

35402

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİGARA İZMARİT ZİFİRİ ÜZERİNE KROMATOĞRAFİK  
ÇALIŞMALAR

Ş. Fatma AYGÜN

DOKTORA TEZİ

Samsun  
Eylül - 1995

T.C.  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü

SİGARA İZMARİT ZİFİRİ ÜZERİNE KROMATOĞRAFİK  
ÇALIŞMALAR

Ş. Fatma AYGÜN

DOKTORA TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Mustafa ÖZCİMDER

Samsun  
Eylül - 1995

T.C.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bu çalışma jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Mustafa Özcimder

Üye : Prof. Dr. Nur Onar

Üye : Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

..03./11./1995



Prof. Dr. Veysel KARTAL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZ

Bu çalışma 6 bölümden oluşmaktadır. Giriş bölümünden sonra ikinci bölümde bazı polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) ters-faz ve normal faz kolonlarda yüksek basınç sıvı kromatografisinde (HPLC) alkonma mekanizmaları incelenmiştir. PAH ların ters-faz kromatografik ayırımının normal fazdan daha iyi olduğu görülmüştür. Üçüncü bölümde ters-faz HPLC kullanarak tek ve beş sigara izmaritindeki benz(a)pirenin (BaP) geri alınabilirliği incelenmiş ve gerçek örneklerle uygulanmıştır. Geri alınabilirlik %50.92 olurken üç farklı sigara filtresinde ortalama 78 ng/filtre BaP bulunmuştur.

Dördüncü bölümde XAD-2 reçinesinin sigara filtresindeki BaP adsorpsiyonu, beşinci bölümde ise sigara kalitesini belirlenmesinde gaz kromatografisinde elde edilen kromatogramın "Finger- Print" olarak kullanılabilirliği incelenmiştir.

Sonuncu bölümde de zifir ekstraktlarında bulunan yüksek moleküllü maddelerin kütle spektrumu yorumlanmıştır.

**ABSTRACT**

This study is given in six chapters. After giving general properties of cigarette and filter tar in the first chapter, the second chapter covers the retention mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in normal and reverse phase High Pressure Liquid Chromatography (HPLC). The third chapter presents the recovery studies of benzo(a)pyrene (BaP) from cigarette filter tar. Maximum recovery of 50.92 per cent was obtained.

In the fourth chapter, use of XAD-2 resin for filter extract were examined. The possibility of use of gas chromatogram as "Finger- Print" for cigarette quality is studied in chapter five .

Finally chapter six gives the gas chromatogram, together with mass spectra, of a filter extract to see various compounds.

**TEŞEKKÜR**

**Çalışmalarım sırasında her konuda yakın ilgi, destek ve yardımlarını gördüğüm değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa ÖZCİMDER' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.**

**Hollanda' da izmarit ekstraktlarının kütle spektrumunun alınmasını sağlayan Meral ÖZCİMDER' e ve İçme Suyu Hazırlama Firması' na (Water Transport Company, Nieuwegein, Hollanda) teşekkürlerimi sunarım.**

**Sigara içme makinasının dizaynını yapan ve çalışmalarına büyük bir anlayış ve sabırla destek olan eşim İbrahim AYGÜN' e de teşekkür ederim.**



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
<b>BÖLÜM 1</b>	
1. <b>GİRİŞ</b>	1
1.1. <b>Tütün</b>	1
1.2. <b>Sigara</b>	4
1.2.1. <b>Gaz Faz</b>	5
1.2.2. <b>İzmarit</b>	5
1.3. <b>Tütün Analizleri</b>	7
1.4. <b>Duman Analizleri</b>	8
1.5. <b>İzmarit Analizleri</b>	8
1.6. <b>Çalışmanın Amacı</b>	9
<b>KAYNAKLAR</b>	10
<b>BÖLÜM 2</b>	
<b>POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARIN NORMAL (-CN) VE TERS (-C18) FAZ KOLONLARINDA KROMATOĞRAFİK DAVRANIŞLARININ KARŞILAŞTIRILMASI</b>	
2.1. <b>Giriş</b>	12
2.1.1. <b>Normal Faz Sıvı Kolonunda Yürütme Mekanizması</b>	16
2.1.1.1. <b>Adsorban Etkisi</b>	17
2.1.1.2. <b>Çözücü (Hareketli Faz) Etkisi</b>	20
2.1.1.3. <b>Madde Miktarı, Yapısı ve Moleküler Alan</b>	20
2.1.2. <b>Ters- Faz Sıvı Kolonunda Elüsyon (Yürütme)</b>	21
2.2. <b>Materyal ve Yöntem</b>	22
2.2.1. <b>Materyal</b>	22
2.2.2. <b>Cihaz</b>	23
2.2.3. <b>Yöntem</b>	25
2.3. <b>Tartışma ve Sonuçlar</b>	26
2.4. <b>Normal ve Ters- Faz Sonuçlarının Karşılaştırılması</b>	31
<b>KAYNAKLAR</b>	32
<b>BÖLÜM 3</b>	
<b>TÜRK SİGARA FİLTRELERİNDE BENZ(A)PİREN TAYİNİ İÇİN BİR SIVI KROMATOĞRAFİK YÖNTEM</b>	
3.1 <b>Giriş</b>	35

3.2.	Materyal ve Yöntem	36
3.2.1.	Materyal	36
3.2.1.1.	Cihaz	37
3.2.2.	Yöntem	37
3.2.2.1.	Kalitatif-Kantitatif Değerlendirme	39
3.3.	Tartışma ve Sonuçlar	41
	KAYNAKLAR	44
	<b>BÖLÜM 4</b>	
	<b>BENZ(A) PİRENİN XAD-2 KOLONUNDA İZMARİT ZİFİRİNDEN ALINMASI</b>	
4.1.	XAD Reçineleri	46
4.1.1.	Reçinelerin Fiziksel Özellikleri	46
4.1.2.	XAD Reçinelerinin Hazırlanma Yöntemleri	46
4.1.2.1.	XAD Reçinelerinin Yıkınması ve Saklanması	47
4.1.2.2.	Reçinelerin Kullanım Zorlukları	47
4.1.2.3.	Reçinelerin Kullanım Alanları	47
4.2.	Materyal ve Yöntem	47
4.2.1.	Materyal	47
4.2.2.	Cihaz	48
4.2.3.	Yöntem	48
4.2.3.1.	XAD-2 Reçinesinin Hazırlanması	48
4.2.3.2.	Ekstraksiyon	48
4.2.3.3.	Standartların Hazırlanması ve XAD-2 de Adsorpsiyonu	51
4.2.3.4.	BaP nin XAD-2 den Geri Alınabilirliği	51
4.3.	Tartışma ve Sonuçlar	54
	KAYNAKLAR	55
	<b>BÖLÜM 5</b>	
	<b>SİGARA TÜRÜ VE KALİTESİ BELİRLEMEDE "FİNGER-PRINT"</b>	
5.1.	Giriş	56
5.2.	Materyal ve Yöntem	57
5.2.1.	Materyal	57
5.2.2.	Cihaz	57
5.2.3.	Yöntem	58
5.2.3.1.	Ekstraksiyon	58
5.2.3.2.	Kromatografik Koşullar	58



5.2.3.3	Yöntem ve Veriler	59
5.3.	Tartışma ve Sonuçlar	66
	KAYNAKLAR	70
	<b>BÖLÜM 6</b>	
	<b>SİĞARA İZMARİT EKSTRAKTLARININ GC/MS İLE TAYİNİ</b>	
6.1.	Giriş	71
6.2.	Materyal ve Yöntem	71
6.2.1.	Materyal	71
6.2.2.	Yöntem	71
6.2.3.	Kromatografik Koşullar	72
6.2.4.	Kalitatif Değerlendirme ve Sonuçlar	72
	EK	80
	ÖZET	97
	SUMMARY	98
	ÖZGEÇMİŞ	99

## BÖLÜM 1

### 1. GİRİŞ

#### 1.1. Tütün

Tütün Solanaceae olarak tanınan bitki ailesiyle Nikotina cinslerine aittir. Nikotina'nın tahminen altmış kadar cinsi arasında N.Tabacum tütün ticaretinin büyük bir kısmını oluşturur. Diğer cinslerinden biri olan N.Rustika ticari amaçla pipo ve sarma tütün imali için yetiştirilir.

Amerika'nın keşfinden 40 yıl kadar sonra 1531 de İspanyollar Santa Domingo'da tütün üretimine başladılar. 1560 da Küba ve Venezüella' da, tahminen 1600 yılında da ticari amaçla Brezilya'da yetiştiriliyordu. 1600 ve 1605 de denizciler ve tüccarlar tütünü Çin, Japonya, Güney Afrika ve diğer birçok uzak yerlere tanıttılar.

Toprakten elde edilen ürünler arasında insanoğlunun ekonomik ve sosyal hayatı üzerinde bu kadar kapsamlı bir etki yapan tütünden başka bir bitki de yoktur (1).

Tütün yanarak sigara, pipo ve nargile şeklinde tüketilirken, çiğneme ve enfiye şeklinde doğrudan tüketilir. Tütünün büyük kısmı, içme ve sigara şeklinde tüketilmektedir (2).

Çevresel, genetik faktörler ile tütün endüstrisinin talepleri yetiştirilen tütünleri belli cinslere ayırmayı mecburi kılmıştır. Cinsin özelliklerini tayin eden başlıca faktörler şunlardır:

- toprak özellikleri,
- iklim,
- tohum cinsi,
- ekim, gübreleme ve hasat yöntemleri,
- kurutma usulü,

Toprak, tohum, iklim, kültür ve kurutma şekillerinin arasındaki ilişki o kadar keskindir ki genel bir kural olarak herhangi bir cinsin yeni bir çevrede aynen yetiştirilmesine engeldir.

Dünyada üretilen tütün tipleri şunlardır:

- Flue – Cured
- Burley
- Oriental ( Şark tipi )
- Dark Air – Cured Sigar
- Dark Fire – Cured
- Dark Air ve Sun – Cured

Üretilen tütün tipleri içerisinde Flue – Cured, Burley ve Oriental tipler birinci derecede sigara imalatında, Dark Air ve Sun – Cured, Dark Fire – Cured Dark Air – Cured tütünler ise genelde çiğneme tütünü, puro ve enfiye imalatı için kullanılmaktadır (1).

Endüstri ilk maddesi haline gelmiş tütün yapraklarının özellikleri ile kimyasal bileşimi ve fiziksel yapısı arasında sıkı bir ilişki vardır. Yeni hasat edilmiş tütün yapraklarının kimyasal bileşimi şu şekildedir:

**a) Kül ( Anorganikler )**

Bitkisel maddelerin tam olarak yanması sonucu organik bileşikler parçalanarak ve yanarak ortamdan uzaklaşırken geride anyon ve katyonlardan oluşan bir kalıntı kalır. Bu kalıntıya "kül" denir. Külün % 95 i K, Ca, Na, Mg, Fe, Al, Mn, P, S, Si ve Cl dur. Geriye kalan kısmı ise iz elementlerdir.

**b)Selüloz ve Lignin**

**c) Pentosanlar**

**d) Pektinler**

Metil D – galakturonik asidin polimerize olmasından meydana gelmiştir.

**e) Eterde Çözünen Bileşikler**

Yaprak yüzeyi tüycüklerinden biriken uçucu yağlar, reçineler,vaks ve prafinlerdir.

**f) Polifenoller, Fenolik Asitler ve Türevleri (Tanenler dahil)**

**g) Eterde Çözünen Organik Asitler**

Oksalik asit, sitrik asit, malik asit vb.

**h) Proteinler**

Suda çözünmeyen büyük moleküllü ve karmaşık yapılı bazı azotlu bileşikler de bu gruba dahildir.

**ı) Suda Çözünen Azot Bileşikleri**

Amino asitler, amidler, amonyak, nitrat bileşikleri, alkaloidler ve henüz iyi tanınmamış bazı bileşiklerdir.

**i) Dinamik Karbohidratlar**

Şekerler, nişasta ve dekstrin gibi kolay hidroliz olabilen polisakkaritlerdir.

Yeşil tütün yaprakları, kurutma ve fermantasyon işlemi sonucu endüstri ilk maddesi haline döner. Kuru tütünün kimyasal bileşimi şu şekildedir.

**a) Mineral maddeler**

Miktarca en fazla bulunan anorganikler K ve Ca dur. Diğer mineral maddeler: MgO, Na<sub>2</sub>O, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, SO<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub> ve Cl dur. İz elementler ise: Al, As, Ba, B, Cs, Cr, Cu, Pb, Li, Mn, Ni, Rb, Sr, Ti ve Zn.

**b) Hidrokarbonlar**

1. Parafinler: Yaprak yüzeyinde biriken ve "eterde çözünen bileşikler" olarak ifade edilen maddeler ile birlikte bulunur.

2. Terpenik Hidrokarbonlar: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> (monoterpen) türevleridir.

3. Aromatik Hidrokarbonlar: Tütünde varlığı kesin değildir.

**c) Alkoller ve Esterler**

Metanol, etanol, benzilalkol, gliserin, solanesol (C<sub>45</sub>H<sub>74</sub>O), etil asetat ve metil palmitattır.

**d) Karbonil Bileşikleri**

Aldehit ve ketonlar

**e) Organik Asitler**

En büyük kısmını uçucu olmayan asitler oluşturur. Bunlar; Sitrik asit, malik asit ve oksalik asittir.

**f) Fenoller ve Polifenoller**

Bunlardan en önemlileri, klorogenik asit, kahve asidi, kversetin, elilotikshimik, kumarik asittir.

**g) Alkaloidler**

Büyük kısmını piridin sınıfı alkaloidler oluşturur.

Bazlara gelince bunların başlıcaları, amonyak, nikotin amid, nikotin asidi, piperidin, 3-pridilmetil keton, prolidin ve trimetil amindir.

Alkaloidlerden miktarı en yüksek olanı nikotindir. Nikotin, köklerde yedek proteinlerden ya da amino asitlerden meydana gelmektedir. Köklerde sentez edilen nikotin ksilem yolu ile bitkinin üst kısımlarına göç eder. Nikotin tütünde en çok yapraklarda, sonra sırası ile kökler, çiçek tacı ve sapta bulunur.

**h) Amino Asitler ve Proteinler**

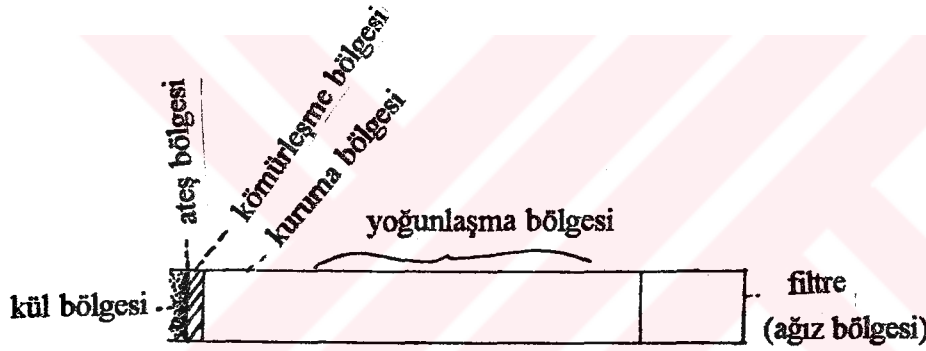
Toplam azotun yaklaşık olarak 3/4 ü "çözünmeyen azot bileşikleri" ne karşılıktır.

**ı) Karbohidratlar**

Şekerler, nişasta, dekstrin, selüloz gibi asıl karbohidratlarla, hücre zarını oluşturan pektinler, hemiselüloz ve lignindir. Pektinler, serbest pektik asit ve Ca, Mg tuzları halinde bulunur.

## 1.2. Sigara

Sigara, tütünün belirli sıklıkta sigara kağıdı adı verilen özel bir kağıda rulo şeklinde sarılmasıyla hazırlanır. Bir ucunda genelde selüloz asetattan yapılmış filtre bulunur. Yanmakta olan sigara kül bölgesi, ateş bölgesi, kömürleşme bölgesi, kuruma bölgesi, yoğunlaşma bölgesi ve filtreden oluşmaktadır.



Şekil 1.1. Yanmakta Olan Bir Sigaranın Bölümleri

Kuruma bölgesi ile ateş bölgesi arasında ısının etkisi ile bir çok gaz ve buharın bir karışımı oluşur. Bu gazlar ve buhar karışımı, nefes çekme aralarında sigaranın ucundan dışarıya doğru ve nefes çekme sırasında ise içine doğru uzaklaşır. Gaz karışımı her iki yönde ilerlerken katı ve sıvı maddelerin bir kısmı yoğunlaşarak çok küçük tanecikler oluşur. Bu olay, gaz ve buhar karışımının yaklaşık olarak 300 °C a kadar soğuması ile gerçekleşir. Böylece birisi katı ve sıvıların karışımı olan tanecikler, diğeri de gaz ve buharların bir karışımı olan gaz fazları olmak üzere iki fazlı bir sistem, başka bir deyimle "aerosol" oluşur. Tanecikler gaz faz içinde dağılmış bulunduğundan, buna "dağılmış faz" gaz fazına da "dağıtıcı faz" denir. Nefes çekme sırasında ağıza gelen dumana "asal duman", nefes aralarında sigaranın, puronun veya piponun ucundan çıkarak dışarıya giden dumana da "yan duman" denir. Asal duman kelimesi yerine genellikle duman kelimesi kullanılmaktadır.

### 1.2.1. Gaz Faz

Sigarlalarda gaz ve taneciklerden oluşan dumanın hacimca % 95 kadarını başlıca yedi gaz oluşturur (2).

**Tablo 1.1. Sigara Dumanı Kompozisyonu**

Gaz	Hacim (%)
N <sub>2</sub>	73.0
O <sub>2</sub>	10.0
CO <sub>2</sub>	9.5
CO	4.2
H <sub>2</sub>	1.0
Ar	0.6
CH <sub>4</sub>	0.6

Gaz fazında bunlardan başka, kk miktarlarda diğer bazı gazlar ve uçucu maddelerin buharları bulunur.

### 1.2.2. İzmarit

Sigara içimi sonrasında, bir miktar yanmamış tütün ve filtreden oluşan kısma izmarit denir. Filtre olmayan sigarlarda ise izmarit, sigara içimi sırasında ağıza alınan kısımdır. Burada içim sonrası oluşan sıvının yaklaşık % 10-15 ini su oluşturur. Bir sigaranın iğilmesinde dumana yaklaşık olarak 400 mg su karışır. Bu suyun büyük bir kısmı yan akımlarla dışarıya giderken 10-15 mg kadar kısmı asal dumanda kalır. Zifirdeki su miktarı ise 3-4 mg kadardır. Zifirin geriye kalan kısmının bir bölümünü kimyasal sınıflar meydana getirir (Tablo 1.2). Bir kısmını da reçineler, reçine asitleri ve diğer ęeřitli maddeler oluşturur.

**Tablo 1.2. Zifirde Kimyasal Sınıflar**

Kimyasal sınıflar	%
Asitler	7.7-12.8
Alkoller	5.3-8.3
Karbonil bileşikleri	8.5
Alifatik hidrokarbonlar	4.9
Aromatik hidrokarbonlar	0.4
Fenoller	1.0-3.8

Bir sigaranın tüketiminde dumana geçen zifir miktarı ortalama olarak 20-40 mg arasındadır (2).

Zifirde bulunan diğer maddeler başlıca şunlardır:

a) Heterosiklik Bazı Maddeler

Genellikle kanserojen maddelerdir.

b) Alkaloid ve Bazılar

Alkaloidlerin en önemlisi nikotindir. Yaprak dokusunda bulunan nikotin tuzları, ısının etkisi ile parçalanarak dumana geçer. Bir kısmı da parçalanarak başka maddelere dönüşür.

Bazılardan en önemlisi amonyaktır ve tamamı zifirde tuz halinde bulunur.

c) Hidrokarbonlar

Bunların küçük moleküllü olanları ( $C_1-C_4$ ) gaz fazında, daha büyük molekülleri ise zifirde bulunurlar. Bu büyük moleküllerden başka doymamış hidrokarbon olan izopren ve türevleri de bulunur. İzoprenin 600 °C da parçalanmasından polisiklik aromatik hidrokarbonlardan (P A H) benz(a)piren meydana gelir.

d) Alkoller

Benzil alkol, dietilen glikol, etanol, etilen glikol, gliserin, metanol, solanesol, trietilen glikol.

e) Esterler

Etil asetat, etil n- bütirat, etil n-kaproat vb.

f) Karbonil Bileşikleri

Asetaldehit, propiyon aldehit, aseton, metietilketon, gliksol, diasetil, dipalmitil keton örnek olarak verilebilir.

g) Asitler

Dumandaki asitlerin % 50 sini asetik asit, % 25 ini de formik asit oluşturmaktadır.

h) Fenoller ve Polifenoller

Son yıllarda fenollerin sağlığa zararlı olduklarının anlaşılması bu alanda çok sayıda araştırmanın yapılmasına yol açmıştır.

Dumanda tütündekinden fazla fenol bulunmaktadır. Filtreli sigaranın dumanındaki fenol miktarı da filtresiz sigaranın dumanındaki fenol miktarından daha azdır. Bu da fenollerin filtreler tarafından önemli derecede tutulduklarını göstermektedir.

#### ı) Aminoasitler

Dumanda az miktarlarda bulunmaktadırlar.

#### İ) Karbohidratlar

Büyük moleküllü bileşikler oldukları için dumanda sadece levoglukosan (1,6-anhidro-β-d-glukoz) gibi bazı anhidro şekerlerin bulunduğu anlaşılmıştır.

### 1.3. Tütün Analizleri

Tütünde bulunan çok sayıdaki kimyasal maddenin tek tek analizini yapacak tek bir yöntem bulmak imkansızdır. oldukça zordur. Bu nedenle çeşitli analitik yöntemlerle tütünde, dumanda ve izmaritte bulunan kimyasal maddeler tayin edilmeye çalışılmaktadır.

Lawson ve Danhower (3) tütün yaprağı yüzeyindeki bileşikleri tayin etmek için densitometri tekniğini ve ince tabaka kromatografisi yöntemini geliştirmişlerdir. Bunun için silikajel G adsorban, izopropanol - kloroform - metilen klorür - heksan hareketli faz olarak kullanılmıştır. Oekley (4) yeşil, liyofilize edilmiş yeşil ve kür edilmiş tütünde enzimatik nişasta tayini yapmıştır. Bunun için tütün yapraklarının % 80 sulu etanol ile 18 saat sokset cihazında ekstraksiyonunu gerçekleştirip daha sonra nişastayı kaynayan tampon çözeltide çözülebilir hale getirmiştir. Nişasta enzimatik olarak glikoza dönüştürülmüş ve glikoz oksidaz yöntemi ile kolorimetrik olarak tayin edilmiştir.

