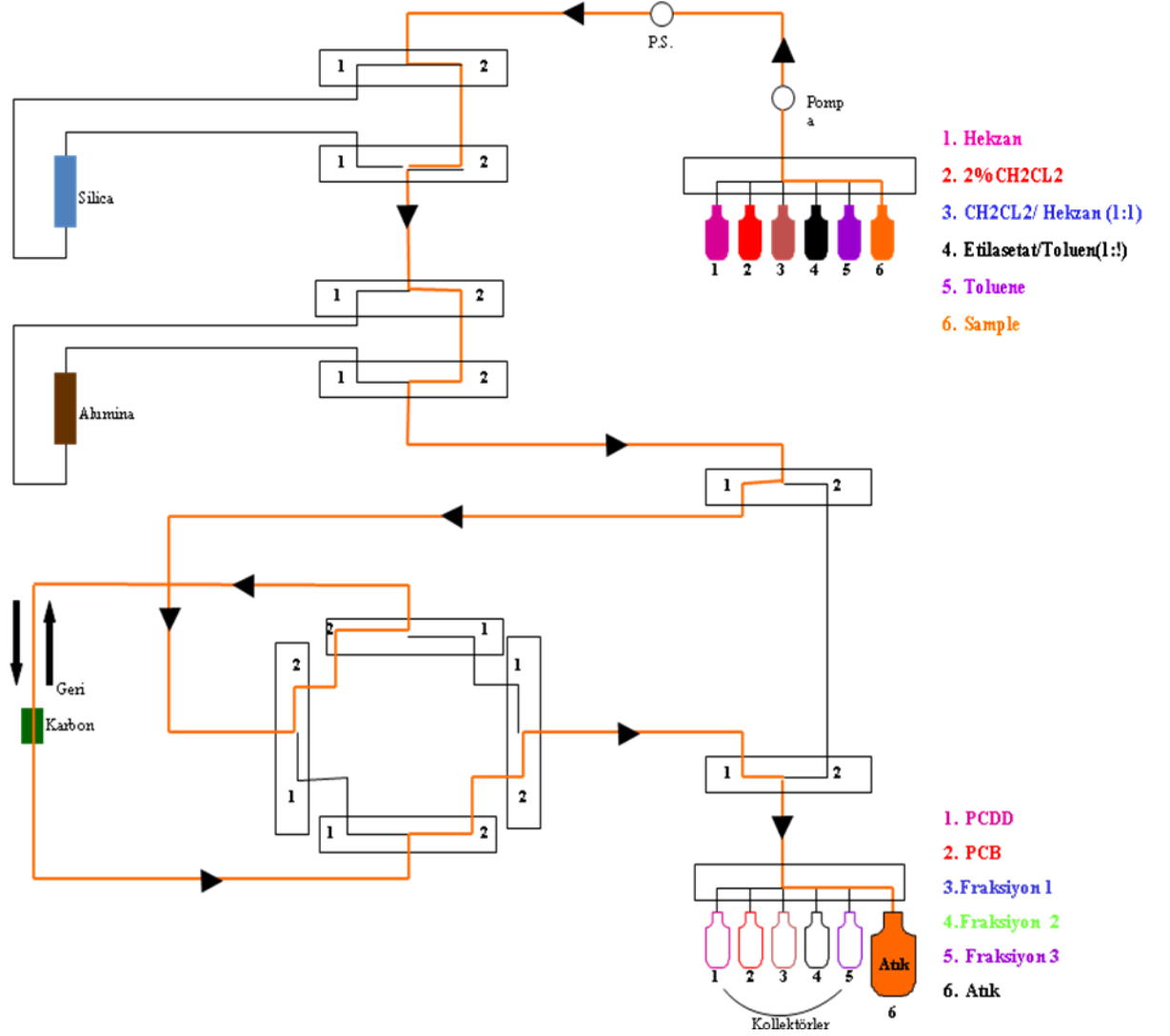
**8. Aşama:** Dakikada 10 ml toluene geçecek şekilde 5 dakika kolon toluenle şartlandırılır. Bu aşamayla beraber şartlandırma aşaması biter ve bir sonraki aşama örneğin kolona yüklenmesi aşamasına geçilir.



Şekil 6.20. Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 8. aşaması

**9. Aşama:** Örneğin kolona yüklendiği aşamadır. Çalışmada analit olarak <sup>37</sup>Cl izotoplu 2,3,7,8 TCDD standardı kullanılmıştır. Bu standart internal standartla beraber 25 ml'lik mezürde hekzan ortamında power prepe verilir.

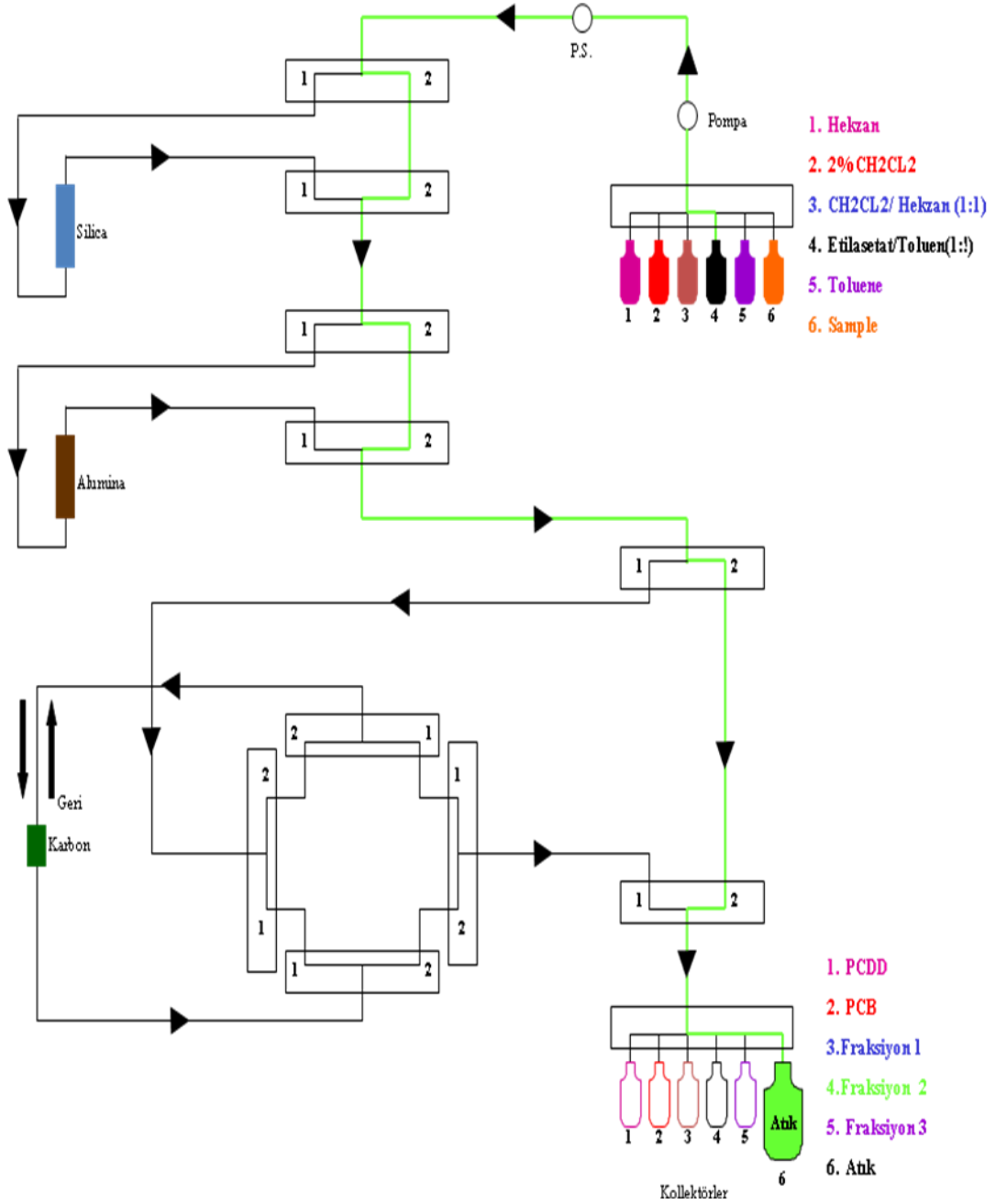
İnternal standart olarak Dioxnop2A (13C Dioksin/Furan ve non orto PCB (konsantrasyon aralığı 0.10-0.20 pg/μL)) stok çözeltisinden 400 μL kullanılmıştır. Analit olarak 37Cl izotoplu 2,3,7,8 TCDD standardından 40 μL kullanılmıştır.



