

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK BASINÇ SIVI KROMATOĞRAFI (HPLC) İLE
SİGARA İZMARİTİNDE POLİSİKLIK AROMATİK
HİDROKARBONLARIN (PAH) TAYİNİNDE
KARŞILAŞILAN PROBLEMLER ÜZERİNE
BİR ÇALIŞMA

AYLA DEMİRCİ

96904

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

PROF. DR. MUSTAFA ÖZCİMDER

SAMSUN-2000

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON BİRLİĞİ

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından 26./6./ 2000 tarihinde yapılan sınav ile Kimya Anabilim Dalı'nda DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Mustafa ÖZCİMDER



Üye: Prof. Dr. Esmâ KILIÇ



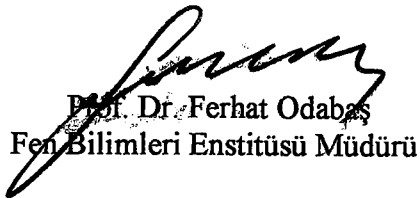
Üye: Prof. Dr. A. Nur ONAR



ONAY :

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

..6./7./ 2000



Prof. Dr. Ferhat Odabaş
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**YÜKSEK BASINÇ SIVI KROMATOĞRAFI (HPLC) İLE SİĞARA İZMARİTİNDE
POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARIN (PAH) TAYİNİNDE
KARŞILAŞILAN PROBLEMLER ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA**

ÖZET

Çalışma altı bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) farklı ortamlarda tayinlerinin gerekliliği üzerinde durulmuştur. İkinci bölümde kromatografi terminolojisinde karşılaşılan sorunlara değinilmiştir. Üçüncü bölüm PAH'ların cam yüzeyde adsorplanma sorunlarını kapsamaktadır. Farklı cam yüzeylere adsorplandığı ancak karşılaşılan sorunların yalnız adsorpsiyondan mı yoksa PAH'ların bozunmasından mı kaynaklandığı tam olarak saptanamamıştır.

Sigara filtre zifirinde birçok organik ve inorganik bileşik bulunmaktadır. Bunların tayininde ön işlem olarak fraksiyonlama kaçınılmazdır. Bu amaçla çalışmada XAD-2 kullanılmıştır. Seçilen bazı PAH'lar su, asetonitril, n-heksan gibi çözücü ortamlarında XAD-2 üzerine tutturulmuş. Daha sonra da n-heksan ile geri alma işlemi yapılmıştır. En başarılı ekstraksiyon n-heksanlı ortamdan yapılmıştır. Toplam geri alınabilirlik ortalama % 56 dolayında bulunmuştur.

PAH'ların kromatografik ayırımı için Nucleosil 5 C18 kolonu kullanıldı. PAH'ların bu kolonda alıkonma mekanizmaları incelendi ve sonuçları beşinci bölümde verildi. Ayırmlar, çalışılan kromatografik koşullarda temel çizgi düzeyinde sağlanırken toplam alıkonma zamanı 16 dakika düzeylerinde kaldı.

Son bölüm sigara izmaritinden bazı PAH'ların geri kazanımı üzerine yapılan çalışmaları içermektedir. İzmarite ve asetonitril ekstraktına enjekte edilen bazı PAH'lar n-heksan fazına alındı ve HPLC-UV sistemi ile kromatogramları alınarak kantitatif değerlendirme yapıldı. Geri alınabilirlik %36 -144 arasında değişim gösterdi.

Anahtar Kelimeler: HPLC, PAH, sigara, tütün, XAD reçinesi

**A STUDY ON THE PROBLEMS OCCURRING DURING THE
DETERMINATION OF POLYCYCLIC AROMATIC
HYDROCARBONS IN CIGARETTE FILTER TAR
BY HIGH PRESSURE LIQUID CHROMATOGRAPHY**

ABSTRACT

The whole study was given in six chapters. In the first chapter a general outline of the whole study was given emphasizing the importance of the determination of PAHs.

The second chapter covers the nomenclature used in chromatography. The problem of adsorption of PAHs on glass walls were dealt in the third chapter. It was observed that a significant amount of PAH was retained on glass wall.

The extract of cigarette filter tar contains hundreds of compounds. That is why we intended to use XAD-2 for fractionation. PAHs from various solutions such as water, acetonitrile and n-hexane were adsorbed on XAD-2. Then the adsorbed PAHs were removed using n-hexane with a percent recovery of about 56. The retention of selected PAH was investigated in the fourth chapter.

We used Nucleosil 5 C 18 for the chromatographic resolution of PAHs. Before that the retention mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbons were studied and the results were given in the fifth chapter. The resolution, and the retention times of 13 PAHs show that Nucleosil 5 C 18 is satisfactory for chromatographic determination. The selected PAHs were eluted in approximately 16 minutes with a base-line resolution.

Finally, the last chapter presents the recovery studies of some PAHs from filter tar. Several PAHs were spiked in to cigarette filter and then they were extracted with n-hexane and determined by HPLC equipped with UV detector. The recovery varies between 36 - 144 percent.

Key Words : HPLC, PAH, cigarette, tobacco, XAD adsorbans

TEŞEKKÜR

Gerek araştırmalarım sırasında gerekse tezin yazımı sırasında her türlü yardımı esirgemeyen, moral, çalışma gücü ve sevgisi aşılayan sayın Hocam Prof.Dr.Mustafa Özcimder'e sonsuz teşekkürlerimi ifade etmek isterim. Ayrıca bilimsel ve sosyal yönden de her türlü yardımı bizlerden esirgemeyen değerli danışman Hocam'a şükranlarımı sunarım. Tezimin yazılmasında benimle birlikte çalışan sevgili arkadaşım Behice Yavuz'un yardımlarından dolayı kendisine burada teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Ayrıca Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi Doç.Dr.İbrahim Işıldak ve Yrd.Doç.Dr. Ş.Fatma Aygün'e değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim. Tezimin yazımı sırasında yardımlarından dolayı başta Yrd.Doç.Dr. Kezban Ada olmak üzere emeği geçen arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca kullanılan ultraviyole detektörünü bölümümüze hediye eden "Water Transport Company, Nieuwegein, Hollanda" firmasına teşekkür ederim.

Yıllarca çalışmalarım sırasında bana anlayış gösteren Aileme minnet duygularımı belirtmek isterim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1.	BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
	BÖLÜM 2 KROMATOGRAFİDE ADLANDIRMA	
2.1.	Giriş	5
2.2.	Kromatografinin Sınıflandırılması ve Sınıfların Adlandırılması	5
2.3.	Bazı Genel Sıvı Kromatografi Terimleri	9
2.4.	Türkçe Adlandırmalar veya Tercümeleler	12
2.5.	Sonuç	14
2.6.	Kaynaklar	19
	BÖLÜM 3 POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARIN CAM YÜZEYDE ADSORPSİYONU	
3.1.	Giriş	20
3.2.	Materyal ve Metod	22
3.2.1.	Birinci Metodla Yapılan Çalışmalar	23
3.2.2.	İkinci Metodla Yapılan Çalışmalar	23
3.3.	Sonuçlar ve Tartışma	44
3.3.1.	I. Metod	44
3.3.2.	II. Metod	45
3.3.3.	Sonuçlar	46
3.4.	Kaynaklar	47
	BÖLÜM 4 BENZ(B) FLORANTENİN XAD-2 KOLONUNDAN GERİ KAZA- NILMASI	
4.1.	Giriş	50
4.2.	Ekstraksiyon ve Örnek Hazırlama İşlemi	50
4.2.1.	Katı Faz Ekstraksiyonu	51
4.2.1.1.	Granül Aktif Karbon	51
4.2.1.2.	Poliüretan Köpük Sorbentler	51
4.2.1.3.	İyon Değiştirici Reçineler	52
4.2.1.4.	Makroağlı Poröz Polimer Sorbentler (XAD)	52
4.3.	Materyal ve Metod	53
4.3.1.	Materyal	53
4.3.2.	Metod	54
4.3.2.1.	XAD-2 Kolonun Hazırlanması	54

4.3.2.2.	Standart Çözeltilerin (BbF) Hazırlanması ve XAD-2 Kolonunda Adsorpsiyonu	60
4.4.	Sonuç ve Tartışma	65
4.4.1.	XAD-2'nin Hazırlanması	65
4.4.2.	Kalibrasyon Eğrileri	66
4.4.3.	Geri Alınabilirlik Çalışmaları	66
4.5.	Kaynaklar	68

BÖLÜM 5

BAZI POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARIN NUCLEOSİL5 C18 TERS FAZ KOLONDA ALIKONMA MEKANİZMALARININ İNCELENMESİ

5.1.	Giriş	69
5.2.	Materyal ve Metod	73
5.2.1.	Materyal	73
5.2.2.	Metod	74
5.2.2.1.	Kromatografik Koşullar	74
5.2.2.2.	Cihaz	74
5.2.2.3.	Kolon Hazırlama	74
5.2.2.4.	Standart Çözeltiler	76
5.3.	Sonuçlar ve Tartışma	76
5.3.1.	Nucleosil 5 C18 Ters Faz Kolon Kapasitesinin İncelenmesi	76
5.3.2.	Nucleosil 5 C18 Ters Faz Kolonda Bazı PAH'ların Alıkonma Mekanizmaları	81
5.3.3.	Nucleosil 5 C18 ve LiChrosorb C18 Ters Faz Kolonların Kapasitelerinin Karşılaştırılması	83
5.4.	Kaynaklar	86

BÖLÜM 6

SİGARA İZMARİTLERİNDEN PAH'LARIN GERİ ALINABİLİRLİK ÇALIŞMALARI

6.1.	Giriş	89
6.1.1.	Tütün ve Kimyasal Yapısı	89
6.1.2.	Sigara	90
6.1.3.	Duman ve Kimyasal Bileşimi	91
6.1.4.	İzmarit ve Kimyasal Bileşimi	91
6.1.5.	Tütün ve Analizleri	92
6.1.6.	Duman Analizleri	92
6.1.7.	İzmarit Analizleri	93
6.2.	Materyal ve Metod	93
6.2.1.	Materyal	93

6.2.2.	Metod	94
6.3.	Sonuçlar ve Tartışma	101
6.4.	Kaynaklar	103
	ÖZGEÇMİŞ	106



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
3.1. BbF'nin (n-Heksan içinde) kalibrasyon eğrisi	29
3.2. BaP'nin (n-Heksan içinde) kalibrasyon eğrisi	30
3.3. F'nin (n-Heksan içinde) kalibrasyon eğrisi	31
3.4. BbF(0.1 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	32
3.5. BbF(0.5 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	32
3.6. BbF(2 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	33
3.7. BbF(5 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	33
3.8a. BbF(0.1 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	34
3.8b. BbF(0.1 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	34
3.9a. BbF(0.5 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	35
3.9b. BbF(0.5 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	35
3.10a. BbF(2 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	36
3.10b. BbF(2 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	36
3.11a. BbF(5 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	37
3.11b. BbF(5 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	37
3.12. BaP(0.5 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	38
3.13. BaP(2 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	38
3.14. BaP(5 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	39
3.15. BaP(0.5 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	39
3.16. BaP(2 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	40
3.17. BaP(5 ppm)'nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	40
3.18. F(1 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	41
3.19. F(5.5 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	41
3.20. F(10 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	42

3.21.	BbF(1 ppm)'nin ithal ve yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	42
3.22.	F(1 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	43
3.23.	BaP(0.5 ppm)'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi	43
4.1.	Suyun UV spektrumu	55
4.2.	XAD-2 kolonundan geçirilen suyun UV spektrumu	55
4.3.	Metilalkolün UV spektrumu	56
4.4.	XAD-2 kolonundan geçirilen metilalkolün UV spektrumu	56
4.5.	Asetonun UV spektrumu	57
4.6.	XAD-2 kolonundan geçirilen asetonun UV spektrumu	57
4.7.	Diklorometanın UV spektrumu	58
4.8.	XAD-2 kolonundan geçirilen diklorometanınUV spektrumu	58
4.9.	n-Heksanın UV spektrumu	59
4.10.	XAD-2 kolonundan geçirilen n-heksanın UV spektrumu	59
4.11.	BbF'nin (n-heksan içinde) kalibrasyon eğrisi	61
4.12.	BbF'nin (asetonitril içinde) kalibrasyon eğrisi	62
4.13.	BbF'nin (su içinde) kalibrasyon eğrisi	63
5.1.	Kanserojenik polisiklik aromatik hidrokarbonlar (EPA)	70
5.2.	Kolon doldurma sistemi	75
5.3.	Nucleosil 5 C18 ters-faz kolonda farklı hareketli (%asetonitril:su) faz bileşiminde PAH'ların kapasite faktörünün karbon sayısı ile değişimi	78
5.4.	% Hareketli faz bileşimi ile eğimdeki değişim	79
5.5.	Nucleosil 5 C18 ters faz kolonda %75 hareketli faz (asetonitril:su) bileşi minde PAH'ların kromatogramı	79
5.6.	Nucleosil 5 C18 ters faz kolonda %80 hareketli faz (asetonitril:su) bileşi minde PAH'ların kromatogramı	80
5.7.	Nucleosil 5 C18 ters faz kolonda %85 hareketli faz (asetonitril:su) bileşi minde PAH'ların kromatogramı	80

5.8.	Nucleosil 5 C18 ters faz kolonda PAH'ların kapasite faktörünün L/B oranı ile değişimi	81
5.9.	Bazı polisiklik aromatik hidrokarbonların moleköl yapıları (L/B)	82
5.10.	Nucleosil 5 C18 ve LiChrosorb C18 ters faz kolonda PAH'ların kapasite faktörünün karbon sayısı ile değişimi	85
5.11.	Nucleosil 5 C18 ters faz kolonda bazı kritik çiftleri kromatogramı	85
5.12.	Ters faz kromatografide maddelerin C18 kolonda elüsyonu	85
6.1.	Standart PAH karışımının kromatogramı	98
6.2.	Standart eklenmiş sigara (Kısa Samsun) izmarit ekstraktının kromatogramı	98
6.3.	Standart PAH karışımının kromatogramı	100
6.4.	Standart eklenmiş sigara (Parliament) izmarit ekstraktının kromatogramı	100

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa No
1.1. Sigara Dumanında Bulunan Gazlar	2
1.2. Sigara Dumanında Bulunan Diğer Maddeler	2
1.3. Zifirde Bulunan Kimyasal Bileşikler	2
2.1. Genel Sıvı Kromatografi Sembol ve Terimleri	15
2.2. Genel Sıvı Kromatografi ve Terimleri	17
3.1. BbF'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)	24
3.2. BbF'nin Pyrex-Y Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)	25
3.3. BaP'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)	26
3.4. BaP'nin Pyrex-Y Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)	26
3.5. F'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)	27
3.6. BaP'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)	27
3.7. BbF'nin Pyrex-Y Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)	28
3.8. F'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)	28
3.9. BaP'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)	28
4.1. Örnek Temizlemede Kullanılan Adsorbanlar	50
4.2. XAD Reçinelerinin Bazı Özellikleri	53

4.3.	BbF'nin (n-heksan) XAD-2 Kolonda Tutunma ve Geri Alınabilirlik Yüzde- leri	64
4.4.	BbF'nin (asetonitril) XAD-2 Kolonda Tutunma ve Geri Alınabilirlik Yüzde- leri	65
4.5.	BbF'nin (su) XAD-2 Kolonda Tutunma ve Geri Alınabilirlik Yüzde- leri	64
5.1.	Bazı Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların GC ve HPLC Kolonunda Alı- konma Zamanları	71
5.2.	Bazı Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Farklı HPLC-Deteksiyon Sis- temlerinde En Düşük Tayin Limitleri	72
5.3.	Farklı C18 Kolonların Seçiciliği	73
5.4.	Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar	73
5.5.	Hareketli Faz Bileşimine Göre Kapasite Faktörlerindeki Değişim	77
5.6.	Hareketli Faz Bileşimine Bağlı Olarak Tepsi Sayılarındaki Değişim	77
5.7.	Farklı Hareketli Faz Bileşiminde Nucleosil5 C18 Kolonunda Bazı PAH' ların Ayırımı	78
5.8.	PAH'ların Nucleosil 5 C18 Ters Faz Kolonda Alıkonma Zamanları ve Kapasite Faktörleri	81
5.9.	İki Farklı Ters Faz Kolonda PAH'ların Kapasite Faktörleri	83
6.1.	Dumanda Bulunan Gazlar ve Miktarları	92
6.2.	Zifirde Bulunan Kimyasal Bileşikler ve Miktarları	92
6.3.	Stok PAH Çözeltileri ve Miktarları	94
6.4.	Standart PAH Çözeltileri ve Miktarları	94
6.5.	İzmarite Eklenen ve Geri Kazanılan Standart PAH Miktarları (Kısa Sam- sun)	96
6.6.	Standart Eklenmiş Sigara İzmaritlerinden PAH'ların Geri Alınabilirlik Yüzde-leri (Parliament)	97
6.7.	İzmarit Ekstraktlarına Eklenen ve Geri Kazanılan PAH Miktarları	97
6.8.	Ekstrakta Eklenen PAH'ların Geri Alınabilirliği	98

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Günümüzde erken ölüm nedenleri arasında sigaranın kuşkusuz tartışılmaz yeri vardır. İçilen herbir sigaranın, insan ömrünü ortalama 5.5 dakika kısalttığı ileri sürülmektedir. Sigara içen insanların ağzından çıkan ya da yanmakta olan sigaradan çıkan dumanlar dahi aynı ortamda bulunan sigara içmeyen insanları olumsuz etkilemektedir.

Sigara başlıca solunum yolları ve dolaşım sistemi olmak üzere vücudun pek çok bölgesinde çeşitli rahatsızlıklara, özellikle kansere yol açmaktadır. Sigara içimi ile oluşan duman ve filtrede kalan zifirde binlerce madde bulunmaktadır. Bunlar arasında:

1. Nikotin
2. Karbon monoksit
3. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH)

insan sağlığına en zararlılar olarak kabul edilebilir.

Nikotin : Sigara bağımlılığına yol açarken, kalp ve damar hastalıklarına neden olan çok kuvvetli bir zehirdir. O kadar ki tarım ilacı olarak bile kullanılmaktadır.

Karbon monoksit : Sigara dumanında yaklaşık % 4.2 oranında bulunur. Karbon-monoksit, kanda oksijen yerine bağlanarak dokularda hemoglobinin taşınmasını engeller.

Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar : Bazılarının zehirli ve bazılarının ise kanserojen olduğu saptanmıştır. Hayvanların derisine ve akciğerine uygulandığında kansere neden olduğu kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalarda sigara dumanı ve zifirinde kanserojen PAH'ların bulunduğu ispat edilmiştir.

Yukarıda değinilen birkaç maddenin dışında sigara dumanında ve izmaritte (zifir) yüzlerce organik ve anorganik maddenin bulunduğu Tablo 1.1.- 1.3.'de görülmektedir. Bu kadar çok sayıda maddenin bir arada tayini hemen hemen imkansızdır. Bunların buldukları ortamdan alınmaları, fraksiyonlara ayrılmaları, ön temizleme işlemlerinin yapılması ve nihayet kalitatif ve kantitatif tayinlerinin yapılması deneyim, zaman ve gelişmiş cihazlar gerektirir. Bu işlemlerin yapılması sırasında çok değişik problemlerle karşı karşıya gelinmesi doğaldır.

Tablo 1.1. Sigara Dumanında Bulunan Gazlar⁽¹⁾

Bileşik	% Hacım
N ₂	73.0
O ₂	10.0
CO ₂	9.5
CO	4.2
H ₂	1.0
Ar	0.6
CH ₄	0.6

Tablo 1.2. Sigara Dumanında Bulunan Diğer Maddeler⁽¹⁾

Bileşik	Miktar (ppm)
Parafinler (Metan dahil)	87 000
Asetilen, etilen, propilen vb.	31 000
Formaldehit	30
Asetaldehit	3 200
Metanol	700
Aseton	1 100
Metiletil keton	500
Amonyak	300
Azotdioksit	250
Metilnitrit	200
Hidrojen sülfür	50
Hidrojen siyanür	1 600
Metil klorür	1 200

Tablo 1.3. Zifirde Bulunan Kimyasal Bileşikler

Bileşik	Tanecik Fazın Kütlesine Göre(%)
Asitler	7.7-12.8
Alkoller	5.3- 8.3
Karbonil bileşikleri	8.5
Alifatik hidrokarbonlar	4.9
Fenoller	1.0-3.8
Aromatik hidrokarbonlar	0.4

Bu çalışmanın amacı, sigara izmarit zifirinde bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonların kalitatif ve kantitatif tayinlerine katkıda bulunmaktır. Ayrıca kalitatif ve kantitatif tayin öncesi ve analiz sırasında karşılaşılan sorunlara da cevaplar bulunmaya çalışılmıştır. Bu nedenle tezde farklı bölümlerde PAH'ların tayinine yardımcı olacak çalışmalar ele alınmıştır.

İkinci bölümde, PAH'ların tayininde genel olarak kullanılan gaz ve sıvı kromatografide adlandırma sorununa değinildi. Teorik ve deneysel sonuçların ifadesinde hangi tür adlandırmanın, hangi terim ve harflerin, örneğin,

Hareketli faz mı, yürütücü mü, yoksa mobil faz mı ?

Alıkonma zamanı mı, tutulma zamanı mı, gecikme zamanı mı ?

Yüksek basınç sıvı kromatografi mi yoksa yüksek basınç sıvı kromatografisi mi ? veya yüksek performans sıvı kromatografi mi ?

kullanılmasının daha doğru olacağı üzerine görüşlerimiz verildi. Bu çalışma I. Ulusal Kromatografi Kongresi' nde tebliğ olarak sunulmuştur.

PAH'lar ile yapılan çalışmalarda geri alınabilirlikte büyük sapmalar görünmektedir. Bunun nedenleri arasında çalışılan kapların yüzeyine adsorbe olmalarının geldiği literatürde ifade edilmektedir. Üçüncü bölüm bu konuya ayrılmıştır.

Dördüncü bölüm, apolar bir adsorban olan XAD-2 reçinesi ile sigara izmaritinin ön temizlenme veya fraksiyonlara ayrılmasını ele almıştır. Seçilen bazı PAH'ların XAD-2 ile doldurulmuş kolonlarda tutulması ve farklı çözücüler ile geri alınması incelenmiştir.

Çeşitli ön hazırlama işlemlerinden sonra yüksek basınç kromatografi (HPLC) ile yapılan ayırma işlemleri beşinci bölümün temelini oluşturmaktadır. PAH'ların HPLC ile ayırımında normal ve ters faz kolonları kullanılmaktadır. Genellikle, hareketli faz olarak suyun bir bileşen olarak kullanıldığı ters faz sistemi tercih edilir. Literatürde çok sayıda ters faz dolgu maddelerinin kullanıldığı göze çarpmaktadır. Çünkü ters fazda PAH'ların alıkonma mekanizmaları ve ayırım sorunu tam olarak çözülememiştir. Farklı ters faz kolon dolgu maddelerin denenmekte olduğu literatürde görülmektedir.

Beşinci bölümde, laboratuvarımızda Nucleosil 5 C 18 ile doldurulmuş kolon kullanılarak ve 13 PAH' ın alıkonma mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalar verilmiştir. Sık görülen ayrılması güç PAH'ların (kritik çiftler) ayrılabilirliği incelenmiştir.

Son bölüm gelişi güzel içilmiş sigara izmaritlerinde PAH'ların geri alınabilirliği üzerine model çalışmaları içermektedir. İzmaritlerden PAH'lar önce ekstrakte edilmiş, fraksiyonlama yapılmış ve daha sonra da HPLC'ye enjekte edilmişlerdir. Kolon dolgu maddesi olarak Nucleosil 5 C18 kullanılmıştır. Çalışmalar gerçek örneklere yapılan uygulamalarla sürdürülmektedir.



BÖLÜM 2

KROMATOĞRAFİDE ADLANDIRMA

2.1. Giriş

Rus botanikçisi Tswett'in ilk kez uyguladığı kromatografi o günden bu güne çok hızlı bir gelişme göstermiştir. Nobel ödüllü Martin ve Synge'in (1) katkılarından sonra özellikle gaz kromatografi büyük bir hızla gelişmiş ve çok geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Tswett'in kolon kromatografisi ise 1970'li yıllara kadar fazla bir gelişme gösterememiş ve "klasik kolon" kromatografi olarak kalmıştır. Ancak, 70'li yıllarda korozyona dayanıklı çok küçük akış hızlarında sıvı pompalayabilen yüksek basınç pompalarının yapımı, mikrometre düzeyinde çapa sahip dolgu maddelerinin kullanımı ile sıvı kromatografi artık modern hale gelmiş ve hatta gaz kromatografi ile yarışır konuma ulaşmıştır.

Büyük bir ayırım gücü ile tüm laboratuvarlarda vazgeçilemez bir biçimde kullanılan kromatografik yöntemlerin adlandırılmasında çeşitli iletişim problemleri yaşanmaktadır (2). Bu sorun İngilizce olarak kullanılan terminolojide dahi yaşanırken bir de Türkçe karşılıklarında da sıkıntılar doğmaktadır. Sorun yalnızca tercüme sorunu değildir, İngilizce adlandırmadan da kaynaklanmaktadır. Örneğin "ölü zaman" nedir? İnert bir maddenin kolondan tutulmadan çıkış süresi mi yoksa, inert maddenin veya örneğin enjekte edildikten sonra enjeksiyon ve detektör bölmelerinde kaybettiği zaman mı? İngilizce karşılığı "death time" olan adlandırma acaba neyi ifade etmektedir?

Kromatografik yöntemlerdeki pratik gelişmelerle birlikte kromatografi teorisi de gelişme göstermiş, yeni bir çok terim literatüre girmiştir.

Bu bölümde kromatografinin gelişmesine paralel olarak adlandırma sorunları ele alınmış, Türkiye'de kullanılan adlara değinilmiştir.

2.2. Kromatografinin Sınıflandırılması ve Sınıfların Adlandırılması

Aslında öncelikle kromatografinin tanımında ve kullanım amacında farklı yaklaşımlar vardır. Bazı araştırmacılara göre kromatografik yöntemler ayırma yöntemleridir ve diğer

enstrumanlara yardım ederler. Ancak bazılarında göre detektör sistemleri ile birlikte kalitatif ve kantitatif analizin yapılabildiği tam bir enstrumantal analiz yöntemidir.

Amaç ve tanım ne olursa olsun uygulanmakta olan bir çok kromatografik yöntem mevcuttur ve bu yöntemleri çeşitli şekillerde sınıflandırmak mümkündür. Bu sınıflandırmalar ;

1. Ayırma ortamının fiziksel şekline göre,
 2. Örneğin ayırma ortamına verilmiş biçimine göre,
 3. İki fazın faz durumlarına göre,
 4. Kromatografik ayırma mekanizmasına göre,
 5. İki fazın polarlık durumlarına göre.
- yapılabilir.

Ayırma ortamına göre yapılan sınıflandırmada, kolon ve düzlem veya düzlemsel kromatografiden söz edilebilir. Kolon kromatografisi denince akla belli çapı olan bir tüp ve içinden doğrusal hız ile hareket eden örnek gelir. Gaz kromatografisi, kolon kromatografisiye örnek kabul edilebilir. Ancak 10 cm kadar çaplı ve dönmekte olan silindirin üstünde bir noktadan verilmekte olan örnek, silindirin altında farklı yerlerde toplanıyor ise yöntemin adı ne olmalıdır ? Buna kolon kromatografisi denilebilir mi ?

İnce tabaka, kağıt kromatografileri düzlem (plane) mi, yoksa düzlemsel (planar) mi? Hangisi daha doğrudur?

Bugün için kromatografik çalışmaların hemen hemen tümünde yürütme (elution), noktasal (bant) örnek verme ile yapılmaktadır. Diğer iki tür örnek verme öncül (frontal) ve yer değiştirme (displacement) olarak adlandırılır. Bu örnek verme türlerine göre , elusyon kromatografisi ve yer değiştirme kromatografisi doğmaktadır. Ancak "elution" yerine "development ve mobile phase" kullanılırsa sanki yeni tür kromatografik yöntemlerden bahsedilebiliyor izlenimi doğmaktadır. Çünkü mobile phase ve eluant birbirleri yerine hareketli faz anlamında kullanılmaktadır.

Son yıllarda yeni bir örnek verme işlemi literatürde göze çarpmaktadır: Ters-yönlü akış (counter-current) ile oluşan counter current chromatography (CCC)(3,4).

Hareketli ve sabit fazların faz durumlarına göre kromatografik yöntemleri önce gaz ve sıvı kromatografileri olarak literatürde ayrıldıklarını görüyoruz. Daha sonra da gaz kromatografisi , sabit fazın sıvı veya katı oluşuna göre gaz-sıvı ve gaz-katı olmak üzere iki

gruba ayrılmıştır. Ancak sıvı kromatografinin ikinci faza göre ayırımında sıkıntılar vardır. Sabit faz katı, sıvı veya bağlı sıvı (chemically bonded) faz olabilir.

Süperkritik kromatografi (5) gaz mı, yoksa sıvı olarak mı kabul edilmelidir ? Yüksek basınçta hareket etmekte olan gaza, sıvı özellikleri kazandırılmak istendiğine göre süperkritik sıvı-sıvı ve süperkritik sıvı-katı kromatografileri doğar. Ancak hareketli fazın henüz sıvı olmadığı bir gerçektir. Yoksa superkritik kromatografiyi fazlara göre sınıflandırmada üçüncü bir kromatografi türü olarak mı kabul etmeliyiz ?

Bir başka ayırma ortamı sıvı kristallerdir. Sıvı kristali dördüncü faz olarak kabul edersek, gaz-sıvı kromatografi, gaz-katı kromatografi, gaz-sıvı kristal kromatografileri aşağıdaki şekilde gruplandırılabilir.

sıvı-sıvı kromatografi,

sıvı-katı kromatografi,

sıvı-bağlı-faz kromatografi

süperkritik gaz-sıvı kromatografi,

süperkritik gaz-katı kromatografi,

süperkritik gaz-sıvı kristal kromatografi

Bu sınıflandırma ne derece mantıklıdır?

Ayırma mekanizmasına göre sınıflandırmada çok çeşitli adlandırmalar ve gruplar bulunmaktadır. Bunlar arasında partiyon (dağılma), adsorpsiyon, iyon-değişim, iyon-çifti, affinite, dışarılama (exclusion), sabun, bağlı-faz, jel-geçirgenlik (gel-permeation), jel-süzme (gel-filtration). Bunlara her geçen yıl yenileri eklenmektedir.

Partiyon kromatografide örnek içindeki maddeler, iki faz arasında dağılma katsayılarına göre birbirlerinden ayrılır. Adsorpsiyon kromatografide ayırım, maddelerin adsorpsiyon ilgilerindeki farklılıklarına dayanmaktadır. Olay ile adlandırmalar tutarlıdır. Benzer şeyler iyon-değişim ve dışarılama kromatografileri için de söylenebilir. Birincisinde ayırım iyon değişim afiniteleri ile olurken ikincisinde molekül büyüklüğü etkilidir. Ancak diğer adlandırmalar yeteri kadar açık değildir. Örneğin iyon-değişim kromatografi ile,

iyon-çifti,

ekstraksiyon kromatografi,

iyon-çifti ekstraksiyon kromatografi,

sabun (soap) kromatografi,

yöntemleri büyük benzerlikler gösterirler. Bu nedenle, bunları ayrı birer kromatografi grubu olarak adlandırmak yanıltıcı olabilir ?

Afinite kromatografi protein-ligand ilişkisine dayanarak proteinlerin ayırımında kullanılan bir yöntem olarak sunulmaktadır (4). Ancak onu partiyon veya adsorpsiyon kromatografi yöntemlerinin bir uygulaması olarak düşünmek daha doğru olur.

Literatürde yeni yöntem olarak bağlı-fazlı kromatografi (bonded-phase chromatography) görülmektedir. Ancak bu yöntemde bir katı üzerine tutturulmuş (bonded) sabit sıvı faz kullanılmaktadır. Bu nedenle bağlı-faz kromatografisinin yeni bir yöntem olarak görülmesi pek doğru olmayacaktır.

Dışarılama (exclusion) kromatografi yine birçok değişik ad altında literatürde görülmektedir. Jel filtrasyon, jel geçirgenlik (gel permeation), jel kromatografi, sıvı-jel kromatografi (liquid-gel chromatography), boyut-dışarılama kromatografi (size-exclusion chromatography) bunlardan bazılarıdır. Değinilen bu yöntemlerin hemen hepsinde kromatografik ayırım molekül büyüklüklerine göre olduğu için dışarılama kromatografi en uygun adlandırma olacaktır.

Hareketli fazların polarlıklarına göre yapılan sınıflandırma normal-faz kromatografisi (normal-phase) ve ters-faz kromatografisi olarak iki biçimde literatürde karşımıza çıkmaktadır. Ancak literatürde ters-faz "reverse-phase" veya terslenmiş-faz "reversed-phase" olarak iki şekilde yazılmaktadır. Çoğunlukla ikinci tür yazılım tercih edilirken Türkçe olarak ters-faz kullanılmaktadır.

Bu arada bir sorun daha vardır. Normal ve ters faz tanımları hareketli fazın sıvı olduğu durumlarda bir anlam ifade ederken gaz kromatografisi yöntemleri bunlara göre nasıl alt gruplara ayrılacaktır ? Literatürde pek kullanılmamakla beraber gaz kromatografisi için benzer bir yaklaşım yapılabilir. Şöyle ki: Hareketli faz hidrojen, helyum ve azot gibi apolar maddeler, sabit faz polar veya apolar olarak seçilebilir. Bu durumda ancak, polar sabit fazın kullanılması halinde normal gaz kromatografisi adlandırılması yapılabilir. Ters faz kromatografisi düşünülemez.

Süperkritik kromatografi için de benzer durum söz konusudur. Örneğin hareketli faz olarak yüksek basınç altındaki karbon dioksit kullanılırken sıvı faz polar bir madde ise normal süperkritik kromatografi adı verilebilir. Polar bir hareketli faz, apolar bir sıvı faz kullanılmış ise bu kez de ters-faz süperkritik kromatografi adlandırılması yanlış olmaz.

Kromatografide kullanılan bazı terimlere geçmeden sıvı kromatografisinde sık karşılaşılan bir başka adlandırmaya değinelim. **Yüksek Basınç Sıvı Kromatografi** mi yoksa **Yüksek Performans Sıvı Kromatografi** mi ?

Rus Botanikçisi Tswett'in geliştirdiği ilk kromatografik ayırım bugün kolon kromatografi olarak bilinmektedir. Yöntem geliştirildiğinde o gün için yüksek performansla sahipti. Uzun zaman kolon kromatografide yeterli gelişme ve buna bağlı olarak da performansında yükselme görülmedi. Kolondan hareketli faz akışı gravite akışı yerine basınç altında gerçekleştiği zaman kolon kromatografinin performansı da arttı. Şimdi sorun yüksek performansla ne zaman ulaşabileceğidir. Eski kolon ile yeni kolon kromatografileri arasındaki farkı belirten adlandırma nasıl olmalıdır? Kanımızca modern sıvı kromatografi veya yüksek basınç sıvı kromatografi adları yüksek performans yerine daha uygundur. Ayrıca klasik kolon sıvı kromatografi veya gravite-akışkanlı kolon sıvı kromatografi eski tür kolon kromatografinin adlandırılmasında kullanılabilir.

Şimdi aşağıda bazı sıvı kromatografi ve gaz kromatografi genel terimlerinin adlarına değinelim.