Chamberlain ve Arrendale (5) gaz kromatografisi yöntemi ile tütünde bulunan N-nitrosonornikotin (NNN) tayinini gerçekleştirmişlerdir. Burada Superoks kapiler cam kolon ve N-P termiyonik detektör kullanmışlardır. Bu yöntem tütün yaprağındaki N-nitrosonornikotin seviyesi ve nikotin, nornikotin seviyeleri arasında direkt ilişki olup olmadığını tayin etmek için de uygulanmıştır.

Fenolik asitlerin büyük miktarda bitkilerde oluştuğu bilinir. Genel olarak kağıt ve ince tabaka kromatografisi bunların izolasyonu ve bitki ekstraktlarında tayinleri için kullanılır. Bununla beraber her bir asitin miktarını bu yöntemlerle tayin etmek güçtür ve sadece belli başlı bileşikler tayin edilebilir. Bu nedenle Snook ve arkadaşları (6) daha önce sigara dumanındaki dihidroksibenzenlerin izolasyonunda uyguladıkları yöntemi tütün yaprağındaki fenolik asitlerin izolasyonuna uygulanabileceğini gösterdiler. Araştırmacılar



yaptıkları çalışmalarda Sephodeks-LH 20 kolon dolgu maddeli jel kromatografisi yöntemini kullandılar.

#### 1.4. Duman Analizleri

Sigara dumanındaki binlerce maddenin tayini için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Burada yapılan çalışmalara bir kaç örnek verebiliriz.

Houlgate ve arkadaşları (7) yoğunlaştırılmış sigara dumanında formaldehit ve asetaldehit tayini yapmışlardır. Hareketli faz olarak 1:1 oranında asetonitril-su karışımı, kolon olarak da oktadesilsilan kullanmışlardır. Kuwata ve arkadaşları (8) tütün dumanı ve oto eksozundaki eser miktardaki fenollerini 10 ml % 0.12 lik sodyum hidroksit çözeltisiyle "fritted bubler" kullanarak biriktirmişler ve pH:11.5 da sulu ortamda p-nitrobenzendiazonyumtetrafloroborat derivatizasyonu ile ters-faz yüksek basınç sıvı kromatografisi ile tayin etmişlerdir. Poligosil 60-5 C 18 ve LiChrosorb RP-18 (5 µm ) (20 cmx4.6 mm) ile doldurulmuş kolon ve hareketli faz olarak da % 85 metanol-su kullanmışlardır. p-Nitrobenzen türevlerinin birkaçıyla suda çözünür fenollerin iyi bir ayırımını gerçekleştirmişlerdir. Fenollerin tayin limitleri 0.05-2.0 ng dir. p-Klorofenol dışında suni hava örneklerindeki fenol buharları % 6.5 dan az bağıl standart sapmayla ppm ya da ppb seviyesinde tayin edilebilmiştir.

Brunnemann ve arkadaşları (9) hazırladıkları filtresiz dokuz deney sigarasının % 0.68 ile 2.65 arasında nitrat içerdiğini bulmuşlardır. N '- Nitrosonornikotin (NNN; 1.02-6.35 ppm) ve tütünün toplam spesifik N '-nitrosaminler (TSNA; 1.95-8.57 ppm) ile tütünün nitrat içeriği arasında güçlü bir uygunluk olduğunu bulmuşlardır. Dokuz sigaranın altısının yan dumanı oldukça yüksek miktarlarda NDMA (>1000 ng/sigara) vermiştir. Yan dumandaki NNN ve NDMA nın verimi karışımın nitrat içeriğiyle uygunluk içindedir. Bununla birlikte aynı zamanda yan dumandaki nitrosamin verimine diğer faktörlerin de etkili olduğunu söylemişlerdir.

#### 1.5. İzmarit Analizleri

İzmarit analizleri üzerine yapılan çalışmaların sayısı oldukça azdır. Bunlara bir kaç örnek verilirse;

Green ve arkadaşları (10) sigara içimi sırasında selüloz asetat filtresinde biriken nikotini HPLC ile analiz etmişlerdir. Burada filtreyi asetonitrilde çözüp iki farklı yöntemle HPLC de tayin etmişlerdir. Her iki yöntemde de CN bağı silika kolonu kullanılmış fakat

hareketli fazlar değiştirilmiştir. İlk yöntemde pH:7.56 da dietilamin fosfat tamponu kullanılırken ikinci yöntemde pH:3.00 de dimetilaminfosfat tamponu kullanılmıştır.

Ono ve arkadaşları (11) sigara filtresine ilave ettikleri  $\beta$ -Laktoglobulin ile sigara dumanındaki benz(a)pirenin (BaP) alkonmasını incelemişlerdir. Sigara filtresine çeşitli dozlarda  $\beta$ -Laktoglobulin verdiklerinde nikotin ve duman kondensatının alkonması sabit kalırken BaP nin alkonması değişmiştir. Araştırmacılar bir sigara içiminde oluşan BaP yi yarıya indirmek için 20 mg  $\beta$ -Laktoglobulin sigara filtresine enjekte edilmesi gerektiğini bulmuşlardır.

### 1.6. Çalışmanın Amacı

Yukarıdaki açıklamalardan tütün ve içimi sonrasında duman ve zifirde çok sayıda sağlığa ve çevreye zararlı maddelerin bulunduğu anlaşılmaktadır. İnsanların sigara ve benzeri keyif verici fakat aynı zamanda zararlı maddeleri tüketmelerini önlemek için çeşitli tedbirler alınmaktadır. Diğer taraftan içim sonrası zararlardan kurtulmak için de çeşitli yollar aranmaktadır. Örneğin nikotinsiz sigara imal etmek, daha iyi süzme yapan filtreler üretmek bunlar arasında sayılabilir. Ancak bütün bunlar sürerken tütün, duman ve zifir analizleri için yöntem geliştirme çalışmaları önceki paragraflarda değinildiği gibi sürmektedir. Yöntemler, bazı maddelerin ilk kez belirlenmesinin yanısıra bilinen maddelerin daha düşük miktarlarda tayinine imkan sağlayacak biçimde geliştirilmektedir. Bu çalışmada sigara analizlerine katkı sağlayacak bazı analiz yöntemleri geliştirilmeye çalışılmıştır.

İkinci bölümde, izmarit zifirinde bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonların sıvı kromatografisi ile tayininde ters ve normal faz ayırma sistemlerinin bir karşılaştırılması yapılmıştır.

Üçüncü bölümde polisiklik aromatik hidrokarbonlardan, kanserojen olduğu bugün artık kanıtlanmış olan benz(a)pirenin sigara izmarit zifirinde yüksek basınç sıvı kromatografisi ile tayini için yöntem geliştirilme çalışmaları verilmiştir. Dördüncü bölümde XAD-2 reçinesinin "Clean-up" olarak kullanılması üzerine yapılan çalışma verilmiştir. Beşinci bölümde sigara kalitesinin belirlenmesinde dumanın gaz kromatografisinde elde edilen kromatogramın "Finger- Print" olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Zifir ekstraktlarında bulunan yüksek molekül ağırlıklı maddelerin tayini için alınan kütle spektrumu ve yorumlar altıncı bölümde verilmiştir.

"Çalışmalarda izmarit kelimesi filtre anlamında kullanılmıştır."

## KAYNAKLAR

1. H.Tanrıverdi, "Flue-Cured ve Burley Tütünlerinin Değerlendirme ve Pazarlanması" Milli Tütün Komitesi Bilimsel Araştırma Alt Komitesi 9.Toplantısı, (1990), 88-103.
2. S. Aksu, Tütün Kimya ve Teknolojisi, Tekel Enstitüleri Yayınları, İstanbul (1967 ).
3. D.R. Lawson and D.A.Danchower, "Quantitative Thin-Layer Chromatography of Nicotiana Tabacum Leaf Surface Components", Journal of Chromatography, 463 (1989), 429-440.
4. E.T.Oakley, "Enzymatic Determination of Starch in Fresh Green, Lyophilized Green, and Cured Tobacco", J. Agric.Food Chem., 31 (1983), 902-905.
5. W.J. Chamberlain and R.F. Arrendale, "An Alternate Method for the Analysis of Nitrosonornicotine in Tobacco", J. Agric. Food Chem., 31 (1983), 909-911.
6. M.E. Snook et al., "Jel Chromatography for the Isolation of Phenolic Acids from Tobacco Leaf", Anal. Chem., 53 (1981), 374-377.
7. P.R. Houlgate et al., "Determination of Formaldehyde and Acetaldehyde in Mainstream Cigarette Smoke by High-Performance Liquid Chromatography", Analyst, 114 (1989), 355-360.
8. K. Kuwata et al., "Reversed Phase Liquid Chromatographic Determination of Phenols in Auto Exhaust and Tobacco Smoke as p-Nitrobenzeneazophenol Derivatives", Anal. Chem., 53 (1981), 1531-1534.
9. K.D. Brunnemann et al., "Role of Tobacco Stems in the Formation of N-Nitrosamins in Tobacco and Cigarette Mainstream and Sidestream Smoke", J. Agric. Food Chem., 31 (1983), 1221-1224.
10. C.R. Green et al., "A Liquid Chromatography Procedure for Analysis of Nicotine on Cellulose Acetate Filters", Beiträge zur Tabakforschung International,

13, 1 (1985), 11-16.

11. J. Ono et al., "Preferential Retention of Benzo[a]pyrene in Tobacco Smoke by  $\beta$ -Lactoglobulin in the Cigarette Filter Structure", *J. Agric. Food Chem.*, 29,1 (1981), 173-177.



## BÖLÜM 2

### POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARIN NORMAL (-CN) VE TERS (-C 18) FAZ KOLONLARINDA KROMATOĞRAFİK DAVRANIŞLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

#### 2.1. Giriş

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) doğal nedenlerle ve atıklarla çevreye çok geniş bir şekilde dağılmış bulunmaktadır. Orman yangınları, volkanik faaliyetler ve petrol sızıntıları doğal nedenlere, yakıtlar, metalurji sanayii, sigara ve gıda maddelerinin yakılması atıklara örnek verilebilir (1-4). Bu nedenlerle PAH lara havada, suda, toprakta, yediğimiz gıda maddelerinde (et, süt, kızarmış yiyecekler vb.) rastlanmaktadır.

Çevrede bulunabilecek polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve türevlerinin sayısı çok olmakla beraber analiz ve çevre kontrol laboratuvarlarında izlenenler genellikle onaltı tanedir. Tablo 2.1. de sık rastlanılan PAH lar verilmiştir (5).

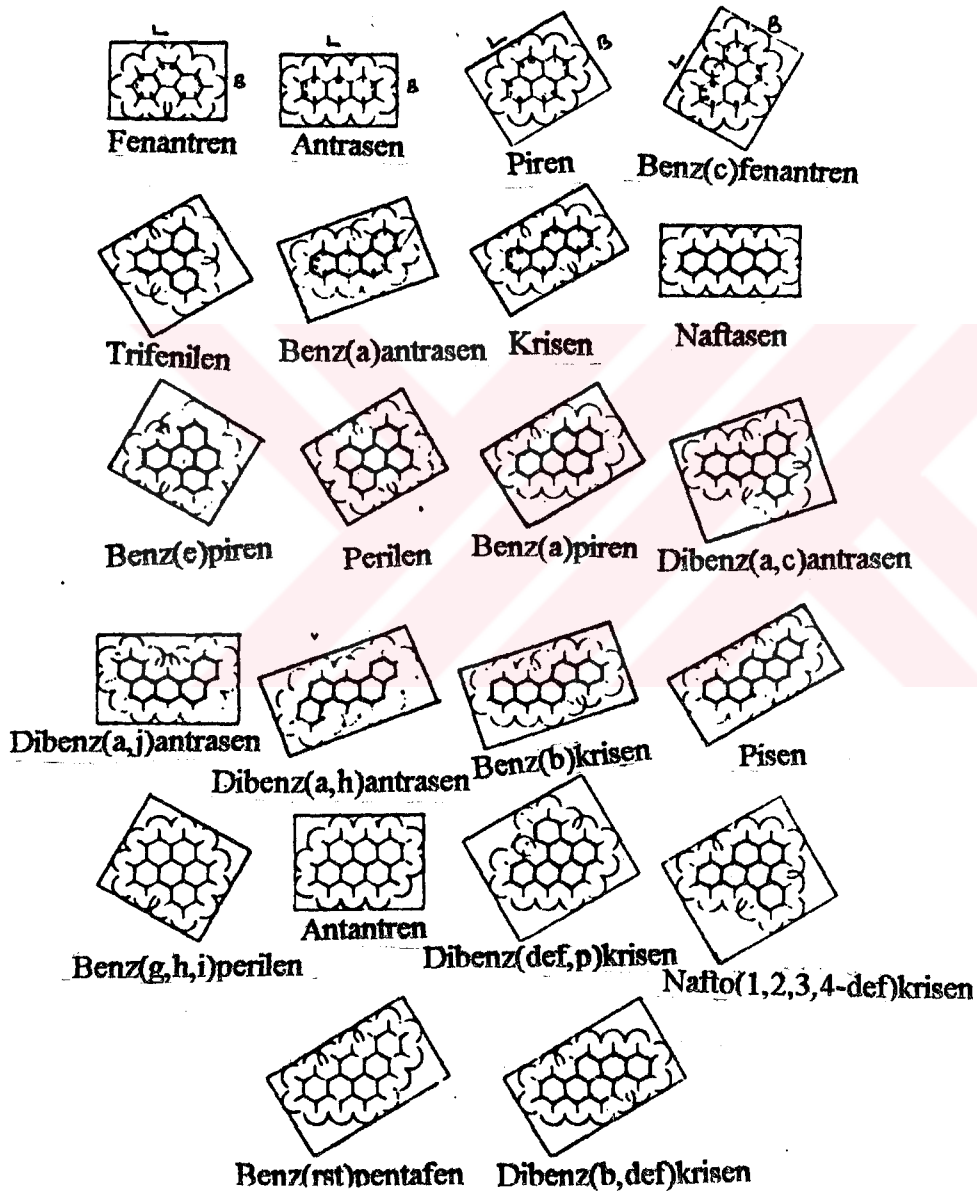
Polisiklik aromatik hidrokarbonların bir çoğunun kanserojen veya mutajen oluşu bu maddelerin çevrede bulunmamlarını gerektirir. Ancak toplumun bu konuda yeterince bilinçlenmemiş oluşu günlük hayatta PAH larla içiçe yaşamamıza neden olmaktadır. Bunlara bir kaç örnek verelim:

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar benzinin veya dizelin otomobil motorunda yanması sonucu oluşmaktadır ve çevreye yayılmaktadır. Katı taneciklerle beraber en yakın bölgeye ulaşırlar ve orada otlayan ineklerin sütlerine geçerek bizlere kadar ulaşırlar.

Kanserojen etkisi hemen hemen herkes tarafından bilinen sigara bir başka örnektir. Sigara içimi sırasında kanserojen olduğu bugün kesinlikle bilinen benz(a)piren oluşmaktadır. Ancak buna rağmen sigara içiminde bir azalma gözlenemediği de bir gerçektir.

Bir başka çarpıcı örnek ise aşım kızartılmış gıda maddeleridir. Özellikle kızarmış patates, patlıcan, biber kanserojen maddeler içermektedir.

Tablo 2.1. Bazı Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar



Kaynama noktaları yüksek bu maddelerin tayininde spektroskopik ve kromatografik yöntemlerin yeri büyüktür (6-8). Tablo 2.2. ve 2.3 de PAH tayinlerinde kullanılan çeşitli yöntemlerin bir kısa karşılaştırılması verilmiştir (9). Tabloda özellikle yüksek molekül ağırlıklı PAH ların tayininde en düşük tayin sınırı ile florometrik yöntem önde gelmektedir. Ancak birçok maddenin bulunduğu ortamda hepsinin ayırımını sağlayarak tayinlerini yapmak çok güç bir olaydır. Bu nedenle birçok maddenin analizinde kromatografik yöntemlerin ayırım amacıyla kullanılması kaçınılmazdır.

**Tablo 2.2. PAH ların Tayininde Kullanılan Bazı Yöntemlerin  
Tayin Limitleri (ng) (Düşük Molekül Ağırlıklı)**

Madde	LC-MS	UV	Floresans
Naftalin	10	2.40	400.00
Asenaftalin	10	3.72	800.00
Asenaften	10	7.22	—
Floren	10	0.48	—
Fenantren	10	0.21	—
Antrasen	10	0.06	1.10
Floranten	10	0.65	0.36
Benz(a)antrasen	10	50.00	17.80
Krisen	10	3.31	400.00

**Tablo 2.3. PAH ların Tayininde Kullanılan Bazı Yöntemlerin  
Tayin Limitleri (ng) (Yüksek Molekül Ağırlıklı)**

Madde	LC- MS	UV	Floresans
Benz(b)floranten	10	0.19	0.07
Benz(k)floranten	10	0.41	0.04
Benz(a)piren	10	0.46	0.07
Dibenz(a,h)antrasen	10	2.00	4.00
Benz(a,h,l)perilen	10	1.40	0.55
Indeno(1,2,3-c,d)piren	10	1.24	0.36

Spektroskopik yöntemlerin uzun ve ayırım gücünün az olması araştırmaların kromatografik yöntemlere kaymasına neden olmuştur. Örneğin Grizzie ve Thomson (10) HPLC ile kimyasal bağlı (2,4-Dinitroanilinpropil) silika kolonu kullanarak aromatik hidrokarbonların ayırımını yapmışlardır. Popl ve arkadaşları (11) silikajel/n-pentan sistemi kullanarak sıvı-katı kromatografisi ile 113 aromatik hidrokarbonun ahkonma indislerini bulmuşlardır. Vassilaros ve arkadaşları (12) kılcal gaz kromatografisi ile balık yağ dokusundaki PAH ların ayırımını ve tayinini gerçekleştirmişlerdir. Yine Vassilaros ve arkadaşları (13) kılcal gaz kromatografisi ile sıcaklık programlaması yaparak polisiklik aromatik bileşiklerin lineer ahkonma indislerini saptamışlardır. Ayrıca Paputa-Peck ve arkadaşları (14) yine kapiler gaz kromatografisi ile nitrolanmış polisiklik aromatik hidrokarbonların tayinini gerçekleştirmişlerdir. Romanowski ve arkadaşları (15) kömür zifirinde yüksek molekül ağırlıklı aromatik hidrokarbonları gaz kromatografisi/ kütle spektrometresi ile tayin etmişlerdir. Ancak gaz kromatografisi çok kullanılmasına rağmen bu yöntemin kaynama noktası yüksek maddelerin tayinlerinde kullanılmasında çeşitli problemler ortaya çıkmıştır. Çünkü gaz kromatografisi ile PAH ların tayininde yüksek sıcaklığa dayanıklı kolon dolgu maddelerine ihtiyaç duyulması ve bu dolgu maddelerinin bulunma güçlüğü, ayrıca yüksek sıcaklıkta aromatik hidrokarbonların parçalanma ihtimalleri söz konusudur. Diğer taraftan HPLC ile yapılan çalışmaların gelişmesine GC detektörlerinin ve ince tabaka kromatografisinin ayırım gücünün yetersiz olmasının katkısı büyüktür. Bu nedenle kaynama noktası yüksek olan büyük molekül ağırlıklı PAH ları HPLC ile analizinde son yıllarda büyük gelişme gözlenmiştir. Giles ve arkadaşları (16) HPLC ile metanol-su ve asetonitril-su gradiyent elüsyonuyla PAH ların kalitatif ve kantitatif tayinlerini yapmışlardır.



Sonuç olarak son yıllarda HPLC, GC ye rakip olmuştur. Büyük gelişmeler gösteren yüksek basınç sıvı kromatografisi yüksek ayırım gücü yanısıra,

a) değişik ve çok sayıda hareketli faz kullanılabilmeye imkan sağlama,

b) değişik detektörlerin kullanılabilmesi,

c) yüksek kaynama noktalı ve molekül ağırlıklı maddelere bozunma tehlikesi olmadan uygulanabilmesi,

d) gaz kromatografisindeki sıcaklık programlamasının bir benzeri olan gradiyent yürütme ile yüksek ayırım gücüne ulaşabilmesi,

e) preparatif amaçlar için çok uygun olması,

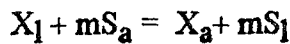
gibi nedenlerle HPLC gaz kromatografisinin (özellikle az uçucu maddelerin analizinde) yerini alamasa bile alternatif hale gelmiştir.

Yüksek basınç sıvı kromatografisi polisiklik aromatik hidrokarbonların analizinde hem ters-faz hem de normal faz biçiminde uygulanmaktadır (17,18).

### 2.1.1. Normal Faz Sıvı Kolonunda Yürütme Mekanizması

Normal faz kromatografisi hareketli fazın apolar ve sabit fazın polar olduğu kromatografi türüne girer. Daha çok polar maddelerin ayırımında kullanılır. Genellikle adsorpsiyon kromatografisi ve normal faz kromatografisi tanımları aynı anlamda kullanılır. Dolgu maddeleri olarak silis ( $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) ve alümina ( $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) ve benzerleri kullanılır. Ayrıca silikajel yüzeyine polar ( $\text{CN}, \text{NH}_2$ ) kimyasal gruplar bağlanarak hazırlanan bağlı-fazlar (bonded - phase) yeni bir tür normal faz kromatografisidir ve yaygın biçimde kullanılmaktadır.

Adsorban olarak bir kolona doldurulan 5-10 mikrometre çapında taneciklerden meydana gelen katı üzerinden geçmekte olan apolar bir çözücü (örneğin n-hekzan, n-pentan) içine maddeler karışımı verilirse kolonda aşağıdaki denge oluşur.



$X_1$  : Sıvı fazda madde derişimi (mol kesri)

$X_a$  : Katı (adsorban) üzerinde madde

$S_a$  : Katı (adsorban) üzerinde tutulmuş çözücü

$S_1$  : Sıvı faza geçen çözücü

Yukarıdaki dengeye göre sıvı içinde X maddesi adsorban yüzeyinde önceden adsorplanmış olan m sayıda çözücü (hareketli faz) molekülü (S) ile yer değiştirmektedir. Buna göre kolonda maddenin tutulması çözücü moleküllerini yüzeyden çıkarabilmesine bağlıdır. Yer değiştirme olayının denge sabiti,

$$K_d = \frac{N(X_a).Nm(S_l)}{N(X_l).Nm(S_a)} \quad ( 2.1. )$$

şeklinde mol kesirleri cinsinden yazılabilir. İki faz arasında dağılım katsayıları ve adsorpsiyon enerjileri kullanılarak kolonda bir maddenin alıkonma hacmi ( $\equiv$  alıkonma zamanı ) aşağıdaki biçimde bulunmuştur.

$$\log (V_N) = \log V_a + \alpha (S_0 - A_s \mathcal{E}_0) \quad ( 2.2. )$$

$V_N$  : net alıkonma hacmi,

$V_a$  : kolonda adsorban üzerinde monomoleküller olarak adsorplanmış hareketli faz hacmi,

$\alpha$  : adsorban aktivitesi,

$S_0$  : madde aktivitesi, madde adsorpsiyon enerjisi,

$\mathcal{E}_0$  : çözücü kuvveti,

$A_s$  : adsorban yüzeyinde maddenin kapladığı alan.