**Şekil 6.21.** Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 9. aşaması

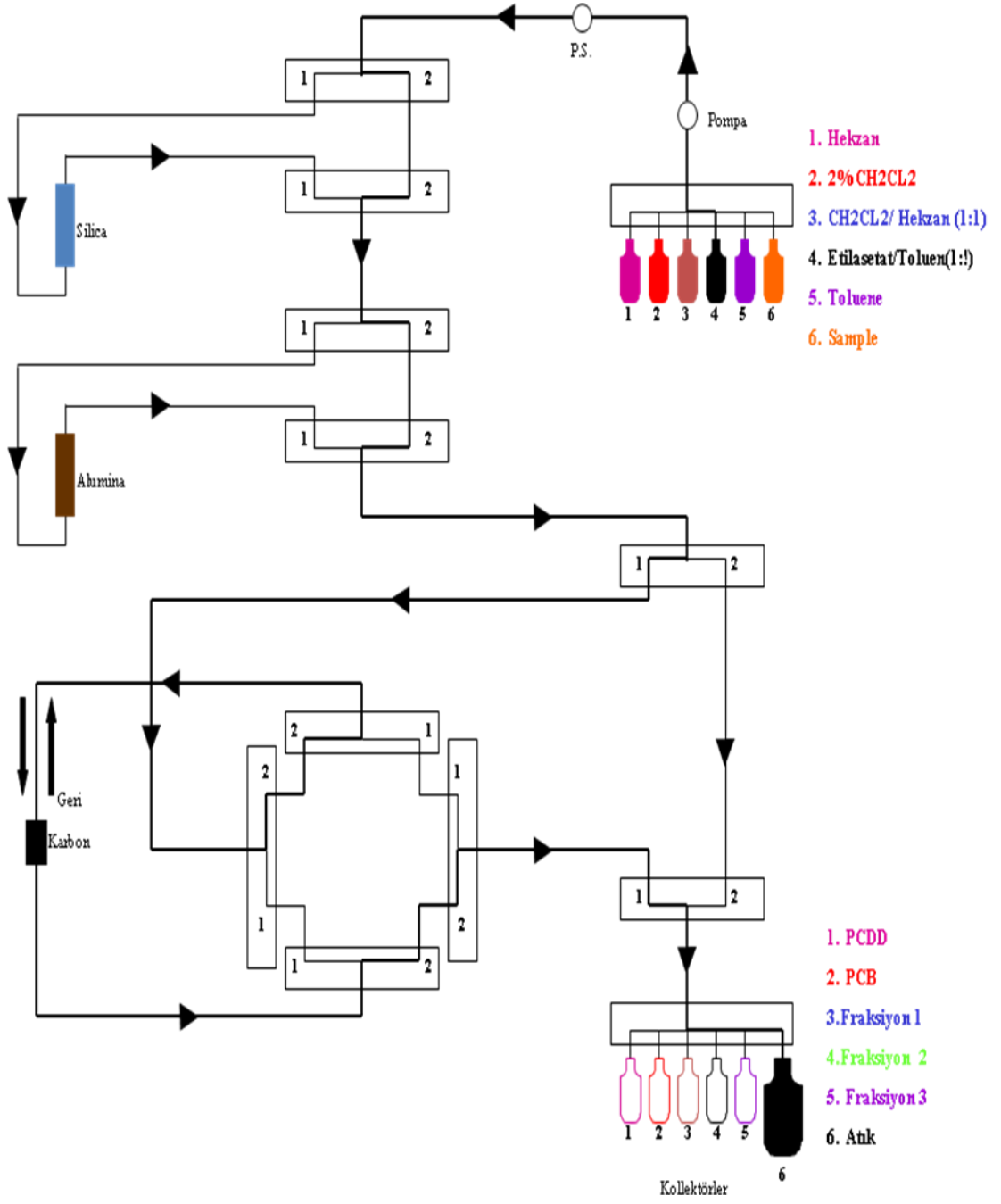
Bu aşamada dakika 5 mL örnek alacak şekilde pompa ayarlaması yapılır. Örneğin kolona yüklenmesi gerçekleştirilir.

**10. Aşama:** Etil asetat-toluen(1:1) karışımıyla ana hatlar bypass edilir. Bu aşama dakikada 10 mL etil asetat-toluen geçecek şekilde 1 dakika gerçekleştirilir.



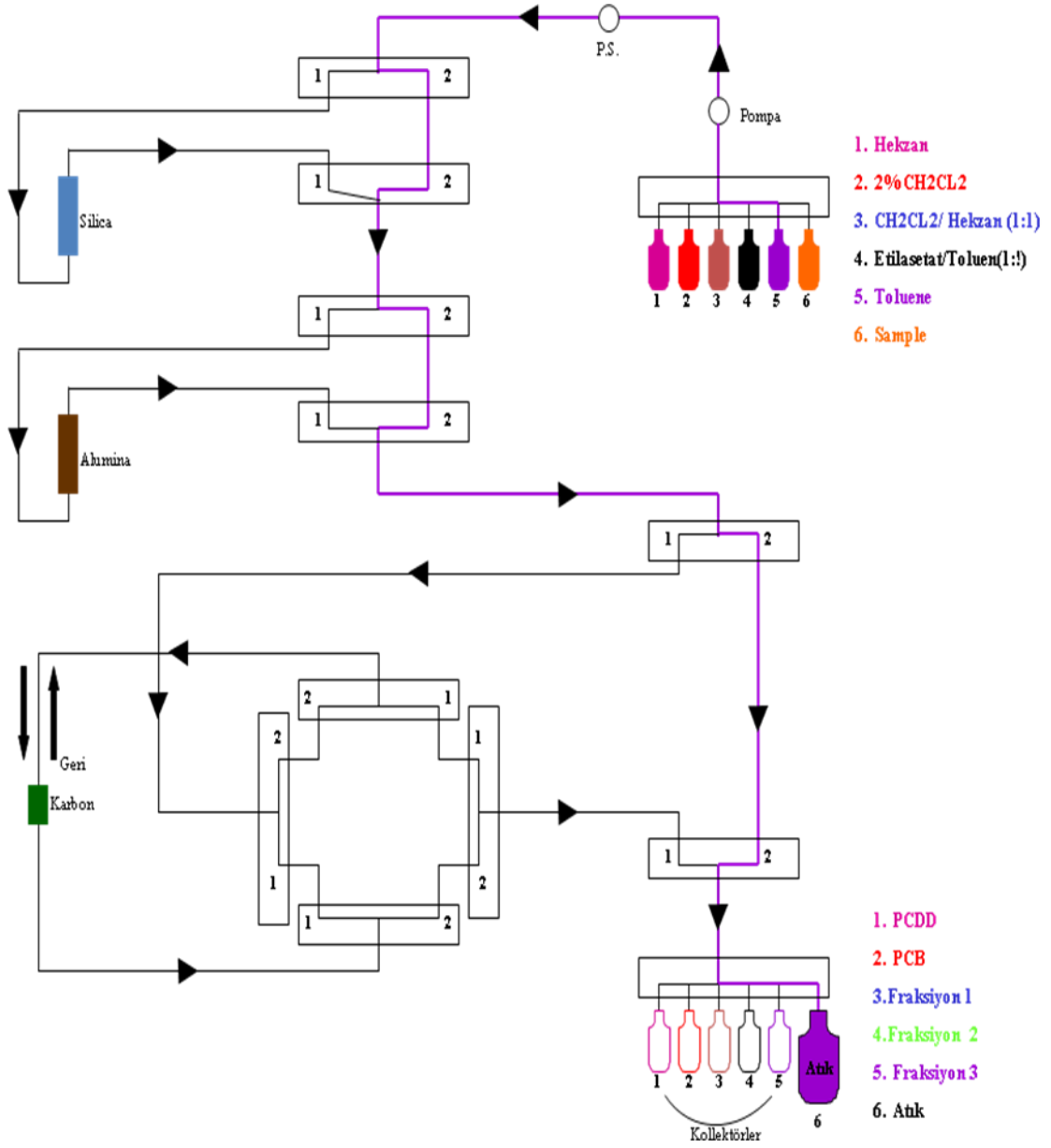
Şekil 6.22. Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 10. aşaması

**11. Aşama:** Etil asetat-toluen(1:1) karışımı kolonlardan geçirilir. Bu aşama dakikada 10 ml etil asetat-toluen geçecek şekilde 3 dakika gerçekleştirilir.