2.3. Bazı Genel Sıvı Kromatografi Terimleri (7)

Sıvı faz - solvent

Sıvı faz (liquid phase), solvent (solvent) , yürütücü (developer), hareketli faz (mobile phase), elüent (eluent) hemen hemen birbirlerinin yerine kullanılan fakat zaman zaman farklı anlamlara gelen kelimelerdir.

Sıvı kromatografide sıvı faz denince akla hareketli faz gelir. Sıvı-sıvı kromatografisinde bu durum karmaşa doğurur. Klasik kromatografide sıvı faz denince hareketli faz denmesi alışlagelmiş bir olaydır. Ancak solvent(çözücü) adlandırması da çok yaygın olarak kullanılır. Örneğin bir hareketli fazın gücünden bahsedilirken solvent gücü (çözücü gücü) deyimi kullanılmak zorunda kalınır. Sıvı-sıvı partiyon (dağılma) kromatografide

iki faz arasındaki farkı belirtmek için sabit sıvı faz ve hareketli sıvı faz demek gerekmektedir.

Literatürde görülen o ki bu terimlerden hangisinin hangi anlamda kullanılacağı konusunda birliktelik yoktur.

Taşıyıcı (Carrier)

Gaz kromatografideki taşıyıcı gaz (carrier gas) karşısı olarak sıvı kromatografide taşıyıcı sıvı (carrier liquid) kullanılması denenmiş ise de tutulmamıştır. Ayrıca sıvının üzerine dağıtıldığı katı için de kullanılmak istenmiş fakat bu anlamda taşıyıcı yerine destek (support) kabul görmüştür.

Kromatogram

IUPAC tarafından kromatogram şu şekilde tanımlanmıştır; "detektör cevabının grafik veya bir başka biçimde gösterimidir". Bu gösterimde düşey eksen derişimi veya kütle, yatay eksen hareketli faz hacmi veya zaman olabilir (8). Ancak klasik (gravite) kolon kromatografide, kağıt ve ince tabaka kromatografilerinde kromatogram tanımı yapmak zordur. Yine de Stahl, ince-tabaka ve klasik kolon kromatografileri için kısaca "ayırımdan sonraki madde tabakaları kromatogramdır" şeklinde bir tanım yapmıştır.

Şimdi de matematiksel ifade ve eşitliklerde kullanılan bazı terimlere değinelim. Bunlar Tablo 1'de (7) hemen hemen tümüyle verilmiştir. Burada bazılarını kısaca verip, adlandırmadaki karmaşaya değinelim.

Kapasite Faktörü

Öncelikle " k " mı yoksa " k' " mü kullanılacağı şeklinde bir karmaşa vardır. Kapasite faktörü, kapasite oranı, kütle dağılım oranı adlandırmalardır. Çoğunlukla kapasite faktörü tanımlaması kullanılmasına karşın bu ad tartışma konusudur. Kapasite kelimesinin burada bir anlamı yoktur, çünkü herhangi bir kapasite olayı söz konusu değildir. Kapasite faktörü, -

$k' = \text{sabit fazda madde miktarı} / \text{hareketli fazda madde miktarı}$

şeklinde tanımlanmıştır. Görüldüğü gibi kapasite ile ilgisi yoktur. Ancak kapasite kelimesi kullanılmaya devam edilmektedir.

Literatürde bir ara D_m veya D_M kullanılmak istenmiş ise de (7) dağılma sabiti ile karıştığı için kısa sürede vazgeçilmiştir.

Dağılma Sabitleri

Tablo 1 de dağılma sabitleri ve dağılma katsayıları görülmektedir. Partisyon katsayısı bir başka adlandırmadır. Genel olarak tüm bu tanımlamalar için K harfi kullanılmakla beraber zaman zaman D nin de kullanıldığı görülmektedir. Ayrıca K nın farklı tanımları da söz konusudur : K_c , K_g , K_v , K_s .

$K_c = k'$ (kolonda hareketli faz hacmi/sabit faz hacmi)

$K_g = k'$ (kolonda hareketli faz hacmi/kuru sabit faz kütlesi)

$K_v = k'$ (kolonda hareketli faz hacmi/sabit yatak hacmi)

$K_s = k'$ (kolonda hareketli faz hacmi/sabit faz yüzey alanı)

Literatürde farklı makalelerde farklı "K" ların kullanımı karmaşa yaratmaktadır. Fakat bunun önüne geçmek mümkün değildir. Çünkü henüz "sabit" veya "katsayı" kelimelerinden hangisinin kullanılacağı üzerinde bile anlaşma sağlanamamıştır.

Ölü Hacım

Ölü hacım mı yoksa fazla hacım mı? Ölü zaman mı, yoksa fazla zaman mı ? Gerçekte maddenin sabit ve hareketli fazlar dışında geçirdiği ve toplam alıkonmaya etkili olarak kromatogramda görülen zamandır. Yoksa maddenin hareketli fazda geçirdiği zaman değildir.

Nominal Doğrusal Akış

Amaç kolonun içinde maddenin hareketli ve sıvı fazlardaki doğrusal hız (uzunluk/zaman cinsinden) farkını belirtmektir. Bu durumda akış(flow) yerine hız kullanılması gerekmektedir. Bunu belirtmede "u" mu "u_n" mi kullanılmalıdır?

u = kolon uzunluğu/hava piki zamanı

Teorik ve Etkin Tepsi Yüksekliği

H, n, h, HETP, HEETP, HEETP, kullanılan çeşitli adlandırmaların kısaltılmış yazılımlarıdır. Ancak bunlar karmaşık biçimde hem teorik tepsi yüksekliği hem de etkin tepsi yüksekliği için kullanılmaktadır.

Pik Genişliği

Yalnızca pik genişliği demek yeterli olamamaktadır. Çünkü pik genişliği pik tabanında, pik dönüm noktasında, veya pik yarı-yüksekliğinde ölçülebilir.

Benzer tartışmalı durumlar kromatografide yeni yöntemler geliştirildikçe artarak devam etmektedir. Bu nedenle literatürde zaman zaman adlandırma üzerine yazılmış makaleler göze çarpmaktadır.

2.4. Türkçe Adlandırmalar veya Tercümelemler

Burada olay biraz daha karmaşık hale gelmektedir. Tablo 2.2. de çeşitli İngilizce terimler için önerdiğimiz Türkçe adlandırmaları verilmiştir. Bunlardan bazıları için kullanılan değişik adlar aşağıda gösterilmiştir.

1. Durgun faz : Sabit faz : Hareketsiz faz : Sıvı faz : Çözücü : Çözgen
2. Hareketli faz : Mobile faz : Yürütücü faz : Sıvı faz : Eluent : Solvent.
3. Elüsyon : Yürütme : Sürüklenme.
4. Kromatogram : Ayırılma Eğrisi.
5. Partisyon oranı : Partisyon katsayısı : Partisyon sabiti : Dağılım katsayısı :
Dağılım oranı : Dağılım sabiti.
6. Ölü zaman : Hava piki : Hava-piki-elüsyon zamanı.
7. Tutulma süresi : Tutulma zamanı : Alıkonma zamanı : Elüsyon süresi.
8. Kapasite faktörü : Alıkonma faktörü.
9. Seçicilik katsayısı : Ayırma faktörü : Ayırım.
10. Tabaka yüksekliği : Tabak yüksekliği : Plaka yüksekliği : Tepsi yüksekliği :
Teorik tepsi(tabak) yüksekliği.

Bazı Adların Farklı Kaynaklarda (9,10,11)Farklı Kullanım ve Tanımları

Durgun faz : Bir kolon içinde veya yüzeyde tutturulmuş faza denir (9).

Sabit faz: Kaynak (10) de yukarıdaki anlamda kullanılmıştır.

Çözgen : Sabit veya durgun faz yerine kullanılmıştır (11).

Hareketli faz : Kromatografide durgun fazın üzerinden veya arasından geçen ve analiti içeren faza denir (9).

Çözelti, Sıvı, Gaz : Kaynak (11) de hareketli faz için kullanılmıştır.

Kromatografi : Gaz ve sıvı fazda bulunan karışımdaki bileşenlerin, durgun fazdan geçme hızlarına bağlı olarak ayrıldıkları tekniktir (9). Çeşitli maddelerin hareketli bir faz yardımıyla sabit bir faz üzerinde değişik hızlarda hareket etmeleri veya sürüklenmeleri esasına dayanan tekniktir (10). Fazlardan birinin ötekine göre sürekli olarak, kimi kez çok basit, otomatik yer değiştirmesiyle gerçekleştirilen yöntemdir (11).

Elüent : Maddelerin faz üzerinden bir karışımdaki bileşenleri taşımakta kullanılan çözücüye denir (9). Elüsyon işleminde kullanılan çözgendir (11).

Elüsyon : Hareketli fazın ilerlemesiyle çözünen maddelerin durgun fazda üzerinden yıkanarak taşınmalarına denir (9). Adsorplanmış maddelerin ardışık yıkama ile ayrılmaları işlemidir (11)

Kromatogram : Elüsyon zamanı veya elüsyon hacmine karşı çözünen madde konsantrasyonuna bağlı sinyalin oluşturduğu grafik (9,10). Örneğin ayrılma eğrisi (11).

Partisyon oranı, Partisyon Katsayısı (K) : Kromatografide bir çözünen için partisyon oranı veya partisyon katsayısı, bu bileşenin durgun fazdaki konsantrasyonunun hareketli fazdaki konsantrasyonuna oranıdır (9).

Dağılma Katsayısı (K) : Partisyon katsayısı yerine kullanılmıştır (10).

Dağılma Katsayısı (D) : Partisyon katsayısı yerine kullanılmıştır (11).

Ölü Zaman (t_M) : Hiç tutulmayan bir türün kolondan geçişi için gereken süredir (9).

Ölü Zaman (t_g) : Taşıyıcı gazın alıkonma zamanıdır ve verdiği pik ise hava pikidir(10).

Ölü Zaman (t_o) : Gazın tüpten çıkmaya başladığı süre sonudur (11).

Tutulma Süresi (t_R) : Örneğin enjeksiyonu ile çözünen madde pikinin kromatografi detektörüne varışı arasında geçen zamandır (9).

Alıkonma Zamanı (t_r) : Tutulma süresi yerine kullanılmıştır (10).

Kapasite Faktörü (K') : Çözünen bir maddenin kolondaki göçü sırasındaki hızı (9).

Alıkonma Faktörü (R_f) : Her maddenin hareketli fazda sürüklenme derecesi farklıdır. Buna sürüklenme derecesi veya alıkonma faktörü denir (10). Kaynak (11) de R_f simgesi kullanılmış ancak tanım yapılmamıştır.

Seçicilik Katsayısı (α) : Daha kuvvetli tutulan X çözünüeni için partiyon oranının daha az kuvvetli tutulan Y çözünenin partiyon oranına bölümü şeklinde tanımlanmıştır (9).

Ayrırma Faktörü (α) : İki maddeden birinin dağılma katsayısı standart alınır ve buna göre diğer maddenin ayırma faktörü bulunur (10). Kaynak (11) de ayırma faktörü olarak f harfi kullanılmıştır.

Tabaka Yüksekliği (H) : Teorik tabakanın eşdeğer yüksekliği olarak tanımlanmıştır (9).

Tabak Yüksekliği (h) : Teorik tabak yüksekliğidir (10).

Plato Yüksekliği : Eşdeğer teorik plaka yüksekliğidir (11).

Tabaka Sayısı (N) (9) : Tabak Sayısı N (10).

Tabaka Teorisi (9) : Tabak Teorisi (10) , Plato Teorisi (11).

Adsorpsiyon Kromatografisi : Analitin polar bir dolgu maddesi yüzeyinde adsorplanmasına dayanır (9).

Adsorpsiyon Kromatografisi : Maddelerin değişik oran ve kuvvette adsorbe olmaları esasına dayanır.(10).

Adsorpsiyon Kromatografisi : Adsorplayıcı bir sulp ile çözelti ya da bir gaz faz arasındaki dağılımadır (11).

Yukarıda görüldüğü gibi adlandırmalarda, kullanılan harf ve terimlerde zaman zaman çok büyük farklılıklar vardır. Buna karşılık Tablo 1 ve 2 de öneriler verilmiştir.

2.5. Sonuç

Görülüyor ki ne İngilizce' de ne de Türkçe'de kromatografik terimlerin adlandırılmasında birlik yoktur. Yanlış kullanımları önüne geçmek için hiç olmaz ise hangi harfin ne amaçla kullanıldığı çok açık bir biçimde kitap veya makalede belirtilmelidir.

Tablo 2.1. Genel Sıvı Kromatografi Sembol ve Terimleri ⁽⁷⁾

<i>Parametre(orjinal)</i>	<i>ASTM</i>	<i>IUPAC</i>	<i>Önerilen</i>
Capacity (partition) ratio, capacity factor, mass distribution ratio	k	D_m	Kapasite faktörü
Column			Kolon
Cross-sectional area	A_c		Kesit alanı
Interstitial volume	V_c	V_I	Boşluk hacmi
Inside diameter	d_c		İç çapı
Length	L		Boy
Phase ratio	β		Faz oranı
Specific permeability	β_0		Öz geçirgenlik
Stationary phase fraction		ϵ_s	Sabit faz kesri
Temperature	T_c		Sıcaklık
Volume		X	Hacmi
Hold-up volume (volume of mobile phase in column)	V_M		Hareketli faz hacmi
Volume of stationary phase in column		V_s	Sabit faz hacmi
Column packing			Kolon dolgusu
Average diameter of solid particles	d_p		Partikül ortalama çapı
interparticle porosity	ϵ	ϵ_I	Tanecik gözenegi
Pore radius	r_p		Gözenek yarıçapı
Column efficiency			Kolon verimi
Height equivalent to one effective plate, HEETP	H		Etkin tepsi eşdeğer yüksekliği
Height equivalent to one theoretical plate, HETP	h		Teorik tepsi eşdeğer yüksekliği
Number of effective plates; effective plate number	N	N	Etkin tepsi sayısı
Number of theoretical plate number	n	n	Teorik tepsi sayısı
Reduced plate height	h_r		İndirgenmiş tepsi yüksekliği
Dead volume		V	Ölü hacim
Diffusion coefficient of solute in mobile phase	D_M		Hareketli fazda madde yayılma katsayısı
Diffusion coefficient of solute in stationary phase	D_S		Sabit fazda madde yayılma katsayısı
Distribution of solute			
Distribution constant (partition coefficient)	K	K_D, D_C	Dağılıma sabiti
Distribution coefficients		D_G, D_V, D_S	Dağılıma sabitleri
Fraction of a solute in the mobile phase		R	Hareketli fazda madde kesri
Fraction of a solute in the stationary phase		$I-R$	Sabit fazda madde kesri
Mobile phase			Hareketli faz
Flow-rate at column outlet and ambient temperature	F_a		Oda sıcaklığında kolon çıkışında akış hızı
Flow-rate at column outlet, corrected to column temperature	F_c	F_C	Sıcaklık düzeltilmesi yapılmış kolon çıkışında akış hızı
Linear velocity	u	u	Doğrusal hız
Nominal linear flow		F	Boşlukta doğrusal akış hızı
Optimum linear velocity of the mobile phase	u_{opt}		Hareketli fazın optimum doğrusal akış hızı

Tablo 2.1. (Devamı)

Parametre	ASTM	IUPAC	Önerilen
Reduced mobile phase velocity	ν		İndirgenmiş akış hızı
Viscosity	η		Viskosite
Number of theoretical plates required for given resolution of peaks 1 and 2	n_{req}		İki pikin belli bir ayırımı için gerekli teorik tepsi sayısı
Number of effective plates required for given resolution of peaks 1 and 2	N_{req}		İki pikin belli bir ayırımı için gerekli etkin tepsi sayısı
Peak area	A		Pik alanı
Peak width	W_b		Pik genişliği
At base	W_h		Tabanda pik genişliği
At half-height	W_t		Pik yarı yüksekliği
At inflection points			Pik dönüm noktası
Pressure			Basınç
Column inlet pressure	P_i	P_i	Kolon giriş basıncı
Column outlet pressure	P_o	p_o	Kolon çıkış basıncı
Pressure drop along the column	D_p		Kolonda basınç düşmesi
Relative column pressure	P		Bağlı kolon basıncı
Ambient (atmospheric) pressure	P_a		Açık hava basıncı
Relative retention	$r_{1,3}$		Bağlı alıkonma
Resolution	R_s		Ayrılcılık
Retention times			Alıkonma zamanları
Adjusted retention time	t'_R	t'_R	Düzeltilmiş alıkonma zamanı
Mobile phase hold-up time	t_M	t_M	Hareketli faz alıkonma Zamanı
Net retention time	t_N		Net alıkonma zamanı
Retention time(total retention time)	t_R	t_R	Alıkonma zamanı
Retention volumes			Alıkonma hacmi
Adjusted retention volume	V'_R	V'_R	Düzeltilmiş alıkonma hacmi
Mobile phase hold up volume	V_M	V_M	Hareketli faz alıkonma hacmi
Net retention volume		V_N	Net alıkonma hacmi
Retention volume(total retention volume)	V_R	V_R	Alıkonma hacmi(toplam)
Specific retention volume		V_g	Spesifik alıkonma hacmi
Separation factor	α	$\alpha_{A/B}$	Seçicilik faktörü
Temperature			Sıcaklık
Ambient	T_a		Oda sıcaklığı
Of the column	T_c		Kolon sıcaklığı
Of the mobile phase	T		Hareketli faz hacmi

Tablo 2.2. Genel Sıvı Kromatografi Terimleri (Tablo 2.1. dışındakiler)⁽⁷⁾

<i>Terim</i>	<i>ASTM</i>	<i>IUPAC</i>	<i>Önerilen</i>
Active solid		+	Aktif katı
Adsorption chromatography		+	Adsorpsiyon kromatografi
Baseline		+	Temel çizgi
Bonded phase	+		Bağlı faz
Bulk property detector	+		Ana özellik detektörü
Bypass injector	+		Ek enjektör
Chromatogram		+	Kromatogram
Chromatograph (noun)	+		Kromatografi cihazı
Chromatograph (verb)		+	Kromatogram çekmek
Chromatography	+	+	Kromatografi
Column	+	+	Kolon
Column chromatography	+		Kolon kromatografi
Column packing	+		Kolon dolgusu
Detection		+	Deteksiyon
Detector	+		Detektör
Differential chromatography	+		Türev kromatogram
Differential detector	+		Türev detektör
Displacement chromatography		+	Yer değiştirme kromatografi
Dry-column chromatography	+		Kuru -kolon kromatografi
Eluate		+	Süzüntü
Eluent		+	Hareketli faz
Elute		+	Yürütmek
Elution band		+	Pik
Elution chromatography		+	Yürütme kromatografi
Elution curve	+	+	Kromatogram
Flow programming	+	+	Akış programlama
Fraction collector	+		Fraksiyon toplayıcı
Frontal chromatography		+	Öncül kromatografi
Fronting		+	Öncül
Gradient(elution)	+	+	Gradient
Integral chromatogram	+		İntegral kromatogram
Integral detector	+	+	İntegral detektör
Interactive solid	+		İnter aktif katı
Internal standard		+	İç standard
isocratic(elution)	+		İzokratik yürütme
Liquid chromatography	+	+	Sıvı kromatografi

Tablo 2.2.(Devamı)

<i>Terim</i>	<i>ASTM</i>	<i>IUPAC</i>	<i>Önerilen</i>
Liquid-liquid chromatography	+	+	Sıvı- sıvı kromatografi
Liquid phase	+		Sıvı faz
Liquid-solid chromatography	+	+	Sıvı katı kromatografi
Marker	+	+	İşaretleyici
Mobile phase	+	+	Hareketli faz
Modified active solid		+	Modifiye edilmiş katı
Open tubular column		+	Açık tüp kolon
Packed column		+	Dolgu kolon
Packing		+	Dolgu
Partition chromatography		+	Dağılma kromatografi
Pelliculer packing	+		Küresel dolgu
Peak	+	+	Pik
Peak base	+	+	Pik tabanı
Peak height(at maximum)	+	+	Pik yüksekliği
Pneumatic pump	+		Pinömatik pompa
Pump	+		Pompa
Reciprocating pump	+		Resiprokatıng pompa
Reversed-phase chromatography	+	+	Ters faz kromatografi
Salting-out chromatography		+	Tuz kromatografi
Sample inlet system	+	+	Örnek verilış sistemi
Selective elution		+	Seçici yürütme
Separation temperature		+	Ayırma sıcaklığı
Septum injector	+		Septum enjektör
Septumless injector	+		Septumsuz enjektör
Solid support	+	+	Taşıyıcı katı
solute	+		Madde
solute property detector	+		Madde özellik detektörü
Stationary phase	+	+	Sabit faz
Step	+	+	Basamak
Step height	+	+	Basamak yüksekliği
Stepwise elution		+	Basamaklı yürütme
Stopped-flow injection	+		Akış durdurmalı enjeksiyon
Syringe pump	+		Enjeksiyon pompa
Tailing	+		Kuyruklama
Totally porous packing	+		Gözenekli dolgu
Valve injectors	+		Vana enjektörü
Zone		+	Bölge

2.6. Kaynaklar

1. **Martin,A.J.P., Syngé, R.L.M.,1941.** A new form of chromatogram employing two liquid phases. I. Application to the micro determination of the higher monoamino acids in proteins. *Biochem.J.*, 35, 1358 - 68.
2. **Ettre..L.S., 1979.** The Nomenclature of Chromatography I:Gas Chromatography *J.Chromatogr.*, 165, 235-256.
3. **Kitazume, E.,Sato, N., Ito,Y., 1998.** Concentration of heavy metals by high-speed countercurrent chromatography. *J.Liq.Chrom.& Rel.Technol.*, 21, 251-261.
4. **Sutherland, I.A., Brown,L., Forbes, S., Games, G., Hawes,D., Hostettman,K., McKerrell, E.H., Marston A.,: Wheatley D,: Wood, P.,. 1998.** *J.Liq.Chrom. & Rel.Technol.*,21,279-298.
5. **Lutermann, C.,Dott,W., Hollender,J.,1998.** Combined modifier / insitu derivatization effect on supercritical fluid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil.*J.Chromatogr.A.*, 811,151-156.
6. **Chang, S.H., Gooding, K.M., Regnier, F.E.,1976.** High-performance liquid chromatography in proteins. *J.Chromatogr.*, 125, 103-114.
7. **Ettre,L.S., 1981.** The nomenclature of chromatography II.Liquid chromatography. *J.Chromatogr.*,220,29-63.
8. Recommendations on Nomenclature for Chromatography , **Pure Appl. Chem.**, 37, 447-462, (1974).
9. E. Kılıç ,F. Köseoğlu (Editör) , **Analitik Kimya Temelleri 2** , 7.Baskı, 660-721, Ankara 1999.
- 10.T.Gündüz ,**Instrümantal Analiz** ,2.Baskı, 519-582, Ankara 1990.
- 11.E. Dikman, **Enstrumantal Analiz** ,1.Baskı , 189-203, İstanbul 1985

BÖLÜM 3

POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARIN CAM YÜZEYDE

ADSORPSİYONU

3.1. Giriş

Polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH), çeşitli ortamlarda tayini sırasında birçok problemlerle karşılaşmaktadır (1). Bunlar arasında çözelti hazırlanması ve çalışmalar sırasında kullanılan cam kap yüzeylerine tutunması önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmada bazı PAH'ların cam üzerine adsorpsiyonunu ele alınmıştır.

Su, hava, sigara izmariti gibi ortamlarda PAH miktarları mikro ve nanogram düzeyindedir. Bunları tayin edilebilecek ortama alınmaları ve standart çözeltilerinin hazırlanması sırasında ilk önemli problem çözünürlükleridir. Özellikle suda PAH'ların çözünürlükleri $\mu\text{g/L}$ veya ng/L dolaylarındadır. Organik çözücüler kullanımında da sorunlar yaşanmaktadır. Örneğin Oda ve arkadaşları (2) PAH'ların stok çözeltilerini hazırlarken benzen ya da aseton kullanmayı tercih etmişlerdir. Seyreltmeler yine benzen kullanılarak yapılmış ve hazırlanan standart çözeltiler 25 mL' lik koyu renkli şişelerde ve $+4\text{ }^\circ\text{C}$ ' de saklanmışlardır. Garcia ve grubu (3) bez(a)piren, krisen, benz(b)floranten, benz(k)floranten, benz(a)antrasen, dibenz(a,h) antrasen, indeno(1,2,3-c,d) piren gibi çeşitli PAH'ların 200 $\mu\text{g/L}$ derişimdeki çözeltilerini metilalkol veya diklorometan içinde hazırlamışlardır. Daha sonra hazırlanan standart çözeltiler için ise çözücü olarak asetonitril kullanılmıştır. Bir başka çalışmada (4) ise hem stok çözeltilerin hem de standart çözeltilerin hazırlanmasında etilalkol kullanılmıştır. Bazı araştırmalarda çözücü olarak yalnızca diklorometanın (5,6), bazı çalışmalarda (7-9) ise yalnızca asetonitrilin kullanıldığı görülmektedir. Berset ve arkadaşları (10,11) 16 temel PAH için çözücü olarak toluen kullanılarak 10 $\mu\text{g/l}$ derişimde çözeltiler hazırlamışlardır. Bir çalışmada benz(a)pireninin çözeltilsinin hazırlanmasında metilalkolun kullanıldığı ve karanlıkta, $+4\text{ }^\circ\text{C}$ de saklanan bu çözeltilinin ancak bir ay kararlı kalabildiği ileri sürülmüştür(12). Bazı çalışmalarda (13-15) metanol/kloroform (1:1) karışımı kullanılmıştır. Fernandez (16) stok çözelti hazırlanmasında toluen kullanmış, seyreltmeyi ise asetonitrille yapmıştır.

Ferrer ve grubu (17,18) bazı PAH'ların hazırlanmasında metil alkol veya asetonitril, bazılarını ise asetonitril ve kloroformda hazırlamışlardır. Seyreltmeyi asetonitrille yapmışlardır. Brouwer ve arkadaşları (19) temel PAH'lardan 14 tanesinin çözeltilerinin hazırlanmasında metanol kullanırken dibenz(a,h)antrasen ile benz(g,h,i)perilenin çözeltilerini asetonitrilde hazırlamışlardır. Yalnızca n-heksanın çözücü olarak kullanıldığı çalışmalar literatürde görülmektedir (20). Bir başka çalışmada (21) ise stok çözeltiler asetonitrilde hazırlanırken seyrelme işlemi asetonitril/su karışımı ile yapılmıştır. Çözelti kararlılığının bir ay ile sınırlı olduğu iddia edilmektedir. Kararlılık üzerine yapılan bir başka çalışmada stok çözeltiler metanol ya da diklorometan içinde hazırlanmış ve seyrelmeler asetonitril ile yapılmıştır (3). Kararlılığı artırıcı olarak Brij-35, cetipridyum klorür ve sodyum loril sülfat kullanmışlardır. Başka bir çalışmada (22) stok çözeltiler benzen ile hazırlandıktan sonra, standart çözeltiler asetonitril:su (60:40) karışımı ile hazırlanmıştır. Bütün bu çalışmalar sırasında özellikle PAH'ların çözünürlüğünden kaynaklanan sorunlarla karşılaşmaktadır. Çözünürlüğün yanı sıra PAH'ların bozdukları da yukarıda verilen çeşitli makalelerde ileri sürülmektedir. Bu nedenle çalışmalarda kararlılığı artırıcı, bozunmayı önleyici çözücüler ve katkı maddeleri kullanılmıştır.

PAH'larla yapılan çalışmalar sırasında kullanılan cam ve metal yüzeylerine adsorbe olduğunu iddia eden makalelere de literatürde rastlanılmaktadır. Pinto ve arkadaşlarının (23) yaptığı bir çalışmada PAH'ların cam kaplar üzerine adsorbe olduğuna değinilmiş ve Triton X-14 yüzey aktif maddenin adsorpsiyonu önleyici olduğu iddia edilmiştir. Yine aynı çalışmada polietilen kaplarda adsorpsiyonun çok daha büyük boyutlarda olduğu belirtilmiştir. Garcia ve arkadaşları (3) ise bazı yüzey aktif maddelerin hem kararlılığı artırıcı hem de adsorpsiyonu önleyici etkileri olduğunu kanıtlamışlardır. Bir başka çalışmada (24) balık dokularında PAH'ların kılcal kolon gaz kromatografisi ile yapılan analizinde, kullanılan cam malzemenin temizlenmesi için özel yöntemler önerilmiştir. Bir başka çalışmada (25) cam malzeme önce sabunlu su sonra da deiyonize su ve asetonla yıkanmıştır. Ardından 400°C de 20 dakika bekletilmiş ve kullanıma kadar 70 °C de saklanmıştır.

Yaptığımız bu çalışmada üç polisiklik aromatik hidrokarbon seçilmiş ve bunların n-heksan içinde çözeltileri hazırlanmış, sonra da farklı koşullarda pyrex cam üzerine adsorpsiyonları incelenmiştir.

3.2. Materyal ve Metod

Asetonitril, n-heksan, diklorometan Merck firmasından satın alınmış ve spektroskopik saflığıktadır. Benz(a)piren (BaP), Benz(b)floranten (BbF) ve Floranten (F) "Bureau of Reference Materials" (Belçika) dan alınmış ve % 99 saflığıktadır. Çift destile su kullanılmıştır.

Spektrometre : Ultrospec 2000 UV/Gör.Böl. Spektrometre (Pharmacia Biotech)

İthal (Pyrex-X) ve yerli pyrex (Pyrex-Y) 10 mL'lik mezürler kullanılmıştır.

Deneyleerde kullanılan cam malzemeler aşağıdaki şekilde kullanılmaya hazırlanmıştır.

1. Önce deterjanlı su ile yıkama
2. Yıkama asiti ile yıkama
3. Destile su ile yıkama
4. Etüvde kurutup 60 °C de saklama
5. Deneyleerde kullanılacak çözücü ile yıkama

Kalibrasyon eğrileri üç hidrokarbonun n-heksanda hazırlanan standart çözeltileri kullanılarak çizilmiştir (Şekil 3.1- 3.3). Stok çözeltilerin hazırlanışı ve ölçümler aşağıda anlatılmıştır.

Araştırmanın çok geniş kapsamlı olduğu gözönünde tutularak sınırlama yapılmış iki farklı cam örneği, üç hidrokarbon seçilmiştir. Derişim ve zaman faktörleri incelenmiştir. Farklı çözücüler, karışımlar, katkı maddeleri, pH gibi parametrelerin adsorpsiyona etkileri bir başka çalışmada ele alınacaktır.

Genel olarak örnek cam kapta belirlenen bir süre bekletilmiş. Sonra spektrometrenin küvetine konularak 254 nm'de absorpsiyonu ölçülmüştür. Ayrıca cam yüzeyinde adsorpsiyon derecelerini ölçmek için iki ayrı yöntem izlendi. Birinci yöntemde örnek çözelti aynı kapta farklı süreler bekletilmiş 254 nm' de absorpsiyon ölçülmüştür. İkinci yöntemde ise belli bir zaman cam kapta bekletilen örnek buradan başka bir mezüre aktarılmış. Boşaltılan mezüre n-heksan konularak camdan desorbe olacak PAH miktarı belirlenmeye çalışılmıştır. Diğer taraftan ilk kaptan alınan örnek ikinci bekleme zamanını başka bir cam kapta tamamlamıştır. Ardından ilk işlem tekrarlanmıştır. Daha geniş açıklama Bölüm 3.2.1 ve 3.2.2'de verilmiştir.

3.2.1. Birinci Metodla Yapılan Çalışmalar

BbF

0.1, 0.5, 2 ve 5 ppm derişimlerde n-heksan içinde çözeltiler hazırlandı. Seyrelme yine heksan ile yapıldı. Deney için cam malzeme olarak 10-mL lik mezürler kullanıldı. İthal pyrex camdan yapılmış mezürler içine konan BbF'nin ilk hazırlandığı anda, 10 dakika, 1 saat, 1 gün ve 3 gün sonrasında 254 nm dalga boyunda adsorpsiyonları ölçülmüştür (Tablo 3.1, Şekil 3.4-3.7). Deneyler üç kez tekrarlanmıştır.

Aynı deney bu kez yerli pyrex cam mezür ile tekrarlanmış ve deney sonuçları Tablo 3.2 ve Şekil 3.8-3.11' de verilmiştir.

BaP

0.5, 2 ve 5 ppm derişimlerde n-heksan içinde hazırlanan çözeltiler için yukarıdaki deneyler tekrarlandı. Sonuçlar Tablo 3.3 ve Şekil 3.12-3.14' de verilmiştir. Yerli pyrex ile yapılan çalışmalar ise Tablo 3.4 ve Şekil 3.15-3.17' de verilmiştir.

F

1,5.5 ve 10 ppm heksan içindeki çözeltileri için aynı deneyler ancak farklı zaman aralıkları için tekrar edildi. Sonuçlar Tablo 3.5 ve Şekil 3.18-3.20' de verilmiştir.

3.2.2. İkinci Metodla Yapılan Çalışmalar

n-Heksanda hazırlanan örnek absorpsiyonu ölçüldükten sonra cam kapta 15 dakika bekletildi. Sonra bu çözelti bir başka kaba alındı. Boş kaba ilk çözelti hacmi kadar n-heksan konup absorpsiyon ölçüldü. Aynı şekilde aktarılan çözelti yeni kapta bu kez 2 saat bekletilip aynı işlemler tekrarlandı. Daha sonraki bekletme bir gün sürmüştür. Tüm absorpsiyon ölçümleri 254 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. İşlemler yerli ve ithal pyrex kapta yapılmıştır.

Ayrıca tüm bu çalışmalar BbF ve F içinde tekrarlandı. Sonuçlar Tablo 3.6-3.8 ve Şekil 13.21,13.22'de verilmiştir.