Görüldüğü gibi Snyder (19) adı verilen bu eşitlik bir maddenin kolonda alıkonma zamanını (veya hacmini) buna etkili olan parametreler cinsinden vermektedir. Adsorbanın, maddenin ve çözücünün özellikleri kolonda alıkonma süresini belirlemektedir. Bu nedenle kısa da olsa Snyder denklemindeki terimlerin açıklanması faydalı olacaktır.

#### 2.1.1.1. Adsorban Etkisi

Snyder denkleminde gösterilen " $V_a$ " ve " $\alpha$ " değerleri adsorbanın,

- türüne,
- yüzey alanına,
- yüzey kapasitesine,
- içerdiği su miktarına,

- gözenek çapına,
- yüzeydeki iyonlaşma durumuna, bağlıdır.

Adsorban ile kromatografik tayini yapılacak madde veya çözücü temas haline getirilince meydana gelen termodinamik denge, çeşitli kuvvetlerin etkisi altında oluşur:

- dispersiyon veya London kuvvetleri,
- indüksiyon kuvvetleri,
- elektrostatik çekim kuvvetleri,
- hidrojen bağı,
- kovalent bağ.

### **Dispersiyon Kuvvetleri;**

Dispersiyon kuvvetleri apolar moleküllerde mevcuttur ve elektronların hareketlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Molekülde geçici dipoller oluşur ve oluşan bu ani dipoller birbirini yok ederler. Böylece polar olmayan moleküller sürekli bir dipole sahip olamazlar.

Bir molekülün dipolünün ani bir şekilde dalgalanması komşu moleküllerdeki benzer dipolleri etkiler ve bu dipoller sürekliymiş gibi olurlar. Elektronların hareketinde bir beraberlik vardır. Bu türden ani ve kararsız dipoller arasındaki çekim kuvvetleri London kuvvetlerini oluştururlar.

Polar moleküller arasında da bu kuvvetler mevcuttur. Çünkü bütün moleküller elektron içerirler. Apolar moleküllerden oluşmuş maddelerde ise moleküller arası kuvvetler yalnız London kuvvetlerinden oluşmaktadır. Bu nedenle apolar adsorban yüzeyinde apolar moleküllerin adsorpsiyonuna genellikle dispersiyon kuvvetleri sebep olur. Diğer bir deyişle dispersiyon etkileşimi arttığında alıkonma zamanı da artar.

### **İndüksiyon Kuvvetleri;**

Bu kuvvetler polar moleküller arasında oluşur.

### **Elektrostatik Çekim Kuvvetleri;**

Polar moleküller arasındaki dipol-dipol çekim kuvvetleridir. Bu kuvvetler moleküllerin pozitif ve negatif kutuplarının birbirini çekmesi sonucu oluşur. Polar moleküllerin polar adsorbanlarda adsorpsiyonlarında etkili olan kuvvetlerdir. Oluşan bu

kurvetlerle maddeler adsorbana tutulurlar. Dipol-dipol bağı koparmak oldukça zor olduğundan polar sabit faz ile polar maddelerin ayrımı kolay olmaz.

### Hidrojen Bağı;

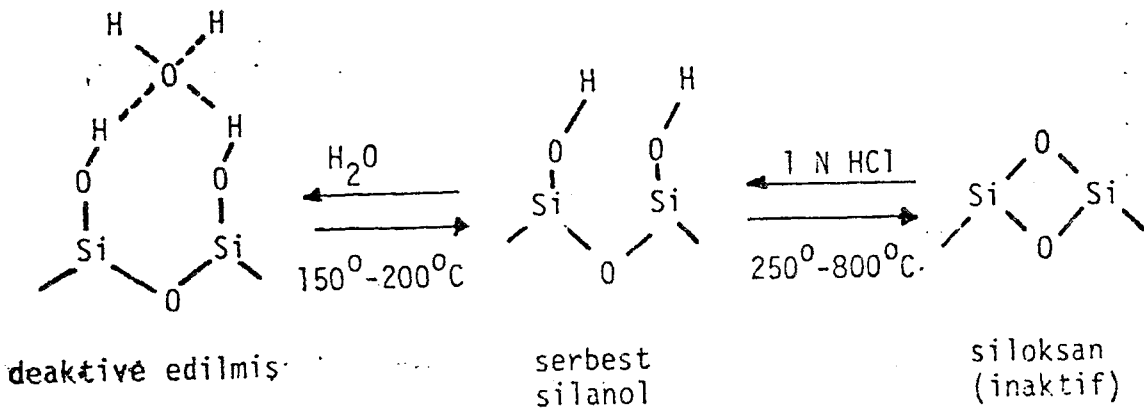
Bir molekülün hidrojen atomu ve diğer bir molekülün elektronegatif elementinde bulunan paylaşılmış elektron çifti birbirini çekerek hidrojen bağı oluşur. Hidrojen bağı, adsorpsiyon enerjisine önemli katkıda bulunan Lewis asitleri ve bazları arasındaki zayıf etkileşimlerle ilgilidir.

Silika ve alümina gibi polar sabit faz yüzeyleri (-OH) gruplarıyla kaplıdır. Bazı durumlarda hidrojen ile eter, nitril, aromatik hidrokarbonlar gibi adsorplanan maddeler arasında hidrojen bağı oluşur.

### Kovalent Bağ;

Kovalent bağ genellikle iki atom tarafından paylaşılmış ters spinli bir elektron çifti içerir. Doğal organik bileşiklerin pratik olarak ayrımında genellikle önemli değildir.

Adsorpsiyon kromatografisinde silikadaki suyun giderilmesi önemlidir. Bu suyun giderilmesi farklı sıcaklıklarda yapılır.



Adsorban yüzeyindeki aktif merkezlerin verilen su molekülleri ile hidrojen bağı oluşturması, yüzey aktivitesinin azalmasına neden olur. Adsorbanda su hidroksiller halinde de bulunabileceği için, ısıtmakla yüzeyden hidroksillerin su moleküllü açığa vermesi adsorban aktivitesini artırır.

Normal faz kromatografisinde özellikle alümina polisiklik aromatik hidrokarbonların ayırımında kullanılır.

### 2.1.1.2. Çözücü (Hareketli Faz) Etkisi

Gaz kromatografisinde sıvı faz ve kolon sıcaklığı değiştirilerek sağlanmaya çalışılan farklı kromatografik koşullar, sıvı-katı kromatografisinde (adsorban için fazla seçenek olmadığından) sıvı faz değiştirilerek sağlanır. Bu bakımdan çözücü seçimi son derece önemlidir.

Çözücü doğrudan veya dolaylı olarak,

- K, dağılma katsayısına,
- adsorban seçiciliğine,
- preparatif çalışmalarda çok miktarda madde çözebilmeye,
- detektör seçimine,
- geri kazanılabilirliğe,
- kolon verimine etkilidir.

Snyder denkleminde görülen  $\epsilon_0$ , çözücü kuvveti, yukarıdakileri belirlemektedir.

$\epsilon_0$  değeri polarlıkla paralel gitmekle beraber aynı şey demek değildir.

$\epsilon_0$  ile polarlığın aynı olmamasının nedenini çözücünün kolondaki davranışında aramak gerekir. Çözücü kuvveti esas olarak şu üç kuvvet tarafından belirlenir.

- I) Sıvı fazda madde-çözücü etkileşmesi,
- II) Adsorban yüzeyinde madde-çözücü etkileşmesi,
- III) Adsorban çözücü etkileşmesi.

Adsorpsiyon kromatografisinde hareketli faz olarak diklorometan, n-heksan, heptan, pentan gibi apolar çözücüler kullanılır.

### 2.1.1.3. Madde Miktarı, Yapısı ve Moleküler Alanı

Genel olarak kromatografik ayırımlarda madde miktarı az olduğu takdirde madde miktarında yapılacak değişiklikler, alıkonma hacmi veya zamanında değişimler meydana getirmez (Doğrusal izoterm). Fakat madde miktarı yüksek değerlere ulaştıktan sonra alıkonma zamanlarında, kapasite faktörlerinde sapmalar meydana gelmeye başlar. Bu, doğrusallık sınırının aşıldığını gösterir. Özcimder' in (20) "Balık Yağ Asiti Metil Esterlerinin Gümüş ve Ters-Faz Yüksek Basınç Sıvı Kromatografileri ile Fraksiyonlara

Ayrılması ve Fraksiyonlara Ayırmanın Toplam Yağ asit Analizindeki Yararı" konulu araştırmasında ester karışımında farklı oranlarda ester bulunması nedeniyle doğrusallık sınırının aşıldığını göstermiştir. Doğrusallık sınırının aşılmasıyla yalnız k' (kapasite faktörü) değişmekle kalmaz, pik ayırımı da (Resolution) güçleşir.

Gaz faz adsorpsiyonlarında tek tabakalı ve çok tabakalı adsorpsiyon görülürken (21), sıvı-katı sistemlerde yalnızca tek tabakalı adsorpsiyonlarla karşılaşılır.

İster ters-faz ister normal faz olsun polisiklik aromatik hidrokarbonların alıkonma mekanizmaları henüz incelenmektedir. Bu çalışmalarımızda normal faz kolonunda bazı PAH ların alıkonma mekanizmaları incelenmiş alıkonma zamanı ile çözünürlük, şekil parametresi gibi parametreler arasındaki ilişkiler belirlenmeye çalışılmıştır.

### 2.1.2. Ters-Faz Sıvı Kolonunda Elüsyon (Yürütme)

PAH ların tayininde kromatografik yöntemlerin yerinin büyük olduğu ve HPLC nin polisiklik aromatik hidrokarbonların tayininde normal veya ters-faz şeklinde uygulandığı Bölüm 2.1.1. de belirtilmişti. PAH ların apolar karakteri nedeni ile ters-faz HPLC (hareketli faz, sabit faza göre daha polar) kolonlarda ayırım daha başarılı olmaktadır. Örneğin, adsorban olarak kullanılan silika, alümina gibi dolgu maddeleri bazı hidrokarbonlarla tepkimeye sokulup  $CH_3$  gruplarının bağlanması sağlanarak ters-faz kromatografisinde kullanılan kolon dolgu maddeleri hazırlanır. Bu tür dolgu maddelerinin kullanılması halinde "normal" kromatografinin aksine aseton, asetonitril, etanol, metanol, su gibi kuvvetli polar çözücüler yürütücüdür. Çoğu hallerde ters-faz normal faz kromatografisine tercih edilmektedir. Bunun başlıca nedenleri;

- Çözücü seçimi kolaydır.
- İçinde az kirlilik bulunduğu ve kolay temizlenebildiği için uzun ömürlü kolonlar hazırlanabilir.

- Polar çözücüler pek çok sayıda numuneyi kolayca çözebilir.
- Suyun kullanılması büyük avantajdır.
- Tekrarlanabilirlik yüksektir.

Ters-faz kromatografisindeki büyük gelişmelere rağmen birçok maddenin alıkonma mekanizması hakkında henüz çok şey bilinmemektedir. Çok yaygın biçimde su ile beraber bir organik çözücü hareketli faz olarak kullanılır. Organik çözücünün karışımdaki derişimi, numunenin kolonda alıkonma süresine etkilidir. Su ile beraber kullanılan organik çözücülerden metanol ve asetonitril birçok analizin

gerçekleştirilmesinde yeterli olmaktadır. Zayıf polar maddelerin analizinde susuz çözücülerin kullanıldığı da son zamanlarda görülmektedir.

Ters-faz dolgu maddesi olarak daha önce belirtildiği gibi silika ile uzun zincirli hidrokarbonların (CH<sub>3</sub> grupları) birleşmesiyle hazırlanmış maddeler kullanılmaktadır. Hidrokarbonun zincir uzunluğu 1 den 22 karbona kadar değişmektedir. Ters-faz kolon dolgu maddesi olarak LiChrosorb C8, C18, Nucleosil C8, C18, Sepherisorb ODS yaygın biçimde kullanılmaktadır. Bunlar arasında en çok kullanılan LiChrosorb C18 maddesidir. LiChrosorb C18, üzerine oktadesil grubu bağlanmış silikadır.

LiChrosorb C18 kolon dolgu maddesi üzerinde PAH ların alıkonma mekanizmaları incelenirken şekil parametreleri ve suda çözünürlük ile alıkonma zamanları arasındaki ilişkiler araştırılmıştır ( 22 ).

Bu çalışmada, bazı PAH ların laboratuarda doldurulmuş LiChrosorb C18 kolonunda alıkonma mekanizmaları incelenmiş, suda çözünürlüğün, şekil parametrelerinin, karbon sayılarının ve molekül boy/en oranının alıkonma zamanına etkileri araştırılmıştır.

## 2.2. Materyal ve Yöntem

### 2.2.1. Materyal

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar "Community Bureau of Reference Materials" (Belçika)' dan satın alınmıştır (Tablo 2.4). 11, 12, 13 ve 16 numaralı PAH ların saflık dereceleri % 99.5, diğerlerinin ise saflık dereceleri % 95 tir.

**Tablo 2.4. Bazı Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar**

1. Naftalin	9.Benz(a)antrasen
2. Asenaftalin	10. Krisen
3. Asenaften	11. Benz(b)floranten
4. Floren	12. Benz(k)floranten
5. Fenantren	13. Benz(a)piren
6. Piren	14. Dibenz(a,h)antrasen
7. Floranten	15. Benz(g,h,i)perilen
8. Piren	16. Indeno(1,2,3-c,d)piren

Bütün çözücüler, n-heksan, diklorometan, asetonitril Merck firmasından alınmış ve spektroskopik saflıktadır. Hareketli faz olarak kullanılan su deiyonize edilmiş destile sudur.

### 2.2.2. Cihaz

— Varian, 5560 model Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır (Şekil 2.2).

— Pompa, 500 atmosfere kadar basabilen 0.1-10 ml/dak sıvı pompalama kapasiteli, tek pistonludur.

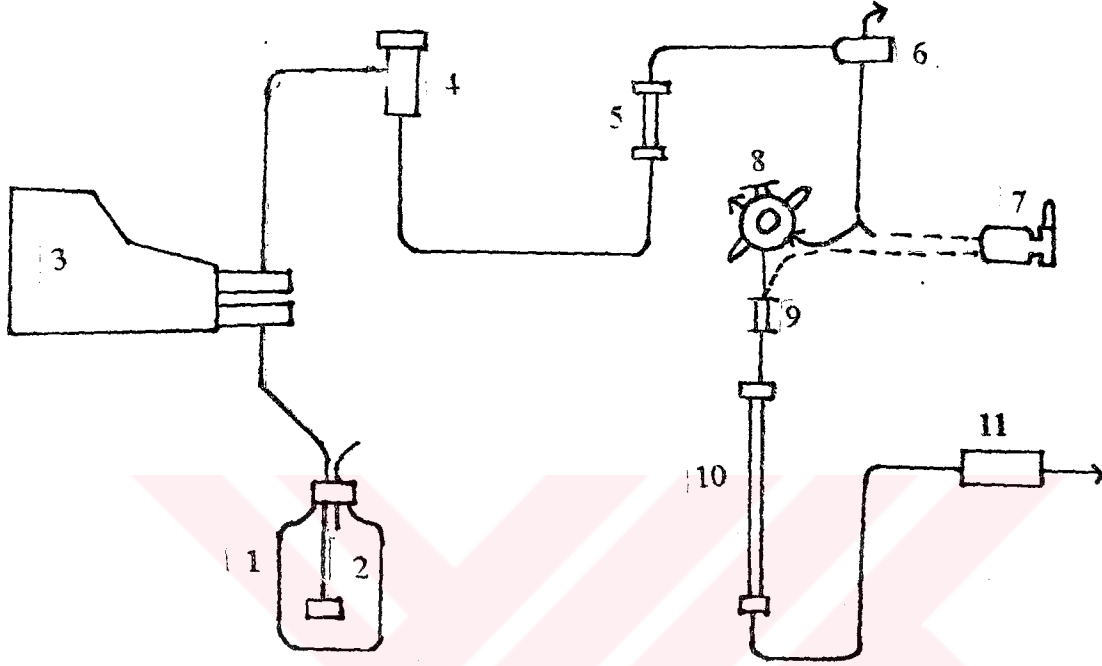
— Enjeksiyon bölmesi, "6-Port Valco" vana 10 µl lik "loop" tan oluşmuştur. Örnek 5-10 µl lik SGE enjektörler kullanılarak verilmiştir.

— Çözücü rezervuarı, camdan yapılmış 1 litrelik kaplardır. Bu kapların içinde çözücü pompaya kadar gitmesini sağlayacak teflon tüpler yardımıyla ulaşır. Tüplerin uçlarında 10 mikronluk filtreler bulunur.

— Detektör, Varian UV-200 model, 0.1-0.001 absorpsiyon duyarlık aralığında çalışmaktadır.

— Yazıcı, Packard, 642 model, çift kalemli.





Şekil 2.2. Yüksek Basınç Sıvı Kromatografi Cihazının Şeması

1:Çözücü rezervuarı, 2: Çözücü rezervuar filtresi, 3:Yüksek basınç pompası, 4: Akış kontrol aygıtı, 5: Puls giderici, 6: Çıkış (sistemi temizleme) vanası, 7: Tahliye vanası, 8: Valco enjeksiyon vanası, 9: Ön kolon, 10: Analitik kolon, 11: Detektör

**Kromatografik koşullar aşağıda verilmiştir:**

**Ters-Faz Kromatografisi ;**

**Kolon** : Paslanmaz çelik, 25 cm x 4.6 mm, kolon dolgu maddesi 5 µm tanecik çaplı LiChrosorb RP C18 (Altech).  
**Hareketli faz** : %85 asetonitril / su, 1.5 ml/ dak akış hızı.  
**Detektör** : 254 nm, 0.05 abs duyarlılıkta.  
**Yazıcı** : 10 mV / tam sapma, kağıt hızı 1.0 cm / dak.

**Normal Faz Kromatografisi ;**

**Kolon** : Paslanmaz çelik, 25 cm x 4.6 mm, Si-CN (bağlı faz) (Altech).  
**Hareketli faz** : n-hekzan, 1.5 ml / dak akış hızı.  
**Detektör** : 254 nm, 0.05 abs duyarlılıkta.  
**Yazıcı** : 10 mV / tam sapma, kağıt hızı 0.5 cm / dak.

### 2.2.3. Yöntem

#### Standart Çözeltiler

PAH ların 10 ppm lik çözeltileri diklorometanda hazırlanmış ve kromatografa 5 mikrolitrelik enjeksiyonlar halinde verilmiştir. Her iki sistemde de SGE 10-µl enjektör kullanılmıştır. Kapasite faktörleri aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır;

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

t = PAH in ahkonma zamanı

t<sub>m</sub> = Referans maddenin ahkonma zamanı

Ters-faz kolonda referans madde olarak fenol (polar), normal faz kolonda ise n-pentan (apolar) kullanılmıştır.

### 2.3. Tartışma ve Sonuçlar

#### Ters-Faz

PAH ların alıkonma zamanları ve kapasite faktörleri,  $k'$ , bazı parametrelerle birlikte Tablo 2.5. de gösterilmiştir. Tablo 2.1. de bazı polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve molekül yapıları verilmiştir. Aynı şekil üzerinde molekülün uzunluk ve genişlikleri de gösterilmiştir.

**Tablo 2.5. Ters-Faz Kolonunda Bazı PAH ların Kapasite Faktörleri**

No	PAH	$k'$	L/B	n	m	MA
1	Floranten	1.88	1.22	16	0.2060	202
2	9-10 Dibenzantrasen	3.00	1.12	18	0.043	228
3	Benz(a)antrasen	3.44	1.58	18	0.0094	228
4	Krisen	3.44	1.72	18	0.0018	228
5	2-3 Dibenzantrasen	4.33	1.89	18	0.00057	228
6	Benz(b)loranten	5.22	(1.12)	20	0.0015	252
7	Benz(k)loranten	5.22	(1.20)	20	0.0008	252
8	Perilen	5.44	1.27	20	0.0004	252
9	Benz(a)piren	6.25	1.50	20	0.0012	252
10	Dibenz(a,h)antrasen	6.33	1.79	22	0.0005	278
11	Dibenz(a,c)antrasen	6.44	1.24	22	—	278
12	Indeno(1,2,3-c,d)piren	9.88	1.40	22	0.00019	276
13	Benz(g,h,i)perilen	10.00	1.12	22	0.0007	276

$k'$  = Kapasite faktörü.

L = Molekül uzunluğu.

B = Molekül genişliği.

n = Karbon atomları sayısı.

m = Suda çözünürlük.

MA = Molekül ağırlığı.

Şekil 2.3. ve 2.4. de karbon sayısına ve molekülün uzunluk/genişlik oranına karşı kapasite faktörleri grafiği çizilmiştir. Burada molekül uzunluğu L, genişliği ise B harfleriyle gösterilmiştir. Şekil 2.3. den, genel olarak, karbon sayısı arttıkça kapasite faktörünün büyüdüğü görülmektedir. Yani karbon sayısıyla ters-faz kolonda alıkonma artmaktadır. Diğer bir deyişle  $k'$  ve n arasında doğrusal bir ilişki vardır ( $r^2 = 0.9892$ ). Şekil 2.4. de eşit sayıda karbon içeren PAH ların alıkonma zamanlarının suda çözünürlük azaldıkça (veya L/B büyüdüğü) arttığı görülmektedir. Aynı sonuçlar Tablo 2.5. den de

anlaşılmaktadır. Hareketli fazın bileşenlerinden biri su olduğunda suda çözünürlük artarken alıkonma zamanı azalır. Yani maddeler kolonu daha kolay terk ederler.

Yalnız 22 karbonlularda durum farklıdır. Suda çözünürlük artarken kapasite faktörleri de artmaktadır.

Genelde "n" sayıları farklılığı PAH ların birbirlerinden ayrılmasını sağlarken, aynı sayıda karbon içerenlerin ise çalışılan kromatografik koşullarda ayrılamadığı gözlenmiştir.

Tablo 2.5. de de görüldüğü gibi L/B oranı büyürken, suda çözünürlük azalmakta ve buna bağlı olarak da alıkonma zamanı artış göstermektedir ( $r^2 = 0.7225$ , krisen hesaba katılmadığı takdirde  $r^2 = 0.9336$  dir). 20 karbonlularda, doğrusallık daha iyi gözlenmektedir ( $r^2 = 0.9467$ ) (Şekil 2.4). 20 karbonlu PAH lar için molekül genişlediğinde alıkonma artar. Bu moleküllerin uzunluk/genişlik oranları arttığı için kolonda daha uzun süre kalabilirler. Yani L/B oranı artarken k' de artma göstermektedir. Uzun ve kısa moleküller C 18 molekülleri arasından kolayca geçebilirler (Şekil 2.5).