Şekil 6.23. Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 11. aşaması

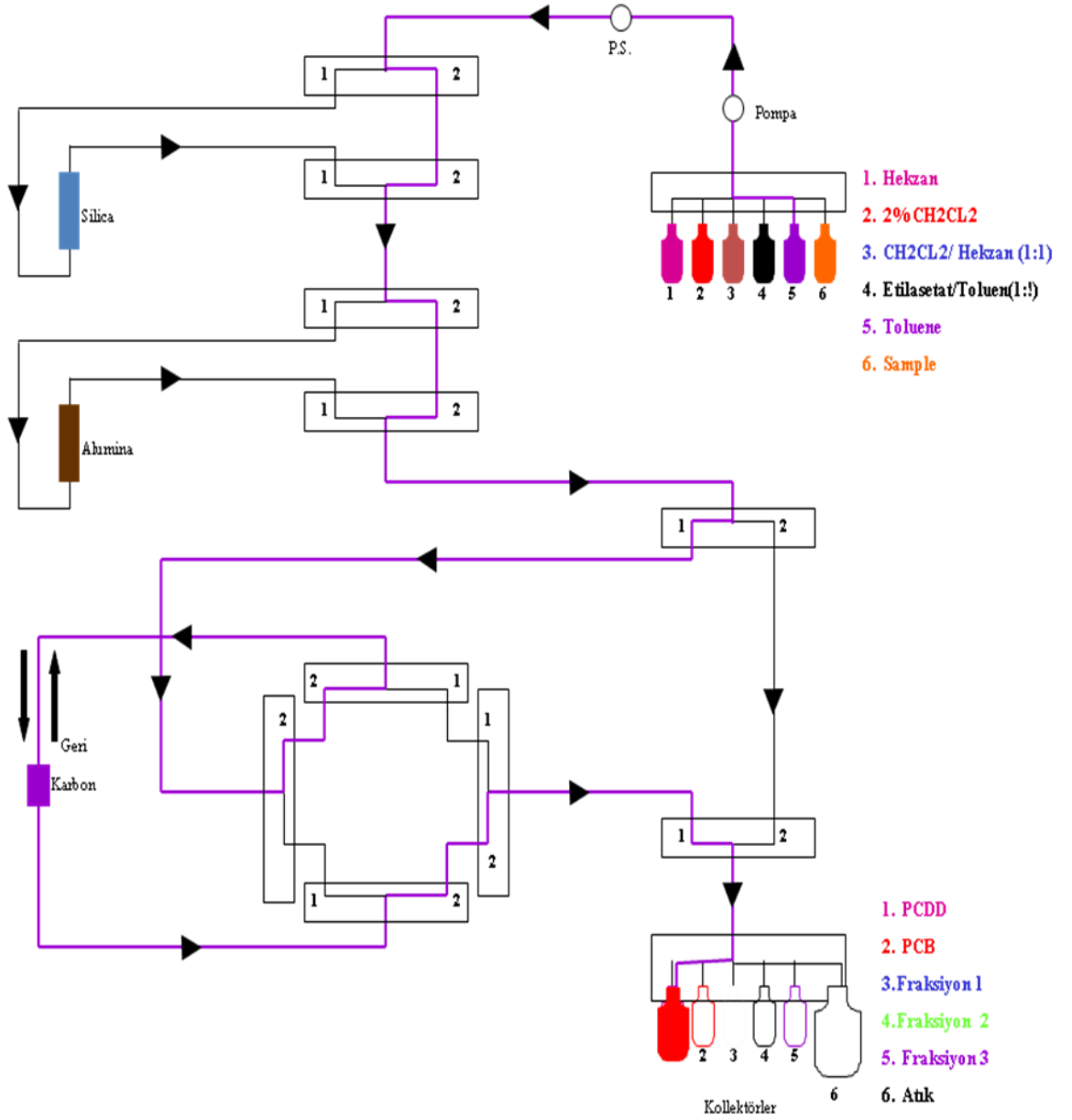
**12. Aşama:** Toluen ile dakikada 10 mL geçecek şekilde 1 dakika süreyle ana hat bypass edilir.



Şekil 6.24. Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 12. aşaması

**13. Aşama:** Toluenele dakikada 5 mL geçecek şekilde kolon 20 dakika elüe edilir. Bu aşama Power prep'in son aşaması olup kolona tutunan 2,3,7,8 TCDD internal standart ile beraber kolondan fraksiyona toluene yardımıyla indirilmektedir.





Şekil 6.25. Katı faz ekstraksiyonunun (Power Prep) 13. aşaması

### 6.5. Zenginleştirme

Çalışmanın bu aşamasında Power Prep'ten alınan büyük tüplerdeki fraksiyonların deriştirilerek analit ortamının daha küçük hacimlere alınması sağlanır. Bunun için Turbovap altında evaporasyon işlemi yapıldı. Evaporasyon işlemi yaklaşık 40<sup>0</sup>C de 14 psi basınç altında azot gazı kullanılarak yapıldı. Fraksiyon içinde yaklaşık 150-200 mL hacimdeki elüent bulunur. Bu elüenti cihaza direk vermek pek mümkün olmayacağından solventin buharlaştırılarak örnek ortamının daha küçük bir hacimde

cihaza verilmesi gerekmektedir. Ayrıca bu yolla analitin yoğunlaştırılmasında sağlanmaktadır.



**Şekil 6.26.** Turbowap Azot altında solvent uçurma ünitesi

Çalışmada fraksiyon içindeki toluen uçurularak analit ( $^{37}\text{Cl}_4$  2,3,7,8- TCDD) ve internal standart (Dioxnop2A ( $^{13}\text{C}$  Dioksin/Furan ve non orto PCB (konsantrasyon aralığı 0.10-0.20 pg/ $\mu\text{L}$ )) daha küçük bir tüpe alındı. Fraksiyon tüpündeki örnek ortamı önce küçük bir tüpte toplandı. Daha sonra küçük tüpteki solventinde buharlaştırılarak örnek ortamının vialere alınması sağlanmıştır. İki defa gerçekleştirilen deriştirme işleminden sonra küçük tüpte kalan örnek ortamı 10  $\mu\text{L}$  geri alma standardı (RS2 ( $^{13}\text{C}$  1,2,3,4-TCDD ve  $^{13}\text{C}$  1,2,3,7,8,9-HxCDD (10 pg/ $\mu\text{L}$ )) ile vorteklenerek yaylı vial düzeneğine konuldu. Cihaza verilmek üzere 10  $\mu\text{L}$ 'lik numune hazırlanmış oldu.

## **6.6. Örneklerin Enjeksiyonu ve Sonuçlar**

Örnek hazırlandıktan sonra cihazın hazırlanması işlemine geçilir. Cihaza aşağıdaki işlemler uygulanarak hazır hale getirilir. Ardından ham verilerin proses edilmesiyle sonuçlar alınır.

### **6.6.1. Cihazın kullanılması**

Cihazın kullanımında aşağıdaki sıra izlenir.

- HRGCMS cihazında kullanılan He taşıyıcı gaz tüpünün ana vanası açılır ve gerekli olan 5 bar basınç, regülatörün kelebek vanasından ayarlanır.

- Bilgisayar açılır.
- Cihazın ön tarafında bulunan ISOLATE/STANDBY/OPERATE düğmesi OPERATE pozisyonuna getirilir.
- Bilgisayardan MSTUNE sayfası açılır ve “Analyser” yanındaki kutucuk işaretlenerek açılır. “Press to operate” ikonuna basılarak açılır.
- Cihaz üzerindeki tune solusyon koyma vanalarından arkadaki vana açılarak ortamdaki PFK uzaklaştırılır ve vana tekrar kapatılır. Öndeki vana kapalıyken PFK enjeksiyon bloğuna yaklaşık 0.1mL PFK şırınga ile konur ve ön vana açılır. Cihaz tune yapılır.