Tüm bu çalışmalara ek olarak 0.5 ppm BaP çözeltisi % 80 asetonitril/su (ileride HPLC de hareketli faz olarak kullanılacaktır) içinde hazırlanmış yukarıdaki biçimde absorpsiyon ölçümleri yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 3.9 ve Şekil 3.23' de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. BbF'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorbsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)

C ppm	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
I)					
0.1	0.027	0.028	0.009	0.022	0.037
0.5	0.107	0.114	0.095	0.110	0.125
2	0.384	0.407	0.380	0.397	0.423
5	1.034	1.035	1.030	1.021	1.058
II)					
0.1	0.028	0.032	0.028	0.026	0.033
0.5	0.121	0.119	0.126	0.113	0.116
2	0.437	0.439	0.443	0.439	0.431
5	1.069	1.079	1.087	1.084	1.064
III)					
0.1	0.030	0.030	0.037	0.027	0.033
0.5	0.114	0.119	0.120	0.115	0.122
2	0.426	0.436	0.442	0.434	0.445
5	1.077	1.089	1.093	1.093	1.107

I,II, III : Deney sayısı

(1) : Çözelti hazırlandığı an

(2) : 10 dakika sonra

(3) : 1 saat sonra

(4) : 1 gün sonra

(5) : 3 gün sonra

Tablo 3.2. BbF'nin Pyrex-Y Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Adsorpsiyon Değerleri (254 nm)

C ppm	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
I)					
0.1	0.035	0.040	0.035	0.033	0.037
0.5	0.129	0.135	0.131	0.129	0.118
2	0.426	0.431	0.438	0.441	0.451
5	1.072	1.065	1.062	1.081	1.068
(1) 10 dakika sonra (2) 1 saat sonra (3) 1 gün sonra (4) 2 gün sonra (5) 20 gün sonra					
II)					
0.1	0.043	0.027	0.034	0.020	
0.5	0.116	0.107	0.117	0.108	
2	0.431	0.424	0.433	0.429	
5	1.056	1.057	1.058	1.053	
III)					
0.1	0.041	0.043	0.048	0.058	
0.5	0.121	0.160	0.123	0.111	
2	0.447	0.445	0.450	0.438	
5	1.112	1.108	1.127	1.109	

(1) : 1 gün sonra
(2) : 2 gün sonra
(3) : 1 hafta sonra
(4) : 20 gün sonra

Tablo 3.3. BaP'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)

C(ppm)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
I)					
0.5	0.097	0.100	0.116	0.101	0.095
2	0.369	0.373	0.373	0.376	0.378
5	0.936	0.952	0.954	0.954	0.953
II)					
0.5	0.100	0.104	0.106	0.110	0.110
2	0.375	0.384	0.386	0.393	0.398
5	0.925	0.936	0.944	0.968	0.948

(1) : Hazırlanmış an
(2) : 10 dakika sonra
(3) : 1 saat sonra
(4) : 1 gün sonra
(5) : 3 gün sonra

Tablo 3.4. BaP'nin Pyrex-Y Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Absorpsiyon Değerleri (254 nm)

C(ppm)	(1)	(2)	(3)	(4)
I)				
0.5	0.103	0.094	0.104	0.087
2	0.383	0.374	0.391	0.383
5	0.967	0.955	0.966	0.927
II)				
0.5	0.112	0.112	0.121	0.113
2	0.391	0.384	0.399	0.394
5	0.959	0.954	0.977	0.934

(1) : 1 gün sonra
(2) : 2 gün sonra
(3) : 1 hafta sonra
(4) : 20 gün sonra

Tablo 3.5. F'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Adsorpsiyon Değerleri (254 nm)

C(ppm)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
I)						
1	0.065	0.070	0.065	0.072	0.101	0.082
5.5	0.326	0.318	0.312	0.364	0.391	0.383
10	0.599	0.601	0.595	0.780	0.821	0.794
II)						
1	0.069	0.065	0.062	0.070	0.097	0.087
5.5	0.336	0.334	0.329	0.333	0.375	0.347
10	0.562	0.598	0.601	0.611	0.632	0.614

- (1) : İlk hazırlandığı an
(2) : 10 dakika sonra
(3) : 1 saat sonra
(4) : 1 gün sonra
(5) : 2 gün sonra
(6) : 5 gün sonra

Tablo 3.6. BaP'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Adsorpsiyon Değerleri (254 nm)

C (ppm)	(1)	(2)	(3)	(4)
	Abs.(254 nm)			
1	0.201	0.194	0.197	0.200
	0.009	0.005	0.009	0.002

- (1) : Hazırlandığı an
(2) : 2 saat sonra
(3) : 2 gün sonra
(4) : 4 gün sonra

Tablo 3.7. BbF'nin Pyrex-Y Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Adsorpsiyon Değerleri (254 nm)

C (ppm)	(1)	(2)	(3)	(4)
1	0.199 0.002	0.204 0.001	0.202 0.000	0.214 0.009

(1) : Hazırlanmış an
(2) : 2 saat sonra
(3) : 2 gün sonra
(4) : 4 gün sonra

Tablo 3.8. F'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Adsorpsiyon Değerleri (254 nm)

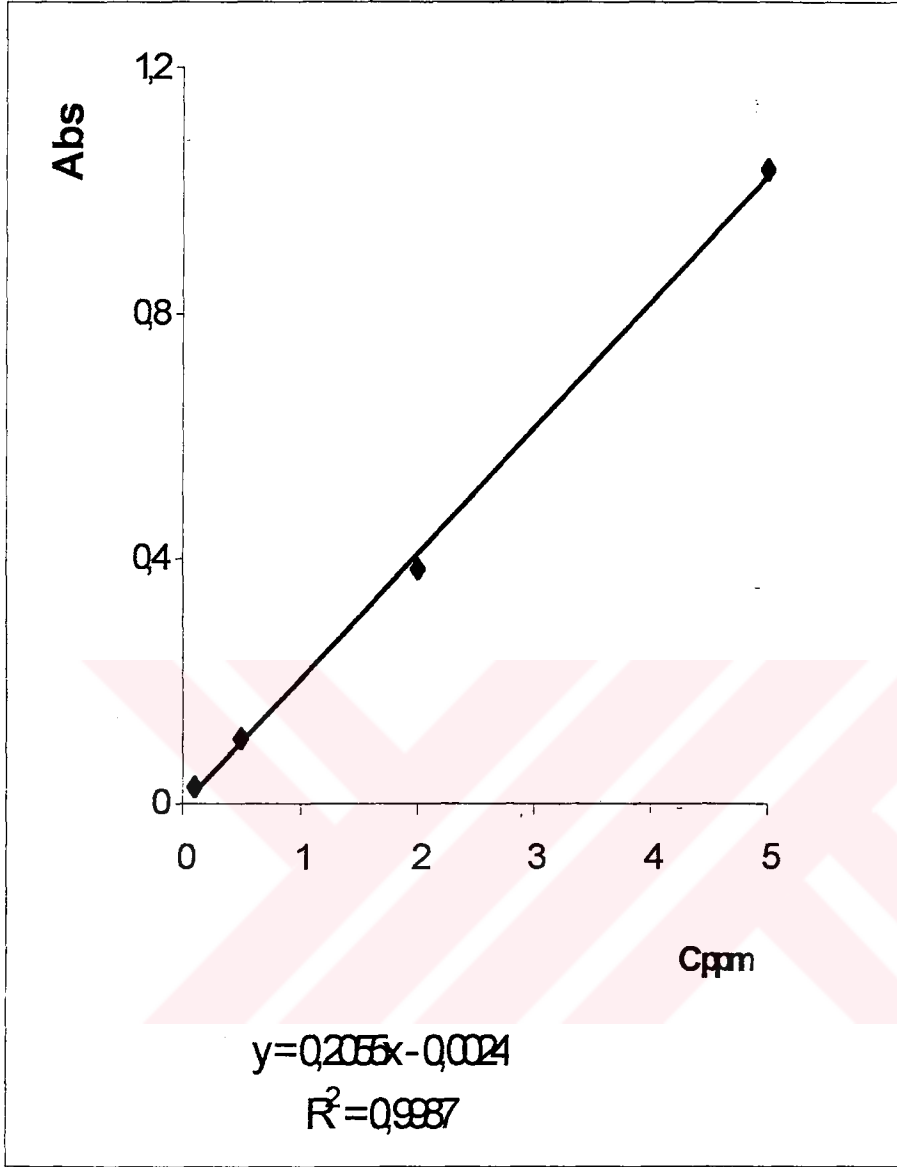
C (ppm)	(1)	(2)	(3)	(4)
1	0.097 0.000	0.097 0.000	0.089 0.003	0.093 0.002

(1) : Hazırlanmış an
(2) : 2 saat sonra
(3) : 2 gün sonra
(4) : 4 gün sonra

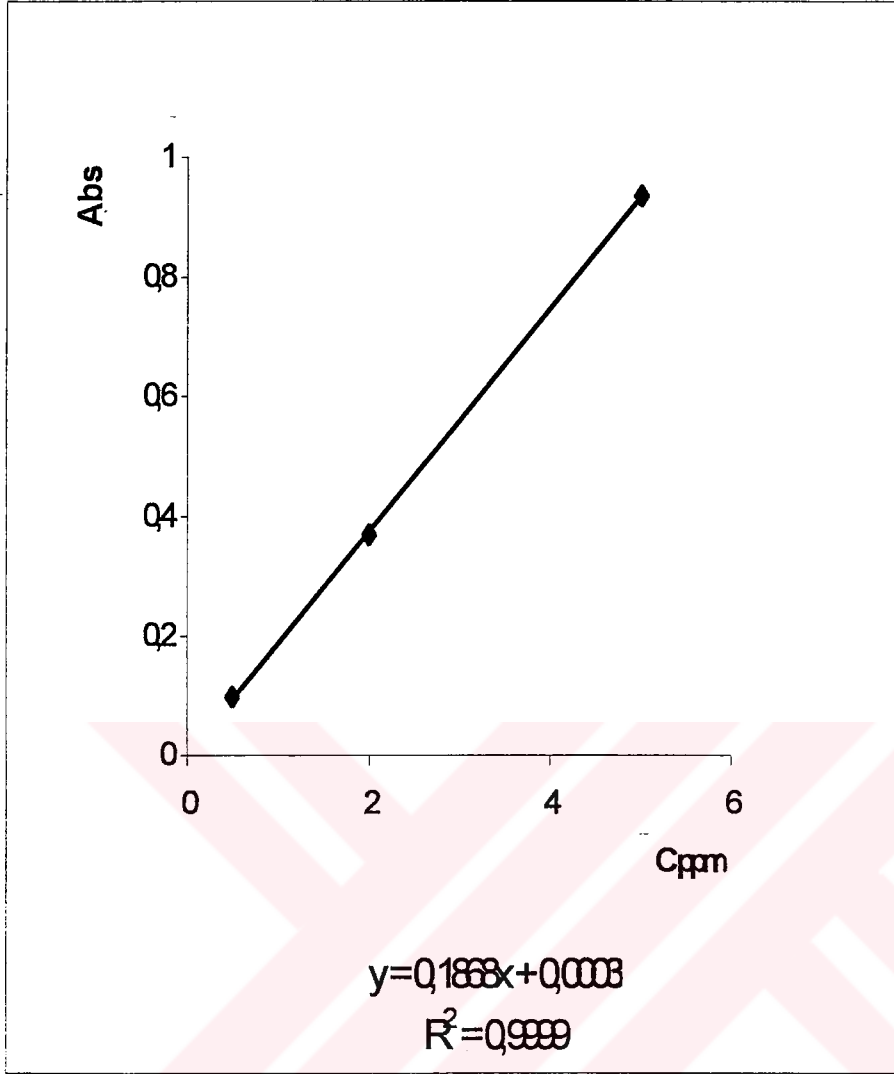
Tablo 3.9. BaP'nin Pyrex-X Üzerinde Adsorpsiyonunun Zamanla Değişimini Gösteren Adsorpsiyon Değerleri (254 nm)

C (ppm)	(1)	(2)	(3)	(4)
0.5	0.107 0.000	0.119 0.005	0.126 0.003	0.148 0.010
	0.094 0.000	0.106 0.008	0.112 0.000	0.129 0.007

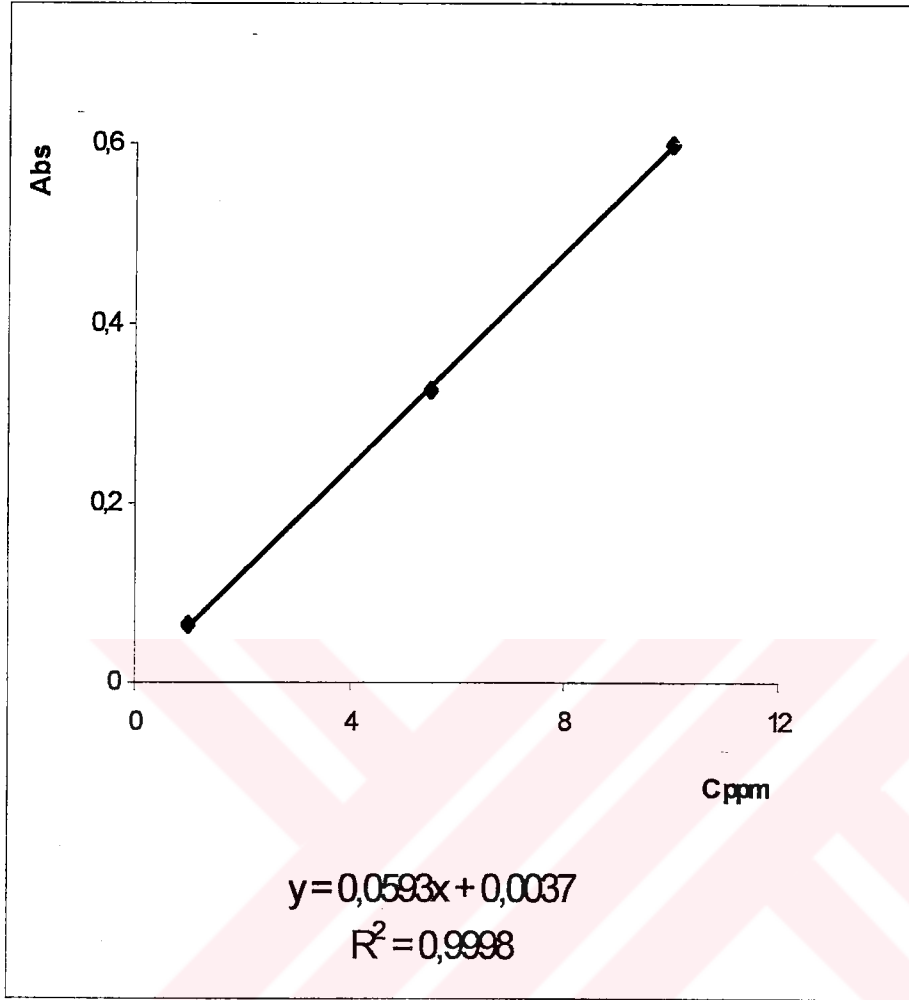
(1) : Hazırlanmış an
(2) : 2 saat sonra
(3) : 2 gün sonra
(4) : 4 gün sonra



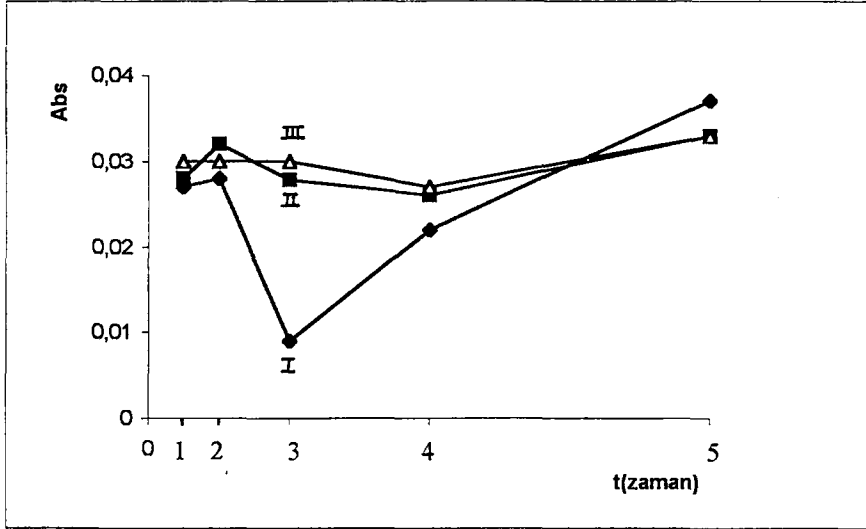
Şekil 3.1. BbF ' nin (n-Heksan içinde) kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.2. BaP ' nin (n- Heksan içinde) kalibrasyon eğrisi

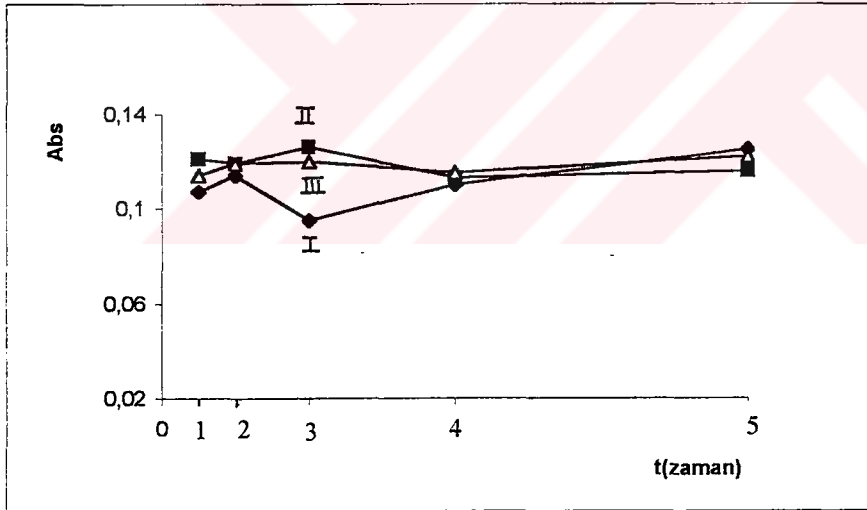


Şekil 3.3. F ' nin (n- Heksan içinde) kalibrasyon eğrisi



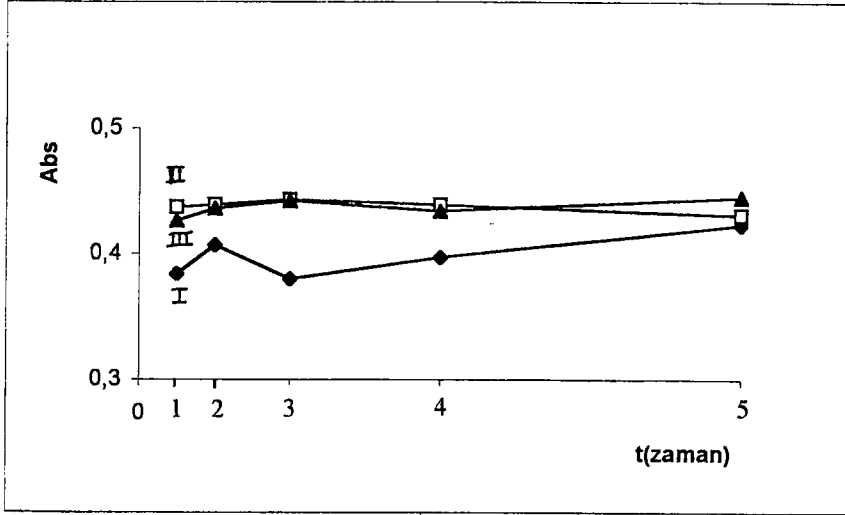
Şekil 3.4. BbF (0,1 ppm) 'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- I,II,III : Deney sayısı
 (1) : Çözelti hazırlandığı an
 (2) : 10 dakika sonra
 (3) : 1 saat sonra
 (4) : 1 gün sonra
 (5) : 3 gün sonra



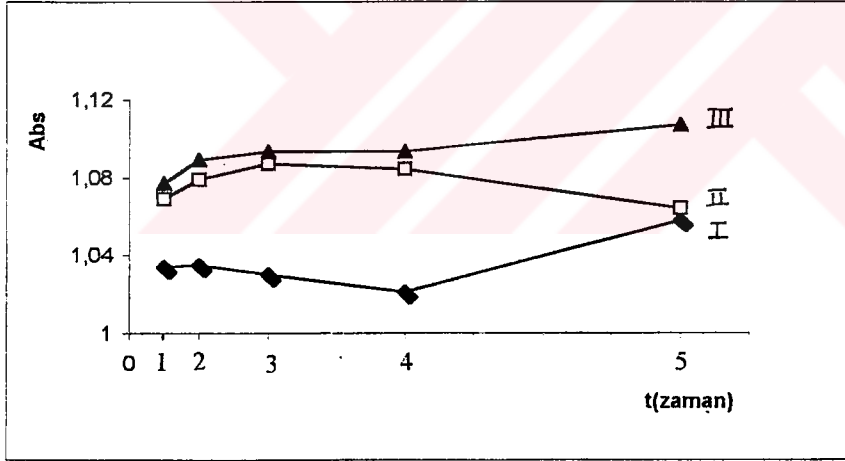
Şekil 3.5. BbF(0,5 ppm) 'nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- I,II,III : Deney sayısı
 (1) : Çözelti hazırlandığı an
 (2) : 10 dakika sonra
 (3) : 1 saat sonra
 (4) : 1 gün sonra
 (5) : 3 gün sonra



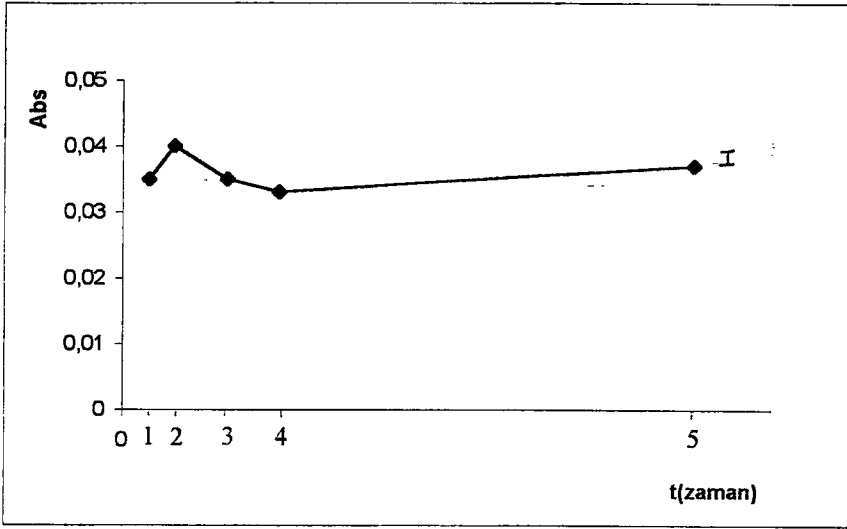
Şekil 3.6. BbF (2ppm) 'nin ithal pyrex kaptı tutunmasının zamanla değışimi

- I,II,III : Deneysel sayısı
 (1) : Çözelti hazırlandığı an
 (2) : 10 dakika sonra
 (3) : 1 saat sonra
 (4) : 1 gün sonra
 (5) : 3 gün sonra



Şekil 3.7. BbF (5ppm) 'nin ithal pyrex kaptı tutunmasının zamanla değışimi

- I,II,III : Deneysel sayısı
 (1) : Çözelti hazırlandığı an
 (2) : 10 dakika sonra
 (3) : 1 saat sonra
 (4) : 1 gün sonra
 (5) : 3 gün sonra



Şekil 3.8a. BbF (0,1 ppm) 'nin yerli pyrex kaptaki tutunmasının zamanla değişimi

I : Deney sayısı

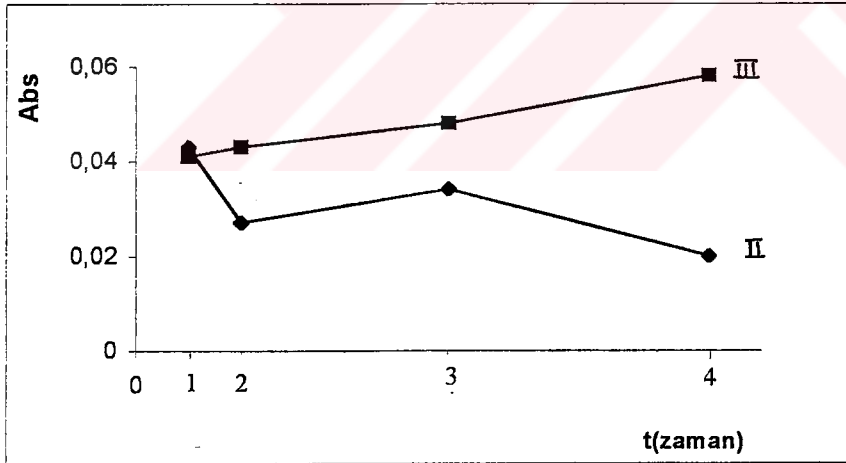
(1) : 10 dakika sonra

(2) : 1 saat sonra

(3) : 1 gün sonra

(4) : 2 gün sonra

(5) : 20 gün sonra



Şekil 3.8b. BbF (0,1 ppm) 'nin yerli pyrex kaptaki tutunmasının zamanla değişimi

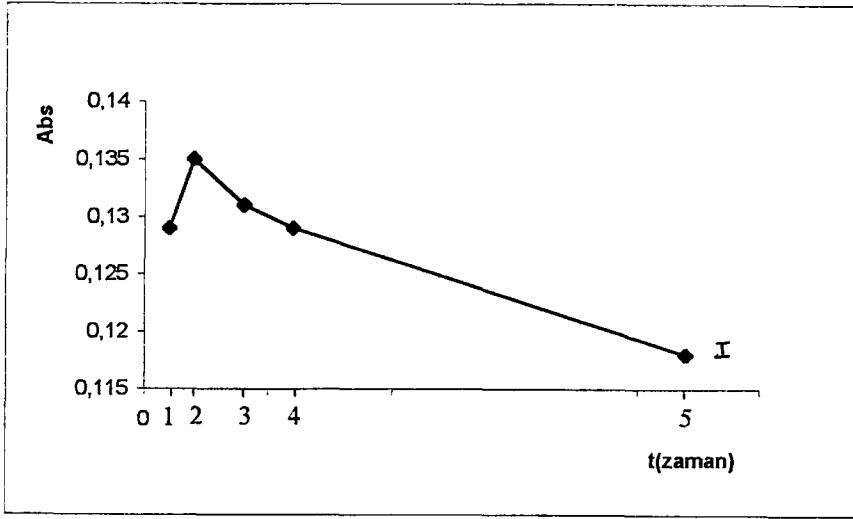
II,III : Deney sayısı

(1) : 1 gün sonra

(2) : 2 gün sonra

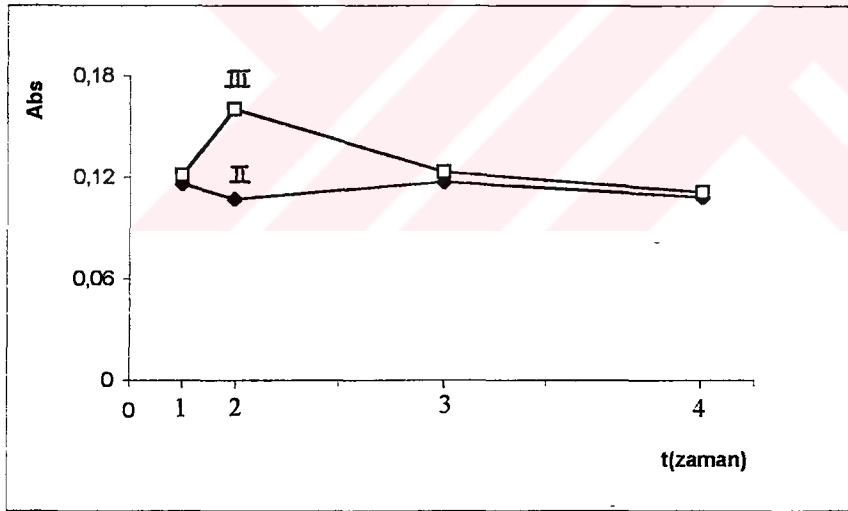
(3) : 1 hafta sonra

(4) : 20 gün sonra



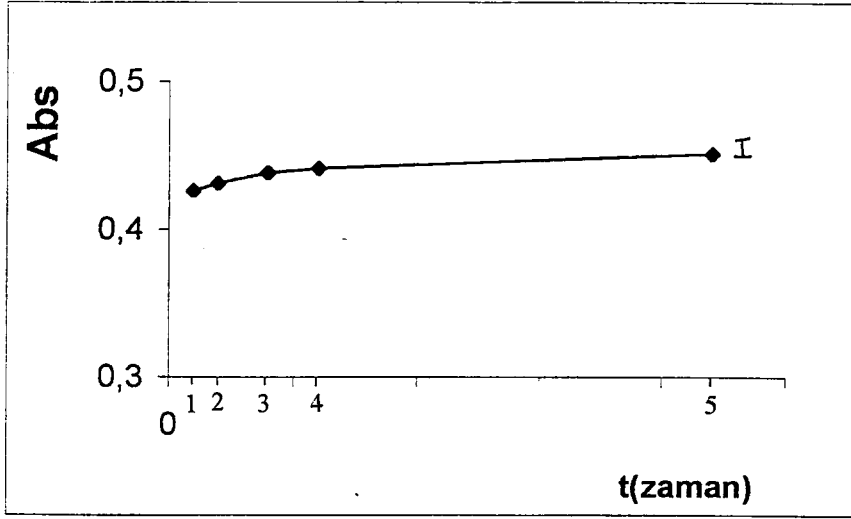
Şekil 3.9a. BbF (0,5 ppm) ' nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- I : Deneş sayısı
 (1) : 10 dakika sonra
 (2) : 1 saat sonra
 (3) : 1 gün sonra
 (4) : 2 gün sonra
 (5) : 20 gün sonra



Şekil 3.9b. BbF (0,5ppm) ' nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- II;III : Deneş sayısı
 (1) : 1 gün sonra
 (2) : 2 gün sonra
 (3) : 1 hafta sonra
 (4) : 20 gün sonra



Şekil 3.10a. BbF (2ppm) 'nin yerli pyrex kaptaki tutunmasının zamanla değişimi

I : Deney sayısı

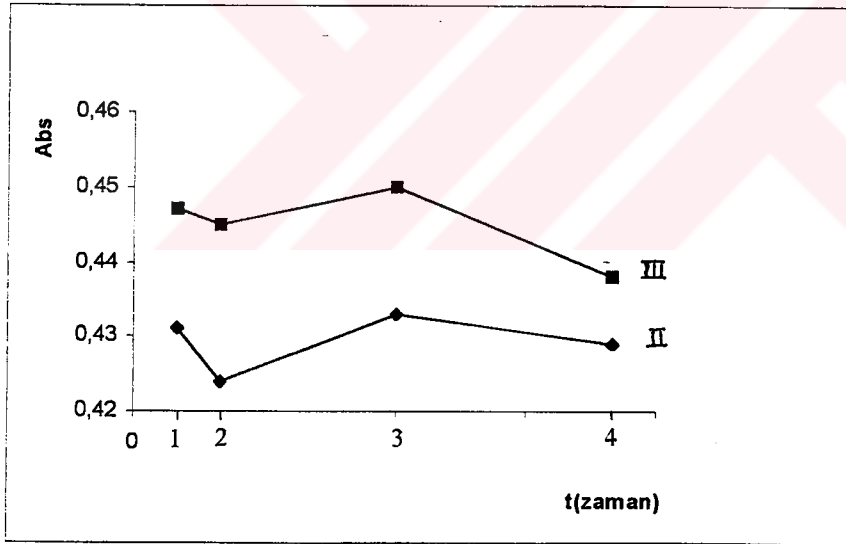
(1) : 10 dakika sonra

(2) : 1 saat sonra

(3) : 1 gün sonra

(4) : 2 gün sonra

(5) : 20 gün sonra



Şekil 3.10b. BbF (2 ppm) 'nin yerli pyrex kaptaki tutunmasının zamanla değişimi

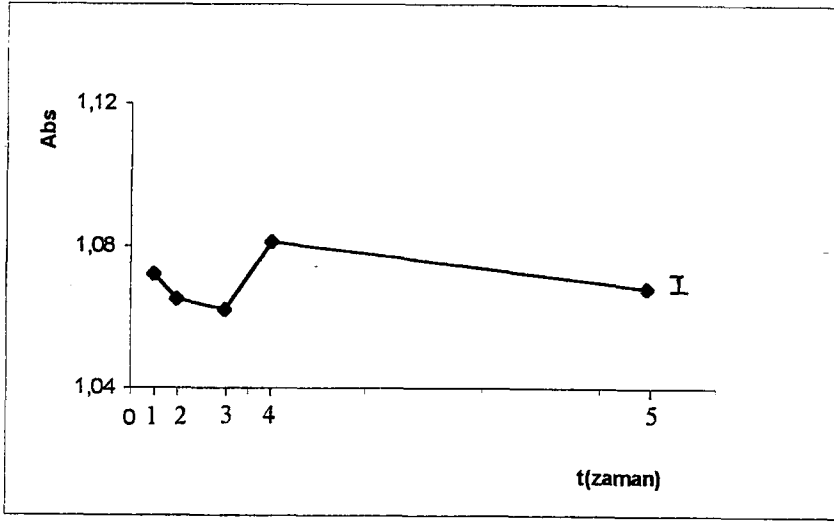
II,III : Deney sayısı

(1) : 1 gün sonra

(2) : 2 gün sonra

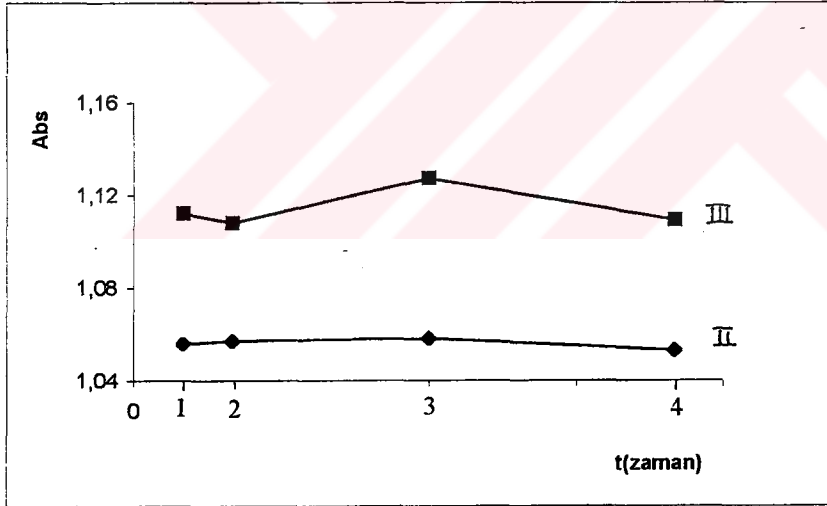
(3) : 1 hafta sonra

(4) : 20 gün sonra



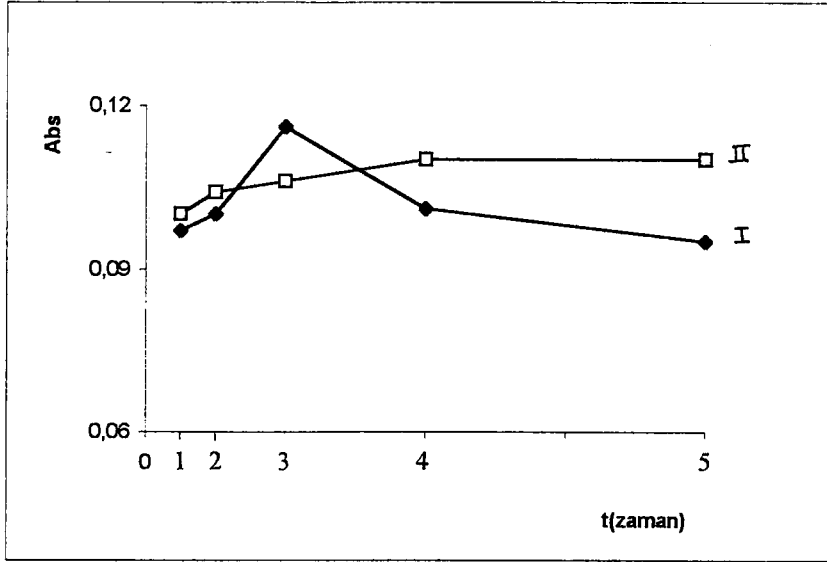
Şekil 3.11a. BbF (5ppm) ' nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- I : Deney sayısı
 (1) : 10 dakika sonra
 (2) : 1 saat sonra
 (3) : 1 gün sonra
 (4) : 2 gün sonra
 (5) : 20 gün sonra