BaP hariç tutulduğunda ilk üç okta uyum içinde bir doğru göstermektedirler. Ancak BaP ile  $r^2$  nin 0.9467 değerine düşmekte ve doğrusallıktan sapma gözlenmektedir. BaP nin L/B oranının en yakın PAH dan 0.23 olması (diğerleri arasında 0.07, 0.08) buna neden olarak söylenebilir. L/B oranının BaP için büyük olması onun C18 molekülleri arasında daha uzun süre kalmasını sağlamaktadır.

16 karbonlular yalnız bir standart madde olduğu için grafikte tek bir nokta ile gösterilmiştir. Ancak 18 ve 20 karbonluların verdiği doğrulara paralel bir doğrunun 16 karbonlular için de elde edileceği beklenebilir.

22 karbonluların k' değerleri, beklenildiği gibi diğerlerinden büyüktür (Şekil 2.3). Ancak kendi aralarındaki L/B-k' ilişkisi beklenildiği gibi değildir (Şekil 2.4). Diğer deyişle k' değerleri sırası ile 6.33, 6.44, 9.88 ve 10.00 ve L/B oranları 1.79, 1.24, 1.40 ve 1.12 olan dibenz(a,h)antrasen, dibenz(a,c)antrasen, indeno(1,2,3-cd)piren ve benz(g,h,i)perilenin kolonda alıkonmalarının yalnızca L/B oranı ile orantılı olmadığı görülmektedir. Diğer gruptakilerin aksine L/B oranı ile k' arasında doğrusal bir ilişki yoktur.

Ters-faz HPLC kolonlarda polar olmayan maddelerin alıkonmaları, genelde, hareketli fazda bulunan suya karşı hidrofob özelliklerinden kaynaklanmaktadır (23). Suyu sevmeyen yani suda çözünmeyen apolar madde apolar olan sabit faza tutunmayı tercih etmektedir. Bu madde bir silika üzerine bağlanmış ve 18 karbon içeren alkil grupları arasına girmektedir. Molekülün alıkonması iki parametre tarafından kontrol edilmektedir.

Bu nedenle 16, 18, 20 karbonlularda hidrofob özellik etkin olurken, 22 karbonlularda molekül büyüklüğünün daha etkili olduğu söylenebilir.

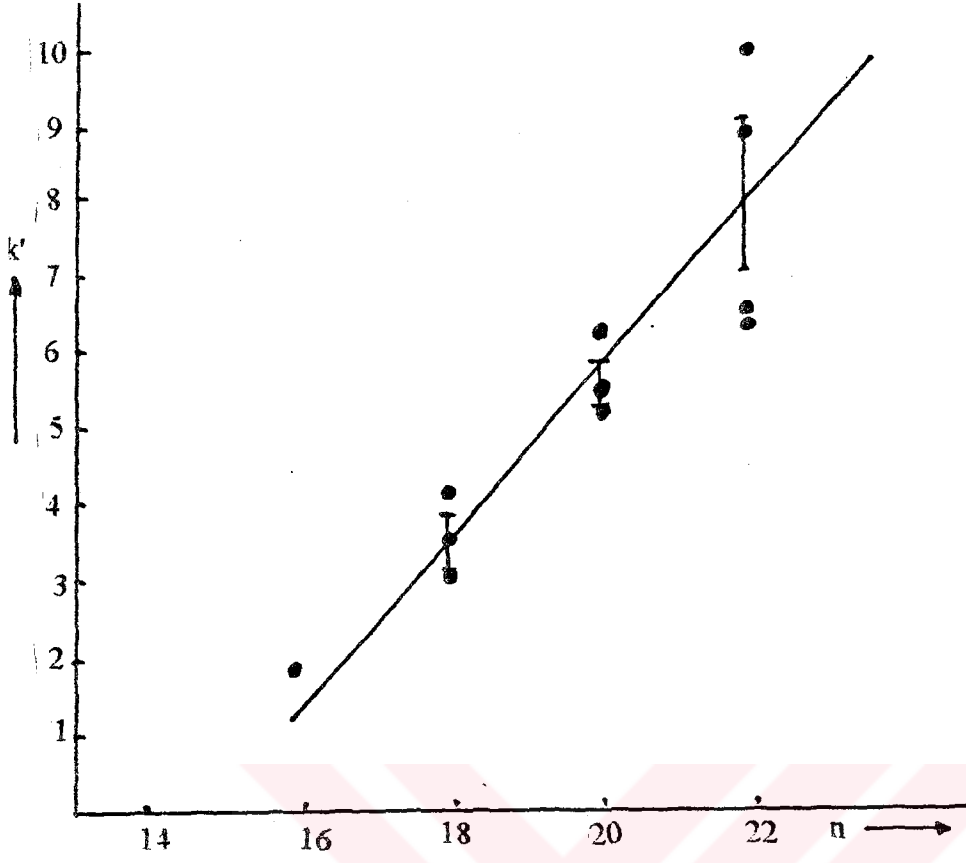
### Normal Faz

**Tablo 2.6. Normal Faz Si-CN Kolonunda Bazı PAH ların Kapasite Faktörleri**

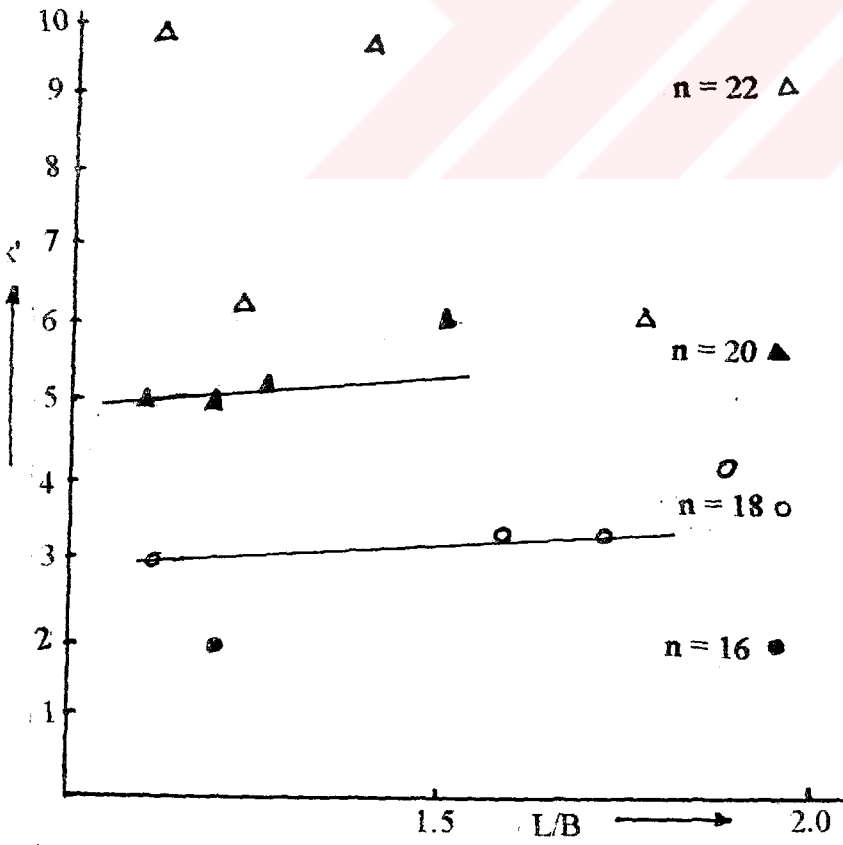
No	PAH	k'	L/B	n	m	MA
1	Floranten	0.57	1.22	16	0.2060	202
2	9,10 Dibenzantrasen	0.86	1.12	18	0.043	228
3	Benz(a)antrasen	0.76	1.58	18	0.0094	228
4	Krisen	0.81	1.72	18	0.0018	228
5	2-3 Dibenzantrasen	0.67	1.89	18	0.00057	228
6	Benz(b)loranten	0.91	(1.12)	20	0.0015	252
7	Benz(k)loranten	1.05	(1.20)	20	0.0008	252
8	Perilen	1.09	1.27	20	0.0004	252
9	Benz(a)piren	1.00	1.50	20	0.0012	252
10	Dibenz(a,h)antrasen	1.48	1.79	22	0.0005	278
11	Dibenz(a,c)antrasen	1.52	1.24	22	-	278
12	Indeno(1,2,3-c,d)piren	1.29	1.40	22	0.00019	276
13	Benz(g,h,i)perilen	1.29	1.12	22	0.0007	276

Tablo 2.6. da PAH ların molekül uzunluk/genişlik oranları ile Si-CN bağı faz kolonunda kapasite faktörleri verilmektedir. Beklenildiği gibi ahkonma zamanları karbon sayısıyla artmaktadır (Şekil 2.6). Bu grafikte "n" ile k' arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmektedir ( $r^2 = 0.9841$ ).

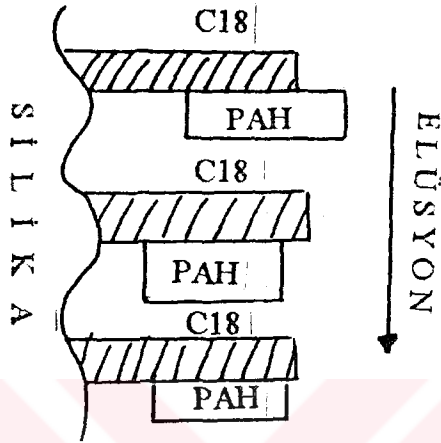
Şekil 2.7. de L/B-k' ilişkisi gösterilmektedir. Ancak Şekil 2.7. de doğrusal ilişkiden söz etmek zordur. Yalnız 18 karbonluların tümü dikkate alınarak  $r^2$  hesaplandığında 0.6906 bulunurken BaP hariç tutulduğunda 0.9934 lük bir doğrusal ilişki görülmektedir. L/B oranı artarken ahkonma zamanlarının azaldığı gözlenmektedir.. Bu şekillere bakılarak karbon sayılarına bağı ayırıcılığın başarılabilir olduğu söylenebilir. Fakat aynı sayılı PAH lar normal faz kromatografisi ile ayrılamazlar.



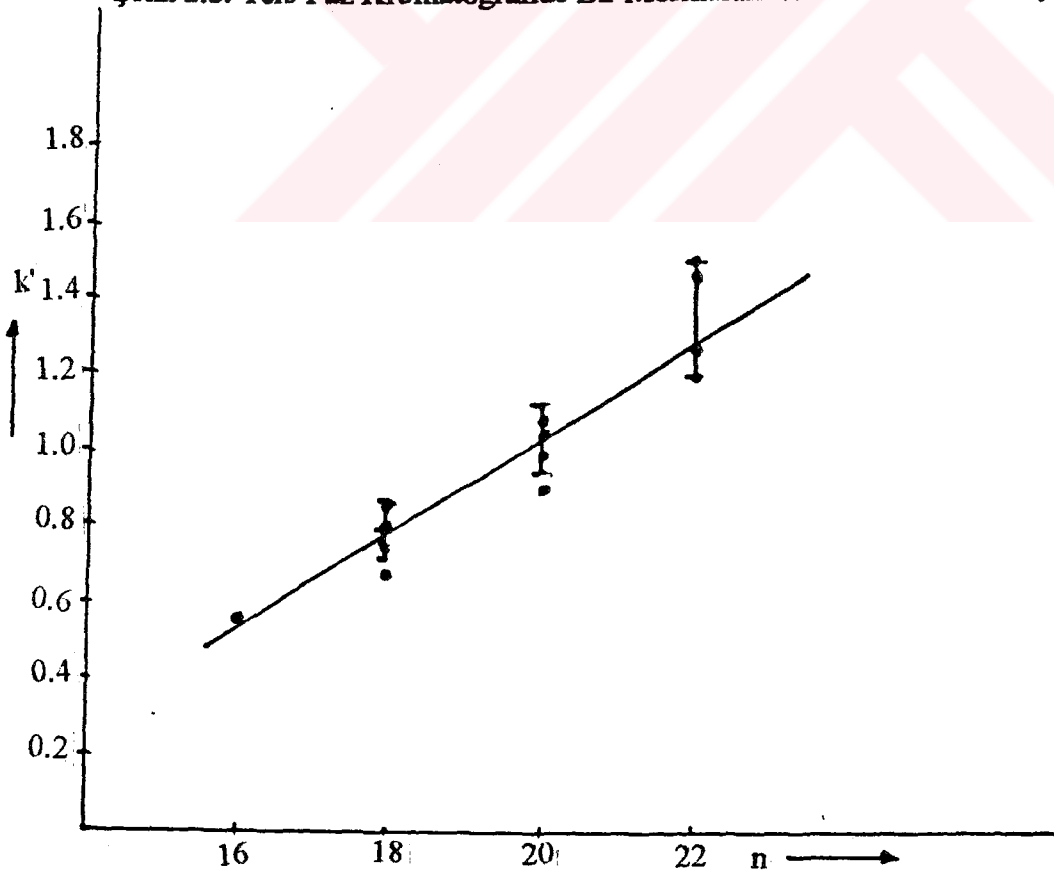
Şekil 2.3. Ters-Faz Kolonda Kapasite Faktörünün Karbon Sayısı ile Değişimi



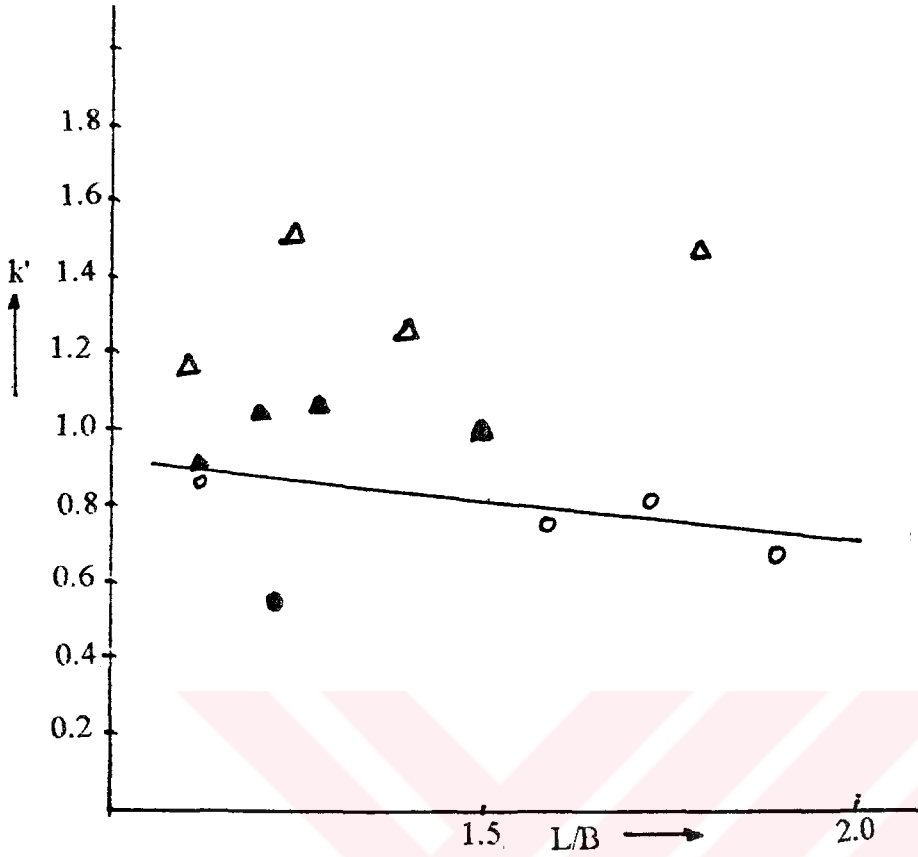
Şekil 2.4. Ters-Faz Kolonda Kapasite Faktörünün L/B Oranı ile Değişimi



Şekil 2.5. Ters-Faz Kromatografide Bir Molekülün C18 Kolonunda Elüsyonu



Şekil 2.6. Normal Faz Kolonda Kapasite Faktörünün Karbon Sayısı ile Değişimi



Şekil 2.7. Normal Faz Kolonda Kapasite Faktörünün L/B Oranı ile Değişimi

### 2.5. Normal ve Ters-Faz Sonuçlarının Karşılaştırılması

1. Farklı sayıda karbon içeren PAH ların ters-faz sisteminde ayrımları başarılı olmuştur. Bu sonuca  $k'$  ne karşı n grafikleri karşılaştırılarak kolayca ulaşılabilir.

2. 18 ve 20 karbonlu PAH lar için ters-fazda kapasite faktörü ve moleküler şekil arasında doğrusal bir ilişki vardır.

3. Ters-fazda aynı sayıda karbon atomları içeren PAH ların (18 ve 20) L/B oranı arttığında  $k'$  artmaktadır. Normal fazda ise L/B oranı arttığında  $k'$  azalır. Ters-fazda doğrusal ilişki gözlenirken aynı şey normal faz için söylenemez.

4. PAH ların ters-faz kolonda çalışılan kromatografik koşullarda ayrımı normal faza göre çok daha iyidir.



**KAYNAKLAR**

1. S.L. Simonich and R.A. Hites, Environ. Sci., "Vegetation - Atmosphere Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons", Environ. Sci. Technol., 28 (1994), 939-943.
2. C.G. Pinto et al., "Cloud Point Preconcentration and High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons with Fluorescence Detection", Anal. Chem., 66 (1994), 874-881.
3. S.R. Abbott, J. Chromatogr. Sci., 18 (1980), 540-550.
4. M.C. Hennion et al., "Simple Relationships Concerning Mobile and Stationary phases in Normal-and Reversed- Phase Chromatography", J. Chromatogr., 210 (1981), 211-228.
5. D.I. Saunders, J. Chromatogr. Sci., 15 (1977), 372-379.
6. G.B. Cox, J. Chromatogr. Sci., 15 (1977), 385-392.
7. J.C. Fetzer, "Separation of Perhydro Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by normal- Phase HPLC", J. Chromatogr. Sci., 31 (1993), 70-72.
8. M. Popl, V. Dolansky, and J. Mostecky, "Influence of the Molecular Structure of aromatic Hydrocarbons on Their Adsorptivity on Silica Gel", J. Chromatogr., 117 (1976), 117-127.
9. J.W. Giles et al., "Detection and Identification of Polynuclear Aromatic hydrocarbons by HPLC", American Chemical Society Annual Meeting, Washington, D.C., 1979.

10. P.L. Grizzle, and J.S. Thomson "Liquid Chromatographic Separation of Aromatic Hydrocarbons with Chemically Bonded (2,4 - Dinitroanilino)propyl Silica", *Anal. Chem.*, 54 (1982), 1071-1078.
11. M. Popl, et al., "Adsorption Effect in GPC Separation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons", *J. Chromatogr. Sci.*, 14 (1976), 537-540.
12. D.L. Vassilaros et al., "Capillary Gas Chromatographic Determination of polycyclic Aromatic Compounds in Vertebrate Fish Tissue", *Anal. Chem.*, 54 (1982), 106-112.
13. D.L. Vassilaros et al., "Linear Retention Index System for Polycyclic Aromatic Compounds", *J. Chromatogr.*, 252 (1982), 1-20.
14. M.C. Paputa-Peck et al., "Determination of Nitrated Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Particulate Extracts by Capillary Column Gas Chromatography with Nitrogen Selective Detection", *Anal. Chem.*, 55 (1983), 1946-1954.
15. T. Romanowski et al., "Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Determination of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Cool Tar", *Anal. Chem.*, 55 (1983), 1030-1033.
16. J. W. Giles et al., "Detection and Identification of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by HPLC", American Chemical Society Annual Meeting, Washington, D.C., 1979.
17. R.K. Symons, and I. Crick, "Determination of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Refinery Effluent by High Performance Liquid Chromatography", *Anal. Chem. Act.*, 151 (1983), 237-243.
18. I. Stöber, "Zur Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in Oberflächenwabben", *Vom Wasser*, 47 (1976), 219-231.

19. R.L. Snyder, "Principşes of Adsorption Chromatography", Marcel Dekker Inc., New York (1968).
20. M. Özcimder, "Balık Yağı Asiti Metil Esterlerinin Gümüş ve Ters-Faz Yüksek Basınç Sıvı Kromatografileri ile Fraksiyonlara Ayrılması ve Fraksiyonlara Ayırmanın Toplam Yağ Asit Analizindeki Yararı", Doçentlik Tezi, Ankara (1980).
21. Y. Sankaya, "Fizikokimya", Özkan Matbaacılık San., Ankara (1993).
22. T.H. Mourey et al., "High Performance Liquid Chromatographic Separation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Microparticulate Pyrolidone and Aplication to the Anlysis of Shale Oil", Anal. Chem., 52(1980), 885-891.
23. C. Horvat et al., "Solvophobic Interactions in Liquid Chromatography with Nonpolar Stationary Phases", J. Chromatogr., 125 ( F.6 ), 129-156.

## BÖLÜM 3

### SİGARA FİLTRELERİNDE BENZ(A)PİREN TAYİNİ İÇİN BİR SIVI KROMATOĞRAFİK YÖNTEM

#### 3.1. Giriş

Sigara içimi sırasında bir çok organik bileşik oluşmaktadır (1,2). Bazıları zifir şeklinde filtrede kalırken bazıları da dumanla birlikte sigarayı terk eder. Alkoller, karbohidratlar, aldehytler, ketonlar, asitler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) gibi çeşitli organik bileşiklerin kanserojenik ve mutajenik aktivitelerinden dolayı özel bir yeri vardır. Bu yüzden çevrede olmaları istenmez.

Kanserojen etkisi kesinlikle bilinen PAH lardan birisi benz(a)pirendir (3). BaP nin diğer polisiklik aromatik hidrokarbonlarla birlikte çeşitli örneklerdeki tayini farklı teknikler kullanılarak yapılmaktadır. Genellikle kullanılan analitik yöntemler spektroskopik ve kromatografik tekniklerdir (4-7). Bununla birlikte son on yılda yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) spektroskopik ve diğer kromatografik tekniklere tercih edilmektedir. HPLC, polisiklik aromatik hidrokarbonların ayırımı için özellikle ters-faz şeklinde yüksek seçicilik (8) göstermektedir. HPLC nin diğer avantajı filtre ekstraktları gibi kompleks karışımların analizlerinde preparatif amaçla kullanılabilmesidir. Son zamanlarda gaz ve sıvı kromatografisinin özelliklerini taşıyan "Süperkritik Sıvı (Fluid) Kromatografisi" hızlı gelişme göstermektedir (9,10). Çeşitli örneklerde BaP ile birlikte diğer PAH lar da HPLC/UV Spektrometresi (11), HPLC/Spektroflorometre veya HPLC/GC (12) kullanarak tayin edilmektedir. Sigara analizlerinde PAH lar ve BaP genellikle duman kondensatında tayin edilmektedir (13). Filtre zifirinde benz(a)pirenin tayininde ise çok az araştırma yapılmıştır. Zifirde BaP ve diğer maddelerin tayininin gerekliliğini şöyle söyleyebiliriz.