**Tune yapılması:** Bilgisayarda MSTUNE sayfasında, cihazda yapılacak çalışmaya göre PFK piki, 1000, 10 000 veya 12 000 çözünürlüğe TUNE edilir. Tune yapılırken cihazın lensleri tek tek ve sırayla ayarlanır. Masslynx/instrument kısa yol tuşundan MSTune sayfası açılır. Cihazın vakumları kontrol edilir. Hepsi uygun aralıktaysa analyser açılır. Hem software’den hem de cihaz üzerinden operate moduna geçilir ve PFK vanası açılır. Menüde iyon mode dan EI+ modunun seçili olduğundan emin olunur. Sayfada sol altta kontrol 1 penceresinde magnet kütle 331, voltaj artışı 7990-99 olarak girilir. Source slit ve collector slit sonuna kadar açılır. Kontrol 2 penceresinde iyon enerji 0 olmalı, alfa slit sonuna kadar açılır, dedektör 350 volt’a ayarlanır. Sol üstte iyon repeller, focus 1, beam centre ve focus 2 skalanın ortasına gelecek şekilde ayarlanır. Source sıcaklığı 260 dereceye, elektron enerji 35 eV’e, trap 600-650 uA yapılır.

Lenses 1 penceresindeki tüm parametreler skalanın orta noktasına getirilir. Lense 2 penceresindeki tüm parametrelerde skalanın orta noktasına getirilir. İnlet penceresinde capillary line1, capillary line2 ve Re-entrant 260 dereceye, septum 130 dereceye, probe 0 a ayarlanır. Kontrol panellerinin sağındaki peak display sayfasında tune parameters da scan time 140’a ve span 10000 e ayarlanır. Peak display penceresinde sağ click yapılır intensity’den normalize data ikonu kaldırılır. Bu şartlarda peak display penceresinde sağdaki skaladan ayarlama yapılarak pik bulunur. Bulunan bu pik EI+ source panelindeki iyon repeller, focus1, beam centre

ve focus 2 ve ayrıca lenses1 ve lenses2 parametreleri ile oynanarak pikin intensitesi arttırılır. Pikin intensitesi artıp genişliği azaldıkça span biraz daraltılarak bu işleme devam edilir. Bulunan pik küt tepeli dikdörtgen vari bir pik olacaktır. Pik optimum hale getirildikten sonra (full scala ve yaklaşık 1000 rezolüsyon) kontrol 2 panelindeki iyon enerji skalası kaydırılarak solda ve sağda pikin kaybolduğu noktalar kaydedilir ve nihayetinde iyon enerji bu iki uç noktanın tam orta noktasına ayarlanır. Eğer pikin yüksekliği, cihaz yaklaşık 1000 rezolüsyon civarında iken skalayı aşıyorsa (skala 10) PFK blow up vanasından uzaklaştırılır. Bu aşamada source slit intensity yaklaşık 3 olacak şekilde kapatılır. Sonrasında collector slit de intensity 1-1.5 olacak şekilde kapatılır (sola kaydırılır). Bu şekilde rezolüsyon bir kısım artmış olacaktır. Bundan sonra istenilen rezolüsyona ulaşmak için EI+ penceresinde iyon repeller, beam centre, focus1, focus2, lenses 1, lenses2 parametreleri ile oynanır. Ayarlamalar sırasında span pik genişliği düştükçe daraltılır ve nihayetinde 200'e ayarlanır. Pikin ortasına 2 defa tıklamak ayarlamalar esnasında piki pencerenin orta noktasına getirir. Yapılan tune kaydedilir.

- Analizde kullanılacak metot için kütle kalibrasyonu yapılır.

***Kütle kalibrasyonu yapılması:*** İyi bir tune elde edildikten sonra kütle kalibrasyonu işlemine geçilir. Bunun için seçeneklerden kütle kalibrasyonu veya kısa yol tuşu kullanılarak ilgili pencere açılır. Bu pencerede analizde kullanılacak metod ve kalibrasyonda kullanılacak referans dosya seçilir (PFK). Kalibrasyonun önceden yapılmış kalibrasyonu temel alması için apply present calibration curve kutucuğu işaretlenir. Start tuşuna basılarak işlem başlatılır. Pikleri ortalayabilmek için centroid kutucuğu işaretlenir. Continue edilerek bir sonraki functiona geçilir. Ve bu işlem tüm functionlar bitene ve kalibrasyon sonlanana kadar devam eder. Eğer herhangi bir functionda kütlelerden birinin yanlış seçildiğinden şüphe edilirse select tuşuna basılıp yalnızca ilgili kütle işaretlenerek doğru kütle seçip seçmediği kontrol edilir. Yanlışsa doğru kütle üzerine çift tıklanarak seçilir ve functiondaki diğer masslerde işaretlenerek küçük pencere kapatılır.

- Bilgisayardan Masslynx4 sayfası açılarak yapılacak olan analize ait samplelist hazırlanır.

- Sekans Masslynx4 sayfasındaki “start” düğmesi ile başlatılır.
- Sonuçların değerlendirilmesi Quanlynx sayfasından yapılır.
- Çalışma tamamlandıktan sonra MSTUNE sayfasında “Press for Standby” düğmesine basılır. Analyser valfi kapatılır, Cihaz üzerindeki düğme Standby pozisyonuna getirilir.
- Analiz bittikten sonra PFK vanası kapatılır.
- Vakum gösterge sayfası ekrana açılır.

### **6.6.2. Enjeksiyon**

Hazırlanan vialler sampleliste göre cihazda tanımlı autosampler'daki yerlerine yerleştirildi. Cihazın solvent şişeleri ve atık şişesi her enjeksiyon öncesi değiştirilir. Cihazın solvent şişeleri değiştirildikten sonra cihaz başlatıldı.

### **6.6.3. Verilerin İşlenmesi**

Cihazdan ham verilerin alınmasından sonra Masslynx açılarak Quanlynx metodunda poseses işlemi yapıldı. Proses işlemi internal standart ve analit piklerinin geliş zamanlarının kontrolünün sağlanması işlemidir. Proses işleminden sonra veriler exell sayfasına aktarılarak sonuçlar kaydedilir.

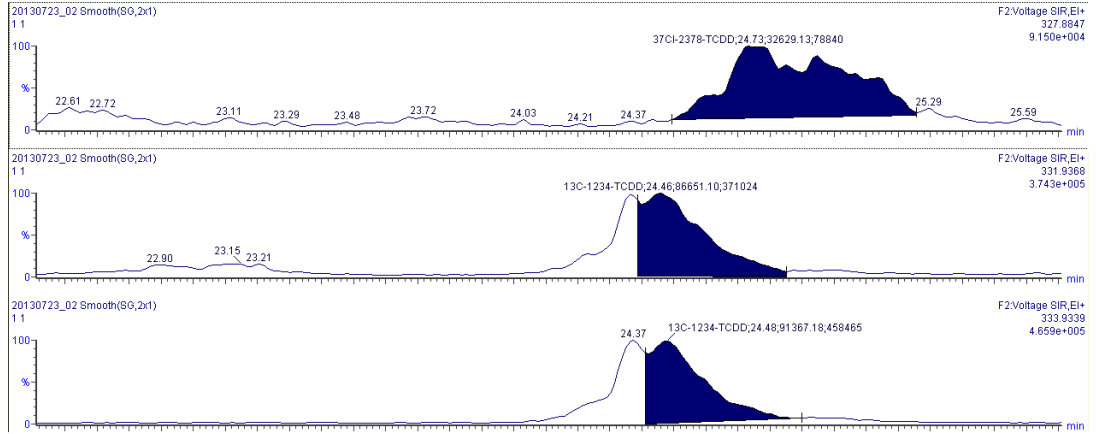
### **6.6.4. Geri Kazanım Çalışması**

Analizde analit olarak  $40 \text{ pg}/\mu\text{l}$   $^{37}\text{Cl}_4$  2,3,7,8- TCDD standardı kullanılmıştır. Bu standart deriştirme işlemi sonunda  $10 \mu\text{L}$  geri alma standardı ile tüpün içerişi vortekslenerek alınmıştır. Dolayısıyla cihaza verilen konsantrasyon 10 kat seyrelmiştir. Analiz sonunda elde edilen verilere seyrelme faktörleri uygulanmıştır.