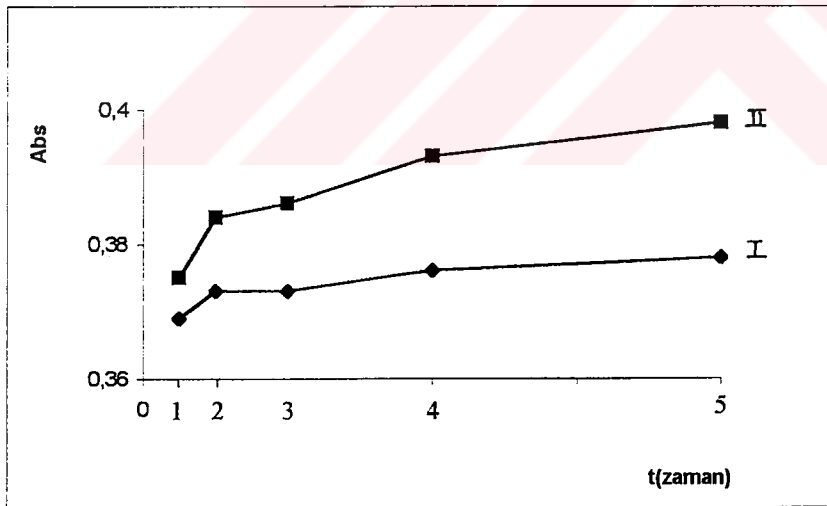
Şekil 3.11b. BbF (5ppm) ' nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- II,III : Deney sayısı
 (1) : 1 gün sonra
 (2) : 2 gün sonra
 (3) : 1 hafta sonra
 (4) : 20 gün sonra



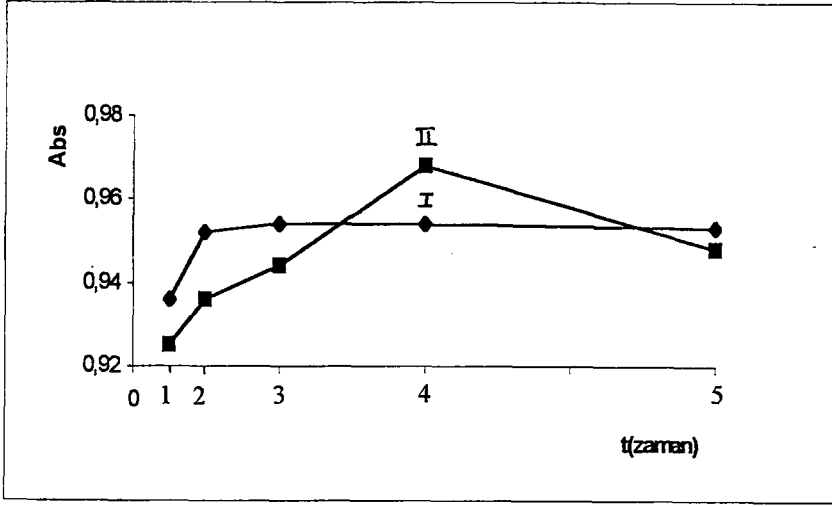
Şekil 3.12. BaP (0,5 ppm) ' nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- I,II : Deney sayısı
 (1) : Çözelti hazırlandığı an
 (2) : 10 dakika sonra
 (3) : 1 saat sonra
 (4) : 1 gün sonra
 (5) : 3 gün sonra



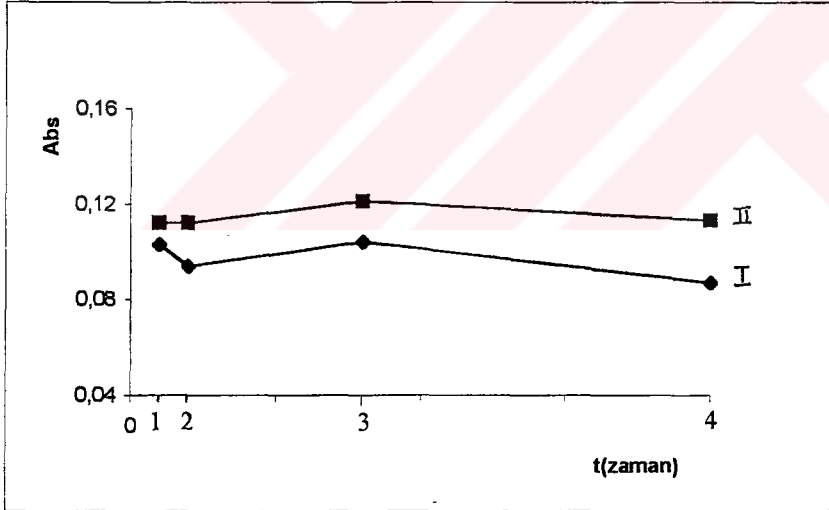
Şekil 3.13. BaP (2 ppm) ' nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- I,II : Deney sayısı
 (1) : Çözelti hazırlandığı an
 (2) : 10 dakika sonra
 (3) : 1 saat sonra
 (4) : 1 gün sonra
 (5) : 3 gün sonra



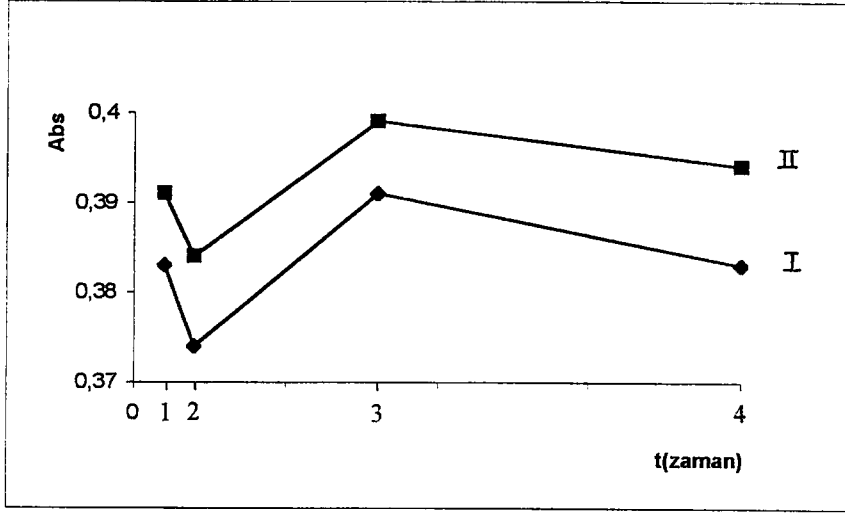
Şekil 3.14. BaP (5 ppm) ' nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanladeğişimi

- I,II : Deneş sayısı
 (1) : Hazırlandığı an
 (2) : 10 dakika sonra
 (3) : 1 saat sonra
 (4) : 1 gün sonra
 (5) : 3 gün sonra



Şekil 3.15. BaP (0,5 ppm) ' nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanladeğişimi

- I,II : Deneş sayısı
 (1) : 1 gün sonra
 (2) : 2 gün sonra
 (3) : 1 hafta sonra
 (4) : 20 gün sonra



Şekil 3.16. BaP (2 ppm) ' nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

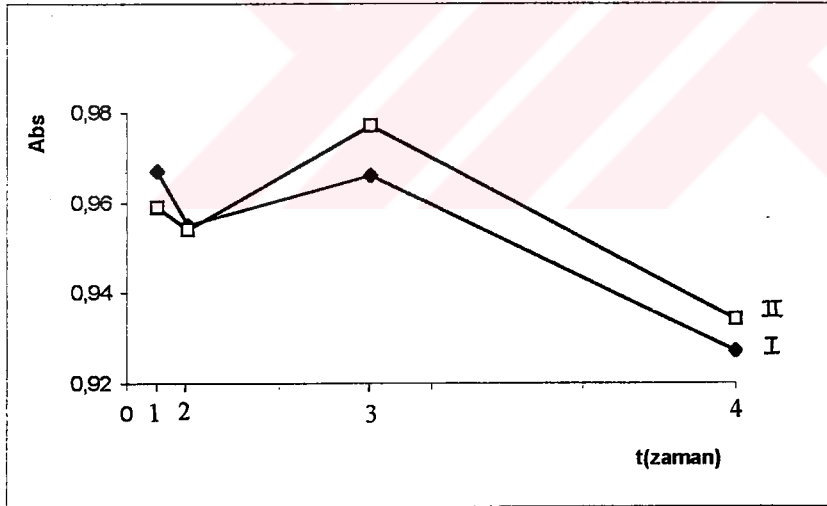
I,II : Deney sayısı

(1) : 1 gün sonra

(2) : 2 gün sonra

(3) : 1 hafta sonra

(4) : 20 gün sonra



Şekil 3.17. BaP (5 ppm) ' nin yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

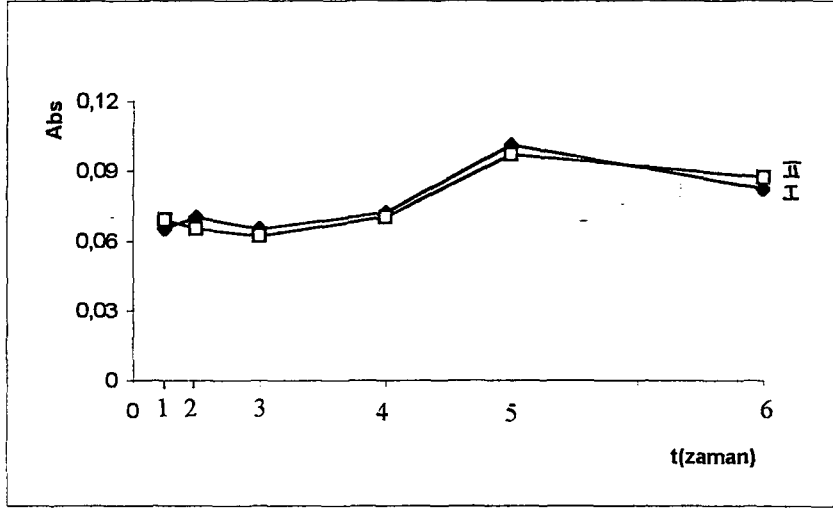
I,II : Deney sayısı

(1) : 1 gün sonra

(2) : 2 gün sonra

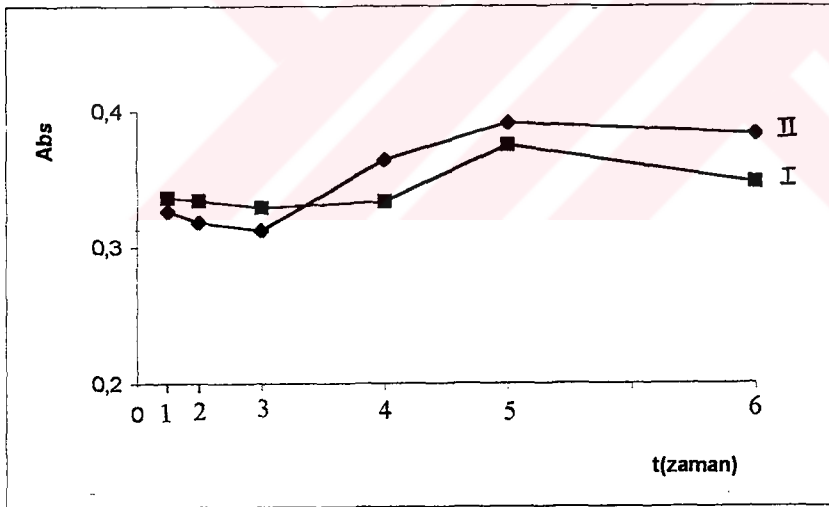
(3) : 1 hafta sonra

(4) : 20 gün sonra



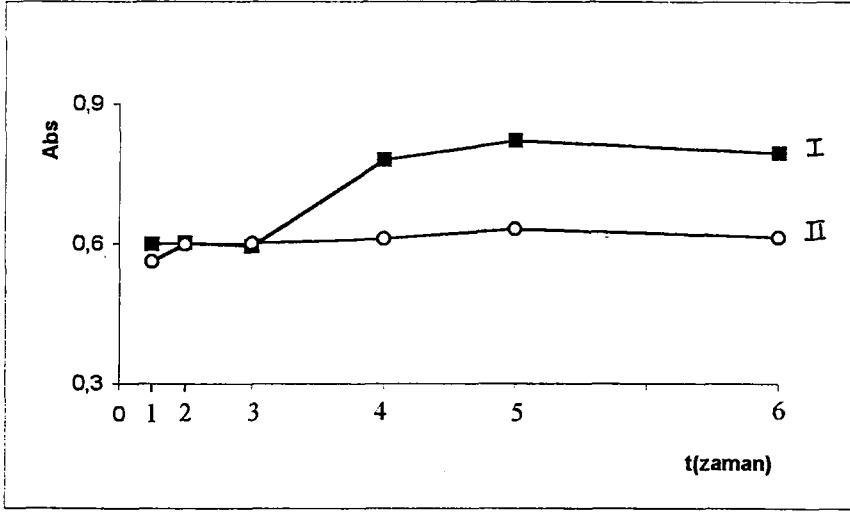
Şekil 3.18. F (1ppm) ' nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- I,II : Deney sayısı
 (1) : Hazırlanıldığı an
 (2) : 10 dakika sonra
 (3) : 1 saat sonra
 (4) : 1 gün sonra
 (5) : 2 gün sonra
 (6) : 5 gün sonra



Şekil 3.19. F (5,5 ppm) ' nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

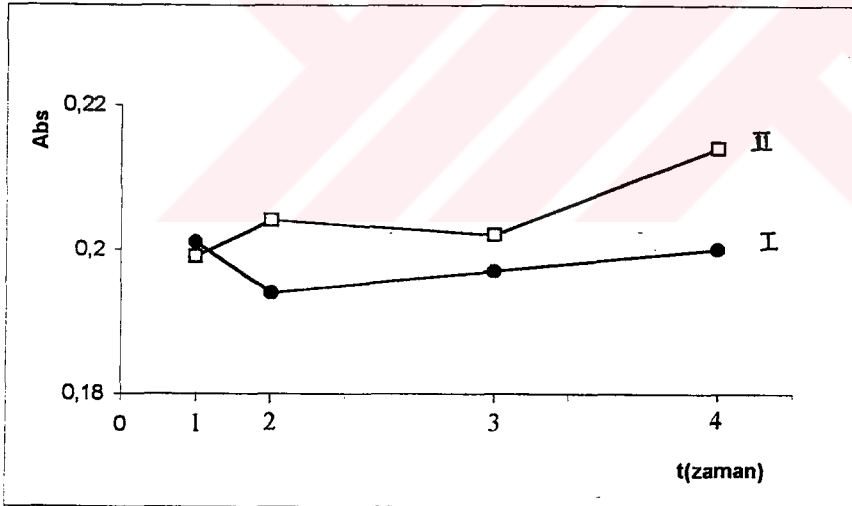
- I,II : Deney sayısı
 (1) : Hazırlanıldığı an
 (2) : 10 dakika sonra
 (3) : 1 saat sonra
 (4) : 1 gün sonra
 (5) : 2 gün sonra
 (6) : 5 gün sonra



Şekil 3.20. F (10 ppm) ' nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

I,II : Deney sayısı

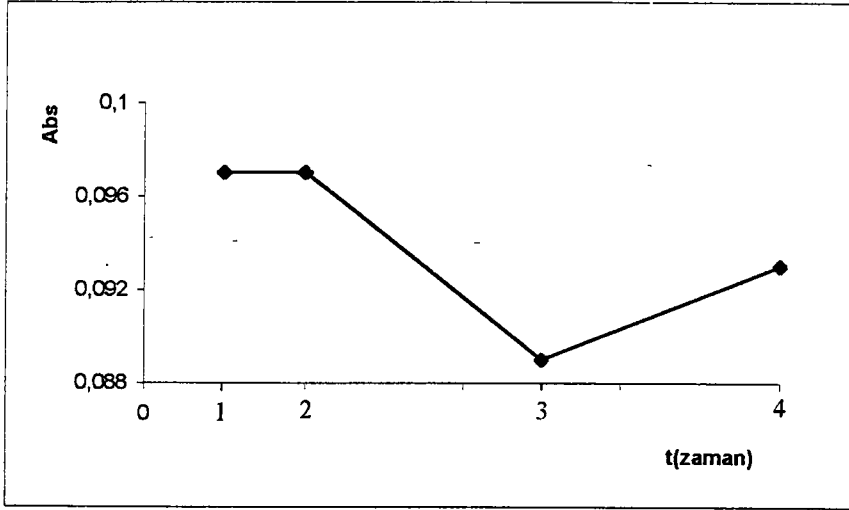
- (1) : Hazırlanmış an
- (2) : 10 dakika sonra
- (3) : 1 saat sonra
- (4) : 1 gün sonra
- (5) : 2 gün sonra
- (6) : 5 gün sonra



Şekil 3.21. BbF (1ppm) ' nin ithal ve yerli pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

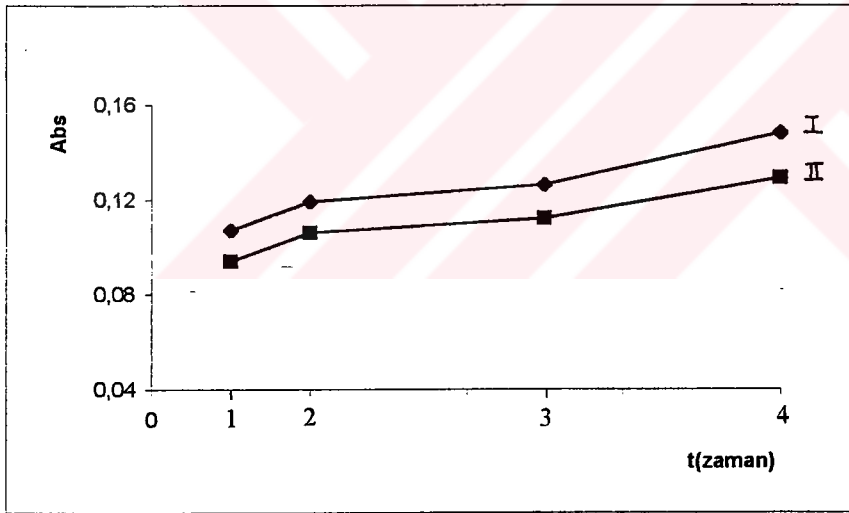
I : İthal pyrex, II : Yerli pyrex

- (1) : Hazırlanmış an
- (2) : 2 saat sonra
- (3) : 2 gün sonra
- (4) : 4 gün sonra



Şekil 3.22. F (1ppm) ' nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- (1) : Hazırlanmış an
- (2) : 2 saat sonra
- (3) : 2 gün sonra
- (4) : 4 gün sonra



Şekil 3.23. BaP (0,5 ppm) ' nin ithal pyrex kapta tutunmasının zamanla değişimi

- I,II : Deney sayısı
- (1) : Hazırlanmış an
- (2) : 2 saat sonra
- (3) : 2 gün sonra
- (4) : 4 gün sonra

3.3. Sonuçlar ve Tartışma

Yöntemler kısmında anlatıldığı gibi cam yüzeye adsorpsiyon iki farklı biçimde belirlenmeye çalışıldı. Aşağıda, tablo ve şekillerin ışığında üç polisiklik aromatik hidro-karbonun pyrex-X ve pyrex-Y üzerine adsorpsiyonları tartışıldı.

3.3.1. I. Metod

BbF

a) Şekil 3.4 ve 3.5' de pyrex-X ile yapılan deney sonucunda 1 saat sonraki ölçümlerde UV absorpsiyonunda azalma gözlenmiştir. Bu azalmanın iki nedeni düşünülebilir; 1) Cam yüzeyine tutunma 2) BbF'nin kabın dibine çökmesi. Aynı şekilde görülen bir başka önemli sonuç, 3 gün sonrasında çözelti absorpsiyonunda ilk ölçümlerden de büyük değerler bulunmasıdır. Absorpsiyonda görülen bu artışın nedeni olarak PAH çözeltilerinin kararsızlığı öne sürülebilir. Çünkü benzer sorunlar kalibrasyon eğrilerinin çiziminde de gözlemlendiği için günlük kalibrasyon eğrileri çizilerek kullanılmıştır.

b) Pyrex-Y ile yapılan çalışmada biraz farklı bir durum göze çarpmaktadır. Şekil 3.8a'da (0.1 ppm) zamanla bir azalmanın ardından absorpsiyon yine yükselme eğilimindedir. Şekil 3.8b'de iki deneyin birinde azalma diğerinde yükselme görülüyor. Literatürde de belirtildiği BbF çözeltisinin kararsızlığı bir kere daha gözlenmektedir.. Şekil 3.9a-b ve Şekil 10.a-b'de absorpsiyonda görülen azalma hayli ilginçtir. Absorpsiyonlardaki azalmalara neden olarak pyrex-Y üzerinde tutunma ve çözeltide görülen çökme söylenebilir.

Aynı şeyler 5 ppm derişimdeki çözeltiler için de geçerlidir. Yüksek derişim nedeniyle değişim bağlı olarak daha az olmaktadır (Şekil 11a-b).

BaP

a) Çözeltilerde genel bir kararsızlık göze çarpmaktadır.

b) 0.5 ppm derişimdeki çözelti için pyrex-X kaptaki absorpsiyon değişmez iken, 2 ppm'lik çözeltide absorpsiyon artmaktadır.

Yine 5 ppm'lik çözelti ile (Şekil 3.14) pyrex-X camda yapılan çalışmada absorpsiyon zamanla artış göstermiştir. 0.5 ppm derişimde ise pyrex-Y camla yapılan çalışmada önemli bir değişim gözlenmemiştir (Şekil 3.15).

Şekil 3.16 ve 3.17 incelendiğinde absorpsiyon 2 gün sonra azalma, 1 hafta sonra yükselme ve daha sonra tekrar azalma göstermiştir.

F

Florantenin absorpsiyon grafiklerinde (Şekil 3.18-3.20) diğer PAH'lara göre daha yüksek kararlılık göze çarpmaktadır. Ancak absorpsiyonda çok az da olsa bir yükselme eğilimi gözlenmektedir. Bunun nedeni cam yüzeyde adsorpsiyonunun zamanla artışına bağlanabilir.

3.3.2. II. Metod

Bu yöntemde çözelti pyrex-X ve pyrex-Y kapta bir süre bekletilmiş. Sonra bu çözelti başka bir kaba alınmış, ilk kaba çözücü konarak absorpsiyon ölçülmüştür. Bulunan UV absorbans değeri cama adsorbe olan PAH'ın kantitatif değerlendirmesinde kullanılmıştır.

a) Şekil 3.21'de BbF'nin n-heksan çözeltisi ile yapılan çalışmalar gösterilmiştir. İthal ve yerli pyrex camla çalışılmıştır. Her ikisinde de zamanla absorpsiyon artış göstermektedir. Bu durum cam yüzeye adsorpsiyonunun zamanla arttığına göstergesidir. Ancak cam yüzeyinde bir sıvı filminin kalması ve içinde PAH varlığı sorun olabilir. Nitekim absorpsiyonların zamanla büyük sapmalar göstermesi bunun göstergesi olarak düşünülebilir.

b) Şekil 3.22'de pyrex-X ile yapılan çalışmada önce adsorpsiyonda azalma gözlenmiştir. Bunu Florantenin bir miktarının çözücüden çökmüş olması ihtimaline bağlayabiliriz. Ancak iki günden sonra absorpsiyondaki artış, camda absorpsiyonun meydana geldiğinin kanıtı olarak kabul edilebilir.

c) Şekil 3.23, BaP'nin %80 asetonitril/su karışımındaki çözeltisi kullanılarak çizilmiştir. Yapılan iki deney sonucunda cam yüzeyinde adsorpsiyonunun zamanla muntazam bir artış gösterdiği kanısına varılmıştır.

3.3.3. Sonuçlar

1. Aynı kap içinde çözeltinin bekletilmesi ile yapılan adsorpsiyon ölçümleri, cam yüzeyine adsorpsiyonu belirlemede sağlıklı bir yaklaşım olamamaktadır (Metod I).
2. Eğrilerde meydana gelen değişimin,
 - a) cam yüzeye adsorpsiyondan,
 - b) PAH'ın düşük çözünürlük nedeni ile topaklaşp dibe çökmesinden,
 - c) PAH'ın zamanla bozunarak gösterdiği kararsızlıktan,kaynaklandığı düşünülebilir. Bunlar daha ayrıntılı araştırılması gereken noktalar-
dır.gereken noktalardır.
3. II. metodla yapılan çalışmadan cam yüzeyinde adsorpsiyon olayının gerçekleştiği kanısına varılabilir. pyrex-X ve pyrex-Y yüzeyine PAH'lar zamanla artan oranda adsorbe olduğu kanısına varılmıştır. Adsorpsiyonun multimoleküler olma ihtimali yüksektir.
4. n-Heksandan sonra asetonitril/su çözeltisinden pyrex-X'e adsorpsiyon daha belir-
gindir. Bu yönde daha ayrıntılı çalışmalar yapılacaktır.
5. Yapılan alışmalar elektronik mikroskop ve HPLC ile desteklenir biçimde sürdürül-
mektedir.

3.4. Kaynaklar

1. **Marvin, C.H., Smith, R.W., Bryant D.W., McCarry B.E., 1999.** Analysis of high-molecular-mass polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J.Chromatogr. A.*, 863, 13-24.
2. **Oda, J., Mori, T., Yasuhara, A. Saito, Y., 1998.** The relative proportions of polycyclic aromatic hydrocarbons and oxygenated derivatives in accumulated organic particulates as affected by air pollution sources. *Environ. Tech.*, 19, 961-976.
3. **Garcia, A.L., Gonzales, E.B., Alonso J.I.G., A.Sanz-Medel. 1992.** Potential of micelle-mediated procedures in the sample preparation steps for the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in waters, *Anal.Chim.Acta*, 264, 241-248.
4. **Delgado, M.A.R., Sanchez, M.J., Gonzales, V. Montelongo, F.G. 1995.** Prediction of retention for substituted and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbons in micellar liquid chromatography in the presence of organic modifiers. *J.Chromatogr. A.*, 71-80.
5. **Özcimder, M. Gümrukçüoğlu, H., 1987.** Yüksek basınç sıvı kromatografisi ile tütün zifrinde benz(a)piren tayini. *O.M.Ü. Fen Der.*, 1, 70-75
6. **Miege, C. Dugay, J., Hennion, M.C., 1998.** Optimization and validation of solvent and supercritical-fluid extractions for the trace-determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges by liquid chromatography coupled to diode-array and fluorescence detection. *J.Chromatogr.A.*, 823, 219-230.
7. **Negrao, M.R., Alpendurada M.F., 1998.** Solvent-free method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waste water by solid-phase microextraction-high performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *J.Chromatogr. A*, 823, 211-218.
8. **Nirmaier, H.P., Fischer, E., Meyer, A., Henze, G., 1996.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples using high-performance liquid chromatography with amperometric detection. *J.Chromator. A.*, 130, 169-175..
9. **Tomaniova, J.H., Pavelka, J. jr. Kocourek, V., Holadova, K. and Klimova, I. 1998.** Microwave-assisted solvent extraction-a new method for isolation of polycyclic aromatic hydrocarbons from plants. *J.Chromatogr. A.*, 827, 21-29.

10. **Berset, J.D., Holzer, R., Hani, H., 1998.** Solving coelution problems on a smestic-liquid crystalline polysiloxane capillary column for the determination of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. *J.Chromatogr. A.*, 823,179-187.
11. **Berset, J.D., Holzer, R.,1999.** Quantitative determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, polchlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in sewage sludges using supercritical fluid extraction and mass spectrometric detection. *J.Chromatogr. A.*, 852,545-558.
12. **Kruijf, de N., Schouten, T. and van der Linden, G.H.D. 1987.** Rapid determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brew by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J.Agric. Food Chem.*, 35, 545-549.
13. **Chen,B.H., Wang,C.Y. and Chiu,C.P. 1996.** Evaluation and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by liquid chromatography. *J.Agric.Food Chem.*, 44, 2244-2251.
14. **Chen, B.H. and Lin,Y.S. 1997.** Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons during processing of duck meat. *J.Agric Food Chem.*, 45, 1394-1403.
15. **Nguyen, A.L. and Luong, J.H.T. 1997.** Separation and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by solid phase microextraction/cyclodextrin-modified capillary Eelectrophoresis. *Anal.Chem.*, 69, 1726-1731.
16. **Fernandez, J. M., Garcia, C. Garcia-Villanova, R.J. and Gomez, J.A. 1996.** Evaluation of liquid-liquid extraction and liquid-solid extraction with a new sorbent for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in raw and finished drinking waters. *J.Agric.Food Chem.*, 44, 1785-1789..
17. **Ferrer, R.,Guiteras, Beltran, J.L. 1997.** Development of fast-scanning fluorescence spectra as a detection system for high performance liquid chromatography determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *J.Chromatogr. A.*, 779, 123-130.
18. **Ferrer, R., Beltran, J.L., Guiteras. 1996.** Use of cloud point extraction methodology for the determination of PAHs priority pollutants in water samples by

- high performance liquid chromatography with fluorescence detection and wavelength programming. *Anal.Chim.Acta*, 330, 199-206.
19. **Brouwer, E.R., Hermans, A.N.J., Lingeman, H. and Brinkman, U.A.Th. 1994.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water by column liquid chromatography with fluorescence detection, using on-line micelle-mediated sample preparation. *J.Chromatogr. A.*, 669, 45-57.
 20. **Ogan, K., Katz, E. and Slavin, W. 1979.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples by reversed-phase chromatography. *Anal Chem.*, 51,1313-1320.
 21. **Risner, C.H. and Conner, J.M. 1991.** The quantification of 4-to 6-ring polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor air samples by high-performance liquid chromatography, *L.Liq.Chrom.*, 14, 437-463.
 22. **Wheatley,A.D.,Sadhra,S.1998.** Use of fluorescence emission spectra for the routine identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid chromatography. *J.Liq.Chrom. & Rel.Technol.*,21(16),2509-2521.
 23. **Pinto,C.G, Pavon,J.L.P.,Cordero,B.M.,1994.** Cloud point preconcentration and high-performance liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons with fluorescence detection. *Anal. Chem.*, 66, 874-881 .
 24. **Vassilaros,D.L., Stoker,P.W., Booth,G.M.,Lee,M.L., 1982.** Capillary gas chromatographic determination of polycyclic aromatic compounds in vertebrate fish tissue. *Anal.Chem*, 54, 106-112 .
 25. **Chattopadhyay,G., Samanta,G., Chatterjee,S.,Chakraborti,D.,1988.** Determination of particulate phase polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air of Calcuta for three years during winter. *Environ.Tech*, 19, 873-882.

BÖLÜM 4

BENZ(b)FLORANTENİN (BbF) XAD-2 KOLONUNDAN GERİ KAZANILMASI

4.1. Giriş

Önceki bölümlerde farklı ortamlarda PAH tayinlerinin sağlık açısından ne derece önemli olduğuna değinildi. Havada, suda, gıda maddelerinde bulunan bu maddelerin kalitatif ve kantitatif tayininde izlenen basamaklar aşağıdaki şekilde sıralanabilir.

1. PAH'ların ekstraksiyonu
2. Fraksiyonlama ve zenginleştirme
3. Tayin

Yapılan bu çalışma PAH'ların ekstraksiyonuna, fraksiyonlamaya ve zenginleştirme işlemine katkı sağlamayı amaçlamaktadır.

4.2. Ekstraksiyon ve Örnek Hazırlama İşlemi

PAH'ların buldukları ortamdan alınmaları genellikle sıvı-katı, sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile yapılır. Aşağıda bu proseslere kısaca değinilmiştir. Silikajel, alumina, florisil, karbon, diatome toprağı gibi adsorbanlar kullanılır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Örnek Temizlemede Kullanılan Adsorbanlar⁽¹⁾

Adsorban	Bileşim
Silikajel	$\text{SiO}_2 \cdot \text{XH}_2\text{O}$
Alumina	$\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{XH}_2\text{O}$
Florisil	magnezyum silikat
Selit	diatome toprağı
Karbon	aktif karbon

4.2.1. Katı Faz Ekstraksiyonu

Küçük partiküllü adsorbanlarla doldurulmuş küçük kartuşlar kullanılır. Sıvı-sıvı ekstraksiyonlarda bazı pratik problemler, katı-sıvı faz ekstraksiyon yönteminin tercih edilmesinde önemli olmuştur. Bunun nedenleri arasında sıvı ekstraksiyonda oldukça yüksek hacimlerde ve saflığı yüksek çözücülerin kullanılması, ekstraksiyonun uzun zaman alması sayılabilir. Katı-faz ekstraksiyonu son yıllarda sıklıkla kullanılmakta ve hızlı bir gelişme göstermektedir (2-4). Katı faz ekstraksiyonda kullanılan adsorbanlar genellikle aktif karbon, XAD'ler, poliüretan köpükler ve iyon değiştirici reçinelerdir. Bu adsorbanların özellikleri ve kullanım alanları aşağıda kısaca açıklanmıştır.

4.2.1.1. Granül Aktif Karbon

Yüzey alanı büyük (300-2000 m²/g), poröz maddelerdir. Odun kömürünün düşük sıcaklıkta oksidasyonundan elde edilir. Düşük moleküllü bileşikler için düşük kapasitelidir fakat apolar bileşiklerin izolasyonunda başarıyla uygulanır. İçme suyu ve yüzey sularında çözülmüş organik bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılır. Kullanımında kimyasal ve fiziksel özelliğinde değişim, düşük desorpsiyon, temizlemedeki zorluklar dezavantajlarıdır. Geri alınabilirlik genellikle çok düşüktür.

Buna rağmen özellikle içme sularında ve yüzey sularında bazı organiklerin tayininde sıklıkla uygulanır. Örneğin sudan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), poliklorlü bifeniller (PCB) (5), pestisitler (6), sülfonil herbisitler (7), karbamatlar, karbonatlar, uçucu klorlü bileşikler grafit karbon siyahı ile ekstrakte edilip, çeşitli kromatografik yöntemler (GC-MS, HPLC, GC-HPTLC) ile tayin edilmiştir.

4.2.1.2. Poliüretan Köpük Sorbentler

Suda çözünmeyen nötral organik bileşikler için kullanılır. Poliüretan gözenekleri 1-10 µm çaplı küresel partiküllerle sıkışmış sert ve yüksek geçirgen yapıda bağlanır. Polinükleer aromatik hidrokarbonlar ve nötral pestisitlerin kazanılmasında kullanılır (1).

4.2.1.3. İyon Değiştirici Reçineler

Silika bağlı polimerik iyon değiştiriciler düşük molekül ağırlıklı karboksilik, sülfonik, fosforikasitler, fenoller, amidler, aminler, inorganik iyonların sudan ve biyolojik sıvılardan izolasyonunda kullanılır.

Çeşitli metabolik hastalıkların belirlenmesinde, klinik numunelerden amino asit, organik asit, nükleosit, nükleotit izolasyonunda, sentetik yakıtlardan organik asit ve bazların kazanılmasında kullanılır. İyon değiştirici reçinelerinin hidrofobik özelliği, küçük gözenek hacmi ve poröz yapıda oluşu, kolay bozulmasından dolayı yüksek moleküllü maddelerin izolasyonunda yetersiz kalır. Proteinler, polipeptitler, nükleik asitler, polinükleotitler ve polisakkaritler genellikle sellüloz yada agarose gibi iyon değiştiricilerle izole edilirler. Son yıllarda makroağlı poröz polimer ve iyon değiştiricilerin kombinasyonu az uçucu yada uçucu olmayan çözünmeyen organik maddelerin izolasyonunda kullanılır (1).

4.2.1.4. Makroağlı Poröz Polimer Sorbentler (XAD)

Bu tür sorbentler stirendivinil benzen kopolimerler gibi süspansiyon polimerizasyon ile hazırlanır. Tablo 4.2 de XAD reçinelerinin bazı fiziksel özellikleri verilmiştir.