1. BaP ve diğer maddeler özellikle tanecikler fazında yani zifirde bulunurlar.
2. Zifirde bulunan bu sağlığa zararlı maddelerin oluşmasını engellemek için öncelikle onların varlığının ve miktarının belirlenmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada sigara filtre zifirinde BaP nin ekstraksiyonu ve tayini için basit bir yöntem geliştirilmeye çalışıldı ve yöntem çeşitli Türk sigaralarına uygulandı.

### 3.2. Materyal ve Yöntem

#### 3.2.1. Materyal

— Benz(a)piren Community Bureau of Reference Materials (Brüksel)' den satın alınmıştır (Saflik Derecesi: % 99.5).

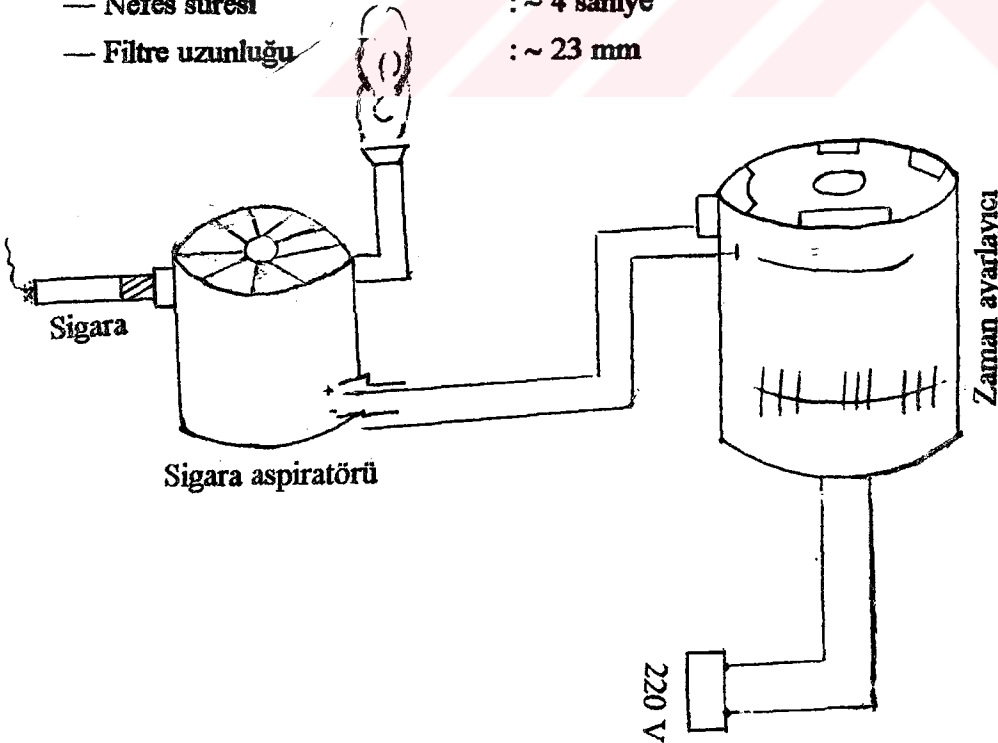
— Asetonitril (Merck) ve diklorometan (Merck) analitik saflikta olurken n-heksan (Merck) kromatografik safliktadır.

— Ters-faz kolon dolgu maddesi olarak LiChrosorb C18 (Chrompack) kullanıldı. Yüzey alanı 200 m<sup>2</sup>/g, tanecik çapı 5 mikrometre.

— Sigara filtreleri el yapımı otomatik sigara içme makinası (Şekil 3.1) vasıtasıyla aşağıda verilen içme koşullarında hazırlanmıştır.

#### İçme koşulları :

- Bir sigaranın toplam içiş süresi : ~ 8-10 dakika
- İçiş süresi : ~ 5 saniye
- Nefes süresi : ~ 4 saniye
- Filtre uzunluğu : ~ 23 mm



Şekil 3.1. Sigara İçme Makinası

### 3.2.1.1. Cihaz

Varian, 5500 Model Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi Bölüm 2.2.2. de ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Sigara içme makinası şematik olarak Şekil 3.1. de gösterilmiştir. Makinanın bölümleri aşağıda verilmiştir.

—Sigara Aspiratörü : Elektrik motoruna bağlı olan çok kanatlı pervanedir. Yüksek devirde dönerek sigara hava çekim borusundan sigara dumanını aspire eder ve tahliye borusundan dışarı atar.

—Zaman Ayarlayıcı : Sigara aspiratörünün istenilen sürelerde çalışıp durmasını sağlar.

### 3.2.2. Yöntem

Geri alınabilirlik çalışmaları için içilmiş bir sigara filtre veya filtrelerine 10 µl standart BaP (6.75 µg/ml, diklorometanda hazırlanmış) enjekte edilmiştir. Selüloz asetat filtreden zifirin ve dolayısı ile BaP nin alınması için farklı ekstraksiyon yöntemleri denendi. Bu arada BaP nin geri alınabilirliği araştırıldı. Ekstraksiyon işlemlerinden önce filtre kağıdı ve izmarit ucu birbirinden ayrıldı.

#### a. Diklorometan ve n-heksan kullanarak katı-sıvı ekstraksiyonu

Standart eklenmiş sigara filtreleri süzgeç kağıdına sarılarak 300 ml diklorometan ile 3 saat Sokslet cihazında ekstrakte edildi. Döner vakum buharlaştırıcıda diklorometan alındıktan sonra bakiye 10 ml n-heksan ile 5 dakika karıştırılarak katı-sıvı ekstraksiyonu yapıldı. Daha sonra iki kez 5 ml n-heksan ile alınan ekstraktlar birleştirildi. n-Heksan azot gazı ile kuruluğa kadar buharlaştırıldı. 0.5 ml n-heksan konuldu ve 10 µl HPLC kolonuna enjekte edildi.

#### b. n-Heksan ve diklorometan ile sokslet ekstraksiyonları (12 saat)

Yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanan sigara filtreleri diklorometan ve n-heksan ile 12 şer saat sokslet cihazında ekstrakte edildiler. Döner vakum buharlaştırıcıda diklorometan ve n-heksan buharlaştırıldıktan sonra bakiyelere 10+5+5 ml çözücüler (n-heksan veya diklorometan) konularak tüplere alındılar. Burada azot gazı ile kuruluğa kadar buharlaştırılarak 0.5 er ml diklorometan ve n-heksan konuldu. HPLC kolonuna 10 ar µl lik enjeksiyonlar yapıldı

c. n-Heksan-diklorometan-metanol ile ekstraksiyonlar (filtreyi asetonitrille çözmeksizin)

3 saat sokslet ekstraksiyonundan sonra diklorometan döner vakum buharlaştırıcıda buharlaştırıldı. Bakiyeye 15 ml n-heksan konularak 5 dakika karıştırılıp ilk ekstraksiyon yapıldı. Daha sonra 10+5+5 ml n-heksan konularak üç kez ekstraksiyon yapıldı. Her ekstraksiyon basamağında 5 dakika karıştırıldı. Ekstraktlar bir tüpe toplanıp gooch krozeden süzüldü ve azot ile kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Tüpe 0.5 ml n-heksan konulduktan sonra kromatografa 5 µl enjekte edildi.

İkinci ekstraksiyon diklorometan ile yapıldı. Önce 10 ml diklorometan balona konuldu ve 5 dakika filtreler karıştırılarak ekstrakt alındı. Sonra 5 er ml diklorometan kullanılarak 2 ekstraksiyon daha yapıp ekstraktlar biraraya toplandı ve gooch krozeden süzüldü.

Üçüncü ekstraksiyon metanol ile diklorometan ekstraksiyonları gibi yapıldı.

d. n-Heksan-diklorometan-metanol ile ekstraksiyonlar (filtrenin asetonitrilde çözünmesinden sonra).

Standart eklenmiş , kağıdı çıkarılmış sigara filtreleri 50 ml asetonitrilde çözüldü. 25 ml n-heksan ile 5 dakika kuvvetlice karıştırıldı. n-Heksan fazı alınıp bir tüpte kuruluğa kadar buharlaştırıldıktan sonra 200 µl n-heksan konulup kromatografa enjekte edildi. Asetonitril çözeltilisinden aynı şekilde iki ekstraksiyon daha yapıldıktan sonra HPLC ye enjeksiyonlar yapıldı.

Son olarak kalan asetonitril kuruluğa kadar döner vakum buharlaştırıcıda buharlaştırıldı. Balona 10 ml n-heksan konularak alınan ekstrakt tekrar bu kez azot gazı ile kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve 200 µl n-heksan eklenmesinden sonra HPLC ye enjeksiyonlar yapıldı.

Diklorometan ve metanol ile ekstraksiyonlar n-heksan ekstraksiyonunda olduğu gibi yapıldı.

e. pH:2 de filtrenin asetonitrilde çözünmesinden sonra n-heksan ekstraksiyonu

Yöntem "e" için önce yukarıda ifade edildiği gibi bir adet filtrenin kağıdı çıkarıldı. Selüloz filtresi 10 ml asetonitrilde çözüldü. 0.5M HCl ilavesi ile pH:2 ye ayarlandı. Ekstraksiyon için 10 ml n-heksan ile 15 dakika kuvvetle çalkalandı. Heksan fazı alındıktan sonra 10 ml çözücü tekrar ilave edildi. Üçüncü ekstraksiyondan sonra üç ekstrakt birleştirildi ve çözücü döner vakum buharlaştırıcı ile kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Kalan kısma 100 µl n-heksan konuldu ve aşağıdaki kromatografik koşullarda HPLC ye 10 µl enjekte edildi.

Hareketli faz : % 84 asetonitril/su.  
 Akış hızı : 2 ml/dak, 160 atm.  
 Detektör : 254 nm, 0.01-0.001 abs.  
 Yazıcı : 10 mV/tam sapma.  
 Kağıt hızı : 0.5 cm/dak.

### Gerçek Örneklerde BaP Tayini

5 adet sigara izmariti 15 ml asetonitrilde çözüldü. 0.5M HCl ile pH:2 ye ayarlandı. Çözeltiden 10 ml n-heksan ile 15 dakika, daha sonra da üç kez 5 er ml n-heksan ile 5 er dakika karıştırılarak ekstraksiyonlar yapıldı. Ekstraktlar birleştirildi, kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve 200 µl n-heksan konuldu. 10 µl lik enjeksiyonlar yapıldı.

Farklı sigaralardan 30 ve 50 şer adet almarak asetonitrilde çözüldü. HCl ile pH:2 ye ayarlandı. 10 ml n-heksan konularak 15 dakika karıştırılıp n-heksan fazı alındı. Sonra üç kez 5 er ml n-heksan konularak ekstraksiyonlar yapıldı ve ekstraktlar birleştirilip kuruluğa kadar buharlaştırıldı. 200 µl n-heksan ilave edilerek 3 ve 4 µl lik enjeksiyonlar yapıldı.

#### 3.2.2.1. Kalitatif-Kantitatif Değerlendirme

BaP pikinin tanınması ve miktarının belirlenmesi kolona standart BaP çözeltisi enjekte edilerek yapıldı.

Kalitatif değerlendirme için bağıl alıkonma zamanlarından faydalanıldı. Verilen kromatografik koşullarda BaP nin alıkonma zamanı ( $t_R$ ) 8 dakika olarak bulundu.

Kantitatif değerlendirme için ise standardın ve numunedeki benz(a)pirenin pik boyları karşılaştırıldı.

$$h_x / h_s = C_x / C_s \quad (3.1.)$$

$h_x$  : Numunedeki benz(a)pirenin pik boyu.

$h_s$  : Standardın pik boyu.

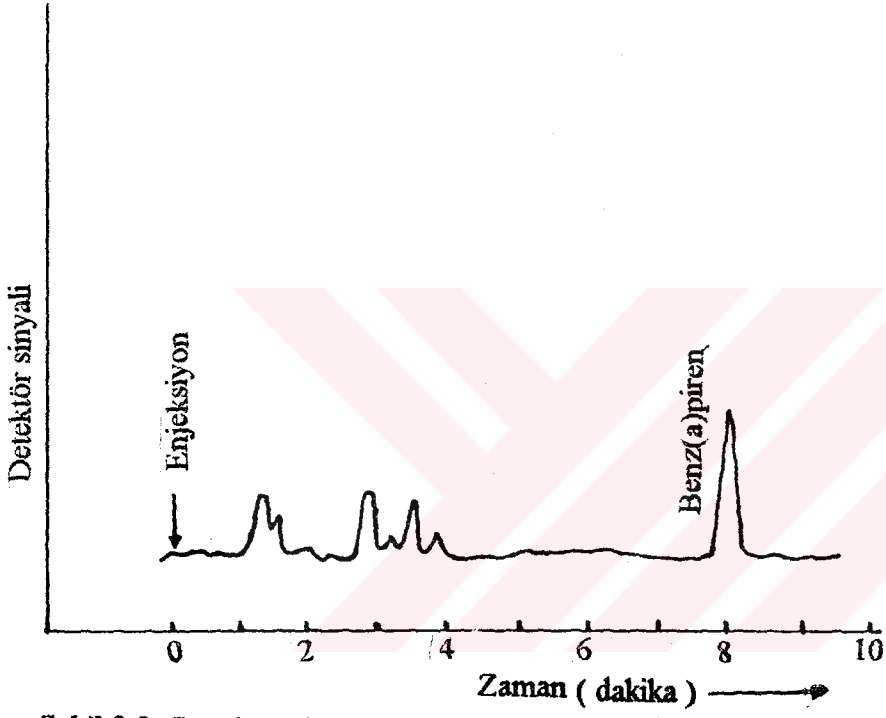
$C_x$ : Numunedeki benz(a)pirenin derişimi.

$C_s$ : Standardın derişimi.

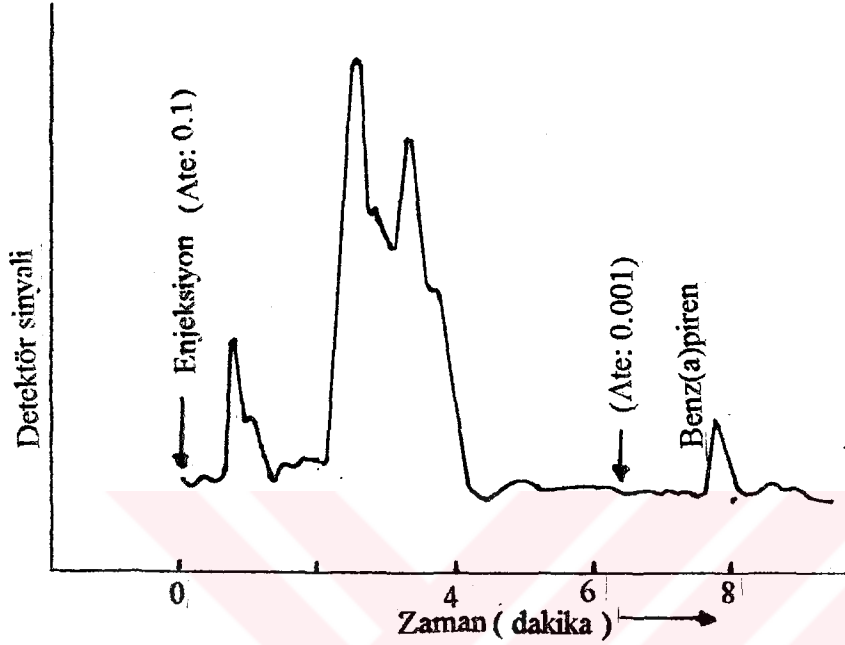
Sistemin doğrusal çalışma bölgesinde enjeksiyonlar yapıldığı için yukarıdaki basit yaklaşım yeterli kabul edildi.



Şekil 3.2. de standart eklenmiş tek sigara izmariti ekstraktı kromatogramları verilmiştir. Şekil 3.3. de ise 5 sigara izmarit ekstraktının kromatogramı verilmiştir.



Şekil 3.2. Standart Eklenmiş Tek Sigara İzmarit Ekstrakt Kromatogramı



Şekil 3.3. 5 Sigara İzmarit Ekstraksiyonu Sonrasında Elde Edilen Kromatogram

### 3.3. Tartışma ve Sonuçlar

Tek sigara izmaritinde BaP cihazın tayin sınırları altında kaldığı için tayin edilememiştir. Standart eklenmiş izmarit ekstrakt kromatogramı ise Şekil 3.2. de görülmektedir. BaP diğer piklerden temel çizgi düzeyinde ayrılmıştır.

5 Sigara izmarit ekstraksiyonundan elde edilen kromatogramda iyi bir pik ayrımı sonrasında kantitatif düzeyde BaP gözlenmiştir ( Şekil 3.3.).

Daha önce belirtildiği gibi sigaranın yanmasıyla oluşan çok sayıda organik, anorganik madde dumanda ve zifirde bulunmaktadır. Bu kadar karmaşık yapıdan tek tek maddelerin tayinini gerçekleştirmek oldukça zordur. Bu nedenle kalitatif ve kantitatif tayin öncesi ekstraksiyon işlemine büyük ağırlık verildi. Yukarıda anlatıldığı gibi çeşitli çözücülerle ekstraksiyonlar yapıldı.

a dan d ye kadar uygulanan yöntemlerde ekstraksiyon verimi % 40 ı geçmezken yöntem "e" ile % 50 aşılmış ve gerçek örnekler için bu metot kullanılmıştır. Aşağıda, uygulanan yöntemleri kısa bir tartışması yapılmıştır.

a) Diklorometan ile 3 saatlik sokslet ekstraksiyonu sonrası elde edilen ekstrakt çok viskoz. ve HPLC kolonuna enjeksiyonun tıkanmalara neden olabileceği için daha sonraki basamaklarda kullanılmamıştır. Sokslet bakiyesinin n-heksan ilavesi ile yapılan ekstraksiyon verimi ise % 30 dolaylarında kaldı.

b) 12 saatlik n-heksan ve diklorometan ile yapılan sokslet ekstraksiyonunda da verim % 35 civarında kaldı. Yine burada da "a" sorunlar nedeni ile diklorometan ekstraktı kolona enjekte edilemedi.

c) 3 saatlik diklorometan ekstraksiyonundan sonra ard arda yapılan n-heksan - diklorometan ve metanol ekstraksiyonundan sonra elde edilen verim % 35 dolaylarında kaldı.

d) Filtrelerin asetonitrilde çözünmesinden sonra n-heksan-diklorometan-metanol ile yapılan sıvı-sıvı ve katı-sıvı ekstraksiyonlarında yine geri alınabilirlik % 40 dolaylarında kaldı.

e) pH: 2 de asetonitrilde çözünmeden sonra n-heksan ile yapılan sıvı-sıvı ekstraksiyonunda % geri alınabilirlik 50 yi geçmiştir. Sonuçlar Tablo 3.1. de gösterilmektedir.

Tablo 3.2. de çeşitli sigaralarda yapılan ekstraksiyon sonrasında bulunan benz(a)piren miktarları verilmiştir. Üç aynı tür sigarada BaP 85, 51 ve 98 ng/izmarit olarak, ortalama ise 78 ng/izmarit bulunmuştur.

**Tablo 3.1. Sigara İzmaritlerinde Bulunan Benz(a)piren İçin Geri Alınabilirlik Değerleri \***

Ekstraksiyon basamağı	% Geri alınabilirlik (recovery)
I	29.04
II	14.52
III	5.89
IV	1.47
<b>Toplam</b>	<b>50.92</b>

**Tablo 3.2. Çeşitli Sigara İzmaritlerinde Bulunan  
Benz(a)piren Miktarları\***

Sigaraalar	BaP, ng/izmarit
I	85
II	51
III	98
Ortalama	78

\* Bu değerler düzeltilmiş değerlerdir ve iki deney ortalamasıdır.



**KAYNAKLAR**

1. C.H. Risner and S.L. Cash, "A High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Major Phenolic Compounds in Tobacco Smoke", *J. Chromatogr. Sci.*, 28 (1990), 239
2. W.F. Rogge et al., "Sources of Fine Organic Aerosol. 6. Cigarette Smoke in the Urban Atmosphere", *Environ. Sci. Technol.*, 28 (1994), 1375.
3. R. Vespalec, "Effect of the Amount of Tris III Coated on Silica Gel on the Separation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Liquid Chromatography", *J.Chromatogr.*, 118 (1976), 47-64.
4. C.L. Copper and M.J. Sepaniak, "Cyclodextrin-Modified Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography Separations of Benzopyrene Isomers: Correlation with Computationally Derived Host- Guest Energies", *Anal. Chem.*, 66 (1994), 147.
5. S. Simonich, and R.A. Hites, "Vegetation-Atmosphere Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons", *Environ. Sci. Technol.*, 28 (1994), 939.
6. C.G. Pinto et al., "Cloud Point Preconcentration and High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons with Fluorescence Detection", *Anal. Chem.*, 66 (1994), 847.
7. D.W. Potter, and J. Pawliszyn, "Rapid Determination of Polyaromatic Hydrocarbons and Polychlorinated Biphenyls in Water Using Solid-Phase Microextraction and GC/MS", *Environ. Sci. Technol.*, 28 (1994), 298.
8. N. de Kruijff et al., J. "Rapid Determination Benzo[a]pyrene in Roasted Coffee and Coffee Brew by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection", *Agric. Food Chem.*, 35 (1987), 545.
9. J.C. Fetzer, "Separation of Perhydro Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Normal-Phase HPLC", *J. Chromatogr. Sci.*, 31 (1993), 70

10. S. Reindl and F.Höfler, "Optimization of the Parameters in Supercritical Fluid Ekstraction of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons from Soil Samples", *Anal. Chem.*, 66 (1994), 1808.
11. A.L. Colmsjö and J.C. Mac Donald, "Column-Induced Selectivity in Separation of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by Reversed-Phase", *High-performance Liquid Chromatography*, 13 (1980), 350-352.
12. M.E. Snook et al., "Chromatographic Concentration of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons of Tobacco Smoke", *Anal. Chem.*, 47 (1975), 1155.
13. J. Ono et al., "Preferential Retention of Benzo[a]pyrene in Tobacco Smoke by  $\beta$ -Lactoglobulin in the Cigarette Filter Structure", *J. Agric. Food Chem.*, 29 (1981), 173.

## BÖLÜM 4

### BENZ ( A ) PİRENİN XAD-2 KOLONUNDA İZMARİT ZİFİRİNDEN ALINMASI

#### 4.1. XAD Reçineleri

XAD reçinelerinin XAD-2-4-7-8-16-1180 gibi türleri mevcuttur. XAD-2-4-1180 apolar, XAD-7 ve 8 orta derecede polar, XAD-16 polar reçinelerdir.