## 6.6.5. Adsorbanların Kromatogram Görüntüleri

### 6.6.5.1. Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinilpiridin-ko-divinilbenzen) (PTMVD) Reçinesinin Adsorpsiyon Kromatogramı

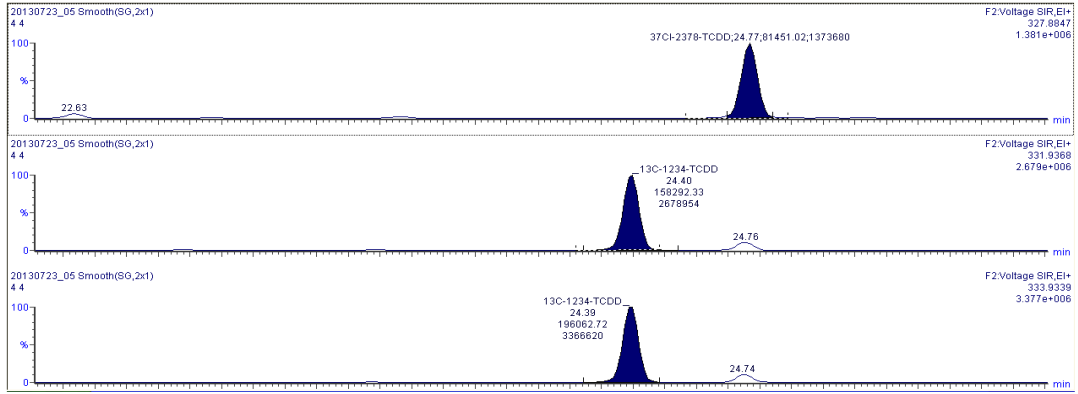
Sentezlenen reçinenin % 56.11 gibi bir geri kazanımı olmuştur. Piklerin dağınık ve yayvan gelmesinin sebebi cihaza verilen ilk numune olması ve cihaz performansının düşük olması olabileceği gibi, numunenin cihaza verilene kadar çok uzun aşamalardan geçmesi ve çeşitli bozucu etkilerin olma olasılığı olabilir. Ancak sonuçta piklerin doğru zamanda ve yerde gelmesi bizlere numune konsantrasyonu doğru bir şekilde vermektedir. Referans madde olan karbona göre performansı düşüktür. Reçine sentezinde küçük değişiklikler yapılarak verim artırılabilir.



Şekil 6.27. Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinilpiridin-ko-divinilbenzen) reçinesinin adsorpsiyon kromatogramı

### 6.6.5.2. Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) Reçinesinin Adsorpsiyon Kromatogramı

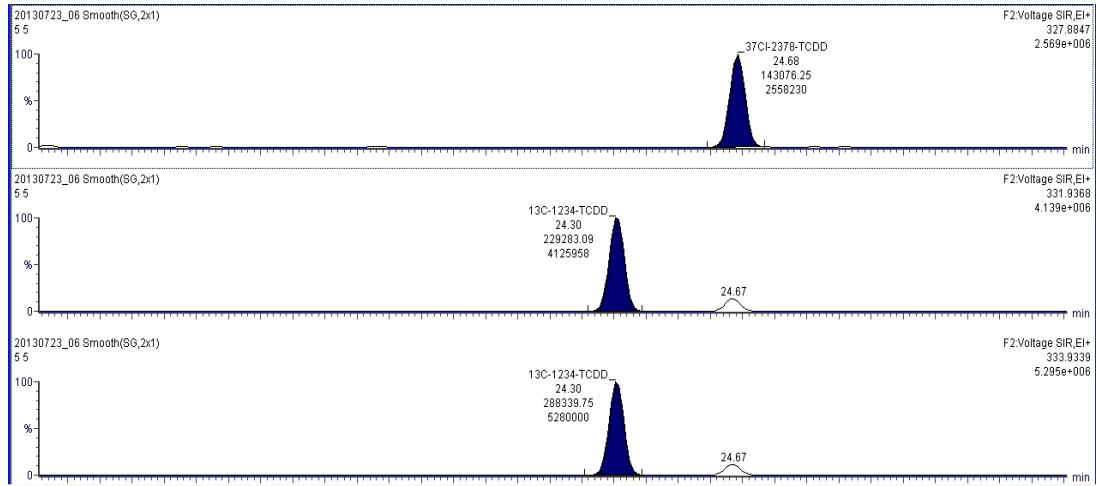
Sentezlenen poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinenin %70.36 gibi iyi sayılabilecek bir geri kazanım elde edilmiştir. Pik kalitesi iyi yeri ve zamanı doğru gelmiştir. Karbonun yerine dioksin adsorbsiyonunda kullanılabilecek dolgu maddelerinden birisi olabilir.



**Şekil 6.28.** Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesinin adsorpsiyon kromatogramı

### 6.6.5.3. Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) Reçinesinin Adsorpsiyon Kromatogramı

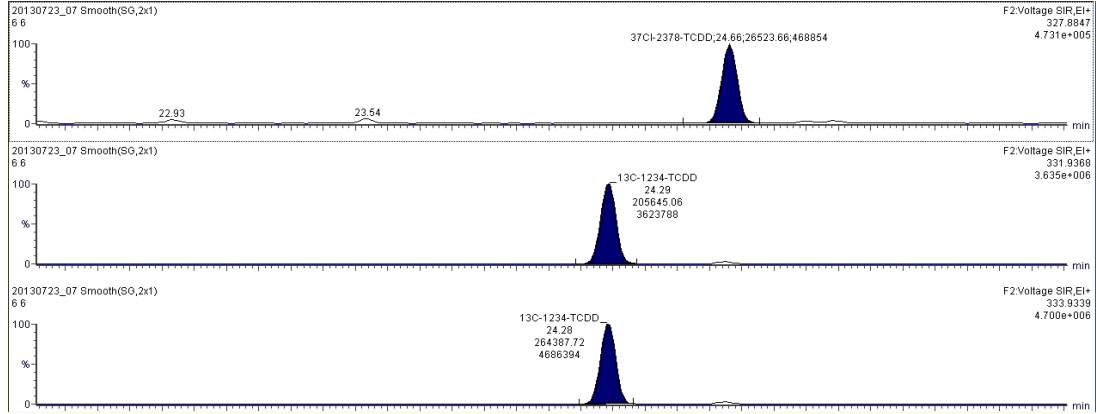
Çalışmamızda karbona alternatif adsorbantlar içerisinde en başarılı geri kazanımın alındığı adsorbandır. %84,61'lik çok iyi sayılabilecek bir geri kazanım elde edilmiştir. Pik kalitesi iyi, yeri ve zamanı doğru gelmiştir. Çalışma bu reçine baz alınarak devam ettirilebilir.



**Şekil 6.29.** Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) reçinesinin adsorpsiyon kromatogramı

#### 6.6.5.4. Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) Reçinesinin Adsorpsiyon Kromatogramı

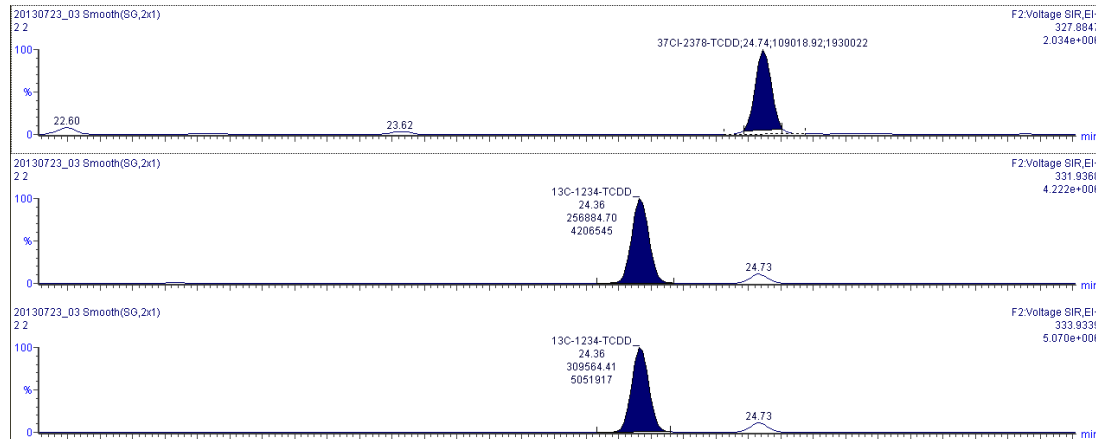
Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesiyle %17,27 gibi düşük bir geri kazanım elde edilmiştir. Pik kalitesi yeri ve zamanı iyi gelmiştir. Ancak düşük bir adsorbsiyon konsantrasyonu elde edilmiştir.