XAD reçineleri ile çeşitli ortamlardan alkol, aldehit, keton, ester, eter, halojenli bileşikler, aromatik bileşikler, pestisitler, plastikler ve endüstriyel kimyasallar % 80-100 oranlarında ppb, ppt düzeyinde zenginleştirme yapılabilir. Reçinelerin kullanımında en büyük dezavantaj, eser analizlerde çok dikkatli bir temizleme yapılması gerekliliğidir. Reçine genellikle metilalkol içinde kapaklı cam şişelerde saklanır. Kuru halde saklanması uygun değildir. Çözücü değişimi yada kuru halde saklamada reçine taneciklerinin büyümesi veya büzülmesi, ufalanması söz konusu olabilir (1).

Son yıllarda XAD reçineleri birçok analizde kullanılmaktadır. Özellikle sularda eser miktardaki organik kirleticilerin ekstraksiyonunda zenginleştirilmesinde büyük oranda kullanılır. Kreinl (8) musluk suyunda atrazine, pyrazon, lindan gibi pestisitleri XAD-2 kolonunda konsantre etmiştir. Başka bir çalışmada humik, fulvik asitler ve pestisitler içme suyundan ekstrakte edilerek tayin edilmiştir (9).

Yapılan çalışmada PAH'ların apolar karakteri nedeni ile XAD-2 (apolar) tercih edilmiştir. PAH'lar içinden de molar absorptivitesi büyük olması nedeni ile BbF seçilmiştir. Bu bölümde öncelikle XAD-2'nin çeşitli çözücüler karşısında davranışı UV spektrometre yardımı ile incelenmiştir.

Tablo 4.2. XAD Reçinelerinin Bazı Özellikleri⁽¹⁾

Reçine	Yapı	Yüzey Alanı m ² /g	Gözenek Çapı A°
XAD-2	poliaromatik APOLAR	300	90
XAD-4	poliaromatik APOLAR	725	40
XAD-7	akrilik ester ORTA DERECEDE POLAR	450	90
XAD-16	poliaromatik POLAR	800	100
XAD-1180	poliaromatik POLAR	600	300
XAD-2000	poliaromatik POLAR	580	42

4.3. Materyal ve Metod

4.3.1. Materyal

Benz(b)floranten (BbF) " Community Bureau of Reference Materials" (Belçika) firmasından satın alınmıştır. %(99) saflıktadır. Amberlite XAD-2 (yüzey alanı : 330 m²/g, gözenek çapı : 90 A°) Sigma firmasından satın alınmıştır. n-Heksan, aseton, metilalkol,

diklorometan spektroskopik (Merck), asetonitril HPLC (Merck) saflıktadır. Çift destile su kullanılmıştır.

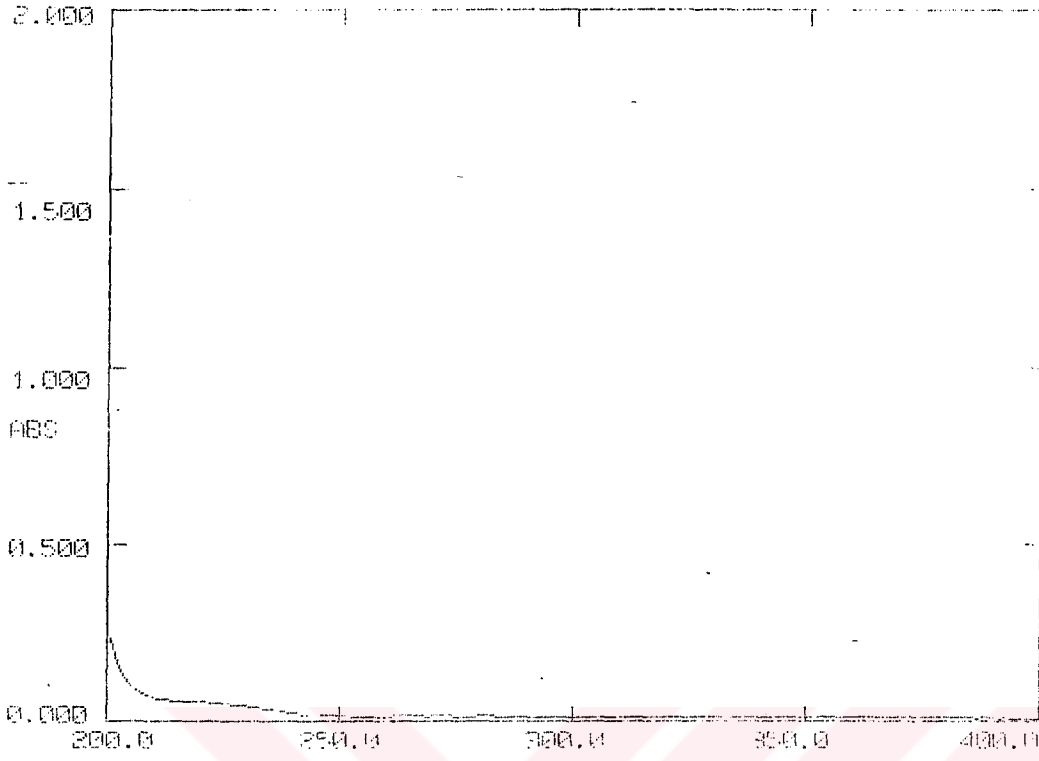
Spektrometre : Varian DMS-100,UV Görünür Bölge Spektrometresi.

4.3.2. Metod

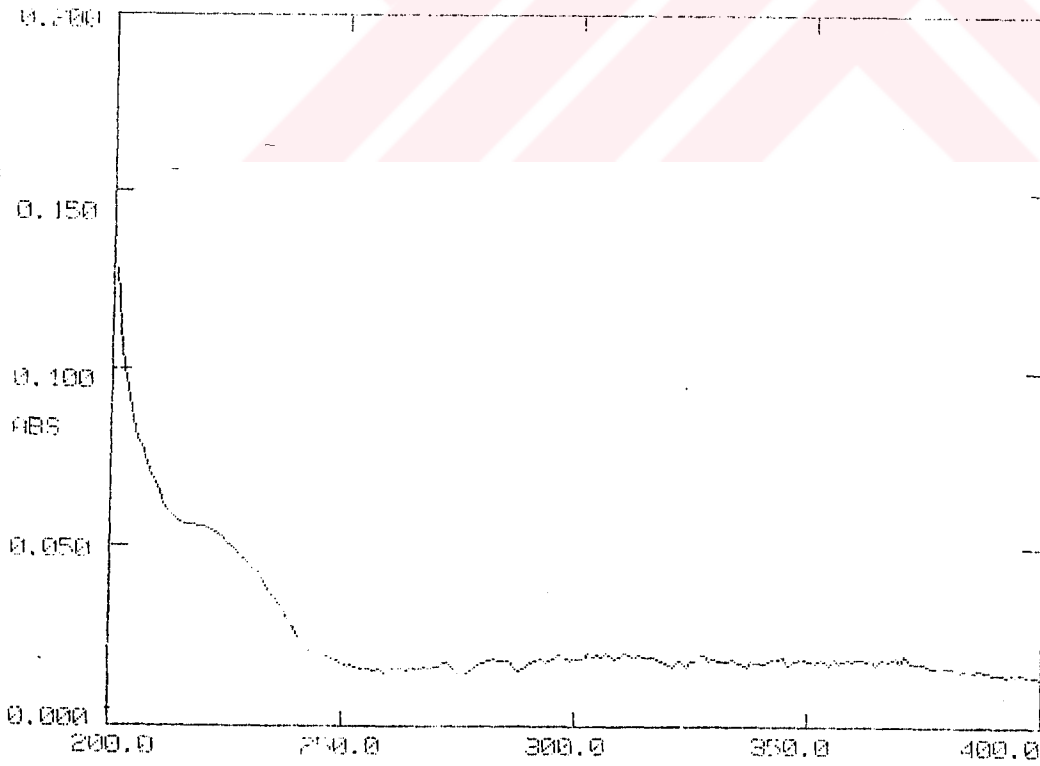
4.3.2.1. XAD-2 Kolonun Hazırlanması

0.8 gram XAD-2 pastör pipete dolduruldu. Kolon sırasıyla 10 ml çift destile su, metil alkol, aseton, diklorometan ve n-heksan ile yıkandı. Herbir çözücünün kolon öncesi ve sonrası UV spektrumları alındı (şekil 4.1-4.10).

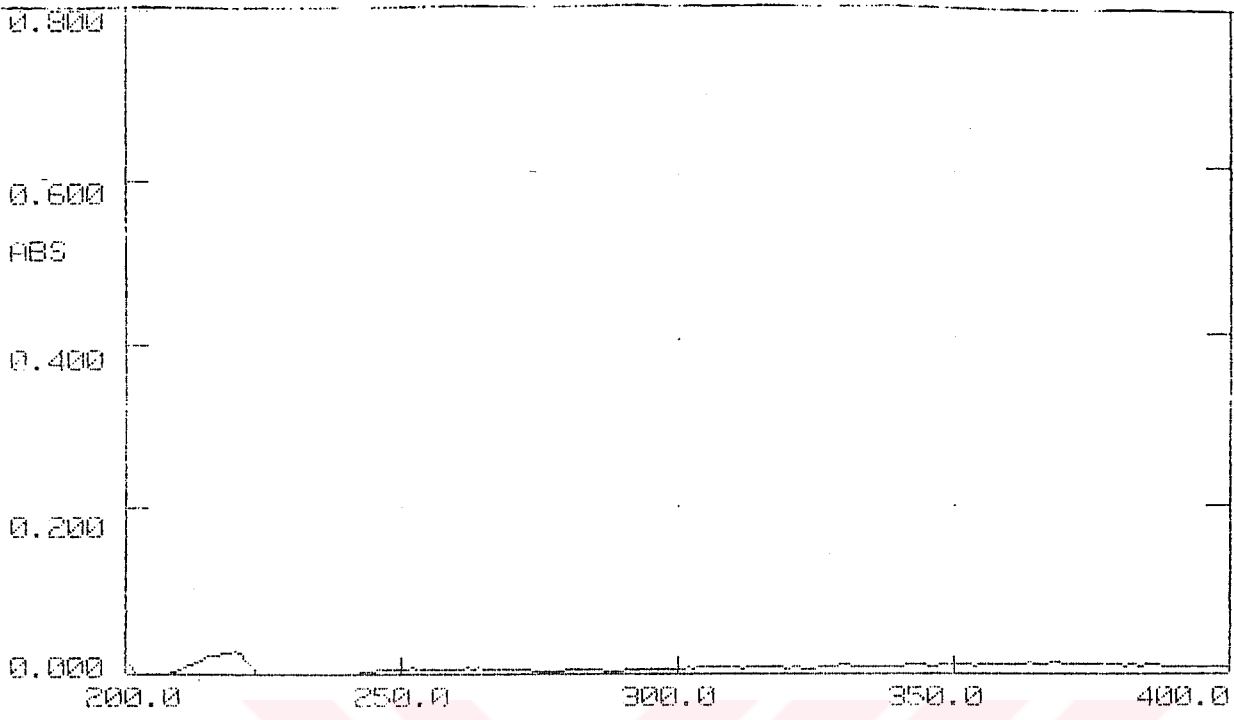




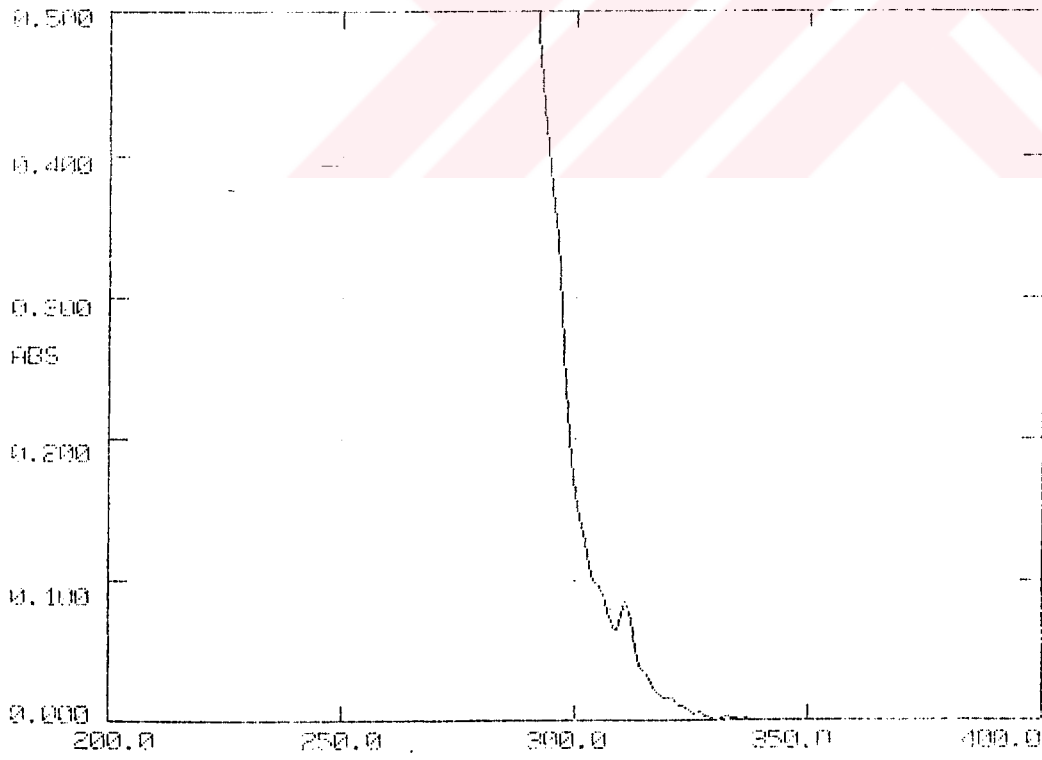
Şekil 4.1 Suyun UV spektrumu



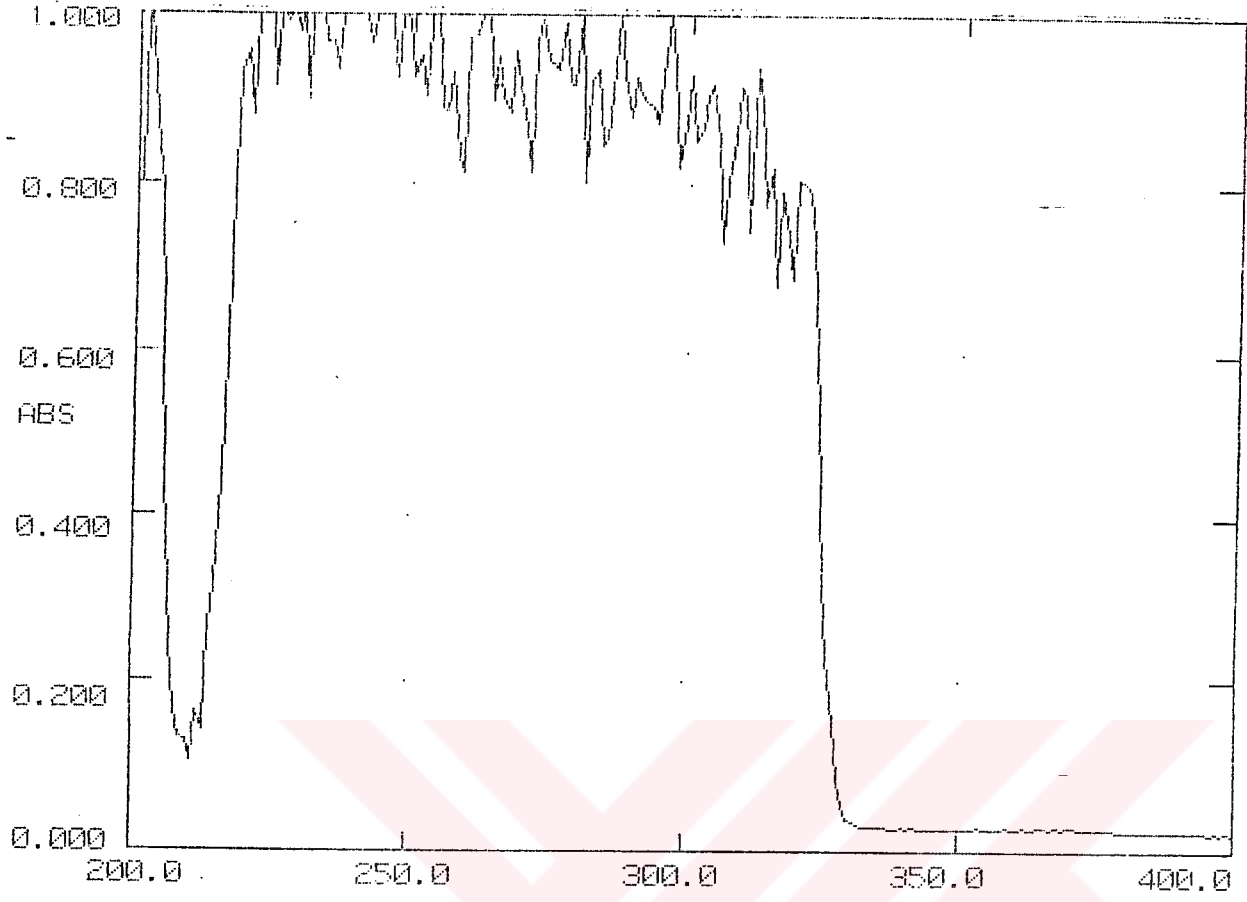
Şekil 4.2. XAD-2 kolonundan geçirilen suyun UV spektrumu



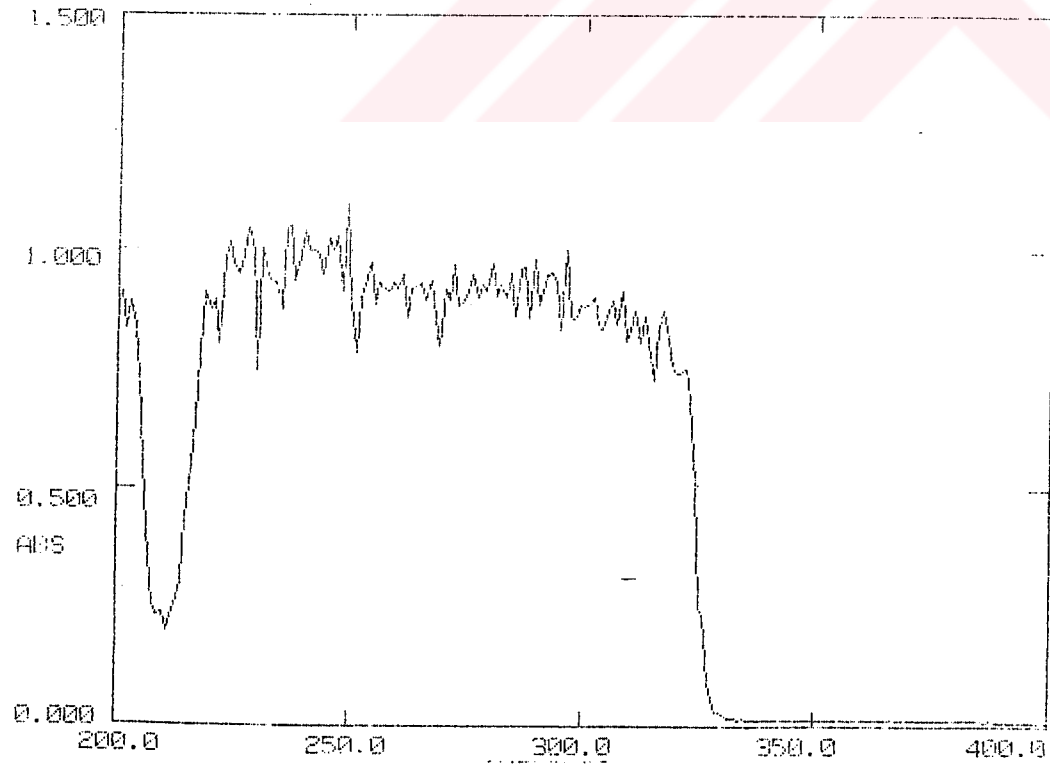
Şekil 4.3. Metilalkolün UV spektrumu



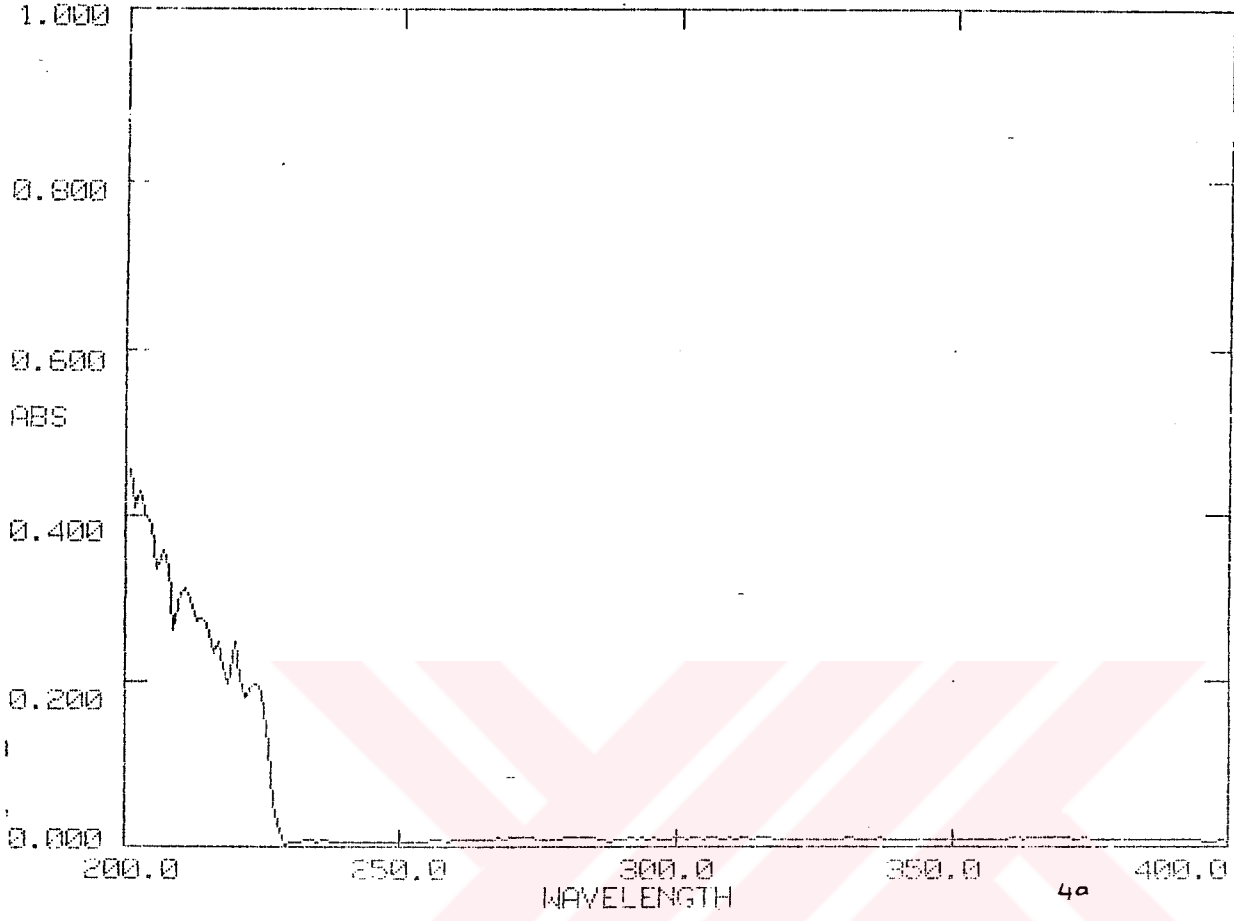
Şekil 4.4. XAD-2 kolonundan geçirilen metil alkolün UV spektrumu



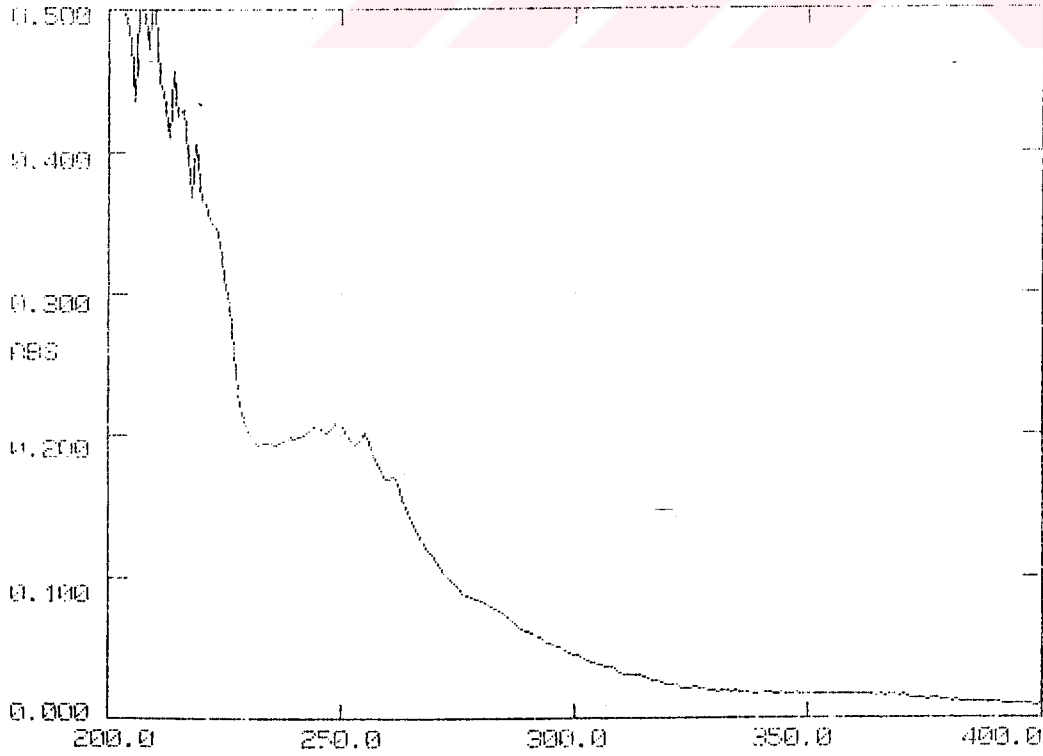
Şekil 4.5. Asetonun UV spektrumu



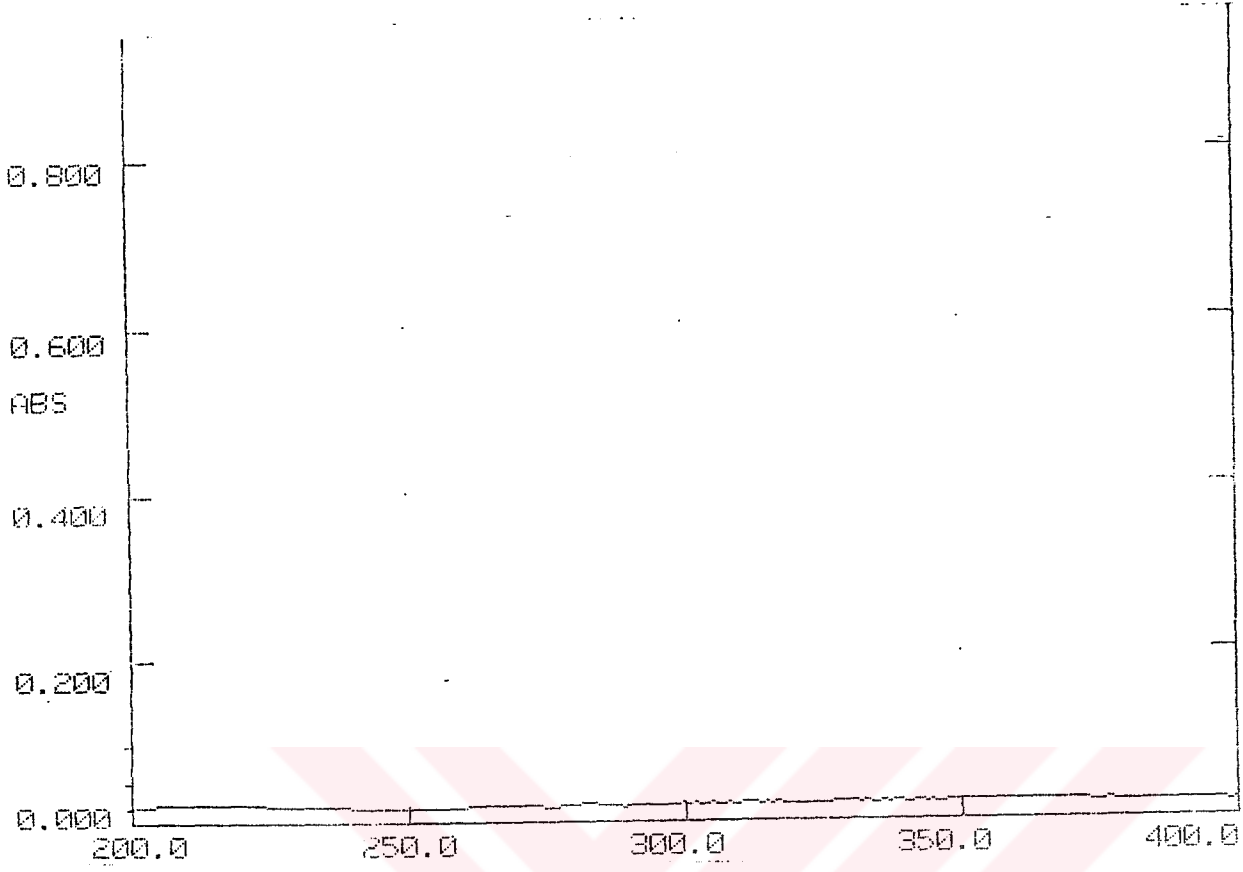
Şekil 4.6. XAD-2 kolonundan geçirilen asetonun UV spektrumu



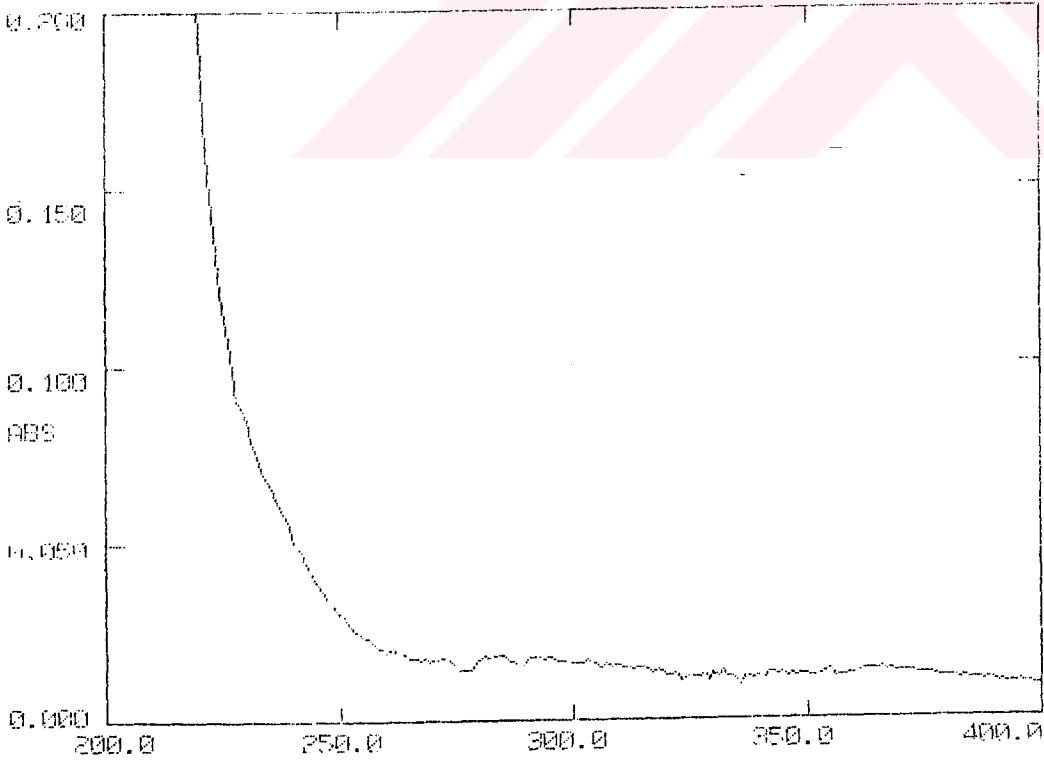
Şekil 4.7. Diklorometanın UV spektrumu



Şekil 4.8. XAD-2 kolonundan geçirilen diklorometanın UV spektrumu



Şekil 4.9. n-Heksanın UV spektrumu



Şekil 4.10. XAD-2 kolonundan geçirilen n-heksanın UV spektrumu

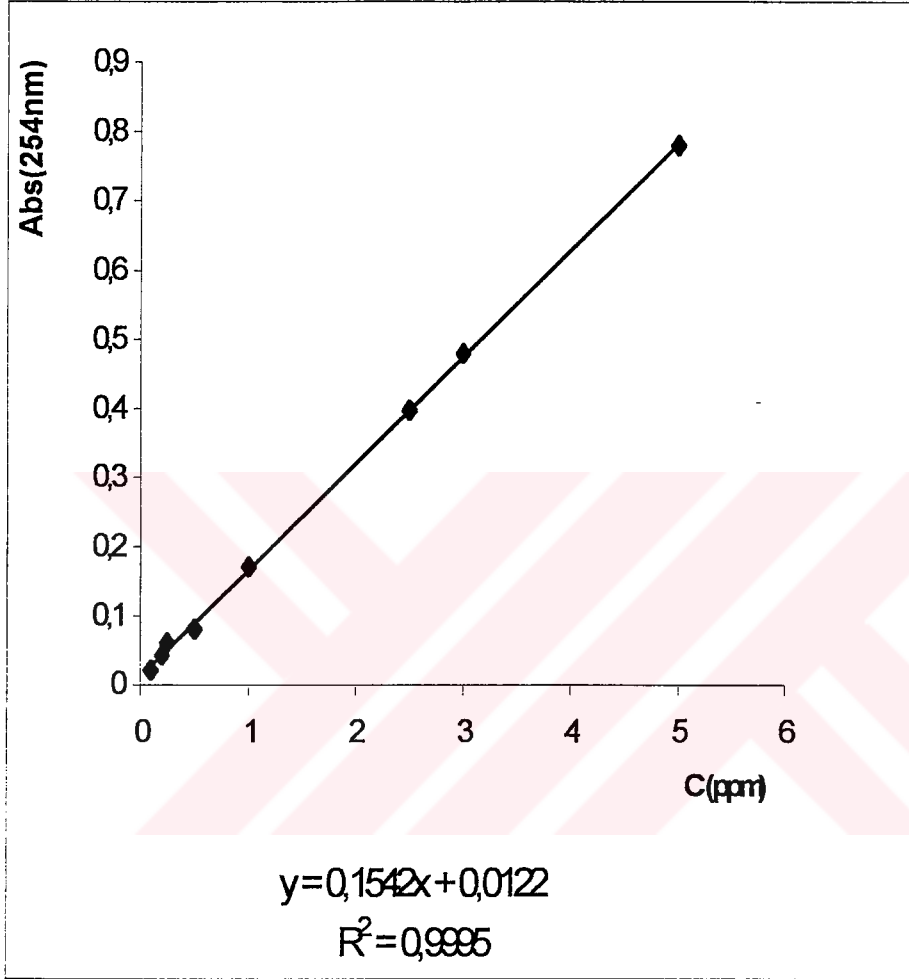
4.3.2.2. Standart Çözeltilerin (BbF) Hazırlanması ve XAD-2 Kolonunda Adsorpsiyonu

BbF

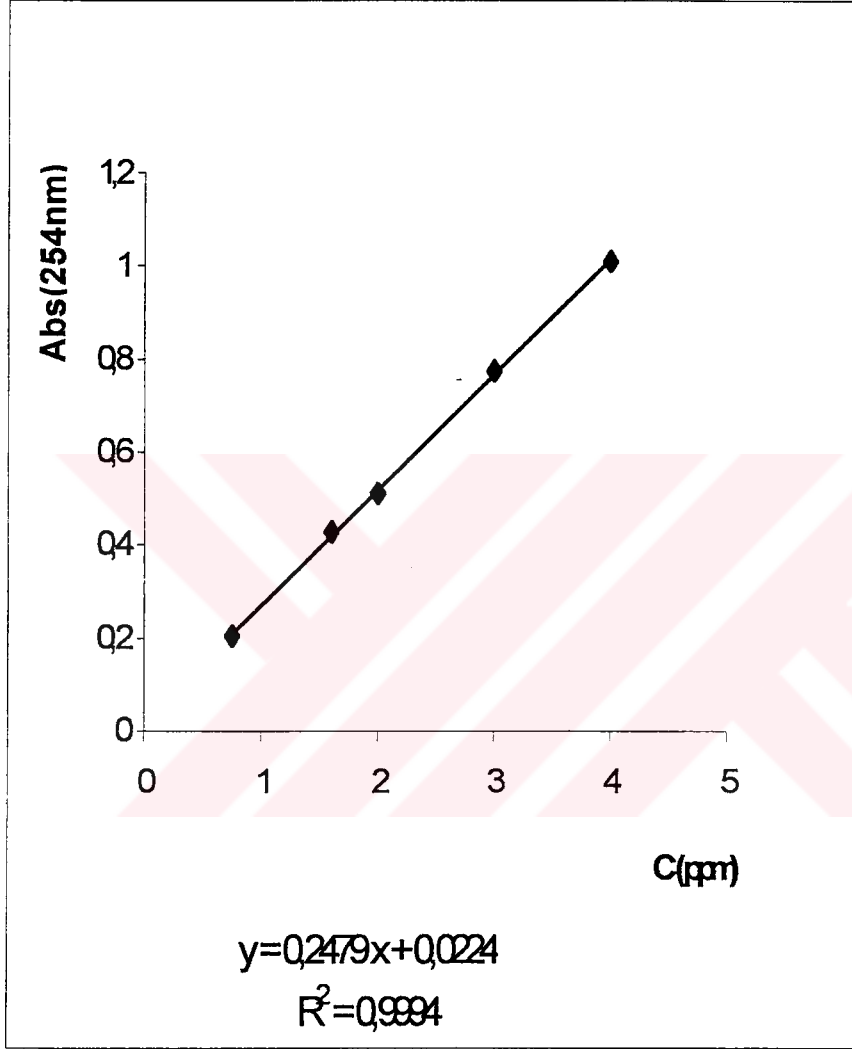
Benz(b)florantenin n-heksan içinde 0.01-5.00 ppm derişimlerinde çözeltileri hazırlandı. 254 nm'de absorpsiyonları ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 4.11). Gerialınabilirlik çalışmaları için Benz(b) florantenin n-heksan içinde 25 ppm derişiminde çözeltisi hazırlandı. Değişik hacımlarda çözelti XAD-2 kolonundan geçirildi. Kolonda tutunan BbF, n-heksan ile geri alınmaya çalışıldı. n- Heksan kullanılmasının nedeni PAH'ların yüksek çözünürlüğü ve XAD-2'ye en az zarar vermesidir. Yapılan elusyon basamağının her birinde 5 er ml n-heksan kullanıldı. Eluentlerin 254 nm'de absorpsiyonları ölçüldü. BbF'nin XAD-2 kolonda tutunma yüzdeleri ve gerialınabilirliği Tablo 4.3' de verilmiştir.