##### 4.1.1. Reçinelerin Fiziksel Özellikleri

Amberlit XAD ve XAD reçineleri Filedelfiya' da Rohm-Hass (Amerika) firması tarafından imal edilmektedir (1,2). Bunlar stiren-divinilbenzen koopolimer reçinelerdir. Genellikle kristalleri beyaz boncuk şeklindedir. Tablo 4.1. de bazı reçinelerinin fiziksel özellikleri görülmektedir (1).

Tablo 4.1. XAD Reçinelerinin Fiziksel Özellikleri

Reçine	Meş büyüklüğü	Yüzey alanı m <sup>2</sup> /g	Gözenek çapı A°
XAD-2	20-30	300	90
XAD-4	20-50	725	40
XAD-7	20-60	450	90
XAD-16	20-60	800	100

Organik moleküller reçinelere fiziksel olarak bağlanırlar. Bu fiziksel adsorpsiyon sırasında atom, molekül ya da iyon şeklinde olabilen adsorplanan tanecikler ile adsorban arasında uzun süren fakat zayıf Van der Waals çekim kuvvetleri etkindir. Apolar BaP nin adsorpsiyonu için XAD-2 tercih edilmiştir.

##### 4.1.2. XAD Reçinelerinin Hazırlanma Yöntemleri

Araştırmacılar XAD lerle yaptıkları ekstraksiyonlarda ekstrakt içinde inceledikleri maddelerin dışında XAD den gelen yabancı maddelerin bulunduğunu gördüler. Bu farklı

bileşiklere artfakt adını verdiler (3). Bu artfaktlar XAD ler üretilirken kullanılan başlangıç maddelerinden ve reçineler imal edilirken var olan safsızlıklardan kaynaklanmaktadır. Araştırmacılar reçineleri artfakt ve safsızlıklardan temizlemek ve daha sonra da saklamak için çeşitli yöntemler denemişlerdir (1,2).

Yüksek gözenek hacmi ve yüzey alanı ile XAD-4 ün imali sırasında XAD-2 den daha fazla artfaktların oluştuğu gözlenmiştir (4,5).

#### 4.1.2.1. XAD Reçinelerinin Yıkanması ve Saklanması

XAD reçinelerinin temizlenmesi amacıyla genellikle ardarda çeşitli çözücülerle yıkama işlemi uygulanmıştır. Kullanılan çözücüler arasında n-heksan, metanol, aseton, asetonitril, diklorometana sık rastlanmaktadır. Araştırmacıların amaca yönelik biçimde bunların üç veya dördüncü farklı sıralarda kullandıkları literatürde görülmektedir (6-8). Yıkama sonrası XAD nin genellikle metanol içinde saklanmasını önermişlerdir.

Çalışmamızda da su, aseton, diklorometan, n-heksan yıkaması en iyi verimi verdiği için tercih edilmiş ve yıkanmış XAD metanolde saklanmıştır.

#### 4.1.2.2. Reçinelerin Kullanım Zorlukları

Havadan ve sıcaklıktan çözücülerden, adsorbe edilen maddelerden etkilenirler. Özellikle metanolde saklanmaları tekrarlanabilir sonuçlar alınmasını kolaylaştırmaktadır.

#### 4.1.2.3. Reçinelerin Kullanım Alanları

Sulardaki pestisitlerin, poliklorobifenillerin, polisiklik aromatik hidrokarbonların, içme suyundaki mutajenlerin, organofosforlu bileşiklerin çeşitli ortamlardan ekstraksiyonlarında kullanılmaktadırlar (9-11).

### 4.2. Materyal ve Yöntem

#### 4.2.1. Materyal

— Benz(a)piren ; "Community Bureau of Reference Materials" (Bürüksel - Belçika )' dan satın alınmıştır.

— n-Heksan, aseton, diklorometan ; Spektroskopik saflıkta olup Merck



( Almanya ) firmasından satın alınmıştır.

— Amberlit XAD-2 ; Sigma (Amerka) firmasından satın alınmıştır.

— Sigara filtreleri ; 3. Bölümde anlatılan sigara içme makinesinde

sigaralar aynı koşullarda içirilerek hazırlandı.

#### 4.2.2. Cihaz

Varian DMS-100, UV-Görünür Bölge Spektrometresi.

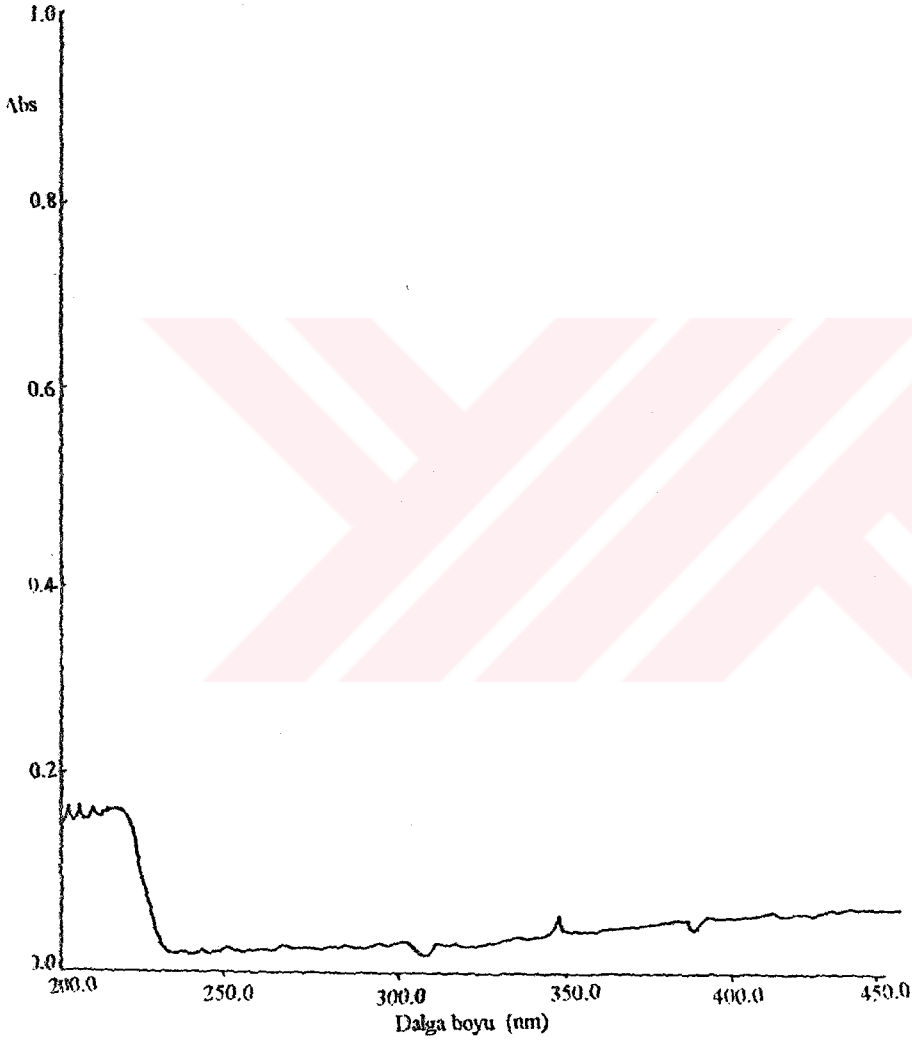
#### 4.2.3. Yöntem

##### 4.2.3.1. XAD-2 Reçinesinin Hazırlanması

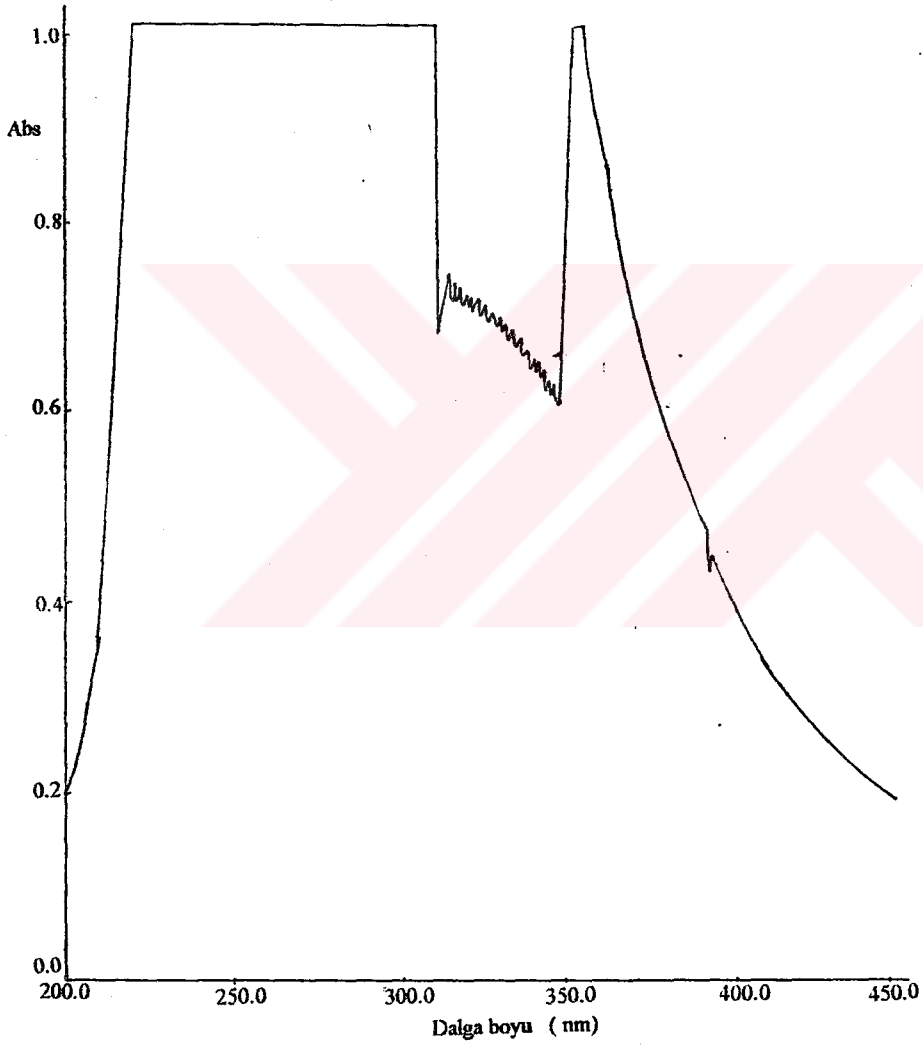
3.45 g XAD-2 20 cm uzunluğunda, 1cm çapındaki kolona konuldu. Kolon 10 ar ml su-aseton-diklorometan-n-heksan ile yıkandı. Reçinenin temizlenip temizlenmediğini anlamak için son n-heksan eluentinin UV spektrumu alındı (Şekil 4.1).

##### 4.2.3.2. Ekstraksiyon

3. Bölümde belirtildiği şartlarda Uzun Samsun sigarası sigara içme makinesine içirildi. İzmarit filtresinin kağıdı çıkarılarak 15 ml asetonitrilde çözüldü. 10 ml n-heksan ile 5 dakika çalkalanarak ekstraksiyon yapıldı. Şekil 4.2. deki UV spektrumu alındı. Ekstraktan 0.3 ml alınarak 10 ml ye seyreltildi.



**Şekil 4.1.** Reçine Yıkandıktan Sonra n-Heksan Eluentinin UV Spektrumu



**Şekil 4.2. Bir Ekstraktın UV Spektrumu (XAD-2 Öncesi)**

#### 4.2.3.3. Standartların Hazırlanması ve XAD-2 de Adsorpsiyonu

Standart BaP çözeltileri, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10 ve 20.0 ppm, 140 ppm lik stok çözeltisinden n-heksan ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden 5 er ml, 3.45 g XAD-2 bulunduran cam kolona konuldu.

Farklı derişimlerdeki standart BaP çözeltisinden 5 er ml 3.45 g XAD-2 bulunduran cam kolona konuldu. Çözeltinin reçine içine girebilmesi için birkaç dakika beklemeden sonra 5 er ml n-heksan ile yürütmeler yapıldı. Kolondan alınan eluentin UV absorpsiyonu 254 nm dalga boyunda ölçüldü ve geri alınabilirlik yüzdeleri yürütme öncesi ve yürütme sonrası absorpsiyonlar oranlanarak hesaplandı (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2. Farklı Derişimlerdeki BaP nin Elüsyonu  
(5 ml n-heksan ile yürütme)**

BaP, verilen ppm	BaP, alınan ppm	Tutulma yüzdesi
0.1	—	100
0.5	—	100
1.0	0.4	60
5.0	0.7	86
10.0	1.3	87

#### 4.2.3.4. BaP nin XAD-2 den Geri Alınabilirliği

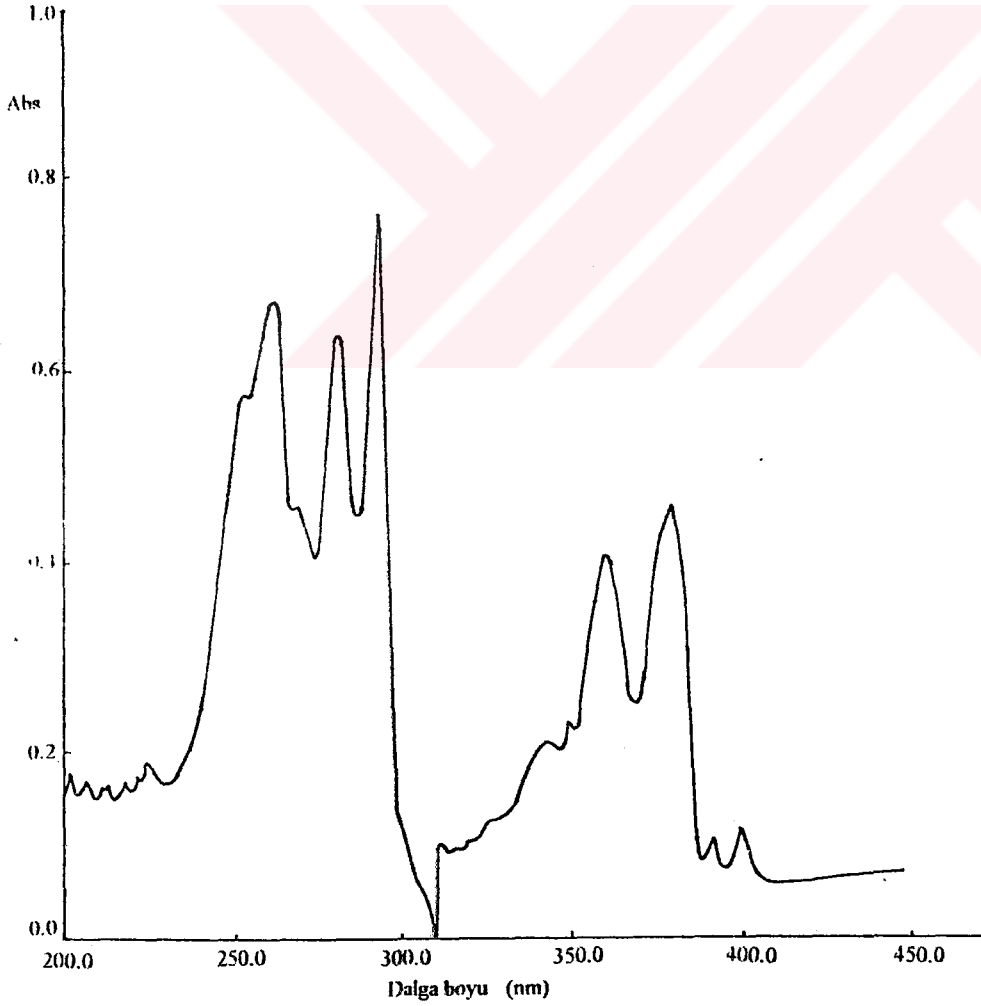
##### 1. 5 ppm BaP Çözeltisinin Tutunma Sonrası

##### Farklı Hacimlerde n-Heksan ile Geri Alınması

5 ppm lik 5 ml BaP çözeltisi kolona konulduktan sonra Tablo 4.3. de görülen hacimlerdeki n-heksan ile yürütülerek elde edilen sonuçlar yine aynı tabloda görülmektedir. 5 ppm lik standart BaP çözeltisinin UV spektrumu da Şekil 4.3. de verilmiştir.

**Tablo 4.3. 5 ppm lik BaP Çözeltisinin Tutunma Sonrası  
Farklı Hacimlerde n-Heksan ile Yürütülerek Geri Alınması**

Yürütme Hacmi (ml)	% Geri Alınabilirlik
10	16.89
10	25.51
10	21.38
5	11.21
10	13.79
10	10.34
10	—
<b>Toplam: 65</b>	<b>99.12</b>



**Şekil 4.3. 5 ppm lik Standart BaP Çözeltisinin UV Spektrumu (XAD-2 Öncesi)**

## 2. Sigara İzmarit Filtresi Ekstraktının XAD-2 Kolonunda Adsorpsiyonu

Ekstraktan alınan 5 ml n-heksan ile XAD de yürütülmüş ve 254 nm de UV absorpsiyonları (XAD öncesi ve sonrası) ölçülerek toplam adsorpsiyon yüzdesi hesaplanmıştır (Tablo 4.4). Buna göre 10 ml n-heksan ile ekstrakttaki maddeler (254 nm de absorpsiyon veren) kolondan alınmış olmaktadır.

**Tablo 4.4. Sigara İzmarit Filtresi Ekstraktının  
XAD-2 Kolonunda Adsorpsiyonu**

Yürütme Hacmi (ml)	% Adsorpsiyon
5	68
5	11
5	—

## 3. Ekstrakt + 5 ppm BaP nin XAD-2 Kolonundan Farklı Hacimlerde n-Heksan ile Yürütülerek BaP nin Geri Alınması

5 ml ekstrakta 5 ml 5 ppm lik standart BaP çözeltisi eklendi. Sonra 5 ml ye değiştirilip kolondan geçirildi. n-Heksan elüsyonu sonucu elde edilen değerler Tablo 4.5. de görülmektedir. İlk 10 ml nin absorpsiyonu önceki deney esas alınarak geri alınabilirlik yüzdesine dahil edilmemiştir. Çünkü BaP bu hacimde elüsyonda kolonda kaldığı ekstraktın ise kolonu terkettiği yine önceki deneylerde saptanmıştı.

**Tablo 4.5. Ekstrakt + BaP nin XAD-2 Kolonundan Farklı Hacimlerde  
n-Heksan ile Yürütülerek BaP nin Geri Alınabilirliği**

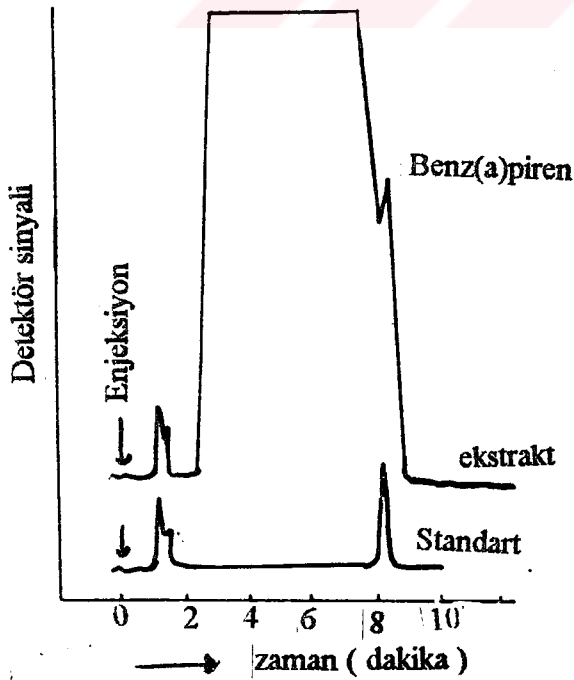
Yürütme Hacmi (ml)	% Geri Alınabilirlik
10	?
10	27.24
10	19.32
5	7.06
10	10.00
10	8.28
10	—
<b>Toplam: 65</b>	<b>71.90</b>

### 4.3. Tartışma ve Sonuçlar

İzmarit ekstraktında BaP derişiminin çok dűşük oluğu çok sayıda izmarit ile (30-50) alışılmasını gerektirmektedir. Fakat bu ekstraktların GC ile tayininde Őekil 4.4. deki örnekte olduğu gibi pik ayırımı ve dolayısı ile kalitatif ve kantitatif analiz gűlűđű vardır. Bu çalışmanın temel amacı BaP nin ekstrakttaki diğer maddelerden kurtarılmasıdır.

Farklı derişimlerde BaP nin kolondan geçirilmesi sonucu 10 ppm derişimin izerinde kolon kapasitesinin aşıldığı gözlenmiştir. Tablo 4.3. XAD-2 adsorpsiyonu için en uygun BaP derişiminin 5ppm olduğunu kanıtlamaktadır.

Çalıřmanın diđer blűmünde izmarit ekstraktının 254 nm de absorpsiyonları kullanılarak XAD de tutulma ve geri alınma durumları incelenmiřtir. Ekstrakt ilk 10 ml elűsyon sonrasında kolonu terk etmektedir. Diđer taraftan ise 5 ppm ile BaP ilk 10 ml de kolondan kesinlikle elue edilememektedir. Bu durumda gerçek örnek ile çalıřıldıđında ilk 10 ml n-hekzan hariç tutularak toplam 65 ml elűsyon yapıldıđında % 99.12 BaP gei alınabilmektedir. Ancak gerçek örneklerle yapılan çalıřmalarda BaP derişiminin dűřük oluđu XAD-2 kolonu veriminin dűřük olacađını veya BaP nin tam olarak ayırlamayacađı kaygısını hala beraberinde getirmektedir. Ancak bu sorun daha yűksek oranda XAD-2 kullanılarak ařılabilir.



Şekil 4.4. Standart ve İzmarit Ekstraktının Kromatogramları

## KAYNAKLAR

1. S.A. Daignault et al., "A Review of the use of XAD to Concentrate Organic Compounds in Water", *Wat. Res.*, 22 (1988), 803-813.
2. P.V. Rossom and R.G. Webb, "Isolation of Organic Water Pollutants by XAD Resins and Carbon" *J. Chromatogr.*, 150 (1978), 381-392.
3. C.L. Cognet et al., "Mutagenic Activity of Disinfection by-Products", *Envir. Hlth Persp.*, 69 (1985), 165-175.
4. G.Hunt and N.Pangaro, "Potential Contamination from the use of Synthetic Adsorbents in Air Sampling Procedures", *Analyt. Chem.*, 54 (1982), 369-372.
5. J.C. Loper et al., "Mutagenic Residues Recovered from Granular Activated Carbon After Use in Drinking Water Treatment", In *Water Chlorination: Chemistry, Envir. Impact and Health Effects*, 5 (1985), 1329-1339.
6. P. Dolara et al., "Effect of Ozonation and Chlorination on the Mutagenic Potential of Drinking Water", *Bull. Envir. Contam. Toxic.*, 27 ( 1981), 1-6.
7. E.E. McNeil et al., "Determination of Chlorinated Pesticides in Potable Water", *J. Chromatogr.*, 132 (1977), 277-285.
8. D.T. Hunt and P. Morris, "Blank Water -a Potential Problem in Water Analysis ", *Analyt. Proc.*, 19 (1982), 407-409.
9. F.M. Benoit et al., "The Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons at the ng/l Level in Ottawa Tap Water", *Int. J. Envir. Anal. Chem.*, 6(1979), 277-287.
10. G.L. LeBel et al., "Isolation and Concentration of Organophosphorus Pesticides from Drinking Water at the ng/l Level, using Macroreticular Resin", *J. Ass. off. Anal. o Chem.*, 62(1979), 241-249
11. F.M. Benoit and D.T. Williams, *Bull Envir. Contam. Toxic.*, 27(1981), 303-308.