Şekil 6.30. Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) reçinesinin adsorpsiyon kromatogramı

#### 6.6.5.5. Polen Adsorpsiyon Kromatogramı

Dioksin adsorbsiyonunda kullandığımız polen %58,91 gibi bir geri kazanım göstermiştir. Piklerin yeri, zamanı ve keskinliği bizlere kaliteli sonuç vermiştir. Referans maddemiz karbona göre geri kazanım düşük olduğu söylenebilir ancak doğal bir adsorbana göre iyi olduğu söylenebilir.

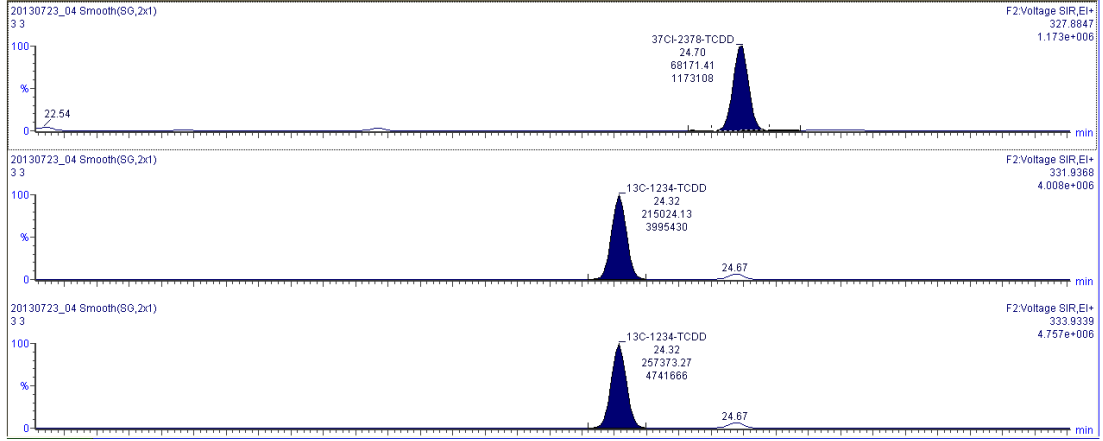


Şekil 6.31. Polen adsorpsiyon kromatogramı



### 6.6.5.6. Amberlite XAD-1180 Adsorpsiyon Kromatogramı

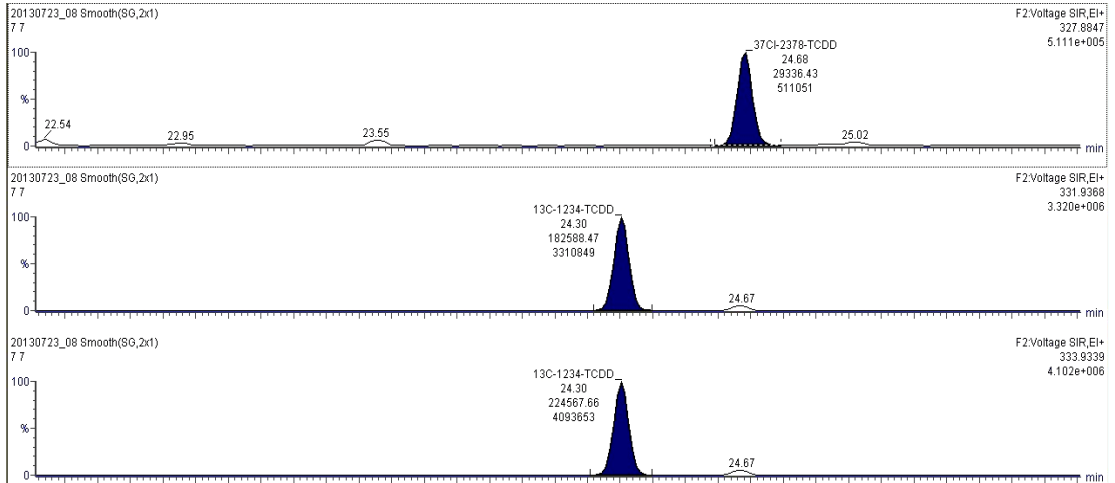
Çalışmamızda XAD-1180 reçinesinin geri kazanım değeri %44,16 bulunmuştur. Suyu karşı ilgi göstermeyen ve yüksek yüzey alanına sahip XAD-1180 reçinesi karbona göre düşük bir performans göstermiştir. Pikler doğru zamanda ve yerde gelmiştir ayrıca pik görünümü gayet iyidir.



Şekil 6.32. Amberlite XAD-1180 adsorpsiyon kromatogramı

### 6.6.5.7. Koyun Tüyü Adsorpsiyon Kromatogramı

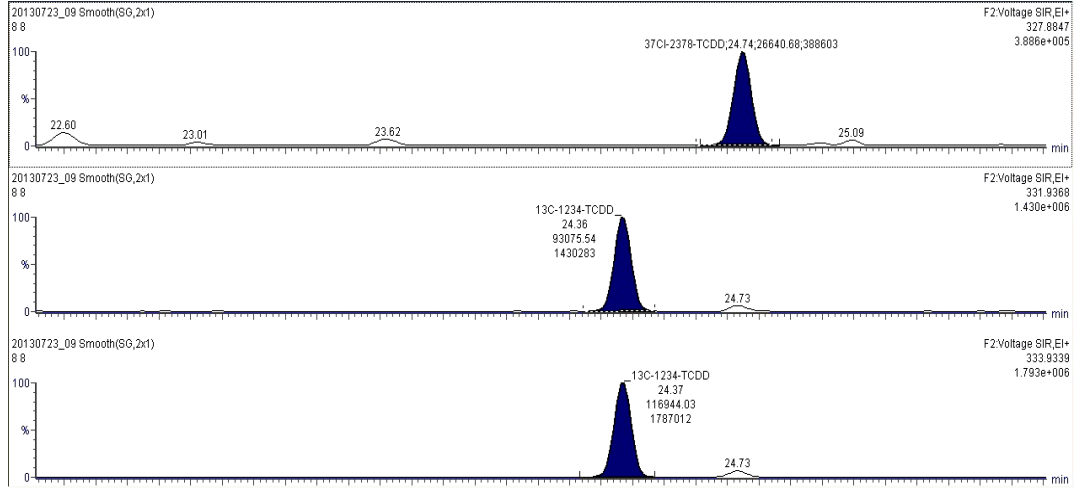
Koyun tüyü ile %22,06 'lık bir geri kazanım ile edilmiş olup düşük bir performans görülmüştür. Pikin yeri, zamanı ve kalitesi iyi ancak konsantrasyon düşüktür.



Şekil 6.33. Koyun tüyü adsorpsiyon kromatogramı

### 6.6.5.8. İnsan Saçı Adsorpsiyon Kromatogramı

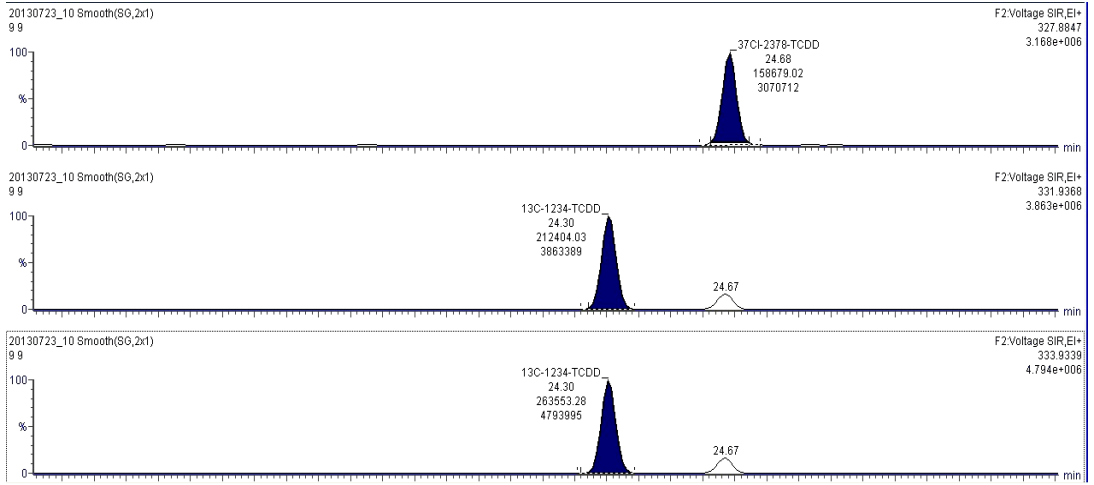
İnsan saçı ile %38,83'lük bir geri kazanım elde edilmiştir. Diğer doğal adsorban koyun tüyüne göre iyi ancak polene göre daha zayıf bir dioksin adsorbanıdır. Piklerin kalitesi yeri ve zamanı doğru ve iyi gelmiştir. Referans madde karbona göre düşük bir performansa sahiptir.