Bu kez BbF'nin asetonitril içinde 0.75-5.00 ppm derişimlerinde çözeltileri hazırlandı. 254 nm'de absorpsiyonları ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 4.12). Gerialınabilirlik çalışmaları için BbF'nin 2,8,12 ppm derişiminde çözeltileri asetonitril içinde hazırlandı. Bu çözeltiler yukarıdaki şekilde hazırlanmış XAD-2 kolonundan geçirildi. Kolon 60 °C de iki saat etüvde bekletildi. 5 er ml n-heksan ile 4-5 elüsyon basamağında geri alınmaya çalışıldı. Elusyonlar n-heksan ile yapıldı. Eluentlerin 254 nm'de absorpsiyonları ölçülerek tutunma yüzdeleri ve gerialınabilirlik (Tablo 4.4) hesaplandı.

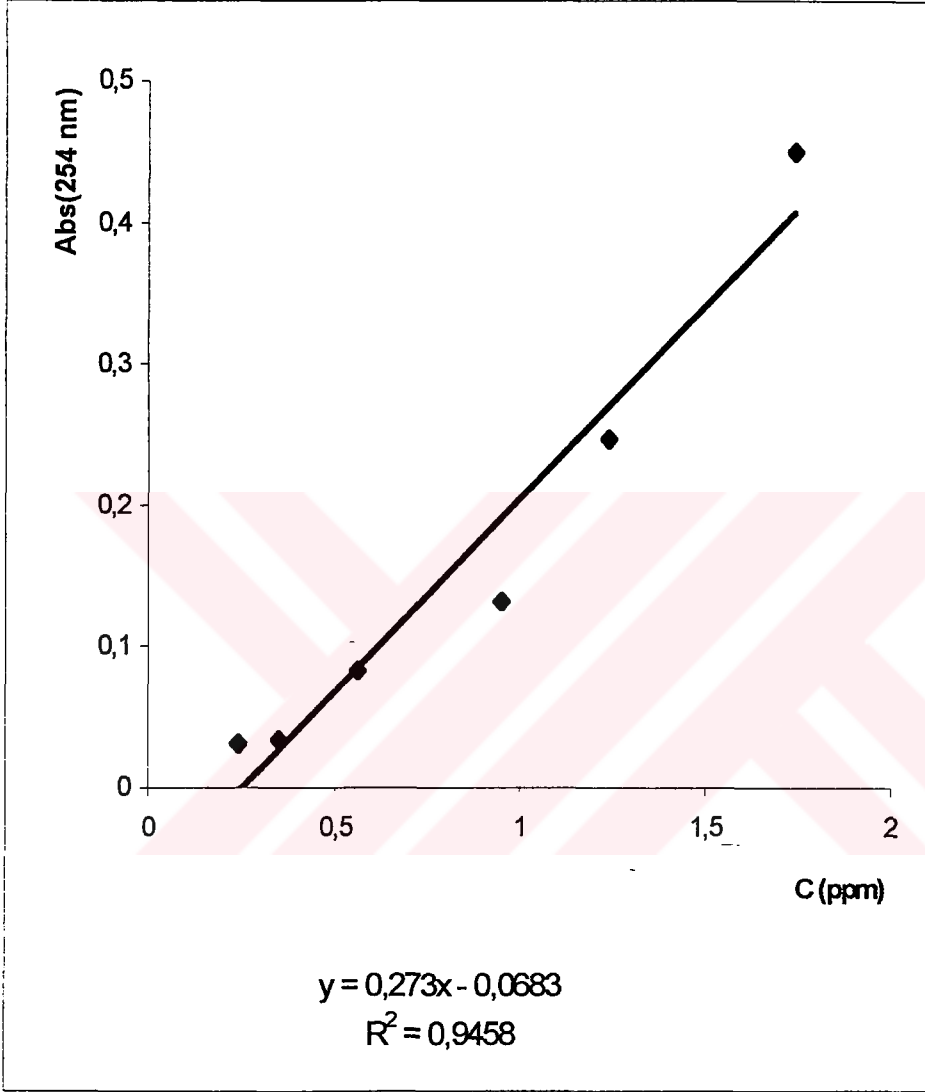
BbF' nin saf su içinde 0.25-2.00 ppm derişimlerinde çözeltileri hazırlandı. 254 nm'de absorpsiyon değerleri ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 4.13). Bu kez de saf su ile hazırlanmış BbF çözeltileri XAD-2 kolonundan geçirildi . Kolon 100 °C de 1 saat etüvde bekletilerek su uzaklaştırıldı. XAD-2 üzerinde tutunmuş BbF n-heksan ile geri alınmaya çalışıldı. XAD-2 kolonda tutunma ve gerialınabilirlik yüzdeleri Tablo 4.5' de verildi.



Şekil 4.11. BbF (n-heksan içinde) çözeltisinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.12. BbF (asetonitril içinde) çözeltisinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.13. BbF (su içinde) çözeltisinin kalibrasyon eğrisi

Tablo 4.3. BbF'nin(n-heksan) XAD-2 Kolonda Tutunma ve Geri Alınabilirlik Yüzdeleri

Deney No	Kolona Verilen BbF, μ g.	Tutunan BbF μ g	% T	Geri Alınan BbF, μ g	%R ₁	%R _T
1	37.5	29.5	79	25.3	87	67
2	37.5	18.0	48	17.3	96	46
3	37.5	20.5	55	18.8	91	50
4	37.5	23.5	63	22.0	94	59
5	37.5	26.5	71	22.2	84	59
Ortalama	37.5	23.6	63	21.1	90	56
% std.sapma			11		4.9	8.3

R₁: XAD-2'de Tutulan PAH'm Geri AlınabilirliğiR_T: Toplam Geri Alınabilirlik**Tablo 4.4.** BbF'nin(asetonitril) XAD-2 Kolonda Tutunma ve Geri Alınabilirlik Yüzdeleri

Deney No	Kolona Verilen BbF, μ g	Tutunan BbF, μ g	%T	Geri Alınan BbF, μ g	%R ₁	%R _T
1	30	19.5	65	15.2	78	51
2	30	15.9	53	11.9	75	40
3	20	13.0	65	13.5	104	67
4	20	12.4	62	11.8	95	59
5	20	14.0	70	13.0	93	65
6	20	11.6	58	10.1	87	51
7	20	10.0	50	11.5	115	58
Ortalama	22.5	13.8	61	12.4	92	56
% std.sapma			6.3		14	9.3

Tablo 4.5. BbF'nin(su) XAD-2 Kolonda Tutunma ve Geri Alınabilirlik Yüzdeleri

Deney No.	Kolona Verilen BbF, μ g	Geri Alınan BbF, μ g	%R _T
1	8.7	5.3	60
2	35.0	16.1	46
3	35.0	14.7	42
4	35.0	9.9	28
5	35.0	12.4	35
Ortalama	26.8	11.8	53
% std.sapma			27.4

4.4. Sonuç ve Tartışma

4.4.1. XAD-2'nin Hazırlanması

UV spektrumları incelendiğinde şunlar söylenebilir.

a) Suyun XAD-2'de fazla sorun yaratmayacağı düşünülebilir. XAD-2 ile doldurulmuş kolondan geçirilmiş suyun UV spektrumundan (Şekil 4.2) ancak 210 nm' den sonra 0.020 dolaylarında absorpsiyon verdiği görülmektedir. Bu değer saf suya göre daha yüksek olmasına rağmen (Şekil 4.1) XAD-2 doldurulmuş kolon suda PAH'ların veya diğer organiklerin adsorpsiyonunda kullanılabilir.

b) Metil alkolün XAD-2'den geçirildikten sonraki spektrumu bir hayli ilginçtir. Metil alkol kolondan önemli ölçüde çözünmeye yol açmaktadır. Literatürde XAD-2'nin temizlendikten sonra metanol içinde saklanması önerilmektedir. Ancak gözlemlerimiz metanolün her kullanımda yine de kolondan birşeyler sürüklediği yöndedir.

c) Asetonun spektrumlarından cut-off değerine uygun absorpsiyonlar gözlenmektedir. Bu nedenle kolonda ne tür bir etki yaptığını söylemek güçtür.

d) Diklorometan (DCM) XAD-2'den geçirildiğinde kolondan birşeyler sürüklediği gözlenmektedir. Birkaç kez ard arda DCM geçirildiğinde dahi 250 nm dolaylarında geniş bir pik görülmüştür.

e) n-Heksan XAD-2'den aşınmaya neden olmakla beraber, 250 nm'den sonra absorpsiyon 0.015-0.020 dolayında kalmaktadır. Buradan da n-heksanın XAD-2'den yürütücü faz olarak kullanılabileceği sonucu çıkarılabilir.

4.4.2. Kalibrasyon Eğrileri

XAD-2'nin PAH'lar için kullanımını incelemek amacıyla BbF seçildi ve bu maddenin değişik çözücülerdeki kalibrasyon eğrileri Şekil 4.11-4.13'de verildi. Eğrilerin her üçünün r^2 değerleri 0.9 üzerinde olmasına rağmen enyüksek değer n-heksan için 0.9995 bulunmuştur. Asetonitril için r^2 , 0.9994 iken sulu çözeltilerde kararsızlık gözlenmiş ve r^2 , 0.9458 olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrisi günlük çizilmelidir.

4.4.3. Geri Alınabilirlik Çalışmaları

Benz(b)floranten üç ayrı çözücü içinde (n-heksan,asetonitril,su) XAD-2 kolonundan geçirilmiş ve Tablo 4.3.,4.4. ve 4.5.'de deney bulguları verilmiştir. n-Heksan içinde kolona verildiğinde tutunma yüzdesi ortalama 63 iken, kolonda tutunmuş BbF'nin tekrar n-heksan kullanılarak yapılan elusyonla geri kazanılması ortalama %90 olmuştur (std.sap. : %4.9).

Asetonitrilden XAD-2'de tutulma yine %60 dolaylarında (std.sap. : %6.6) ancak tutulan BbF'nin n-heksan ile geri alınmasında standart sapma %22.4'e kadar yükselmiştir. Bu arada %75- 144 arasında geri kazanma hesaplanmıştır. Asetonitrilli ortamda BbF'nin çökme eğilimi göstermesi, cam yüzeyine tutunma eğiliminin yüksek olması geri alınabilirlikteki farklı değerlerin nedenleri olabilir.

Sulu ortamda tutulma yüzdesinin bulunması sırasında sorunlar yaşanmaktadır. Çünkü sulu çözeltilerin kalibrasyon eğrileri çizimi problemlidir. Eluentin içinde BbF'nin çöktüğü gözlenmiş ve UV absorpsiyonları anormal görüntüler vermiştir. Bu nedenle yalnızca, BbF'nin n-heksan ile toplam geri alınan miktarı belirlenmiştir (%R_T). Tablo 4.5'de görüldüğü gibi bu değerler de çok düşüktür. Bunun nedeni BbF'nin bir şekilde ortamdaki çökerek

ayrılması olabilir. Yukarıda değinildiği gibi camda adsorplanma bir başka neden olabilir. Sonuç olarak n-heksan ile çalışma en uygun ortam olarak görölmektedir. Sigara izmarit zifiri ile yapılan çalışmalarda n-heksan ve XAD-2 uygun çözücü ve adsorban olarak kullanılabilir. Yukarıda yalnızca BbF ile yapılan geri alınabilirlik çalışmaları diğer PAH'lar için sürdürölmektedir.



4.5. Kaynaklar

1. **Poole,C.F.,Poole,S.K.,**Chromatography today.,Elsevier Science Publishers, Amsterdam,1991.
2. **Pichon,V.,Coumes,C.C.,Chen,L.,Hennion,M.C.,1996.** Solid-phase extraction, clean-up and liquid chromatography for routine multiresidue analysis of neutral and acidic pesticides in natural waters in one run. Intern.J.Environ.Anal.Chem.,65,11-25.
3. **Fernandez,M.J.,Garcia,C.,Villanova,R.J.G.,Gomez,J.A. 1996.** Evaluation of liquid-solid extraction with a new sorbent and liquid-liquid extraction for multiresidue pesticides.Determination in raw and finished drinking waters. J.Agric.Food.Chem. 44,1790-1795.
4. **Kutzer,C.,Branner,B.,Zwickenpflug,W.,Richter,E., 1997.** Simultaneous solid-phase extraction and gas chromatographic,mass spectrometric determination of hemoglobin adducts from tobacco spesific nitrosamines and aromatic amines. J.Chromatogr.Sci.,35, 1-6.
5. **Potter,D.W.,Pawliszyn,J.1994.** Rapid determination of polyaromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in water using solid-phase microextraction and GC/MS. Environ.Sci.Technol. 28,298-305.
6. **Corcia,A.,Marchetti,M. 1991.** Multiresidue method for pesticides in drinking water using a graphitized carbon black cartridge extraction and liquid chromatographic analysis. Anal.Chem.,63,580-585.
7. **Corcia,A.,Crescenzi,C.,Samperi,R.,Scappaticco,L. 1997.** Trace analysis of sulfoylurea herbicides in water: Extraction and purification by acarbograph 4 cartridge, followed by liquid chromatography with UV detection and confirmatory analysis by an electrospray/mass detector. Anal.Chem.69,2819-2826.
8. **Kreindl,T.G.,Malissa,H.,W.nsaue,K.1986.** Method for simultaneous determination of traces of atrazine,pyrzon and lindane for monitoring potable water supplies. Microchimica Acta.I.,1-13.
9. **Pichon,V.,Caoumes,C.,Chen,L.,Guenu,S.,Hennion,M.C.1996.** Simple removal of humic and fulvic acids interferences.Using polymeric sorbent for the simultaneous solid-phase extraction of polar acidic,neutral and basic pesticides. J.Chromatogr.A.,737,25-33.

BÖLÜM 5

BAZI POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARIN NUCLE- OSİL 5 C18 TERS FAZ KOLONDA ALIKONMA MEKANİZMALA RININ İNCELENMESİ

5.1. Giriş

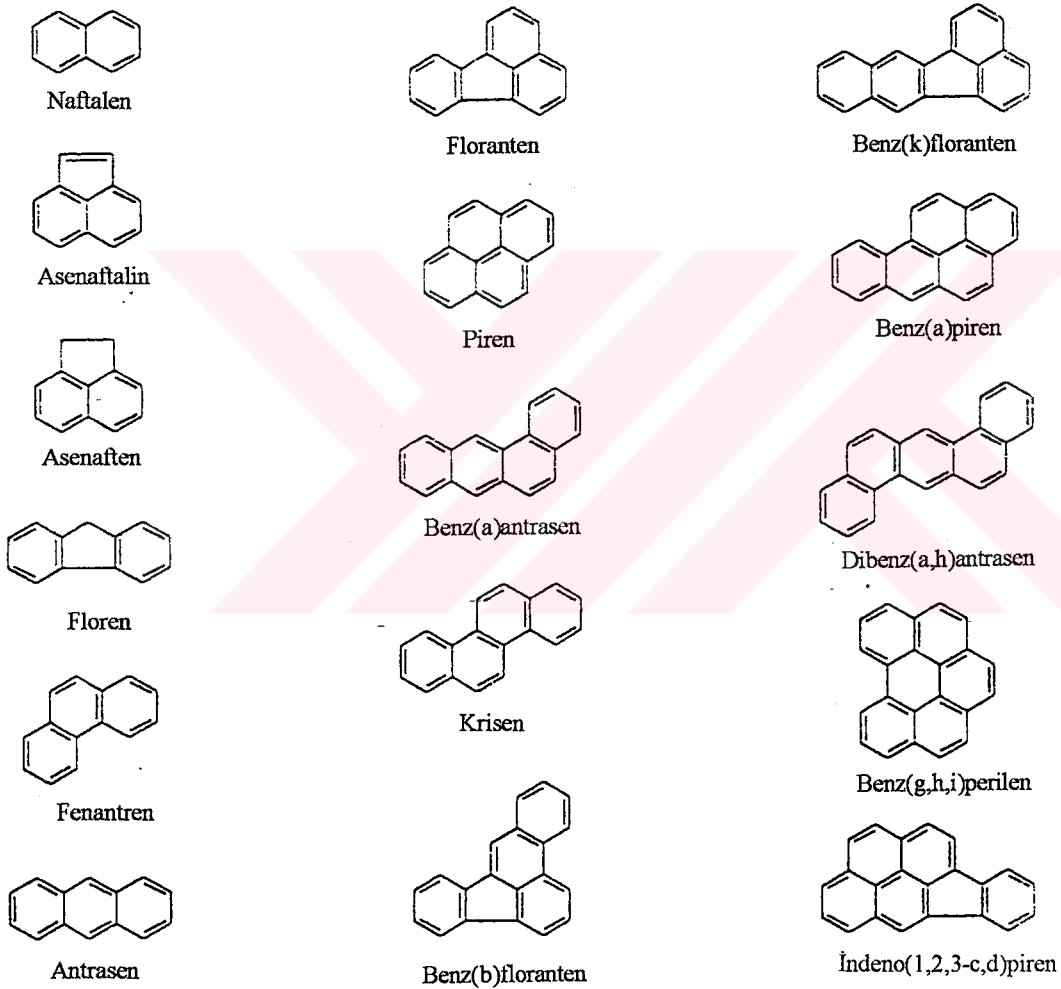
Günümüzde çevresel kirleticiler, insan sağlığı için çok önemli bir problem haline gelmiştir. Doğadaki birçok kirleticiler arasında polisiklik aromatik hidrokarbonlu bileşikler (PAH) kanserojen, mutajen, sitotoksik etkilerden dolayı önemli bir yer teşkil etmektedir. Doğada yüzden fazla PAH bulunmasına karşın, bunlardan 16 tanesi (Şekil 5.1) EPA (U.S. Environmental Protection Agency) tarafından öncelikli kirletici olarak belirlenmiştir (1). Bunların içinde de benz(a) pirenin kanserojen etkisinin fazla olduğu belirlenmiştir. 1987 yılında FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, yiyeceklerde benz(a) piren miktarının 10 ppb nin altında olması gerekliliğini bildirmiştir (2). Yapılan çalışmalarda, dört ve daha fazla halkalı PAH ların iki yada üç halkalılarından daha çok tümör oluşumunda etkili olduğu belirtilmiştir (3).

PAH'lar odun ve benzinin tam yanmaması sonucu yada yiyeceklerin ızgara şeklinde pişirilmesi, tütün ve sigara içimi sırasında oluşmaktadır (4). PAH'ların oluşma mekanizması tam olarak anlaşılmasına rağmen, bazı çalışmalarda serbest radikal oluşumu ile yada küçük moleküllerin polimerizasyonu sonucu oluşabileceği belirtilmiştir (3). PAH'lar ve bunun gibi kanserojen özellikteki çevresel kirleticiler, pestisitler hemen her yerde bulunmaktadır ve dış ortamdan ayakkabı ile ev ortamına gelmektedir. Toza adsorbe olabilen bu kirleticilerden küçük çocuklar erişkinlere göre daha çok etkilenirler (5).

Birçok PAH'ın kanserojen etkisinden dolayı, çevresel örneklerde ve özellikle insan sağlığı için gerekli olan yiyeceklerde analizi oldukça önem taşır. Bunun için hızlı ve doğru metodların geliştirilmesi gerekmektedir. PAH'ların kalitatif ve kantitatif analizinde karşılaşılan problemlerin bazıları sırasıyla şunlardır:

1. Pek çok PAH'ın yiyeceklerde ppb hatta ppt düzeyinde olması,
2. PAH'ların birçok organik bileşik ile beraber ekstrakte edilmesi,
3. Birçok PAH'ın yapı bakımından benzer ve izomer olması,

4. PAH'ların suda çok düşük çözünürlükleri ($\mu\text{g/L} - \text{pg/L}$), (6)
5. Ters faz kolonlarda ayırma mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesi, (7,8)
6. Standart çözeltilerin hazırlanmasındaki güçlükler (9-11),
7. PAH'ların cam yüzeyde tutunması (10),
8. Kromatografik ayırımdaki güçlükler (1,7),



Şekil 5.1. Kanserojenik polisiklik aromatik hidrokarbonlar (EPA)

PAH'ların analizinde çeşitli standart yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar arasında EPA, ISO, DIN,NEN sayılabilir (12). Bu yöntemlerde genellikle kromatografik analizlerden yararlanır (13-16). Bunlar arasında GC ve HPLC oldukça geniş alanda uygulanır. HPLC gittikçe artan oranda daha geniş bir uygulama alanı bulmaktadır. Bunda PAH'ların buhar basınçlarının yanısıra HPLC de alıkonma zamanlarının da daha düşük oluşu etkili olmaktadır (17). Tablo 5.1'de sıvı kromatografide, gaz kromatografiye göre PAH'ların alıkonma zamanlarının (t_R) oldukça küçük olduğu gözlenmektedir. Sıvı kromatografide detektör olarak çoğunlukla UV ve floresan detektörler kullanılır. Tablo 5.2' de yüksek moleküllü PAH'ların florimetrik detektörle UV'ye göre daha düşük miktarlarda tayin edilebildiği görülmektedir. Sıvı kromatografi, normal (18,19,24) ve ters faz (6,12,20-23) şeklinde uygulanır. Ters faz sıvı kromatografide PAH ların ayırımı için çok farklı kolon dolgu maddeleri kullanılır (Tablo 5.3). Yapılan çalışmalarda ters faz kolonlarda apolar yapıdaki PAH'ların ayırımının, normal faza göre daha iyi olduğu gözlenmiştir (23,24). Bir çalışmada (7) farklı ters faz kolonlarda (HC-ODS, LiChrosorb, Spherisorb) PAH'ların alıkonma mekanizmaları incelenmiştir. Farklı kolonlarda kritik çiftlerin ayırımı ve alıkonmaları üzerine çalışmalar sürmektedir. Çalışmamızda laboratuvarında doldurduğumuz Nucleosil 5 C18 ters faz kolonda bazı PAH'ların ayırımı, alıkonma mekanizmaları incelenmiş ve daha önce aynı şartlarda, LiChrosorb C18 kolonda yapılan çalışma ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 5.1. Bazı Polisiklikaromatik Hidrokarbonların GC ve HPLC Kolonunda Alıkonma Zamanları⁽¹⁷⁾

No	Bileşik	M_A	GC(t_R ,dakika)	HPLC(t_R ,dakika)
1.	Naftalen	128	13.51	8.24
2.	Asenaftalin	152	18.52	9.54
3.	Asenaften	154	19.29	10.97
4.	Floren	166	21.05	11.40
5.	Fenantren	178	24.02	12.51
6.	Antrasen	178	24.10	13.34
7.	Floranten	202	27.43	14.61
8.	Pren	202	28.24	15.27
9.	Benz(a)antrasen	228	32.13	17.92
10.	Krisen	228	32.21	18.25

Tablo 5.1'in devamı

No	Bileşik	M _A	GC(t _R ,dakika)	HPLC(t _R ,dakika)
11.	Benz(b)floranten	252	35.43	20.65
12.	Benz(k)floranten	252	35.48	21.43
13.	Benz(a)piren	252	36.53	22.21
14.	Dibenz(a,h)antrasen	278	42.48	23.84
15.	Benz(g,h,i)perilen	276	44.03	24.72
16.	İndeno(1,2,3-c,d)piren	276	42.29	25.14

Tablo 5.2. Bazı Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Farklı HPLC-Deteksiyon Sistemlerinde En Düşük Tayin Limitleri⁽¹⁷⁾

Bileşik	UV				
	Değiştirilebilir dalga boyu			Florimetre mg/L	EPA610(µg/L)
	254(nm)	mg/L	(nm)		
Naftalen	0.5	0.025	215	0.003	1.8
Asenaftalin	0.5	0.05	224	-	2.3
Asenaften	2.0	0.025	224	0.0005	1.8
Floren	0.1	0.1	258	0.001	0.21
Fenantren	0.05	0.05	249	0.005	0.64
Antrasen	0.02	0.025	249	-	0.66
Floranten	0.2	0.05	234	0.01	0.21
Pren	0.2	0.05	239	0.01	0.27
Benz(a)antrasen	0.1	0.05	287	0.001	0.013
Krisen	0.05	0.05	263	-	0.15
Benz(b)floranten	0.1	0.1	254	0.001	0.018
Benz(k)floranten	0.2	0.1	234-239	0.0005	0.017
Benz(a)piren	0.5	0.5	254	0.001	0.023
Dibenz(a,h)antrasen	0.4	0.05	297	0.002	0.030
Benz(g,h,i)perilen	0.2	0.2	254	0.002	0.076
İndeno(1,2,3-c,d)piren	0.1	0.1	249	0.043	0.043

Tablo 5.3. Farklı C18 Kolonların Seçiciliği($\alpha_{TBN/BaP}$)⁽¹⁾

Kolon	$\alpha_{(TBN/BaP)}$
Hypersil Green PAH	0.58
Chromspher PAH	0.59
Bio Rad RP 318	0.59
Supelcosil LC-PAH	0.63
Vydac 201TP	0.74
Partisil 5 ODS	1.48
Zorbax RX C18	1.50
Partisphere C18	1.79
Hypersil ODS (HP)	1.94
Ultrasphere ODS	1.98
Cosmosil C18-P	2.01

TBN : dibenzo(g,p)krisen

BaP : benz(a)piren

5.2. Materyal ve Metod

5.2.1. Materyal

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (Tablo 5.4) “Community Bureau of Reference Materials”(Belçika) dan satın alınmıştır ve %99 saflıktadır.n-Heksan, diklorometan, asetonitril, benzen ve fenol Merck firmasından satın alınmıştır. Asetonitril HPLC saflıkta diğerleri spektroskopik saflıktadır. Hareketli fazda çift destile su kullanılmıştır.

Tablo 5.4. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar

1.	Floranten	8.	Perilen
2.	2-3 Benzantrasen	9.	Dibenz(a,c)antrasen
3.	9-10 Benzfenantren	10.	Benz(a)piren
4.	Benz(a)antrasen	11.	Dibenz(a,h)antrasen
5.	Krisen	12.	İndeno(1,2,3-c,d)piren
6.	Benz(b)floranten	13.	Benz(g,h,i)perilen
7.	Benz(k)floranten		

5.2.2. Metod

5.2.2.1 Kromatografik Koşullar

Kolon: Paslanmaz çelik, 25 cm x 4.6 mm

Kolon dolgu maddesi : Nucleosil 5C18 (5µm partikül çaplı, laboratuvarında doldurulmuş tur)

Hareketli Faz : %75,%80,%85 Asetonitril:Su

Akış Hızı : 1.5 ml/dakika

5.2.2.2. Cihaz

Sıvı Kromatograf :

Pompa : Shimadzu LC-10 AD VP

Sistem Kontrolü : Shimadzu SCL-10 A VP

Detektör : UV, Waters 490

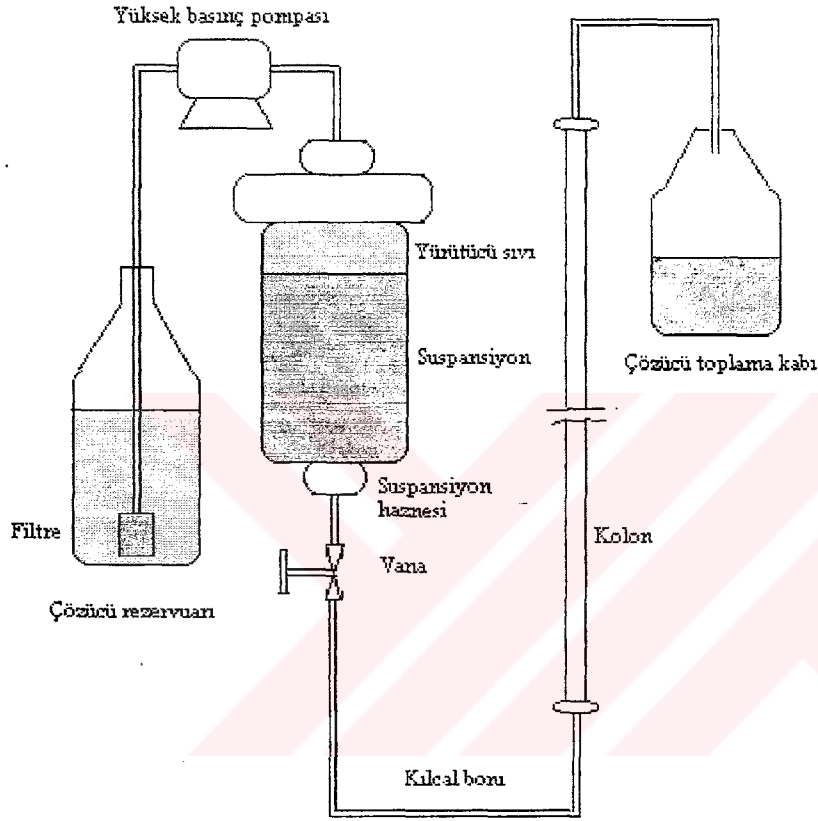
Yazıcı : Kratos Analytical, Kağıt hızı 1 cm/dakika , 10 mV /Tam sapma

Loop: 20µl

Enjektör : SGE 10 µl

5.2.2.3. Kolon Hazırlama

Laboratuvarında kolon yaş yöntemine göre doldurulmuştur. 3.3596 gram Nucleosil 5 C18 kolon dolgu maddesi 20 ml toluen:dioksan (1:1)+25 ml sikloheksan çözücü karışımında süspansiyonu hazırlandı. 200 atm basınç altında metilalkol ile dolduruldu (Şekil 5.2).



Şekil 5.2 Kolon doldurma sistemi

5.2.2.4. Standart Çözeltiler

Stok ve standart PAH çözeltileri diklorometan içinde hazırlanmıştır. Standart çözeltiler 4-16 ppm arasında değişmektedir. Sıvı kromatografa SGE 10 µl enjektör ile 5µl enjeksiyonlar yapılmıştır. Kapasite faktörleri aşağıdaki eşitlikle bulunmuştur.

$$k' = (t - t_s) / t_s$$

t : PAH ın alıkonma zamanı

t_s: Referans maddenin (fenol yada benzen) alıkonma zamanı

Ayırıcılık için aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır.

$$R_{2,1} = [(t_2 - t_1) / (w_2 + w_1)] \cdot 2$$

R : Ayırıcılık

t₁ : 1.maddenin alıkonma zamanı

t₂ : 2.maddenin alıkonma zamanı

w₁ : 1.madde pikinin taban genişliği

w₂ : 2.madde pikinin taban genişliği

Kolonda tepsi sayısı aşağıdaki eşitlikten yararlanarak hesaplanmıştır.

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

N : tepsi sayısı

t_R : alıkonma zamanı

w : pikin taban genişliği

5.3. Sonuçlar ve Tartışma

5.3.1. Nucleosil 5 C18 Ters Faz Kolon Kapasitesinin İncelenmesi

Çalışmanın bu bölümünde, hareketli faz bileşimi değiştirilerek 6 tane PAH'ın

hazırladığımız ters faz kolona enjekte edilmiştir. Farklı hareketli faz bileşiminde çalışılmıştır. Hareketli faz bileşimine bağlı olarak kapasite faktörlerindeki değişim hesaplanmıştır. Değerler Tablo 5.5' de verilmiştir. Kapasite faktörlerinin PAH'ların karbon atomu sayısına bağlı olarak değişimi Şekil 5.3 de gösterilmiştir. Şekilde %80 asetonitril/su çözeltisinde (v/v) doğrusallığın daha yüksek olduğu görülmektedir. ($r^2=0.9929$). Bunun yanısıra kolon verimi incelenmiştir. Bu amaçla tepsi sayıları (Tablo 5.6), ayırıcılık (R) (Tablo 5.7) hesaplanmıştır. Laboratuvarında doldurduğumuz Nucleosil 5 C18 ters faz kolonda, benz(a)piren için teorik tepsi sayısı 10 000 den fazla bulunmuştur. Kolo-numuzun çalışma ömrü, sürekli çalışmalar için altı ay gibi bir süre olduğu anlaşılmıştır. Şekil 5.4 de % bileşim ile eğimdeki değişim gösterilmiştir. Buna göre asetonitril oranı arttıkça alıkonmalar düşmektedir.