## BÖLÜM 5

### SİGARA TÜRÜ VE KALİTESİ BELİRLEMEDE "FİNGER-PRINT"

#### 5.1. Giriş

Amerika'nın keşfinden sonra Avrupa'ya sonra da Türkiye'ye gelen tütün insanları ve toplumları etkileyen çok yönlü bir bitkidir. Yetiştirici ve üretici kesime önemli bir gelir kaynağı olmaktadır. Gerek tekel, gerek özel sektör olarak tütün alımını gerçekleştiren kesimler de belirli bir kâr sağlamaktadırlar. Tütün işlenişi, sigara, pipo, puro gibi mamuller haline gelmesi, dünyada ve ülkemizde önemli bir endüstri dalı olarak milli bütçelerde ve milli gelirden önemli bir yer işgal etmektedir (1). Tütün, ülkemizin önemli ihraç ürünlerinden biri olduğu için bu konuda yapılan araştırmalar ve sonuçları üzerinde özenle durulmaktadır. Bu nedenle tütün üretimi, hastalık ve zararlarıyla savaşımları, kalitesi, kimyasal ve fiziksel özellikleri, fabrikasyonu, mamullerin ve dumannın özellikleri, sağlık üzerine etkileri konusunda yapılan araştırmalar tütünü çok sayıda araştırmacının katıldığı geniş bir bilim alanı haline getirmiştir (2).

"Finger-Print" parmak izi anlamına gelen bu deyim kimyasal analizlerde sık sık karşılaşırlar. Kompleks karışımların bulunduğu madde analizlerini kısa sürede yaparak, kimyasal proseslerde izleme (monitoring) olayı gerçekleştirmek çok zordur. Örnek olarak su kirlilik analizlerini, poliklorlu bifenillerin izlenmesini verebiliriz. Polikloro bifenillerden örneğin ARACHLOR 1016, içinde çok sayıda klorlu bifenilin bulunduğu bir karışımdır (3). Bunlar buldukları yerlerde az da olsa değişimlere uğrayabilirler. Ancak ARACHLOR 1016'nın gaz kromatografide belli kromatografik koşullarda verdiği örnek kromatogram bir "belirleyici" kalıp olarak her zaman geçerlidir. Bu örnek kromatogram ile bir karışım kromatogramını karşılaştırılarak maddenin ARACHLOR 1016 olup olmadığını anlayabiliriz. İkinci örneğimiz su kirliliği üzerine olacaktır.

Su kirlilik kontrolünde kullanılan bazı genel parametrelerin (TOC, PO, pH, AOC<sub>L</sub>, BOD, iletkenlik gibi) izlenmesi genel bilgi vermekten öte gidemediği için Gaz Kromatograf/Kütle Spektrometresi (GC/MS) (4) ve Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi / Kütle Spektrometresi (5) teknikleri özellikle organik maddelerin tayininde vazgeçilmez hale gelmiştir. Ancak yüzlerce maddenin herbirinin tayinini yapmak yerine basitçe kromatografik tarama (screening) tercih edilebilir. Bu yöntemde yine belli kromatografik koşullarda alınan kromatogramlar izlenerek "monitoring" yapılır (6). Özellikle sanayi bölgeleri içinden geçmekte olan akarsulara fabrikaların zaman zaman gizlice bıraktıkları

atıkları tek tek tesbit etmek yerine alınan bir kromatogramın daha önceden belirlenen finger- print kromatogram ile karşılaştırılması kolayca sonuca götürmektedir.

Tütün ve içim sonrası sigara dumanı ve zifir çok sayıda kimyasal madde içermektedir. Yukarıda su örneğinde olduğu gibi benzer yaklaşımla tütün kalitesi, dumanı ve izmarit için finger- print saptanması düşünülebilir.

Tütün ve sigara kalitesi için çeşitli kriterler vardır: Sıklık, yanma süresi, aroma vs.

Bu çalışmada bir sigara kalitesinin ve türünün belirlenmesi için dumanın/zifirin kromatografik analizini izlemenin (monitoring) yeterli bir kriter olup olamayacağı üzerine çalışıldı.

Belirli kromatografik koşullarda farklı sigaralar için alınan kromatogramlardaki pikler, alkonma zamanları, pik boyları yapılan bu ön çalışmada kullanıldı. Böyle bir "finger-print" çalışmasının doğal olarak sigara dumanında yapılması beklenebilir. Önceki bölümlerde de belirtildiği gibi sigara analizleri denince akla hemen duman analizleri gelmektedir. Ancak çalışmalarımızda sigara izmariti, kullanılabilirliklerindeki kolaylık dikkate alınarak tercih edilmiştir.

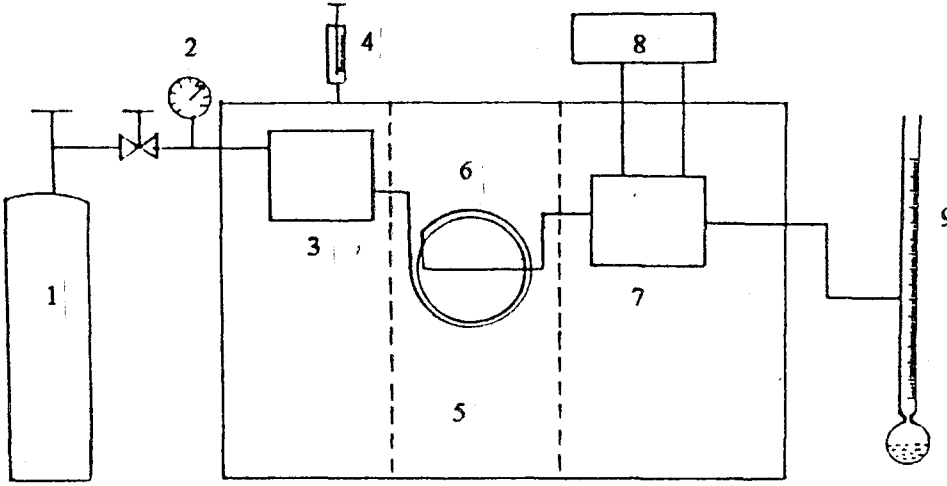
## 5.2. Materyal ve Yöntem

### 5.2.1. Materyal

- n-Heksan ; Merck (Almanya) firmasından alınmış olup kromatografik saflıktadır.
- Asetonitril ; Merck (Almanya) firmasından alınmış olup analitik saflıktadır.
- Sigara filtreleri ; Bölüm 3 de anlatılan sigara içme makinasına içirtilerek alınmıştır.

### 5.2.2. Cihaz

Şekil 5.1. de görülen Packard Model-439 Gaz Kromatografisi kullanıldı.



Şekil 5.1. Packard Model-439 Gaz Kromatografi Cihazının Şeması

1: N<sub>2</sub> gazı, 2: Manometre, 3: Enjeksiyon bölgesi, 4: Enjektör, 5: Fırın, 6: Kolon bölgesi, 7: Detektör bölgesi, 8: Yazıcı, 9: Sabun köpüklü hacim ölçer

### 5.2.3. Yöntem

#### 5.2.3.1. Ekstraksiyon

Pazardan Kısa Maltepe, Uzun Maltepe, Kısa Samsun, Uzun Samsun, Tekel 2000, Yeni Harman sigaraları 2 ay ara ile gelişigüzel alındı. Alınan bu sigaralar sigara içme makinasına içirtildi. Her defasında kağıdı çıkartılan izmarit filtresi 15 ml asetonitrilde çözüldü. 10 ml n-heksan ile 5 dakika çalkalanarak ekstraksiyon yapıldı (7). Azot gazı ile kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve 1 ml n-heksan konuldu. 5 er µl lik enjeksiyonlar GC/ECD sistemine yapıldı.

#### 5.2.3.2. Kromatografik Koşullar

Taşıyıcı gaz	; Azot.
Gaz akış hızı	; 10 ml/dak.
Kolon	; 2 m uzunluğunda 2 mm iç çapında Chrom G A/W DMCS (80/100 mesh) üzerine emdirilmiş % 2.5 SE-30 dolgu cam kolon.
Enjeksiyon bölgesi sıcaklığı	; 200 °C.
Kolon sıcaklığı	; 175 °C.
Detektör sıcaklığı	; 225 °C.

Detektör ; Elektron yakalama detektörü (ECD), Ni <sup>63</sup>, 26 m.Amp.  
 Yazıcı ; Duyarlık 10 mV/tam sapma, kağıt hızı 1 cm/dak.

**Kromatogramdaki piklerin bağıl alıkonma zamanları**

$$t_R = t_m/t_s$$

formülü ile hesaplanmıştır.

$t_R$  : Bağıl alıkonma zamanı.  
 $t_m$  : Kromatogramdaki piklerin alıkonma zamanı.  
 $t_s$  : Kromatogramdan "seçilen" bir maddenin alıkonma zamanı.

### 5.2.3.3. Yöntem ve Veriler

Pazardan alınan,  
 — Uzun Samsun,  
 — Yeni Harman,  
 — Kısa Samsun,  
 — Kısa Maltepe,  
 — Tekel 2000,  
 — Uzun Maltepe,

sigaraları önce kendi imalatımız olan sigara içme makinasında aşağıda verilen koşullarda içirildi. Sonra ekstraksiyon yapıp 5 mikrolitrelik örnekler kromatografa enjekte edildi.

#### İçim Koşulları

— Toplam içiş süresi :  $\approx$ 8-10 dak.  
 — İçiş süresi :  $\approx$ 5s.  
 — Nefes süresi :  $\approx$ 4s.

Farklı sigara örneklerine ait kromatogramlar Şekil 5.2., 5.3., 5.4., 5.5., 5.6.' larda küçültülerek verilmiştir. Her sigara türüne ait kromatogramlarda belirli alıkonma zamanlarındaki pikler değerlendirmelerde kullanılmıştır.

Aynı tür sigaranın farklı zamanlarda alınan örneklerine yukarıdaki işlemler uygulandı ve kromatogramları benzer biçimde değerlendirildi.

Kromatogramlarda görülen belirgin piklerden 4-6 tanesinin alıkonma zamanları

Tablo 5.1., 5.2., 5.3., 5.4., 5.5. de verilmiştir. Her sigara türü için bir x pik standart olarak seçilmiş ve onun alıkonma zamanı, bağıl alıkonma zamanlarının bulunmasında, pik yüksekliği ise bağıl pik oranlarının bulunmasında kullanılmış ve bu değerler Tablo 5.11., 5.12., 5.13., 5.14., 5.15., 5.16., 5.17., 5.18., 5.19., 5.20. de gösterilmiştir. Ocak ayı sigaraları için yapılan deneyler üç ekstraksiyon ortalamasıdır. Diğerleri ise iki ekstraksiyon ortalamasıdır. Kısa Maltepe sigarasının kromatogramı ile Uzun Maltepe sigarasının kromatogramı arasında fark olmadığından yalnız Kısa Maltepe sigarasının finger-printi üzerinde durulmuştur.

**Tablo 5.1. Farklı Zamanlarda Alınan Uzun Samsun Sigaralarının Alıkonma Zamanları ( dakika )**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik (st.pik)	4.pik	5.pik
Ocak	2.90	3.30	3.70	6.10	8.60
Mart	3.00	3.35	3.60	6.15	8.55
Mayıs	3.20	3.55	3.70	6.40	8.85
Temmuz	2.90	3.25	3.50	5.85	9.20
Eylül	3.25	3.80	3.80	6.30	8.90

**Tablo 5.2. Farklı Zamanlarda Alınan Yeni Harman Sigaralarının Alıkonma Zamanları ( dakika )**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik (st.pik)	4.pik	5.pik
Ocak	1.95	2.25	3.60	8.50	11.95
Mart	3.10	3.30	3.65	8.70	12.25
Mayıs	3.10	3.50	3.70	8.70	12.40
Temmuz	2.95	3.25	3.65	8.75	12.35
Eylül	3.40	4.00	4.00	—	12.50

**Tablo 5.3. Farklı Zamanlarda Alınan Kısa Samsun Sigaralarının Alınma Zamanları ( dakika )**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik (st.pik)	4.pik	5.pik
Ocak	3.00	3.25	3.65	8.50	—
Mart	3.10	3.40	3.55	8.50	—
Mayıs	3.00	3.40	3.80	8.85	—
Temmuz	3.10	3.40	3.60	8.60	—
Eylül	2.90	3.25	3.60	8.80	—

**Tablo 5.4. Farklı Zamanlarda Alınan Kısa Maltepe Sigaralarının Alınma Zamanları ( dakika )**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik (st.pik)	4.pik	5.pik
Ocak	3.00	3.30	3.70	6.00	8.45
Mart	2.95	3.30	3.60	6.20	8.60
Mayıs	3.10	3.45	3.90	6.30	9.00
Temmuz	3.10	3.45	3.70	6.30	9.00
Eylül	3.05	3.30	3.85	5.80	8.85

**Tablo 5.5. Farklı Zamanlarda Alınan Tekel 2000 Sigaralarının Alınma Zamanları ( dakika )**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik (st.pik)	4.pik	5.pik	6.pik
Ocak	2.90	3.35	3.80	6.00	8.35	11.90
Mart	3.00	3.30	3.55	6.05	8.50	12.00
Mayıs	2.80	3.10	3.80	6.30	8.60	12.30
Temmuz	3.00	3.40	3.80	6.00	8.75	12.30
Eylül	3.00	3.20	3.60	6.10	8.65	12.27

**Tablo 5.6. Farklı Zamanlarda Alınan Uzun Samsun Sigaralarının  
Pik Yükseklikleri ( cm )**

Sigaraların aldığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik (st.pik)	4.pik	5.pik
Ocak	1.00	3.93	3.67	0.73	3.07
Mart	0.93	3.27	3.47	0.72	2.83
Mayıs	0.73	2.63	2.48	0.67	1.87
Temmuz	1.90	5.03	5.10	1.27	3.50
Eylül	1.37	5.23	5.45	1.23	0.58

**Tablo 5.7. Farklı Zamanlarda Alınan Yeni Harman Sigaralarının  
Pik Yükseklikleri ( cm )**

Sigaraların aldığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik (st.pik)	4.pik	5.pik
Ocak	0.60	2.40	2.20	2.90	4.65
Mart	0.78	2.50	2.43	3.08	6.78
Mayıs	0.67	2.48	2.43	4.20	3.23
Temmuz	0.93	3.07	2.62	1.00	0.58
Eylül	1.23	4.57	4.63	—	2.68

**Tablo 5.8. Farklı Zamanlarda Alınan Kısa Samsun Sigaralarının  
Pik Yükseklikleri ( cm )**

Sigaraların aldığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik (st.pik)	4.pik	5.pik
Ocak	0.57	2.80	2.47	5.47	—
Mart	0.70	3.10	2.78	5.12	—
Mayıs	0.78	2.67	2.45	0.87	—
Temmuz	0.70	2.37	2.67	6.08	—
Eylül	1.30	4.50	4.40	1.13	—

**Tablo 5.9. Farklı Zamanlarda Alınan Kısa Maltepe Sigaralarının  
Pik Yükseklikleri ( cm )**

Sigaraların aldığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik (st.pik)	4.pik	5.pik
Ocak	0.87	3.60	3.33	0.87	8.70
Mart	0.80	3.17	2.90	0.63	7.63
Mayıs	0.60	2.43	2.23	0.43	0.20
Temmuz	0.70	2.33	2.07	0.70	0.27
Eylül	1.33	4.53	4.72	0.95	3.90

**Tablo 5.10. Farklı Zamanlarda Alınan Tekel 2000 Sigaralarının  
Pik Yükseklikleri ( cm )**

Sigaraların aldığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik (st.pik)	4.pik	5.pik	6.pik
Ocak	1.60	5.30	4.75	1.10	7.13	2.48
Mart	0.90	3.80	3.58	0.72	7.37	1.78
Mayıs	0.90	3.85	3.90	0.63	7.58	2.00
Temmuz	2.07	5.50	5.57	1.52	5.97	2.00
Eylül	1.13	3.67	3.13	0.40	2.13	0.58

**Tablo 5.11. Uzun Samsun Sigaralarının Bağlı Alınma Zamanları**

Sigaraların aldığı aylar	1.pik	2.pik	3. pik ( st. )	4.pik	5.pik
Ocak	0.89	0.98	1.00	1.79	2.50
Mart	0.83	0.93	1.00	1.71	2.38
Mayıs	0.86	0.96	1.00	1.73	2.39
Temmuz	0.83	0.93	1.00	1.67	2.63
Eylül	0.86	1.00	1.00	1.66	2.34



**Tablo 5.12. Uzun Samsun Sigaralarının Bağlı Pik Yükseklikleri**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik ( st. )	4.pik	5.pik
Ocak	0.27	1.07	1.00	0.19	0.84
Mart	0.27	0.94	1.00	0.23	1.82
Mayıs	0.29	1.06	1.00	0.27	0.75
Temmuz	0.37	0.99	1.00	0.25	0.69
Eylül	0.25	0.96	1.00	0.23	0.11

**Tablo 5.13. Yeni Harman Sigaralarının Bağlı Ahkonma Zamanları**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3.pik ( st. )	4.pik	5.pik
Ocak	0.54	0.63	1.00	2.36	3.32
Mart	0.85	0.90	1.00	2.38	3.34
Mayıs	0.84	0.95	1.00	2.35	3.35
Temmuz	0.81	0.89	1.00	0.89	3.38
Eylül	0.85	1.00	1.00	—	3.13

**Tablo 5.14. Yeni Harman Sigaralarının Bağlı Pik Yükseklikleri**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3. pik ( st. )	4.pik	5.pik
Ocak	0.27	1.09	1.00	1.32	2.11
Mart	0.32	1.03	1.00	1.27	2.79
Mayıs	0.28	1.02	1.00	1.73	1.33
Temmuz	0.35	1.17	1.00	0.38	0.22
Eylül	0.27	0.99	1.00	—	0.58

**Tablo 5.15. Kısa Samsun Sigaralarının Bağlı Ahkonma Zamanları**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3. pik ( st. )	4.pik	5.pik
Ocak	0.82	0.89	1.00	2.33	—
Mart	0.87	0.96	1.00	2.39	—
Mayıs	0.79	0.89	1.00	2.33	—
Temmuz	0.86	0.94	1.00	2.39	—
Eylül	0.81	0.90	1.00	2.44	—

**Tablo 5.16. Kısa Samsun Sigaralarının Bağlı Pik Yükseklikleri**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3. pik ( st. )	4.pik	5.pik
Ocak	0.23	1.13	1.00	2.21	—
Mart	0.25	1.12	1.00	1.84	—
Mayıs	0.32	1.09	1.00	0.36	—
Temmuz	0.26	0.89	1.00	2.28	—
Eylül	0.29	1.02	1.00	0.26	—

**Tablo 5.17. Kısa Maltepe Sigaralarının Bağlı Ahkonma Zamanları**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3. pik ( st. )	4.pik	5.pik
Ocak	0.80	0.89	1.00	1.62	2.28
Mart	0.82	0.92	1.00	1.72	2.39
Mayıs	0.79	0.88	1.00	1.62	2.31
Temmuz	0.84	0.93	1.00	1.70	2.43
Eylül	0.79	0.86	1.00	1.51	2.29

**Tablo 5.18. Kısa Maltepe Sigaralarının Bağlı Pik Yükseklikleri**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3. pik ( st. )	4.pik	5.pik
Ocak	0.26	1.08	1.00	0.26	2.61
Mart	0.28	1.09	1.00	0.22	2.63
Mayıs	0.27	1.09	1.00	0.19	0.09
Temmuz	0.34	1.13	1.00	0.34	0.13
Eylül	0.28	0.96	1.00	0.20	0.83

**Tablo 5.19. Tekel 2000 Sigaralarının Bağlı Alıkonma Zamanları**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3. pik ( st. )	4.pik	5.pik	6.pik
Ocak	0.76	0.88	1.00	1.58	2.19	3.13
Mart	0.82	0.89	1.00	1.64	2.29	3.32
Mayıs	0.74	0.82	1.00	1.66	2.26	3.24
Temmuz	0.79	0.89	1.00	1.58	2.30	3.24
Eylül	0.83	0.89	1.00	1.69	2.46	3.46

**Tablo 5.20. Tekel 2000 Sigaralarının Bağlı Pik Yükseklikleri**

Sigaraların alındığı aylar	1.pik	2.pik	3. pik ( st. )	4.pik	5.pik	6.pik
Ocak	0.34	1.12	1.00	0.23	1.50	0.52
Mart	0.25	1.06	1.00	0.20	2.06	0.49
Mayıs	0.23	0.99	1.00	0.16	1.94	0.51
Temmuz	0.37	0.99	1.00	0.27	1.07	0.36
Eylül	0.36	1.17	1.00	0.13	0.68	0.19

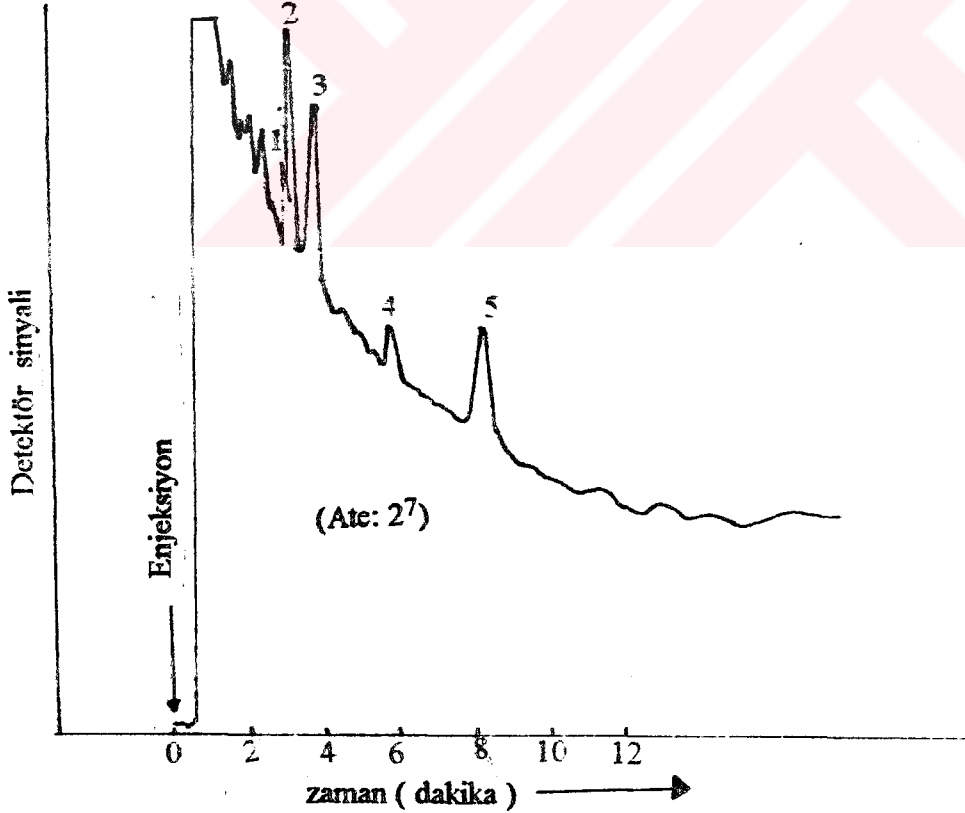
### 5.3. Tartışma ve Sonuçlar

Kromatogramlarda görüldüğü gibi ekstraktlar, çalışılan kromatografik koşullarda, hangi sigaradan olursa olsun 15 dakika süre içinde kolonu terketmektedirler. Dolayısı ile bu süre her sigara için temel alınmıştır. Bağlı alıkonma zamanlarını ve pik oranlarını

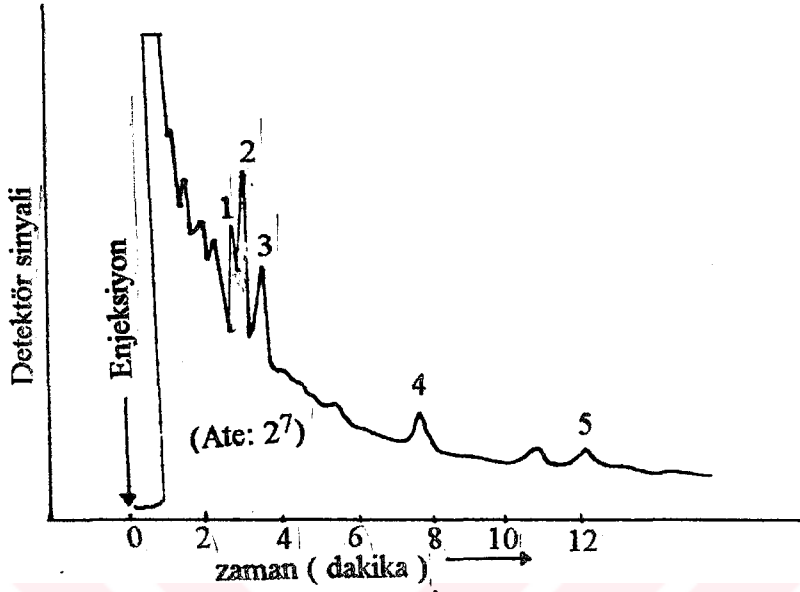
belirlemek için ekstraktlara bir standart eklemek yerine piklerden birisi kullanılmıştır. Çahşılan kromatografik koşullarda ortalama 3.70 dakikada gelen pik referans olarak alındı.