Şekil 6.34. İnsan saçı adsorpsiyon kromatogramı

### 6.6.5.9. Karbon Adsorpsiyon Kromatogramı

Şuan literatürde ve izotop dilüsyon tekniği kullanılan standart dioksin metodunda dioksin adsorpsiyonunda karbon maddesi kullanılmaktadır. Çalışmamızda karbon referans alınmış ve elde edilen geri kazanım %102,05 olarak bulunmuştur. Diğer doğal ve sentetik adsorbanlar karbonla kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Çalışmada karbona alternatif olarak kullanılabilen dioksin adsorbanları denenerak adsorpsiyon geri kazanımları elde edilmiştir. Büyük kristal formu ve oldukça geniş iç gözenek yapısı ile karbon oldukça iyi bir adsorbandır. Şekildedeki görüldüğü gibi gayet iyi bir konsantrasyon elde edilmiş pik kalitesi yeri ve zamanı doğru yerde gelmiştir.



Şekil 6.35. Karbon adsorpsiyon kromatogramı

## 7. SONUÇ

Stokholm Sözleşmesini imzalamış Türkiye'nin 2025 yılına kadar kalıcı organik kirleticilerin(KOK) kullanımının durdurulması ve kirlenmiş alanların temizlenmesi yönünde beyanı bulunmaktadır. Durum böyle olunca bir kalıcı organik kirletici olan ve dioksinler başlığı altındaki poliklorlu dioksinler(PCDD), poliklorlu furanlar(PCDF) ve dioksin benzeri poliklorlu bifenillerin(PCB) analizleri önemi kazanmaktadır.

Dioksin analizleri Türkiye'de sadece birkaç merkeze yapılmaktadır. Bunlardan biri olan Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı katılmış olduğu uluslararası yeterlilik çalışmalarlarıyla bu konuda en iyilerden olduğunu kanıtlamıştır. Çalışma Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı'nda GCHRMS yöntemiyle yapılmıştır.

Dioksin analizleri uzun zaman alıcı ve maliyeti yüksek analizlerdendir. Durumun böyle olmasında Power Prep saflaştırma ünitesi önemli paya sahiptir. Dioksin analizlerinde kullanılan kolonların tek kullanımlık olması ve yurtdışından ithal edilmesi maliyetide artıran bir dezavantajdır. Çalışmada bu kolonların alternatifleri üzerinde durulmuş fiyat, stabilite, ulaşılabilirlik ve performans gibi kriterler adsorban seçiminde etkili olmuştur.

Çalışmada kullanılan adsorbanlar ve bunların geri kazanım değerleri Tablo 7.1.' de verilmiştir.

Çalışmada toplam 8 adet doğal ve sentetik adsorban karbon referans alınarak test edilmiştir. Bunlardan 5 tane sentetik 3 tane doğal adsorbanın performansları karbon kolonla karşılaştırılmıştır. Yaklaşık 220 çeşit Dioksin ve dioksin benzeri bileşik olduğu düşünülecek olursa ve bu bileşiklerin standartlarının maliyetleri oldukça yüksek olduğundan bunlar içerisinde en toksik olabilecek tür olan 2,37,8 TCDD bileşiği tercih edilmiş ve bu bileşiğin analit olarak kullanılmıştır.

Sentetik adsorbanların doğal adsorbanlara göre daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Özellikle Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen) ve Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen) sentetik adsorbanların çok iyi geri kazanım verdikleri, üzerlerinde yapılacak modifikasyonlarla referans adsorban karbona yakın geri kazanım değerlerin bulunması mümkün görülmektedir.

Sentetik adsorbanların laboratuvar ortamında üretildiği düşünülürken ulaşılabirlik ve fiyat açısından fayda sağlayacağı düşünölmektedir. Diğer taraftan polen, insan saçı ve koyun tüyünün dioksin adsorbsiyonunda daha zayıf olduğu görölmektedir. Ancak burda çok daha önemli olan bir nokta ise koyun tüyü ve insan saçı her ne kadar sentetik adsorbanlara göre daha az adsorpsiyon yapsada belirli bir miktar adsorpsiyona sahiptir. Buda insanların ve tüy dokusuna sahip hayvanların dioksin maruz kaldığında dioksin birikmesine neden olabileceğine işaret etmektedir. Bu noktada ayrı bir çalışma ile endüstriyel bölgelerde dioksin maruziyeti yoğun olabilecek insanlar ve bazı hayvanlarda dioksin analizleri yapılabilir ve sonuçlar ayrıca değerlendirilebilir.

**Tablo 7.1.** Kullanılan adsorbanların geri kazanım değerleri

Adsorbanlar	Analiz Sonucu (pg/μL)	% Geri Kazanım
<b>Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-4-vinilpiridin-ko-divinilbenzen)</b>	2.2442	%56.11
<b>Poli(1,3-tiazol-2-il metakrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen)</b>	2.8144	%70.36
<b>Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilikasit-ko-divinilbenzen)</b>	3.3844	%84.61
<b>Poli(1,3-tiazol-2-il akrilamid-ko-akrilonitril-ko-divinilbenzen)</b>	0.6909	%17.27
<b>Polen</b>	2.3565	%58.91
<b>XAD-1180</b>	1.7665	%44.16
<b>Koyun tüyü</b>	0.8822	%22.06
<b>İnsan saçı</b>	1.5531	%38.83
<b>Karbon</b>	4.0820	%102.05

## KAYNAKLAR

1. Dönmez, K. M., Poliklorlanmış Dioksin/Furan ve Dioksin Benzeri PCB'lerin İnsan Adipoz Doku ve Anne Sütündeki Düzeylerinin Belirlenip Erkek İnfertilitesi ile İlişkisinin Araştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2009.
2. Çiftçi, B., Fırat Nehir Sisteminde Yaşayan Dikenli Yılan Balığı (*Mastacembelus Mastacembelus*, Banks And Solander, 1794)'nın Kas Dokusunda Dioksin Miktarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Elazığ, 2008.
3. Sakin, F., Farklı Dozlarda 2,3,7,8-Tetraklorodibenzo-p-dioksin Tarafından Ratlarda Beyin, Karaciğer, Böbrek ve Kalp Gibi Dokularda Oluşturulan Oksidatif Stres Üzerine Likopen'in Koruyuculuğu, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Elazığ, 2008.
4. Güneş, G., Dioksin ve Furan'ın Oluşum Mekanizmaları ve Giderilme Teknolojileri, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2007.
5. Cindoruk, S. S., Poliklorlu Bifeniller'in (PCB'ler) Konsantrasyonlarının, Kuru Çökme ve Hava-Su Arakesit Akıplarının Belirlenmesi, Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, 2007.
6. Brzuzy, L. R., and Hites, R. A., "Global Mass Balance for Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans", *Environmental Science Technology*, 30: 1797-1804, 1996.
7. McKay, G., Dioxin Characterisation, Formation and Minimisation During Municipal Solid Waste (MSW) İncineration: Review. *Chem Eng J* 86(3): 343-368, 2002.
8. Chan, C. Y. Y, Kim, C. P., Winn, L. M., TCDD-Induced Homologous Recombination: The Role of the Ah Receptor Versus Oxidative DNA Damage. *Mutat Res* 563(1): 71-79, 2004.
9. Coutinho, M., Pereira, M., Rodrigues, R., Borrego, C., Impact of Medical Waste İncineration in the Atmospheric PCDD/F Levels of Porto. *Portugal Science Total Environmental*, 362: 157-165, 2006.
10. Froese L., K., Hutzinger O., Polychlorinated Benzene, Phenol, Dibenzo-p-dioxin, and Dibenzofuran in Heterogeneous Combustion Reactions of Acetylene, *Environmental Science Technology*, 30, 998-1008, 1996.
11. Milligan M., S., Altwicker E., R., Mechanistic Aspects of the de Novo Synthesis of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Furans in Fly Ash from Experiments Usins-Isotopically Labeled Reagents, *Environmental Science Technology*, 29, 1353-1358, 1995.