Tablo 5.5. Hareketli Faz Bileşimine Göre Kapasite Faktörlerindeki Değişim

No	PAH	k'			n*
		%75	%80	%85	
1.	Floranten	1.25	0.53	0.63	16
6.	Benz(b)loranten	3.31	2.33	1.71	20
7.	Benz(k)loranten	3.75	2.74	2.14	20
10.	Benz(a)piren	4.50	3.21	2.27	20
12.	İndeno(1,2,3-c,d)piren	5.88	4.17	3.07	22
13.	Benz(g,h,i)perilen	6.13	4.43	3.26	22

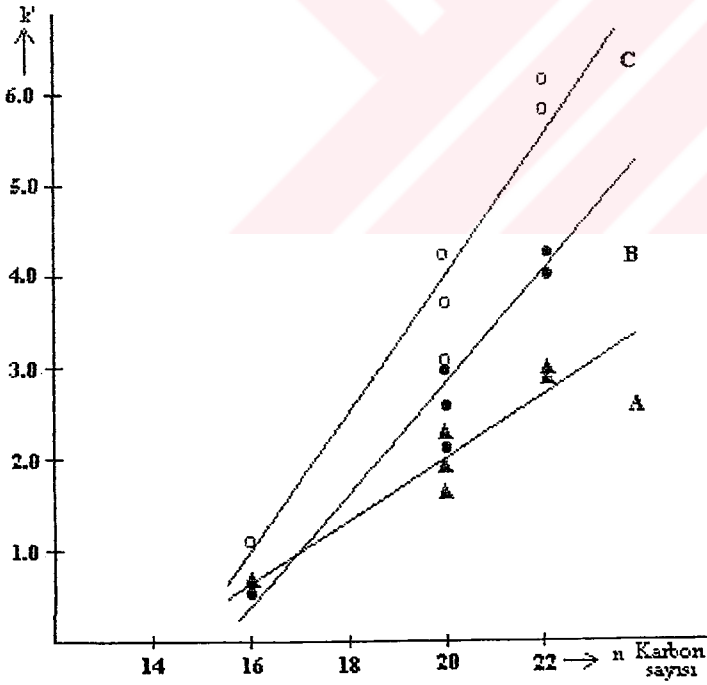
*n: karbon sayısı

Tablo 5.6. Hareketli Faz Bileşimine Bağlı Olarak Tepsi Sayılarındaki Değişim

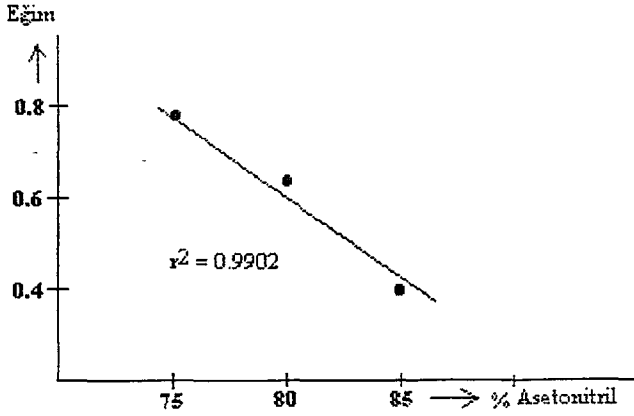
No	PAH	Tepsi Sayısı,N		
		%75	%80	%85
1.	Floranten	6771	1565	2070
6.	Benz(b)loranten	12188	4925	4563
7.	Benz(k)loranten	10268	5232	7744
10.	Benz(a)piren	10115	7873	8464
12.	İndeno(1,2,3-c,d)piren	21515	10000	8317
13.	Benz(g,h,i)perilen	23104	11025	9139

Tablo 5.7. Farklı Hareketli Faz Bileşiminde Nucleosil 5C18 Kolonunda Bazı PAH ların Ayırımı

Ayırıcılık,R	%Asetonitril:Su		
	75	80	85
R _{7,6}	2.50	2.10	2.80
R _{10,7}	4.90	2.30	1.00
R _{13,12}	1.30	1.15	1.10

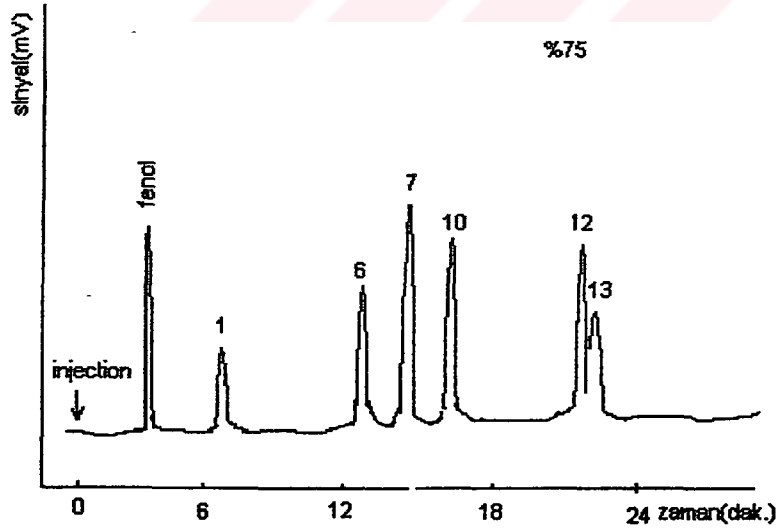


Şekil 5.3. Nucleosil 5 C18 ters-faz kolonda farklı hareketli (% asetonitril:su) faz bileşiminde PAH'ların kapasite faktörünün karbon sayısı ile değişimi
A: %85, B: %80, C: %75



Şekil 5.4. % Hareketli faz bileşimi ile eğimdeki değişim

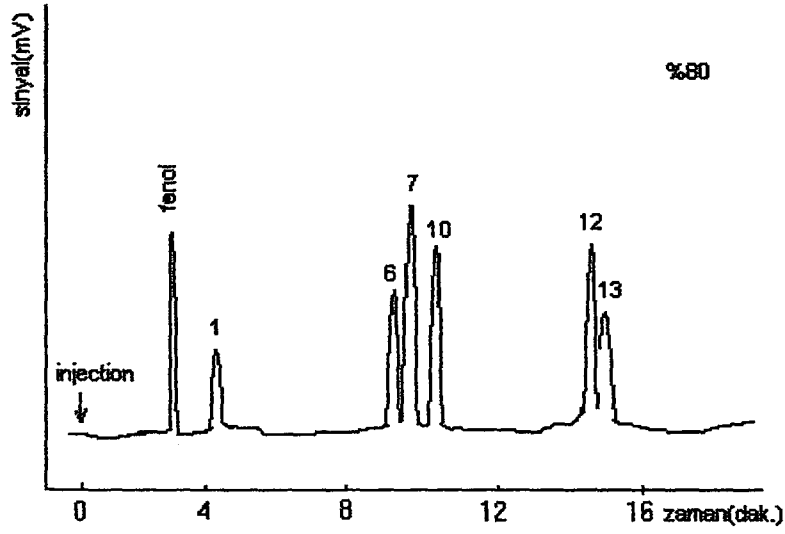
20 karbonlu PAH larda BkF ve BaP'nin ayırımı % 75 ve % 80 derişimlerde 2'den büyük iken (Şekil 5.5-5.6) % 85'lik asetonitril:su çözeltilisinde ayırıcılık 1 dolaylarına inmiştir (Şekil 5.7). Bu dahi yeterli sayılabilir. BbF ve BkF'nin de bütün bileşimlerde başarılı bir şekilde ayırdıkları yine aynı şekillerde gözlenmektedir. B(ghi)P ve In (123cd)P % 75 bileşimde 1.5 dolayında ayırıcılık göstermiştir. Ancak analiz süresi 23 dakikaya kadar çıkmıştır. Yapılan bu çalışmada Nucleosil 5 C18 kolonunun PAH'ların ayırımında % 80 derişimde en iyi performans verdiği kanıtlanmış ve sonraki çalışmalar bu derişimde yapılmıştır.



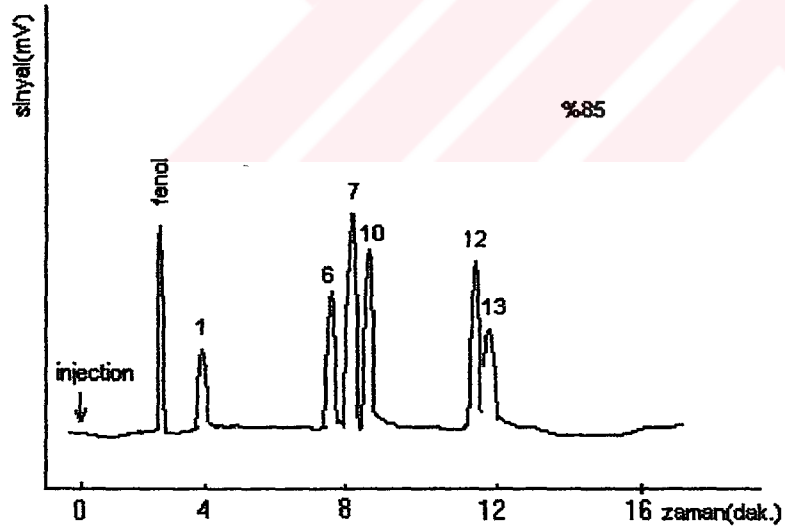
Şekil 5.5. Nucleosil 5 C18 ters faz kolonda % 75 hareketli faz

(asetonitril:su) bileşiminde PAH'ların kromatogramı

TEC YÜKSELİK KROMATOGRAFİ KURUMU
 İZMİR BİLİMSEL VE TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA MERKEZİ



Şekil 5.6. Nucleosil 5 C18 ters-faz kolonda %80 hareketli faz
(asetonitril:su) bileşiminde PAH'ların kromatogramı



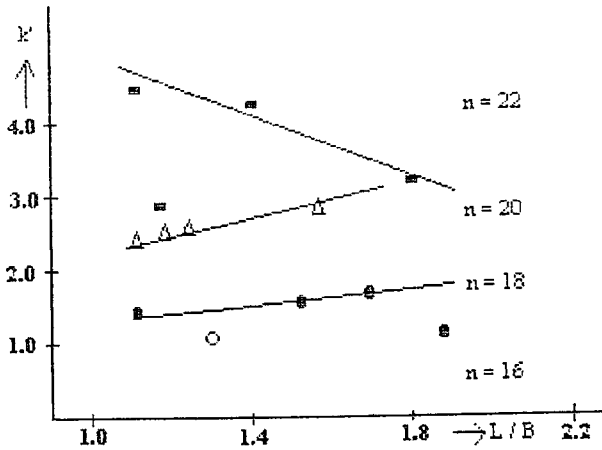
Şekil 5.7. Nucleosil 5 C18 ters-faz kolonda %85 hareketli faz
(asetonitril:su) bileşiminde PAH'ların kromatogramı

5.3.2. Nucleosil 5 C18 Ters Faz Kolonda Bazı PAH'ların Alıkonma Mekanizmaları

Çalışmanın bölümünde 13 (Tablo 5.4) PAH'ın ters faz kolonda alıkonma mekanizmaları incelenmiş (Tablo 5.8) ve L/B oranı ile kapasite faktörü arasındaki ilişki Şekil 5.8'de verilmiştir. Bu çalışmada kullanılan PAH'ların L/B oranları Tablo 5.8'de verilirken, moleküllerin geometrik şekilleri de Şekil 5.9'da gösterilmiştir.

Genel olarak karbon sayısı arttıkça, kapasite faktörünün arttığı Şekil 5.10'da görülmektedir. Yine aynı şekilde karbon sayısı farklı PAH'ların birbirinden kolaylıkla ayrıldığı, aynı karbon sayılı PAH'ların ise tam olarak ayıramadığı gözlenmiştir. Aynı karbon sayılı BbF, BkF ve BaP için L/B oranı büyüdükçe alıkonma zamanlarının arttığı gözlenmiştir.

PAH'ların ters fazda alıkonma mekanizmaları tam olarak açıklanamamaktadır. Alıkonmaya dağılma mı yoksa adsorpsiyon olayı mı etkilidir? Bu soru tartışılabilir. 20 karbonlu PAH'larda kapasite faktörleri, L/B oranı artışı ile artmaktadır. Daha uzun moleküllerin Şekil 5.12 de görüldüğü gibi C 18 molekülleri arasına kolaylıkla girebilmektedir. 20 karbonlu PAH'larda kolonda alıkonmalarında şekil parametreleri önemlidir. Bu bileşiklerin sudaki çözünürlüklerine baktığımızda çözünürlüklerinin azalmasıyla k' lerinin arttığı görülmektedir.



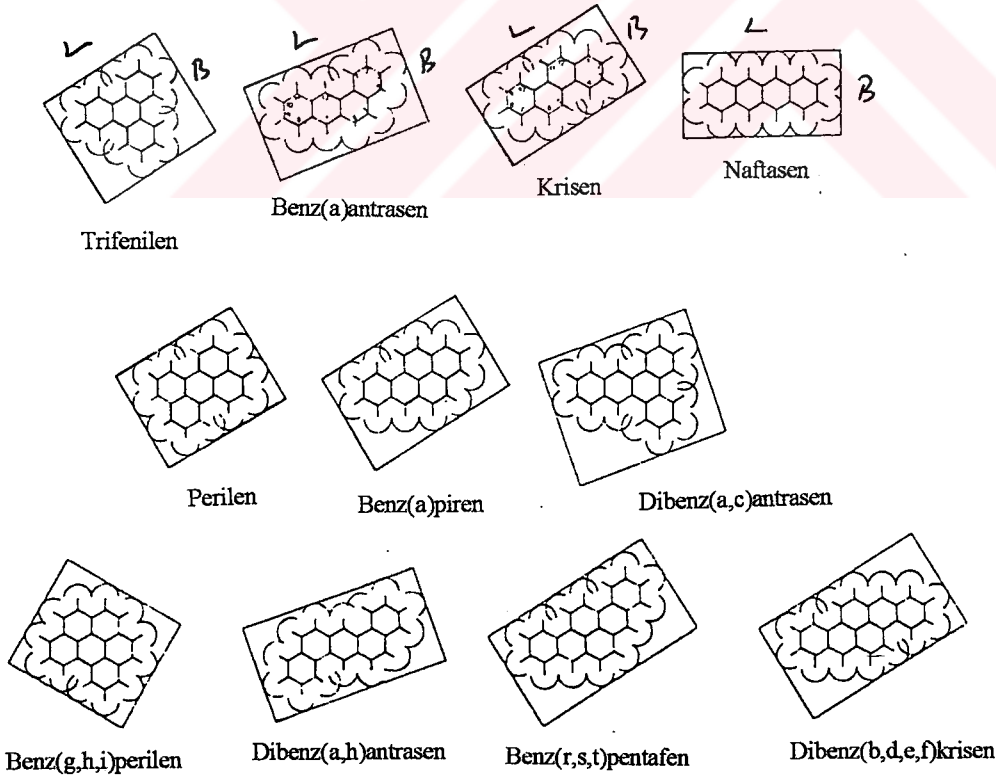
Şekil 5.8. Nucleosil 5 C18 ters faz kolonda PAH'ların kapasite faktörünün L/B oranı ile değişimi

Tablo 5.8. PAH'ların Nucleosil 5C18 Ters Faz Kolonda Alıkonma Zamanları ve Kapasite Faktörleri

No	PAH	t_R	k'	L/B	n	m	M_A
1.	Floranten	5.45	1.08	1.22	16	0.2060	202
2.	2-3 Benzantrasen*	6.10	1.26	1.89	18	0.00057	202
3.	9-10 Benzenantren**	6.68	1.55	1.12	18	0.043	228
4.	Benz(a)antrasen	6.82	1.60	1.58	18	0.0094	228
5.	Krisen	6.95	1.65	1.72	18	0.0018	228
6.	Benz(b)floranten	8.85	2.39	1.12	20	0.0015	252
7.	Benz(k)floranten	9.03	2.44	1.20	20	0.0008	252
8.	Perilen	9.30	2.55	1.27	20	0.0004	252
9.	Dibenz(a,c)antrasen	9.89	2.78	1.24	22	-	278
10.	Benz(a)piren	10.03	2.83	1.50	20	0.0012	252
11.	Dibenz(a,h)antrasen	10.85	3.14	1.79	22	0.0005	278
12.	İndeno(1,2,3-c,d)piren	13.57	4.17	1.40	22	0.00019	276
13.	Benz(g,h,i)perilen	14.18	4.41	1.12	22	0.0007	276

k' : kapasite faktörü
L : molekül uzunluğu
B : molekül genişliği
* naftasen

n : karbon sayısı
m : suda çözünürlük(mg/kg,25°C)
 M_A : molekül ağırlığı
**trifenilen



Şekil 5.9. Bazı polisiklik aromatik hidrokarbonların molekül yapıları (L/B)

5.3.3. Nucleosil 5 C18 ve Lichrosorb C18 Ters Faz Kolonların Kapasitelerinin Karşılaştırılması

Elde ettiğimiz sonuçlar daha önce LiChrosorb C18 ters faz kolonda yapılmış bir çalışma (23) ile karşılaştırılmıştır. İki farklı kolonda PAH'ların kapasite faktörleri, bazı parametrelerle birlikte Tablo 5.9 da verilmiştir. Şekil 5.10'da her iki kolonda, karbon sayısı ile kapasite faktörlerindeki değişim gösterilmiştir.

Nucleosil 5 C18 kolonda (Şekil 5.10, $r^2 = 0.9718$) eğrinin eğiminin LiChrosorb C18 kolondan (Şekil 5.10, $r^2 = 0.9892$) daha düşük olmasına karşın analiz süresinin 22 dakikadan 15 dakikaya inmesi oldukça büyük bir avantajdır. Geç gelen PAH ların daha iyi ayrıldığını görmekteyiz. Örneğin kritik çiftlerden dibenz(a,h) antrasen/ dibenz(a,c) antrasen ve indeno(1,2,3-c,d)piren/benz(g,h,i)perilen ayrılabilirdiğini söyleyebiliriz (Şekil 5.11, Tablo 5.7).

22 karbonlularda ise L/B oranı ile k' değerlerindeki artış şekil parametrelerine bağlı değildir. Çünkü, dibenz(a,h)antrasen, indeno(1,2,3-c,d)piren ve benz(g,h,i) perilen için k' değerinin L/B oranı azaldıkça arttığı gözlenmiştir. Aynı yorumu dibenz(a,c)antrasen için söylemek güç olacaktır. L/B oranı düşük olmasına rağmen kapasite faktörü düşüktür. Diğer taraftan Tablo 5.8' e baktığımızda PAH'ların sudaki çözünürlüklerinin oldukça düşük olduğunu görmekteyiz. Fakat Nucleosil 5 C18 ters faz kolonda PAH'ların alıkonmalarında şekil parametreleri ile birlikte önemli rol oynamaktadır.

Tablo 5.9. İki Farklı Ters Faz Kolonda PAH'ların Kapasite Faktörleri

No	PAH	k'	k''	L/B	n	m	M_A
1.	Floranten	1.88	1.08	1.22	16	0.2060	202
2.	2-3 Benzantrasen*	4.33	1.26	1.89	18	0.00057	202
3.	9-10 Benzfenantren**	3.00	1.55	1.12	18	0.043	228
4.	Benz(a)antrasen	3.44	1.60	1.58	18	0.0094	228
5.	Krisen	3.44	1.65	1.72	18	0.0018	228
6.	Benz(b)floranten	5.22	2.39	1.12	20	0.0015	252
7.	Benz(k)floranten	5.22	2.44	1.20	20	0.0008	252
8.	Perilen	5.44	2.55	1.27	20	0.0004	252
9.	Dibenz(a,c)antrasen	6.44	2.78	1.24	22	-	278

Tablo 5.9'un devamı

No	PAH	k'	k''	L/B	n	m	M_A
10.	Benz(a)piren	6.25	2.83	1.50	20	0.0012	252
11.	Dibenz(a,h)antrasen	6.33	3.14	1.79	22	0.0005	278
12.	İndeno(1,2,3-c,d)piren	9.88	4.17	1.40	22	0.00019	276
13.	Benz(g,h,i)perilen	10.00	4.41	1.12	22	0.0007	276

k' : LiChrosorb C18 kolonda kapasite faktörü

k'' : Nucleosil 5C18 kolonda kapasite faktörü

n : karbon sayısı

L : molekül uzunluğu

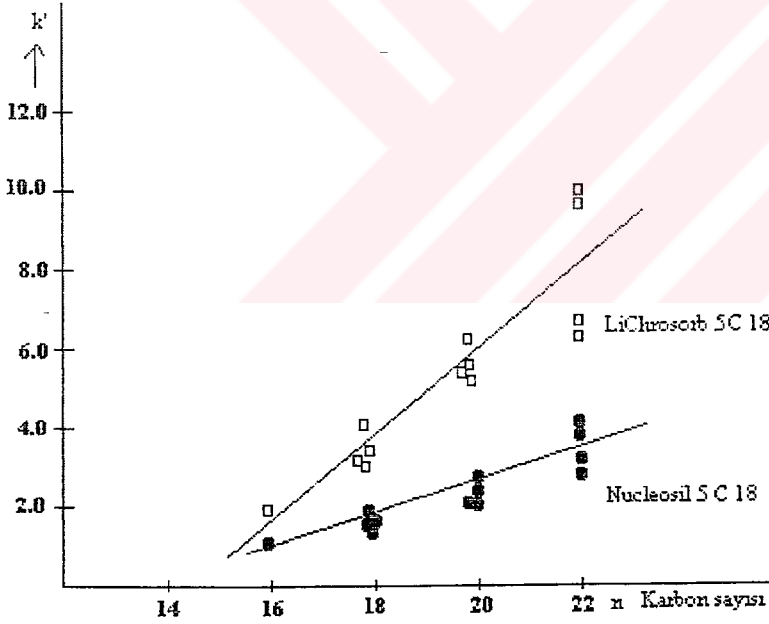
m : suda çözünürlük(mg/kg,25°C)

B : molekül genişliği

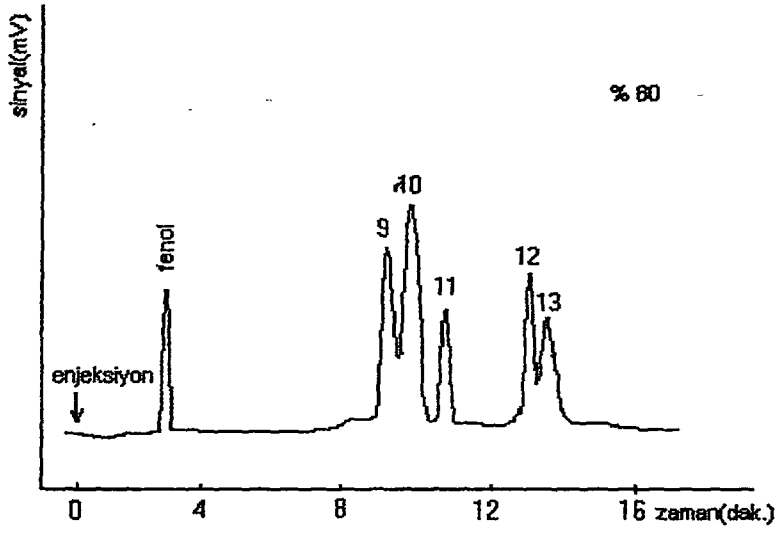
M_A : molekül ağırlığı

*naftasen

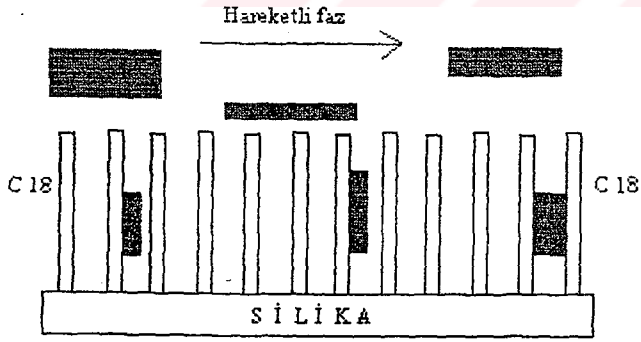
**trifenilen



Şekil 5.10. Nucleosil 5 C18 ve LiChrosorb C18 ters faz kolonda PAH'ların Kapasite Faktörünün Karbon Sayısı ile Değişimi



Şekil 5.11. Nucleosil 5 C18 ters-faz kolonda bazı kritik çiftlerin kromatogramı



Şekil 5.12. Ters faz kromatografide maddelerin C18 kolonda elusyonu

5.4. Kaynaklar

1. **Wise, S.A., Sander, L.C., May, W.E., 1993.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 42, 329-349.
2. **Chen, B.H., Wang C.Y., Chiu, C.P., 1996.** Evaluation of analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 2244-2251.
3. **Chen, B.H., Lin, Y.S., 1997.** Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons during processing of duck meat. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 1394-1403.
4. **Kruijf, N.de., Schouten, T., vander Stegen, G.H.D., 1987.** Rapid determination of Benzo(a) pyrene in roasted coffee and coffee brew by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Agric. Food Chem.*, 35, 545-549.
5. **Monserate, M., Olesik, V.S., 1997.** Evaluation of SFE-CO₂ and methanol-CO₂ mixtures for the extraction of polynuclear aromatic hydrocarbons from house dust. *J. Chrom. Sci.*, 35, 82-90.
6. **Wise, S.A., Bonnett, W.J., Guenther, F.R., May, W.E., 1981.** A relationship between reversed-phase C₁₈ liquid chromatographic retention and the shape of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Chrom. Sci.*, 19, 457-465.
7. **Colmsjö, A.L., MacDonald, J.C., 1980.** Column-induced selectivity in separation of polynuclear aromatic hydrocarbons by reserved-phase, high performance liquid chromatography. *Chromatographia*, 13, 350-352.
8. **May, W.E., Wasik, S.P., Freeman, D.H., 1978.** Determination of the aqueous solubility of polynuclear aromatic hydrocarbons by the a coupled column liquid chromatographic technique. *Anal. Chem.*, 50, 175- 179.
9. **Miller, J.S., 1999.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by spectrofluorimetry. *Anal. Chim. Acta.*, 388, 27-34.
10. **May, W.E., Wasik, S.P., Freeman, D.H., 1978.** Determination of the solubility behavior of some polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Anal. Chem.*, 50, 997-1000.

11. **Hesselink, W., Schiffer, R.H.N.A., Kootstra, P.R., 1995.** Separation of polycyclic aromatic hydrocarbons on a wide-pore polymeric C₁₈ bonded phase. *J.Chromatogr. A.* 697,165-174.
12. **Ferrer, R., Guiteras, J., Beltran, J.L., 1997.** Development of fast-scanning fluorescence spectra as a detection system for high-performance liquid chromatography-determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *J.Chromatogr. A.*, 779,123-130.
13. **Ho, J.S, Tang, P.H., Eichekberger, J.W., Budde, W.L., 1995.** Liquid-solid disk extraction followed by SFE and GC-Ion-Trap MS for the determination of trace pollutants in water. *J.Chrom. Sci.*, 33,1-8.
14. **Nunez, M.D., Centrich, F., 1990.** Liquid chromatographic method with fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. *Anal.Chim.Acta.*, 1990.234,269-273.
15. **Carrera, G., Fernandez, P., Vilanova, R., Grimalt, J.O., 1998.** Analysis the trace polycyclic hydrocarbons and organochlorine compounds in atmospheric residues by solid-phase disk extraction. *J.Chromatogr. A.*, 823,189-196.
16. **Chmielowiec, J., George, A.E., 1980.** Polar bonded-phase sorbent for high performance liquid chromatographic separation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Anal.Chem.*, 52,1154-1157.
17. **Castello, G., Gerbino, T.C. 1993.** Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons with an ion-trap mass detector and comparison with other gas chromatographic and high – performance liquid chromatographic techniques. *J.Chromatogr.* 642, 351-357.
18. **Nirmaier, H.P., Fischer, E., Meyer, A., Henze, G., 1996.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples using high-performance liquid chromatography with amperometric detection. *J.Chromatogr. A.*, 730,169-175.
19. **Ferrer, R., Beltran, J.L., Guiteras, J., 1996.** Use of cloud point extraction methodology for the determination of PAHs priority pollutants in water samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection and wavelength programming. *Anal.Chim.Acta.*, 330,199-206.
20. **Fetzer, J.C, 1993.** Separation of perhydro polycyclic aromatic hydrocarbons by normal phase HPLC. *J.Chromatogr. Sci.* 31,70-72.

21. **Fernandez,M.J.,Garcia,C.,Garcia-Villanova,R.J.,Gomez,J.A.,1996.** Evaluation of liquid- liquid extraction and liquid-solid extraction with a new sorbent for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in raw and finised drinking waters. *J.Agric.Food. Chem.*,44,1785-1789.
22. **Ogan,K.,Katz,E.,Slavin,W.,1979.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples by reserved-phase liquid chromatography *Anal.Chem.*, 51,1315-1320.
23. **Aygün,Ş.F.Özcimder,M.,1996.** A comparison of normal (-CN) and reversed (C-18) phase chromatographic behaviour of polycyclic aromatic hydrocarbons *Tr.J.Chem.*,20,269-275.
24. **Mourey,T.H.,Siggia,S.,Uden,P.C.,Crowley,R.J.,1980.** High performance liquid chromatographic separation of polycyclic aromatic hydrocarbons on microparticulate pyrrolidone and application to the analysis of shale oil. *Anal.Chem.*,52,885-891.

BÖLÜM 6

SİGARA İZMARİTLERİNDEN PAH'LARIN GERİ ALINABİLİRLİK ÇALIŞMALARI

6.1.Giriş

6.1.1. Tütün ve Kimyasal Yapısı

Tütün patlıcangiller (solanocaea) familyasında Nicotiana - tabacum türüne giren bir yıllık kültür bitkisidir. Tütünün yurdu Meksika ve Orta Amerika'dır.1519'da Amerika'ya giden İspanyollar, kızılderililerin tütün yetiştirdiklerini ve mısır yaprağına sararak içtiklerini görmüşler. Tütün 16.yüzyılın ortalarında Fransa ve İngiltere'ye gelmiş oradan da diğer Avrupa ülkelerine yayılmıştır. Dünyada birçok ülkede üretilen ve bir keyif maddesi olan tütün sigara, püro, pipo, nargile, enfiye ve çiğneme şeklinde kullanılır. Yeşil tütün yapraklarında birçok kimyasal bileşik vardır. Bunlar aşağıda kısaca açıklanmıştır.

1. İnorganikler (kül) : Bitkisel maddelerin tam olarak yanmaları sonucu organik bileşikler yanarak parçalanırlar ve geride kül denilen inorganik anyon ve katyonlardan oluşan bir kalıntı bırakırlar.Tütün külünün %95'i K, Na, Mg, Fe, P, S, Si ve Cl, geri kalan kısmı ise iz elementlerinden (Al, As, Ba, B, Cs, Cr, Cu, Pb, Li, Mn, Ni, Rb, Sr, Ti, Zn vb.) oluşmaktadır.
2. Kaba lifler : Selluloz ve lignin.
3. Pentosanlar.
4. Pektinler.
5. Eterde çözünen bileşikler : Uçucu yağlar, reçineler, vax ve parafinler.
6. Polifenoller, fenolik asitler ve türevleri.
7. Eterde çözünen organik asitler : Oksalik asit, sitrik asit, maleik asit vb.
8. Proteinler.
9. Suda çözünen azotlu bileşikler : Aminoasitler, amidler, amonyak, nitrat bileşikleri ve alkaloidler.
- 10.Dinamik karbohidratlar : Şekerler, nişasta ve dekstrin gibi kolay hidroliz olabilen polisakaritler.

11. Yapısı tam olarak aydınlatılamayan bileşikler: Bunlar şekerlerin bazı özelliklerini gösterirler.

Tütün yaprakları kurutma ve fermantasyon işleminden sonra kimyasal yapısında bazı değişiklikler olur. Buna göre tütünde bulunan bileşikler şöyle sıralanabilir.

1. Mineraller : En fazla K ve Ca bulunur. Diğer mineraller MgO, Na₂O, Fe₂O₃, P₂O₅, SO₃, SiO₂,Cl ve Al,As,B,Cs gibi iz elementleridir.

2. Hidrokarbonlar :

a. Parafinler

b. Terpenik hidrokarbonlar

c. Aromatik hidrokarbonlar

Japon Burley'lerinde antrasen, fenantren, piren, florantenin varlığı tesbit edilmiştir.

3. Alkoller ve esterler : Metil, etil, benzil alkol, gliserin, solanesol vb.

4. Karbonil bileşikleri : Aldehit ve ketonlar

5. Organik asitler : Sitrik, maleik, oksalik asit gibi uçucu olmayan asitler

6. Fenoller ve polifenoller

7. Alkaloidler :

Büyük kısmı piridin sınıfı alkaloiddir. Alkaloidlerden en yüksek olan ve tütünün kalitesini belirleyen nikotindir. Kaliteli tütünde nikotin ve azotlu bileşiklerin miktarı az, başta şeker olmak üzere nişastalı maddelerin,koku ve aroma veren reçinelerin miktarı yüksektir.

8. Amino asitler ve proteinler

9. Karbohidratlar : Şekerler, dekstrin, selluloz

6.1.2. Sigara

Sigara, tütünün belirli bir kimyasal yapıda sigara kağıdı ile sarılmasıyla hazırlanır. Sigara kağıdı genellikle keten ve kendir saplarının liflerinden yapılır. Kağıda yanmayı kolaylaştırmak amacı ile CaCO₃ yada KNO₃ katılır. Külün rengine beyazlık sağlamak için MgCO₃ katılır. Sigaranın ucunda genellikle selluloz asetattan yapılmış bir filtre bulunur. Sigara yandığında gaz faz (duman) ve izmarit olmak üzere iki farklı kısımdan oluşur.

6.1.3. Duman ve Kimyasal Bileşimi

Dumanın % 95'i gaz ve taneciklerden oluşur. Geri kalan kısmında bazı gazlar ve uçucu bileşiklerin buharları vardır.

Tablo 1.1.' de dumanda bulunan gazlar ve miktarları verilmiştir.

6.1.4. İzmarit ve Kimyasal Bileşimi

Sigara içimi sonrasında bir miktar yanmamış tütün ve filtreden oluşan kısım izmarittir. Burada bulunan koyu renk karışıma zifir denir. İzmaritte 3-4 mg su bulunur. Geriye kalan kısmında bulunan kimyasal bileşikler Tablo 1.3'de verilmiştir.

İzmaritte bulunan diğer kimyasal bileşikler aşağıda sıralanmıştır.