12. Alcock R., E., Jones K., C., Dioxins in the Environment: A Review of Trend Data. *Environmental Science Technology*, Volume 30, No 11, 1996.
13. Kanters., M., J., Nispen., R., V., Louw., R., Mulder., P., Chlorine Input and Chlorophenol Emission in the Lab-Scale Combustion of Municipal Solid Waste, *Environmental Science Technology*, 30, 2121-2126, 1996.
14. Huang., H., Buekens., A., Chemical Kinetic Modeling of de Novo Synthesis of PCDD/F in Municipal Waste Incinerators, *Chemosphere*, 44, 1505-1510, 2001.
15. Sarı, S., Konya Kanalizasyon Sisteminde PCB'lerin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 2003.
16. Kulkarni, P. S., Crespo, J. G., Afonso, C. A., Dioxins Sources and Current Remediation Technologies: A Review, *Environ Int.* 34(1): 139-153, 2008.
17. Mitrou, P. I., Dimitriadis, G., Raptis, S. A., Toxic Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and Related Compounds. *Eur. J. Intern. Med.* 12(5): 406-411, 2001.
18. United States Environmental Protection Agency (USEPA)., Exposure and Human Health Reassessment of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD) and Related Compounds National Academy Sciences (NAS) Review Draft. Part I: Estimating Exposure to Dioxin-Like Compounds. Volume 2: Properties, Environmental Levels, and Background Exposures, Chapter 2: Physical and Chemical Properties and Fate. Exposure Assessment and Risk Characterization Group National Center for Environmental Assessment – Washington Office Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC., 2003.
19. <http://laws-lois.justice.gc.ca/PDF/C-15.31.pdf>
20. WHO(Inpres): Polychlorinated Dibenzo-para-dioxins and Dibenzofurans. Environmental Health Criteria, International Programme on Chemical Safety. Geneva, Switzerland, (<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc88.htm>) 1989.
21. Compilation of EU Dioxin Exposure and Health Data, 1999.
22. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile For Chlorinated Dibenzo-p-dioxins (CDDs). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service., Division of Toxicology, 1998.
23. Altundağ, H., Katı Faz Ekstraksiyonu Tekniği ile Talyum Türlendirme Çalışması, Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya, 2007.
24. Zolotov, Y., A., Preconcentration in İnorganic Trace Analysis, *Pure Appi. Chem.*, Vol. 50, pp. 129-148. Pergamon Press, 1978.

25. Terada, K., Preconcentration of Trace Elements by Sorption, Analytical Sciences, Volume7, 1991.
26. Kutluca, M., Hümik Asitlerin Metal Tutma ve Ligant Değişirme Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 2007.
27. Kılıç, A., Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri, Bartın Orman Fakültesi Dergisi, Cilt:10, Sayı:13, Yıl:2008.
28. Fritz, J., S., Analytical Solid-Phase Extraction, 1999.
29. Durmaz, F., Akış Enjeksiyonu-Katı Faz Ekstraksiyon Sistemi ile Bazı Metal İyonların Tayin Edilmesi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 2008.
30. Macherey-Nagel, Solid Phase Extraction Application Guide, Decades of Experience and Innovation in Analytical Chemistry.
31. Yavuz, O., Aksoy A., Örnek Hazırlama Katı Faz Ekstraksiyonu, F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi, 20(3), 259-269, 2006.
32. Topkafa M., İmmobilize Hümik Asitlerin Katı Faz Ekstraksiyon Sistemlerinde Kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2006.
33. Żwir-Ferenc, A., Biziuk, M., Solid Phase Extraction Technique – Trends, Opportunities and Applications, Polish J. of Environ. Stud. Vol. 15, No. 5, 677-690, 2006.
34. Focant, J-F., Eppe, G., Pirard, C., De Pauw, E., Fast Clean-up for Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins, Dibenzofurans and Coplanar Polychlorinated Biphenyls Analysis of High-Fat-Content Biological Samples, Journal of Chromatography B, 776, 199–212, 2002.
35. Turrio-Baldassarri, L., Abate, V., Laura Battistelli, C., Carasi, S., Casella, M., Iacovella, N., Indelicato, A., La Rocca C., Scarcella, C., Alivernini S., PCDD/F and PCB in Human Serum of Differently Exposed Population Groups of an Italian City, Chemosphere, 73, 228-234, 2008.
36. Orhun F., Gaz Kromatogrası Taşıyıcı Gazın Akış Hızının Tesirleri Üzerine Tecrubi Araştırmalar ve Metodun Türkiye’deki Bazı Tabii Gazların Hidrokarbon Analizlerine Tatbiki, Maden Tetkik ve Arama Dergisi, Sayı:70, Sayfa:143-177, Ankara, 1968.
37. Biler, C., N., GC-MS Yöntemiyle Bazı Diüretiklerin İdrarda Analizleri, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2005.
38. Kutlular Ö., Bazı Adaçayı ve Kekik Türlerinin Uçucu Yağların Süper Isıtılmış Su ile Ekstraksiyonları ve GC-MS ile Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2007.



39. Tunçbilek İ., Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi Tekniği Kullanılarak Doping Amacıyla Kullanılan Hidroksietilen Gaz Kromatografisi–Kütle Spektrometresi Tekniği Kullanılarak Doping Amacıyla Kullanılan Hidroksietil Nişastanın(HES) İdrardan Analizi Üzerine Bir Çalışma, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2005.
40. Kılıç M., Betonit Kili Üzerinde DDVP Pestisitinin Adsorbsiyon Özelliklerinin GC ve GC/MS ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2007.
41. Beşergil B., Kromatografiye Giriş, Manisa, ([http://www.bayar.edu.tr/besergil/24\\_BOLUM\\_7.pdf](http://www.bayar.edu.tr/besergil/24_BOLUM_7.pdf)), 2002.
42. Atalan Ö. Ö., İmmobilize Beta-Glukuronidaz/Arilsülfataz Enzimi Kullanılarak GC/MS Yöntemi Kullanılarak Morfin Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Eylül 2006.
43. Sümengen Ş. Ekstazi Analizi ve Amfetamin Türevleri İçin Tayin Yöntemi Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, 2007.
44. EPA Method 1613, Tetra-through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS. United States Environmental Protection Agency. Office of water (4303). 86 p., United States of America.
45. EPA Method 1668, Revision A: Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment and Tissue by HRGC/HRMS. United States Environmental Protection Agency. Office of water (4303). EPA No. EPA-821-R-00-002. 127 p., United States of America.
46. Demir D. Yeni Bir Adsorban Kullanılarak Katı Faz Ekstraksiyonu İle Krom Türlemesi Yüksek Lisans Tezi, Bozok Üniversitesi, Yozgat, 2012.
47. Çetin, V., Amberlite XAD-1180 / Tiyosalisilik Asit Şelat Yapıcı Reçine ile Katı Faz Ekstraksiyonu Sonrası Bazı Eser Metallerin FAAS ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2006.
48. Gedikli M., Cu<sup>2+</sup> -Takılı Sporopollenin Gömülü Süpermakrogözenekli Monolitik Phema Kriyojel Afinite Membranlar ile Sitokrom C Adsorbsiyonu, Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray, 2012.
49. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Y%C3%BCn#Keratin>.
50. Kumbasar, E., Kadınlarda Görülen Androjenetik Alopeside Ludwig Sınıflaması ve Savın Saç Dansite Sınıflandırılmasının Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2005.

## ÖZGEÇMİŞ

1980 Yozgat doğumlu Dursun KIRIŞIK, orta ve lise öğrenimini sırasıyla Atatürk İlköğretim İlkokulu ve Yozgat Lisesinde tamamlamıştır. 1999 yılında başladığı Erciyes Üniversitesi Yozgat Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü bitirmiştir.

2005 yılında Çaykur, 2007 yılında Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı Kastamonu Gıda Kontrol Laboratuvarı, 2009 yılından beri halen şuan çalışmakta olduğu Ulusal Gıda Referans Laboratuvar Müdürlüğü'nde memuriyet hayatına devam etmektedir.

### **İletişim Bilgileri:**

**Adres:** Ulusal Gıda Referans Laboratuvar Müdürlüğü / Fatih Sultan Mehmet Bulvarı  
İstanbul yolu üzeri Tarım kampüsü No:70

Yenimahalle-ANKARA

Telefon: 0544 729 4200

E-posta: fenil66@hotmail.com