1. Heterosiklik maddeler
2. Alkaloidler ve Bazlar
3. Hidrokarbonlar
4. Alkoller : Benzil alkol, glikol, etanol, etilen glikol vb.
5. Esterler : Etilasetat, etil n-bütirat
6. Karbonil bileşikleri : Asetaldehit, propiyon aldehit, aseton, metil etil keton vb.
7. Asitler
8. Fenoller ve polifenoller
9. Aminoasitler
10. Karbohidratlar

Daha önce belirtildiği gibi çok karmaşık bir yapıdaki izmaritte PAH'ları çözüp ekstrakte etmek bir hayli güçtür. Bu nedenle burada standart maddelerin enjeksiyonu yapılarak onların geri kazanılması ve geri kazanmaya etkili faktörler üzerine çalışılmıştır.

Kanserojen birçok bileşik içeren tütün ve sigarada dolayısıyla izmaritte bu maddelerin analizi oldukça büyük önem taşır. Özellikle birçok çalışmada PAH'ların kanserojen ve mutajen özelliğine değinilmiş (2-5) ve bunların içinde de benz(a)pirenin kanserojen etkisinin yüksek olduğu belirtilmiştir (6). PAH'ların oluşma mekanizması tam olarak anlaşılmasına rağmen, tütün ve sigara içimi sırasında yüksek sıcaklıkta serbest radikal oluşumu yada hidrokarbonlar gibi küçük moleküllerin polimerizasyonundan meydana gelebileceği düşünülmüştür (2,3). Aşağıda tütün, duman ve izmaritte yapılmış analizlerin kısaca bir özeti verilmiştir.

6.1.5. Tütün Analizleri

Bazı çalışmalarda spektroskopik tayinler yapılmış, ve örneğin bir çalışmada nikotin atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) ile tayin edilmiştir (7). Yine başka bir çalışmada nikotin tayininde polarimetre kullanılmıştır (8). Bir çalışmada tütünde nikotin tayininde kapiler elektroforezin kullanıldığını görüyoruz.(9). Clark ve grubu tütünde uçucu asitleri (asetik, isobütirik, valerik, heptanoik asit vb.) (10) ve organik asitleri (malik, pilemik, sitrik, palmitik, benzoik asit vb.) (11) GC-MS tayin etmişlerdir.. Severson ve grubu (12) tütünde nikotin ve miyosmin, anatabin, anabasin gibi alkaloidleri GC-FID sistemi ile tayin ederken, bir başka çalışmada asetatların GC-MS ile tayin edildiğini görmekteyiz (13). Ciolino ve grubu nikotini ters-faz iyon çifti kromatografisini kullanmışlardır (14).

İnsan kanında nitrosamin ve aromatik aminler GC-MS ile tayin edilmiştir (15). Severson ve grubu tütünde PAH'ları GC ile tayin etmişler (16). Ching ve grubu ise tütünde nikotini super kritik akışkan kromatografik yöntemle analiz etmişlerdir (17). Bazı çalışmalarda tütünde nikotin, nornikotin, anabasin gibi alkaloidleri HPLC ile tayin edildiği görülmektedir (18,19).

6.1.6. Duman Analizleri

Duman analizlerinde gaz ve sıvı kromatografilerin kullanıldığını sıkça görmekteyiz. Örneğin nikotin çeşitli araştırmacılar tarafından GC ile tayin edilmiştir (20,21,22). Stanley ve grubu GC-FID kullanırken nikotini havadan XAD-4 reçinesi üzerine adsorbe ettirmişler, sonra da sokslet cihazını nikotini kazanmada uygulamışlardır (22). Yine bir başka çalışmada Brunemann ve grubunun (23) alkaloidleri GC ile analiz ettiklerini görmekteyiz. Araştırmacılar detektör olarak, azot-fosfor detektörü (alkali-alevde iyonlaşma, N/P,azot/fosfor) kullanmışlardır. Bir çalışmada GC-NPD (azot-fosfor detektörü) sistemi ile nikotinin tayin edildiğini görmekteyiz (24). Snook ve grubu dumanda N', açıl alkaloidleri GC-MS ile tayin etmişlerdir (25). Dumanda yapılan başka bir çalışmada fenol ve türevleri (o-fenol, m-fenol, p-fenol, o-kresol, α -naftol vb.) ters faz - HPLC ile tayin edilmiş (26), bir çalışmada ise nikotin süper kritik ekstraksiyon sonrası (27) HPLC ile tayin edilmiştir. Sigara dumanında fenoller ve organik asitlerin GC ile tayin edilmiş olduğunu yine literatürde görmekteyiz (28).

6.1.7. İzmarit Analizleri

İzmarit analizlerinin tütüne ve dumana göre çok olmadığı literatürde hemen göze çarpmaktadır. Bunda dumanın sağlığa daha doğrudan etkili olması neden olabilir. Ancak dudaktan ağza yüksek oranda madde sızmasının mümkün olduğu bugün artık bilinmektedir. Literatürde görülen çalışmalar arasında nikotin tayinleri (29, 30, 31), benz(a)piren tayini (32) sayılabilir. Genellikle GC ve HPLC kullanıldığı görülmektedir.

Görüldüğü gibi tütün, duman ve izmaritte bir çok analiz yapılmış hala bu çalışmalar devam etmektedir. Literatürde PAH'ların analizi ile ilgili makaleye az sayıda rastlanılmaktadır. PAH'ların analizinde başlıca problemler düşük miktarlarda bulunuşu ve izmaritin çok karmaşık yapıda olması dolayısıyla geri kazanılmasındaki zorluklar sayılabilir. Çalışmada içilmiş sigara izmaritlerinde standart PAH'ların iki farklı şekilde geri alınabilirliği üzerine çalışılmıştır. Daha sonraki çalışmalarda gerçek örneklerde PAH'ların tayini amaçlanmıştır.

6.2. Materyal ve Metod

6.2.1. Materyal

Floranten (F), benz(b)floranten (BbF), benz(k)floranten (BkF), benz(a)piren (BaP), indeno (1,2,3-cd)piren (InP) ve benz(g,h,i)perilen (BPy) "Community Bureau of Reference Materials" (Belçika)' dan satın alınmış . Bütün PAH standartları %99 saflıktadır.

Diklorometan, n-heksan (Merck) spektroskopik saflıkta, asetonitril (Merck) kromatografik saflıktadır. Hareketli fazda çift destile su kullanıldı.

Kromatograf

Pompa : Shimadzu LC-10 AD VP

Sistem Kontrolü : Shimadzu SCL-10 A VP

Detektör : UV spektrometresi, Waters 490

Yazıcı : Kratos Analytical, Kağıt hızı 1 cm/dakika, 10 mV/tam sapma

Loop hacmi : 20 µL

Enjektör : SGE 10 µL

Kromatografik koşullar

Kolon : Paslanmaz çelik, 25 cmx4.6 mm (Nucleosil 5 C18,5 µm)

Hareketli faz : %80 asetonitril : su

Akış hızı : 1.5 mL/dakika

6.2.2. Metod**Stok PAH çözeltileri**

Stok çözeltiler diklorometan içinde aşağıdaki derişimlerlerde hazırlandı. Miktarları Tablo 6.3'de verilmiştir.

Tablo 6.3. Stok PAH Çözeltileri ve Miktarları

PAH	mg/mL
F	1.85
BbF	1.50
BkF	2.55
BaP	1.80
InP	0.80
BPy	0.70

Standart PAH çözeltileri

Stok çözeltilerden seyreltilerek yine diklorometan içinde standart çözeltiler hazırlandı. Derişimler Tablo 6.4.'de verilmiştir.

Tablo 6.4. Standart PAH Çözeltileri ve Miktarları

PAH	mg/L
F	111
BbF	90
BkF	102
BaP	108
InP	104
BPy	98

Standart çözeltilerden diklorometan ile seyreltilerek çalışma çözeltileri hazırlandı. Sıvı kromatografa 5 µL' lik enjeksiyonlar yapıldı. Kapasite faktörleri aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır.

$$k' = (t - t_s) / t_s$$

t : PAH'in alıkonma zamanı

t_s : referans maddenin (fenol) alıkonma zamanı

Çalışmada rastgele içilmiş sigara izmaritlerinde sıvı-sıvı ekstraksiyonla PAH'ların geri kazanılması üzerine denemeler yapıldı. Standart eklenmiş izmaritte PAH'ların (Tablo 6.5-I) ve ekstraksiyon sonrası ekstrakta eklenen (Tablo 6.5-II) PAH'ların geri alınabilirliği hesaplanmıştır.

I. Standart Eklenen İzmaritten PAH'ların Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonla Geri Alınabilirliği

İçilmiş bir adet sigara izmariti (Kısa Samsun) filtre kağıdından ayrıldı. İzmarite standart PAH enjekte edildi (Tablo 6.5). 15 mL asetonitrilde çözüldü. Çözeltinin pH'ı 0.5 M HCl ile 2'ye ayarlandı. 10 mL n-heksan ilave edildi ve manyetik karıştırıcıda 15 dakika karıştırıldı, n-heksan fazı alındı. Ekstraksiyon 10'ar mL n-heksan ile üç kez tekrarlandı. Ekstraktların çözücüsü uçurularak 100 µL diklorometan konularak her ekstraktdan 5 µL lik enjeksiyonlar yapıldı. Standart PAH'ların ve Kısa Samsun sigarasının filtre ekstraktının HPLC de alınan kromatogramları sırası ile Şekil 6.1 ve 6.2'de gösterilmiştir. Bu kromatogramlardan, alıkonma zamanları kullanılarak kalitatif değerlendirme yapılmıştır. Kantitatif değerlendirme ve geri alınabilirlik hesaplamaları için pik boyları kullanılmıştır. Standart ve ekstrakt pik boyları karşılaştırılması aşağıdaki eşitlik ile yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 6.5 ve 6.6 da verilmiştir.

$$h / h_s = C / C_s$$

h : örnekteki PAH'in pik boyu

h_s : PAH'in standardının pik boyu

C : örnekteki PAH'in miktarı

C_s : standart PAH'in miktarı

II. İzmaritin Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Sonrasında Eklenen Standart PAH'ların Geri Alınabilirliği

Bu kez içilmiş bir adet sigara izmariti (Parliament) fitre kağıdından ayrıldıktan sonra 15 mL asetonitril ile çözüldü. Ardından çözeltiye standart PAH karışımı (Tablo 6.7) eklendi. I. çalışmada olduğu n-heksan ile 4 basamakta ekstrakte edildi ve ekstraktlar birleştirildi. Çözücüsü uçuruldu, 200 µL diklorometan konuldu ve 5 µL' lik enjeksiyonlar yapıldı. Kromatogram Şekil 6.4'de görülmektedir. Tablo 6.7 ve 6.8.'de geri kazanım yüzdeleri verilmiştir.

Tablo 6.5. İzmarite Eklenen ve Geri Kazanılan Standart PAH Miktarları (Kısa Samsun)

PAH	<u>µg PAH /filtre</u>									
	1		2		3		4		5	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
F	0.57	-	0.57	-	1.14	1.15	1.14	1.37	1.14	0.93
BbF	0.03	0.016	0.03	0.02	0.06	0.02	0.06	-	0.06	-
BkF	2.08	1.04	2.08	1.58	4.16	0.75	4.16	4.65	4.16	1.37
BaP	1.20	-	1.20	-	2.40	-	2.40	-	6.00	0.37
InP	0.57	0.30	0.57	0.27	1.15	0.49	1.15	0.48	1.15	0.34
BPy	2.00	1.06	2.00	0.82	4.00	1.40	4.00	1.48	4.00	1.20
	6		7		8		9		10	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
F	1.14	1.06	1.10	1.81	1.10	1.88	2.30	1.26	2.30	3.38
BbF	0.06	-	0.09	-	0.09	-	0.23	0.14	-	-
BkF	4.16	1.12	3.90	1.64	3.90	1.68	-	-	15.6	4.84
BaP	6.00	0.21	1.12	0.45	1.12	1.10	6.15	0.65	6.15	2.70
InP	1.15	0.29	1.10	0.65	1.10	0.76	1.92	1.80	1.92	3.15
BPy	4.00	1.24	2.84	1.80	3.84	2.11	7.50	2.85	7.50	2.55

I : İzmarite enjekte edilen PAH miktarı II : Geri kazanılan PAH miktarı
(1,2... : Deney sayısı)

Tablo 6.6. Standart Eklenmiş Sigara İzmaritlerinden PAH'ların Geri Alınabilirlik Yüzdeleri (Kısa Samsun)

PAH	%R _T										Ort. %R _T	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
F	-	-	101	120	82	93	165	171	55	147	117	16 ¹
BbF	54	68	34	36	-	-	-	-	63	-	51	11 ²
BkF	50	76	18	112	33	27	42	43	-	31	48	16 ³
BaP	-	-	-	-	6.1	3.5	40	98	10.5	44	34	
InP	53	47	43	42	30	25	59	69	94	164	63	18 ⁴
BPy	53	41	35	37	30	31	47	55	38	34	40	19 ⁵

1 : Dört ölçüm için % standart sapma

2 : Üç ölçüm için % standart sapma

3 : Dört ölçüm için % standart sapma

4: Altı ölçüm için % standart sapma

8: Sekiz ölçüm için % standart sapma

Tablo 6.7. İzmarit Ekstraktlarına Eklenen ve Geri Kazanılan PAH Miktarları

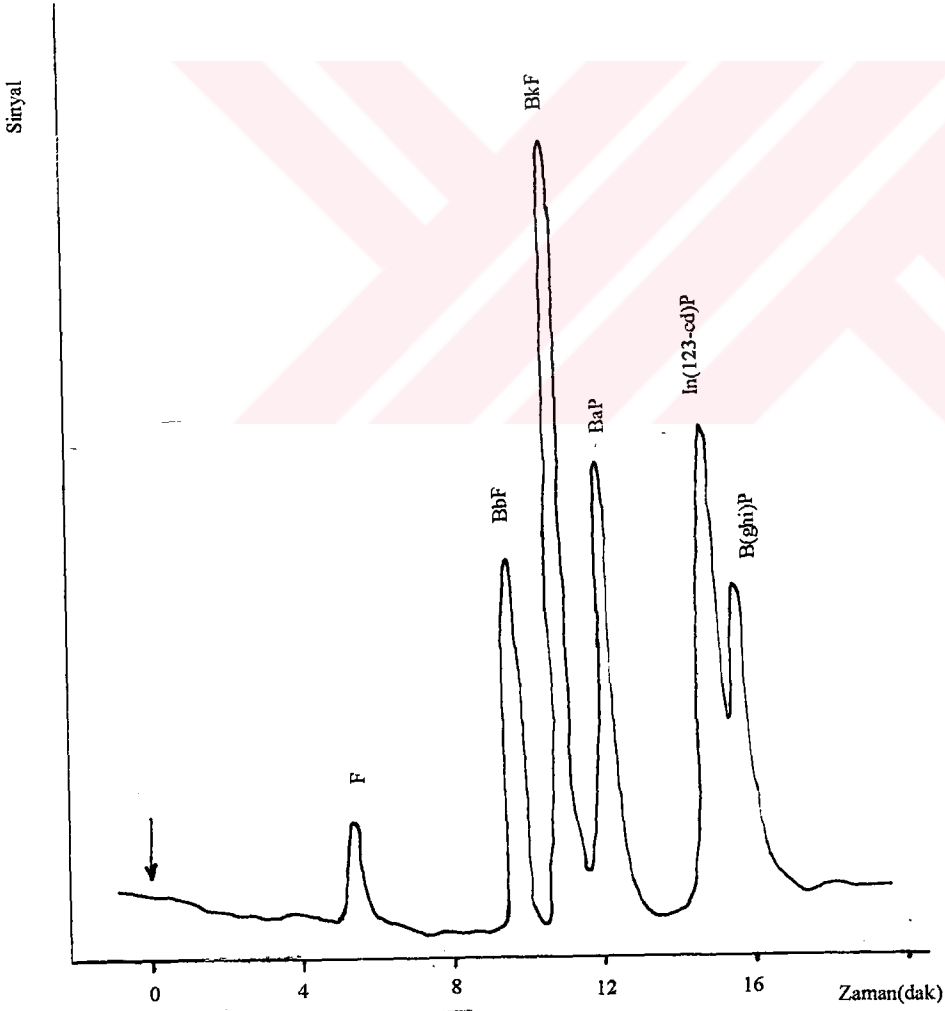
PAH	µg/izmarit							
	1		2		3		4	
	I	II	I	II	I	II	I	II
F	1.66	1.49	1.66	1.61	1.66	1.34	1.10	1.59
BbF	1.35	1.12	1.35	1.21	1.35	1.91	0.90	1.54
BaP	1.62	0.99	1.62	1.44	1.62	1.18	1.08	-
InP	1.44	2.49	1.44	1.42	1.44	1.45	1.04	1.17
BPy	1.26	1.59	1.26	2.75	1.26	1.44	0.98	1.41

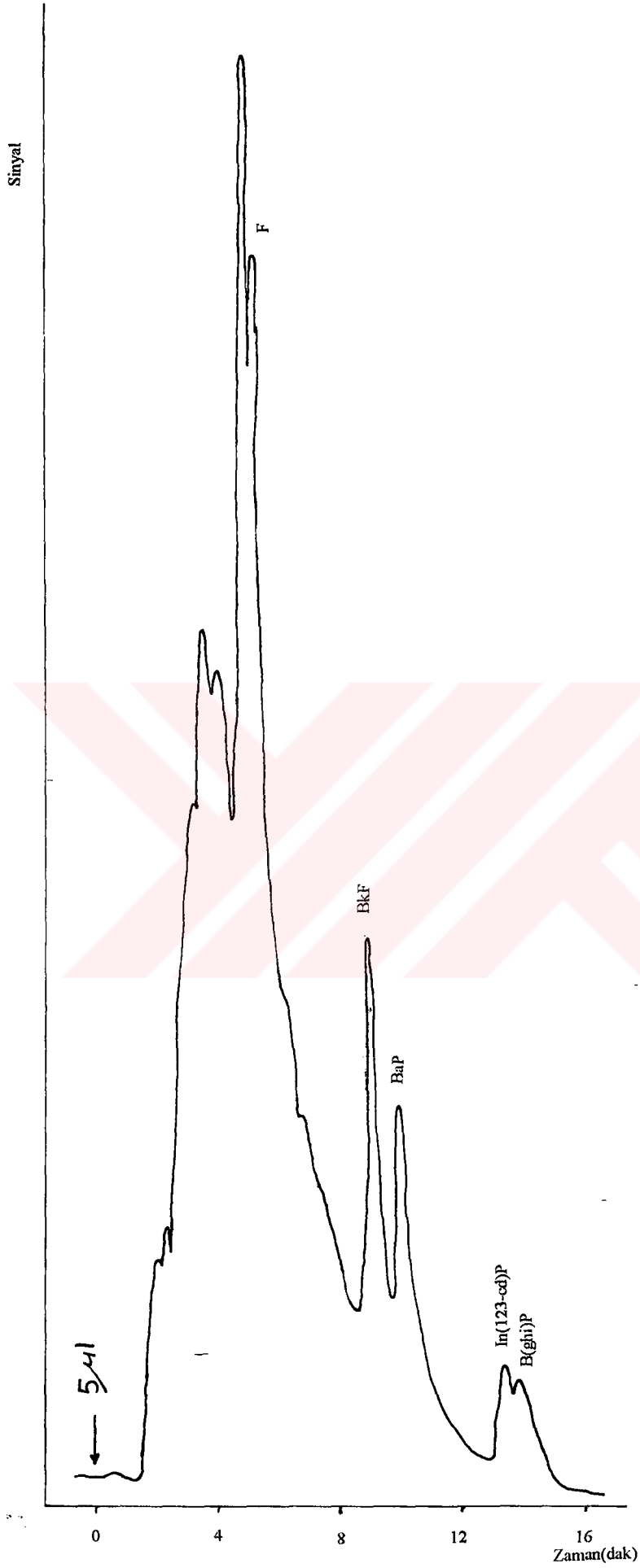
I : İzmarite enjekte edilen PAH miktarı

II : Geri kazanılan PAH miktarı

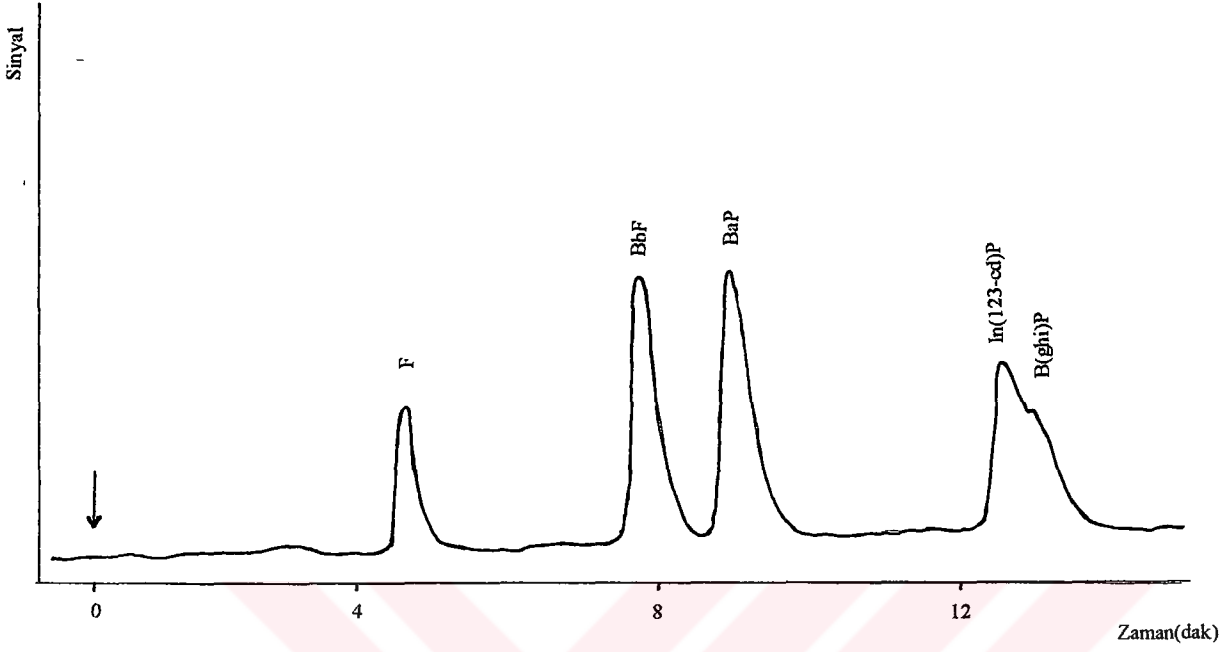
Tablo 6.8. Ekstrakta Eklenen PAH'ların Geri Alınabilirliği

PAH	% R _T				Ortalama	% std.sapma
	1	2	3	4		
F	90	97	81	145	103	28
BbF	83	90	142	171	121	35
BaP	61	89	173	-	81	10
InP	160	99	101	113	118	24
BPy	125	219	114	120	144	34

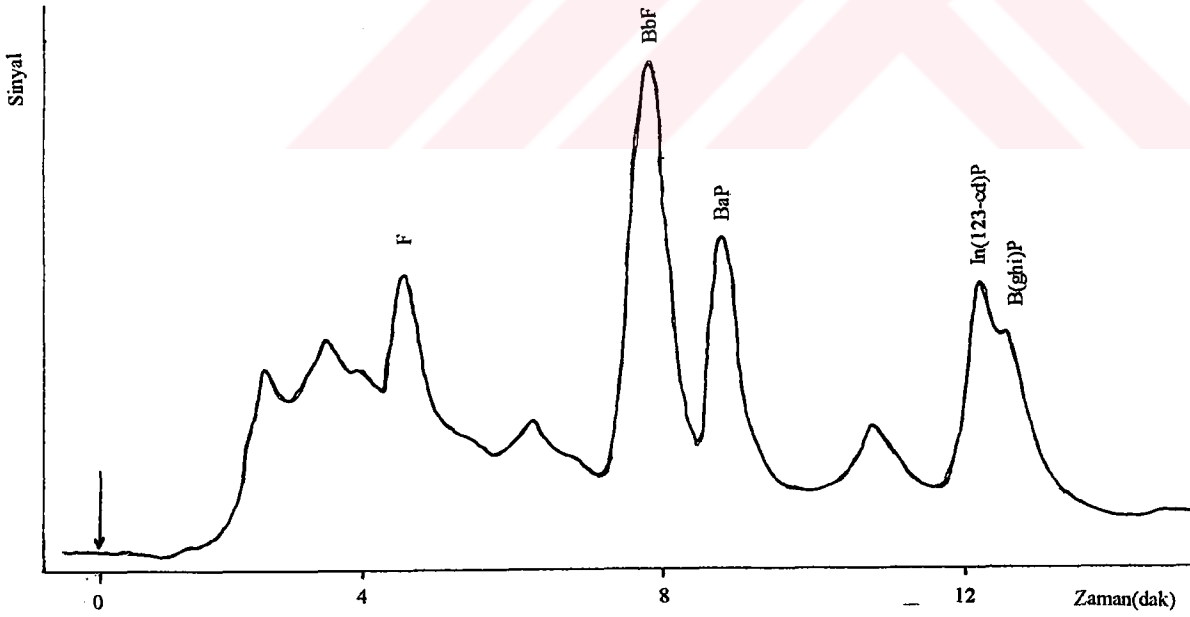
**Şekil 6.1.** Standart PAH karışımının kromatogramı



Şekil 6.2 Standart eklenmiş sigara (Kısa Samsun) izmarit ekstraktının kromatogramı



Şekil 6.3. Standart PAH karışımının kromatogramı



Şekil 6.4. Sigara (Parliament) izmarit ekstraktının (standart eklenmiş) kromatogramı

6.3. Sonuçlar ve Tartışma

1. İzmarite eklenen PAH'lardan geri alınabilirlik yüzdesi en yüksek Florantenin (%117) çıkmıştır. Benz(a)pirenin dışında diğer PAH'ların geri alınabilirliği % 34-63 aralığında değıştiği görölmektedir. Geri kazanımdaki farklılıklar izmaritin karmaşık yapısının yanısıra cam yüzeyde tutunma ve çözelti hazırlamadaki problemlerden (Bölüm 3) kaynaklandığı söylenebilir.

2. Ekstraksiyon sonrasında eklenen PAH'ların geri kazanma çalışmalarında % gerinalınabilirlik (81-121) oldukça yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar ekstraksiyon öncesi izmarite eklenen PAH'ların geri kazanımının düşük oluşunu çok iyi açıklamaktadır. Karmaşık yapıdaki izmaritten PAH'ların kazanılmasının çok güç olduğunu bir kere daha görmekteyiz.

3. Standart karışımın kromatogramlarında PAH'ların son iki pik hariç temel-çizgi ayırımı gözlenmektedir. Son piklerdeki ayırımıda gözlenen sorun laboratuvarımızda hazırlanan kolonun ömrünün dolmakta olduğunu göstergesidir. Bu kolon yaklaşık bir yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Bu nedenle performansında düşme gözlenmesi normaldir.

4. Kısa Samsun filtre ekstraktının kalitatif ve kantitatif değeriendirilmesi bir hayli zor olmaktadır. Bunun nedeni kromatogramda başlangıçta görölen büyük piktir. Bu pikin büyüklüğü nedeni ile pik boylarının hesaplanmasında zorluklar yaşanmaktadır. Ancak önceki bölümlerde değinilen XAD-2 ile adsorpsiyon bu sorunu çözecek niteliktedir. Hatta diğer XAD'ler ile polar maddelerin tutulması da düşünölebilir.

5. Kromatogramda görölen sorunlar Tablolara da yansımıştır. Tablolara bakıldığında zaman zaman değeriendirmenin yapılamadığı görölmektedir. Ancak Parliament ile geri alınabilirlik daha tekrarlanabilir olarak görönmektedir. Bütün bu çalışmalar ön çalışmalar niteliğinde olduğu için bu tür karmaşık yapılardan bulunan geri alınabilirlik değerielerinin % 100 ün üzerinde olması doğaldır. Özet olarak karşılaşılan sorunları şöyle sıralamak mümkündür.

1. Sellöloz asetattan maddelerin desorbe edilmesi bir hayli güç olmaktadır.
2. Cam kapların yüzeyinde tutulma kompleks bir ortamda daha yüksek olmaktadır.
3. Hesaplamalarda görölen hatalar.

Ancak bütün bunlara rağmen asetonitril ile filtreden yapılan ekstraksiyon ve ardından n-heksan ile asetonitrilden PAH'ların alımı birhayli başarılı sayılabilir. Kuşkusuz bu çalışmalar henüz standartların doğal ortama verilmesi ve ardından da tayin edilmesini kapsamaktadır. Bu açıdan yöntem uygulanabilir niteliktedir.



6.4.Kaynaklar

1. **Aksu,S.,**Tütün ve Kimya Teknolojisi,Tekel Enstitüleri Yayınları,İstanbul,1967.
2. **Wise,S.A.,Sander,L.C.,May,W.E.,1993.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by liquid chromatography. *J.Chromatogr.*42,329-349.
3. **Chen,B.H.,Lin,Y.S.,1997.** Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons during processing of duck meat .*J.Agric.Food.Chem.*,45,1394-1403.
4. **Kruijf,N.de.,Schouten,T.,vander Stegen,G.h.d.,1987.** Rapid determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brew by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J.Agric.Food Chem.*,35,545-549.
5. **Monserate,M.,Olesik,V.S.,1997.** Evaluation of SFE-CO₂ and methanol-CO₂ mixtures for the extraction of polynuclear aromatic hydrocarbons from house dust. *J.Chromatogr. Sci.*,35,82-90.
6. **Chen,B.H.,Wang,C.Y.,Chiu,C.P.,1996.** Evaluation of analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by liquid chromatography.*J.Agric.Food Chem.*,44,2244-2
7. **Analytical note.1985.** Atomic absorption of nicotine in tobacco. *Spectrochimica Acta.*40B,8,1127-1131.
8. **Atkinson,W.M.,Han,S.M.,Purdie,N. 1984.** Determination of nicotine in tobacco by circular dichroism spectropolarimetry.*Anal.Chem.*56,1947-1950.
9. **Matyisk,F.M.,1999.** Application of non-aqueous capillary electrophoresis with electrochemical detection to the determination of nicotine in tobacco. *J.Chromatogr.A.* 853, 27-34.
10. **Clark,T.J.,Bunch,J.E.1997.** Determination of volatile acids in tobacco,tea,and coffee using derivatization-purge and trap gas chromatography-selected ion monitoring mass spectrometry.*J.Chromatogr.Sci.*35,206-208.
11. **Clark,T.J.,Bunch,J.E.1997.** Derivatization solid-phase microextraction gas chromatographic-mass spectrometric determination of organic acids in tobacco.*J. Chromatogr. Sci.*35,209-212.

12. **Severson, R.F., McDuffie, K.L., Arrendale, R.F., Gwynn, G.R., Chaplin, J.F., Johnson, A. W. 1981.** Rapid method for the analysis of tobacco nicotine alkaloids. *J.Chromatogr.* 211,111-121.
13. **Watson, C.H., Ashley, D.L., 2000.** Quantitative analysis of acetates in cigarette tobacco using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J.Chromatogr. Sci.* 38,137-144.
14. **Ciolino, L.A., Turner, J.A., McCauley, Smallwood, A.W., Yi, T.Y. 1999.** Optimazitaion study for the reserved-phase ion-pair liquid chraomatographic determination of nicotine in commercial tobacco product. *J.Chromatogr. A.*, 852,451-463.
15. **Kutzer, C., Branner, B., Zwicklenflug, W., Richter, E., 1997.** Simultaneous solid-phase extraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination of hemoglobin adduct from tobacco-specific nitrosamines and aromatic amines. *J.Chromatogr. Sci.* 35,1-6.
16. **Severson, R.F., Arrendale, R.F., Chaplin, J.P., Williamson R.E. 1979.** Use of pale-yellow tobacco to reduce smoke polynuclear aromatic hydrocarbons. American. Chem. Society.
17. **Wu, C., Siems, W.F., Hill, H.H., Hannan, R.M., 1998.** Analytical determination of nicotine in tobacco by supercritical fluid chromatograh-y-ion mobility detection. *J.Chromatogr. A.*, 811,157-161.
18. **Saunders, J.A., Blume, D.E., 1981.** Quantitation of major tobacco alkaloids by high-performance liquid chromatography. 205,147-154.
19. **Sudan, B.J.L., Brouillard, C., Strehler, C., Strub, H., Sterboul, J., Laudy, J.S., 1984.** Determination of nicotine in allergenic extracts of tobacco leaf by high-performance liquid chromatography. *J.Chromatogr.*, 288,415-422.
20. **Abad, A., Manclus, J.J., March, C., Montoya, A., 1993.** Comparison of a monoclonal antibody-based enzme-linked immunosorbent assay and gas chromatograh-y for the determination of nicotine in cigarette smoke condensates. *Anal.Chem.*, 65,3227-3231.
21. **Coresta Recommended Method 7 .1987.** Determination of nicotine in the mainstream smoke of cigarettes by gas chromatographic analysis. 39-41.
22. **Kopczynský S.L. 1989.** Multidimensional gas chromatographic determination of cotinine as a marker compound for particulate, phase environmental tobacco smoke.

23. **Brunneman, K.D., Adams J.D., 1987.** Method 8-nicotine and minor tobacco alkaloids in sidestream smoke and indoor air. *Iarc Sci. Publ.*, 81, 239-246.
24. **Ogden, M.W., Eudy, L.W., Heavner, D.L., Conrad, F.W., Green, C.R., 1989.** Improved gas chromatographic determination of nicotine in environmental tobacco smoke. *Analyst*, 114, 1005-1008.
25. **Snook, M.E., Chortyk, O.T., Arrendale, R.F., 1984.** Isolation and identification of N'-acylalkaloids of cigarette smoke. *Beitrage zur Tabakforschung Int.*, 12, 5, 227-241.
26. **Kuwata, K., Uebori, M., Yamazaki, Y., 1981.** Reserved-phase liquid chromatographic determination of phenols in auto exhaust and tobacco smoke as p-nitrobenzeneazophenol derivatives. *Anal. Chem.*, 53, 1531-1534.
27. **Fischer, M., Jefferies, T.M. 1996.** Optimization of nicotine extraction from tobacco using supercritical fluid technology with dynamic extraction modeling. *J. Agric. Food. Chem.*, 44, 1258-1264.
28. **Sakuma, H., Kusama, M., Munakata, S., Ohsumi, T., Sugawara, S., 1983.** The distribution of cigarette smoke components between mainstream and sidestream smoke. *Beitrage zur Tabakforschung Int.*, 12, 2, 63-71.
29. **Coresta Recommended Method 9, 1989.** Determination of nicotine in cigarettes filters by gas chromatographic analysis. 15-17.
30. **Ayers, G.P., Selleck, P.W., Gillett, R.W., Keywood, M.D., 1998.** Determination in water by gradient ion chromatography. 824, 241-245.
31. **Green, C.R., Conrad, F.W., Bridle, K.A., Borgerding, M.F., 1985.** A liquid chromatographic procedure for analysis of nicotine on cellulose acetate filters. *Beitrage zur Tabakforschung Int.*, *Beitrage zur Tabakforschung Int.*, 13, 1, 11-16.
32. **Aygün, F., Demirci, A., Özcimder, M., 1996.** Liquid chromatographic method for the determination of benzo(a)pyrene in filter tar Turkish Cigarettes. *J. Agric. Food. Chem.*, 44, 1488-1490.

ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında Samsun'da doğdum. İlk, orta ve lise tahsilimi aynı ilde tamamladım. 1986-87 öğretim yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Bölümü'nde yüksek öğrenimime başladım. 1989-1990 öğretim yılında mezun oldum. 1993 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Eğitimi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimimi tamamladım. Halen Kırıkkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