Tablolar incelendiğinde her tür sigara için diğerlerinden farklı bir pik dağılımı gözlenmektedir. Zaman zaman bazı sigaraların farklı paketlerinden elde edilen izmaritlerde özellikle 4. (Tablo 5.7., 5.8.) piklerde sapmalar gözlenmektedir. Bunun nedenini sigara içme makinasında zaman zaman meydana gelen teknik hatalara atfetmek doğru olmayacaktır. Büyük ihtimalle farklı zamanlarda işlenmiş tütünden yapılmış sigara olması asıl neden olarak düşünülebilir. Ancak bu farklılaşmaya rağmen hala aynı tür sigaranın kromatografik figer-printi veriyor olması dikkat çekicidir.

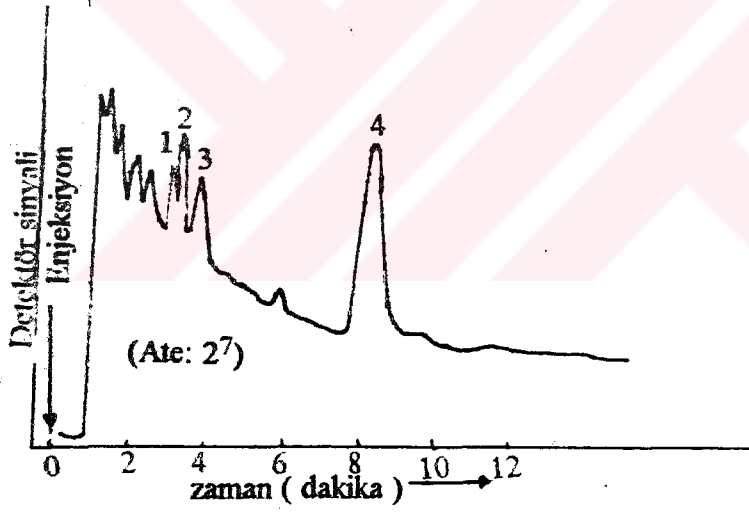
Görülmüştür ki belli bir sigara izmariti için belli koşullarda alınan kromatogramlar belirleyici olmaktadır. Sonuç olarak kalite kontrolünde finger-print kromatogramı kullanımı tavsiye edilebilir.



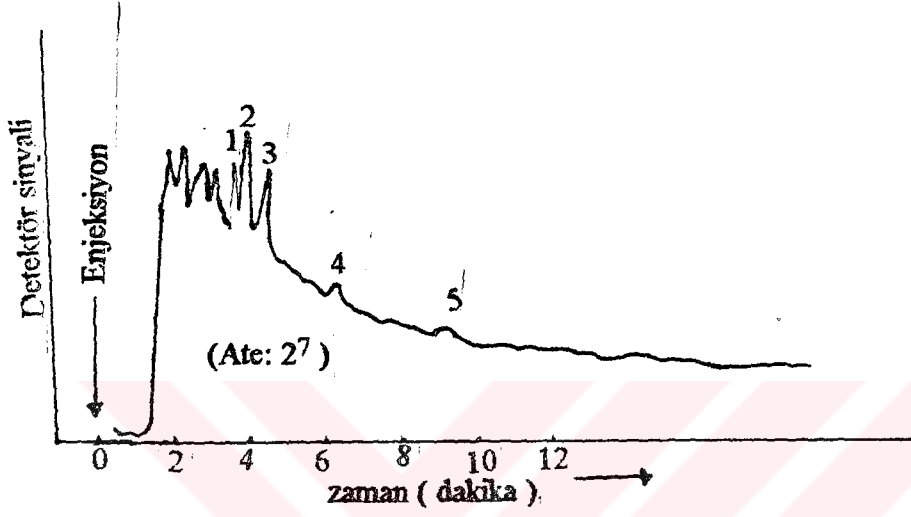
Şekil 5.2. Uzun Samsun Sigara İzmarit Ekstraktının Kromatogramı



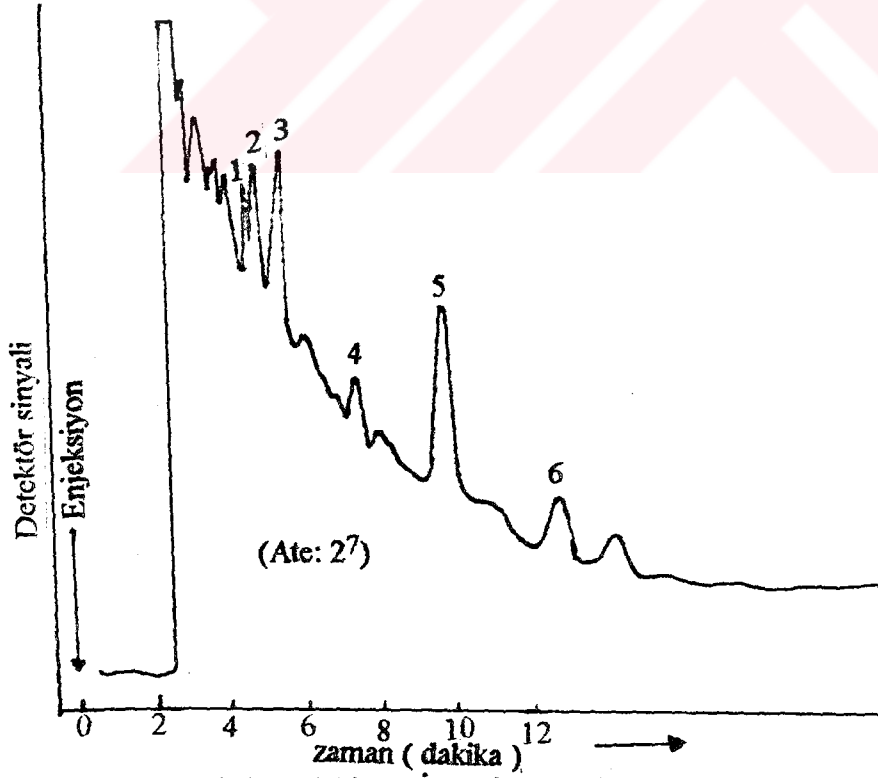
Şekil 5.3. Yeni Harman Sigara İzmarit Ekstraktının Kromatogramı



Şekil 5.4. Kısa Samsun Sigara İzmarit Ekstraktının Kromatogramı



Şekil 5.5. Kısa Maltepe Sigara İzmarit Ekstraktının Kromatogramı



Şekil 5.6. Tekel 2000 Sigara İzmarit Ekstraktının Kromatogramı

**KAYNAKLAR**

1. A. Akçasu, "Tütünün Tarihçesi, Sağlık, Tarım ve Ekonomi Yönünden Sigara: Dünü, o Bugünü ve Yarını", TÜBİTAK Yayınları No: 586 (1985), 1-7.
2. Milli Tütün Komitesi Bilimsel Araştırma Alt Komitesi 9. Toplantısı, (1990).
3. G.L. LeBel and D.T. Williams, "Determination of Low ng/l Levels of Polychlorinated Biphenyls in Drinking Water by Extraction with Macroreticular Resin and Analysis o Using Capillary Column", Bull. Envir. Contam. Toxic., 24 (1980), 397-403.
4. M. Ahnoff and B. Josefsson, "Confirmation Studies on Polychlorinated Biphenyls (PCB) From River Waters Using Mass Fragmentography", Analytical Letters, 6(12) (1973), 1083-1093.
5. W.H. Mc Fadden, "Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Systems and Application", J. Chromatogr. Sci., 18(1980), 97-115.
6. J.W. Eichelberger et al., "Determination of Volatile Organics in Drinking Water with USEPA Method 524.2 and the Ion Trap Detector", J. Chrom. Sci., 28 (1990) 460-467.
7. F. Özdemir, "Sigara Filtre Zifirinde Benz(a) Piren'in HPLC ile Tayini", Yüksek Lisans Tezi, Samsun (1989).

## BÖLÜM 6

### GC / MS İLE SİGARA İZMARİT EKSTRAKTLARININ ANALİZLERİ

#### 6.1. Giriş

Bu bölüm sigara izmariti için yapılan bir kalitatif analizin sonuçlarını içermektedir. Kalitatif analizde çeşitli analitik yöntemler içinde kütle spektrometresi belki de en önemlisi ve vazgeçilmez olanıdır. Karmaşık sistemlerin analizinde kütle spektrometresi gaz kromatograf (GC/MS) ve son zamanlarda da yüksek basınç sıvı kromatograf (HPLC/MS) ile beraberce kullanılmaktadır. GC/MS küçük molekül ağırlıklı maddelerin tayinine imkan verirken HPLC/MS 1000 den büyük molekül ağırlıklı maddeler tayin edilebilmektedir. Çalışmada, Türk sigaralarından bir örnek alınarak GC/MS ile kalitatif analiz yapıp genel bir bilgi edinilmek ve buraya kadar diğer bölümlerde anlatılan analizler bu bölümün içinde tamamlanmak istenilmiştir.

#### 6.2. Materyal ve Yöntem

##### 6.2.1. Materyal

— n-Heksan ; Kromatografik safıkta olup Merck ( Almanya ) firmasından satın alınmıştır.

—Asetonitril ; Analitik safıkta olup Merck ( Almanya ) firmasından satın alınmıştır.

—Sigara izmaritleri ; Sigara içme makinesinde hazırlandı.

##### 6.2.2. Yöntem

Uzun Samsun sigarası sigara içme makinesine içirtildi. Kağıdı çıkartılan izmarit filtresi 15 ml asetonitrilde çözüldü. 10 ml n-heksan ile 5 dakika çalkalanarak ekstraksiyon yapıldı. Azot gazı ile kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve 1 ml n-heksan konuldu. Bu n-heksan fazından GC/MS sistemine enjeksiyonlar yapıldı.



### 6.2.3. Kromatografik Koşullar

Kolon	: J & W Scientific; uzunluk: 60 m; İÇ: 0.32 mm; film kalınlığı: 1 mikron
Sıcaklık Programı	: 7 dakika 30 °C da bekletildi. 275 °C a kadar 5 °C/dak hızla ısıtıldı ve 275 °C da 15 dakika bekletildi (Tablo 6.1).
Taşıyıcı Gaz	: Helyum (20 ml/dak).
Kütle Spektrometresi	: Elektron bombardımanlı iyonlaştırıcı, kütle tarama 35 - 350 m /e aralığında (Tablo 6.2).

### 6.2.4. Kalitatif Değerlendirme ve Sonuçlar

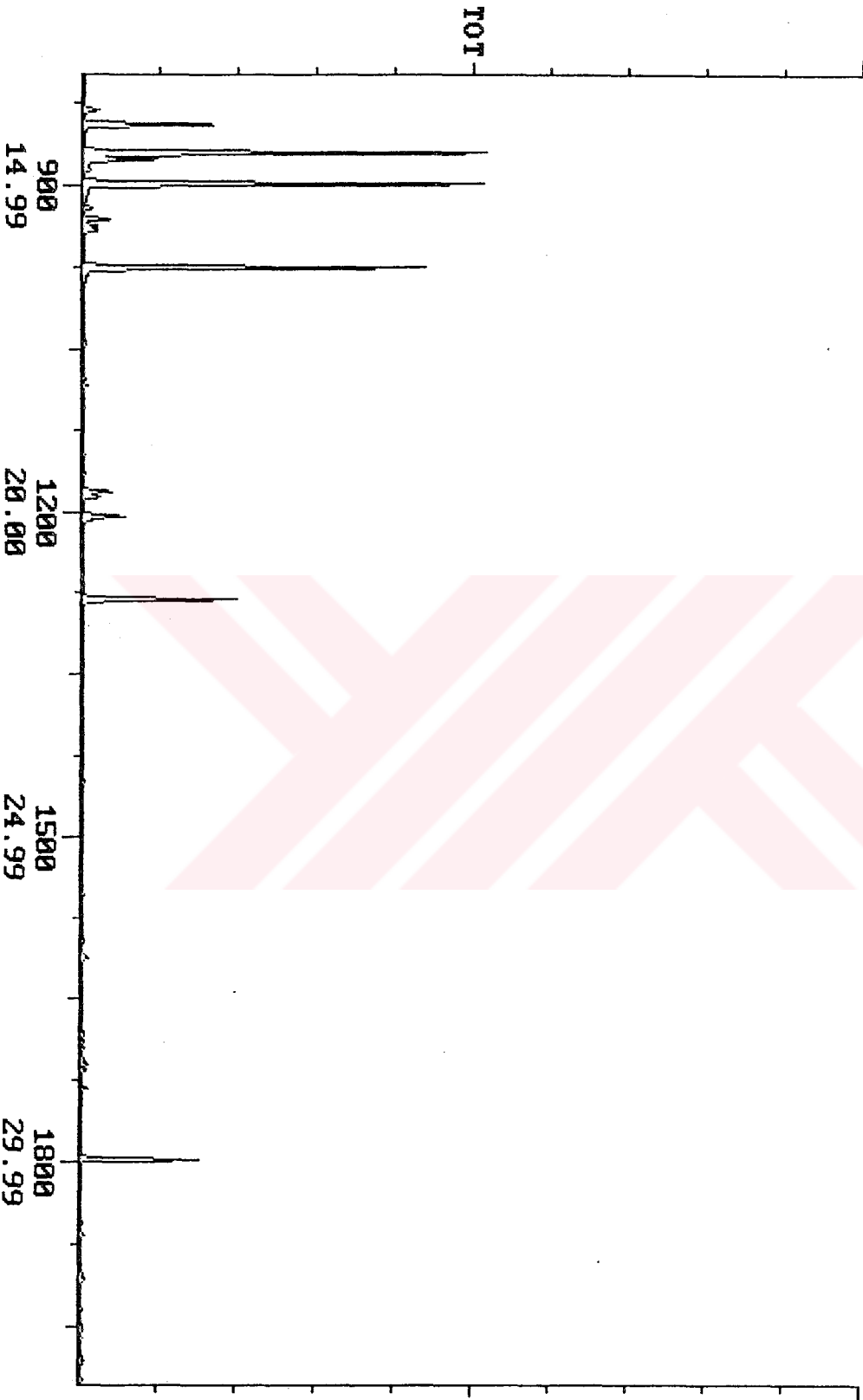
GC/MS in data bankasındaki kütle spektrumları kromatogramdaki her pik spektrumları ile karşılaştırılarak otomatik yapıldı. Şekil (a, b ve c) Uzun Samsun Sigarasının toplam kromatogramını vermektedir. Kromatogram 15 dakikadan sonrasını vermektedir. Ayrıca 70 dakika sonrasında tüm maddelerin kolonu terkettiği varsayılmıştır.

Ek de verilen spektrumlar yardımıyla saptanabilen maddeler Tablo 6.3. de verilmiştir. Tabloda belirli zaman aralıklarında kolonu terk eden kromatogramlar numaralandırılmış fragmanlar yanı sıra o zaman aralığını kapsayan toplam pik alanı da verilmiştir. Nikotin başta olmak üzere yüksek molekül ağırlıklı alkanlar, alkooller tabloda görülmektedir.

Yalnızca n-heksan ekstraksiyonunda dahi çok sayıda maddenin bulunduğu görülmektedir. Tabloda görülen bazı maddelerin neler olduklarının belirlenememiş olması, analizi yapılan laboratuvar bilgisayarında yalnızca su analizlerine yönelik data yüklü olmasından kaynaklanmıştır. Ayrıca piklerin karmaşıklığı da değerlendirmede sorun olmaktadır. Bu arada BaP tayini yapılamamıştır. Bunun nedeni BaP derişiminin tek sigarada tayin sınırının altında oluşudur.

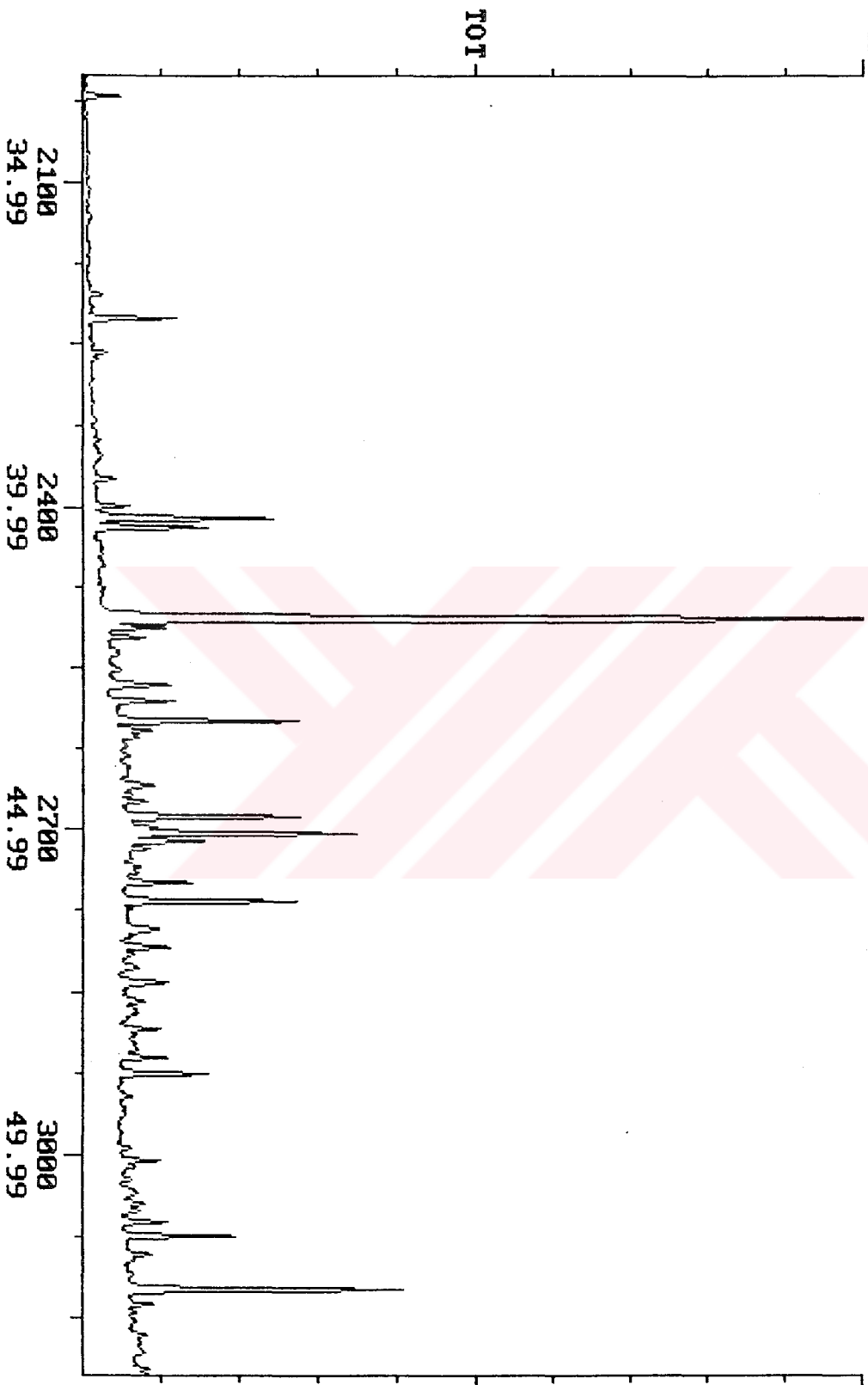
Kalitatif ve kantitatif tayine esas olan kromatografik koşulların orjinalleri ayrıca verilmiştir.

Chromatogram Plot  
Comment: UZUN SAMSUN  
Scan No: 1400 Retention Time: 23.33 RIC: 20999 Mass Range: 36 - 287  
Plotted: 800 to 2000 Range: 1 to 4499 100% = 120917977  
25%



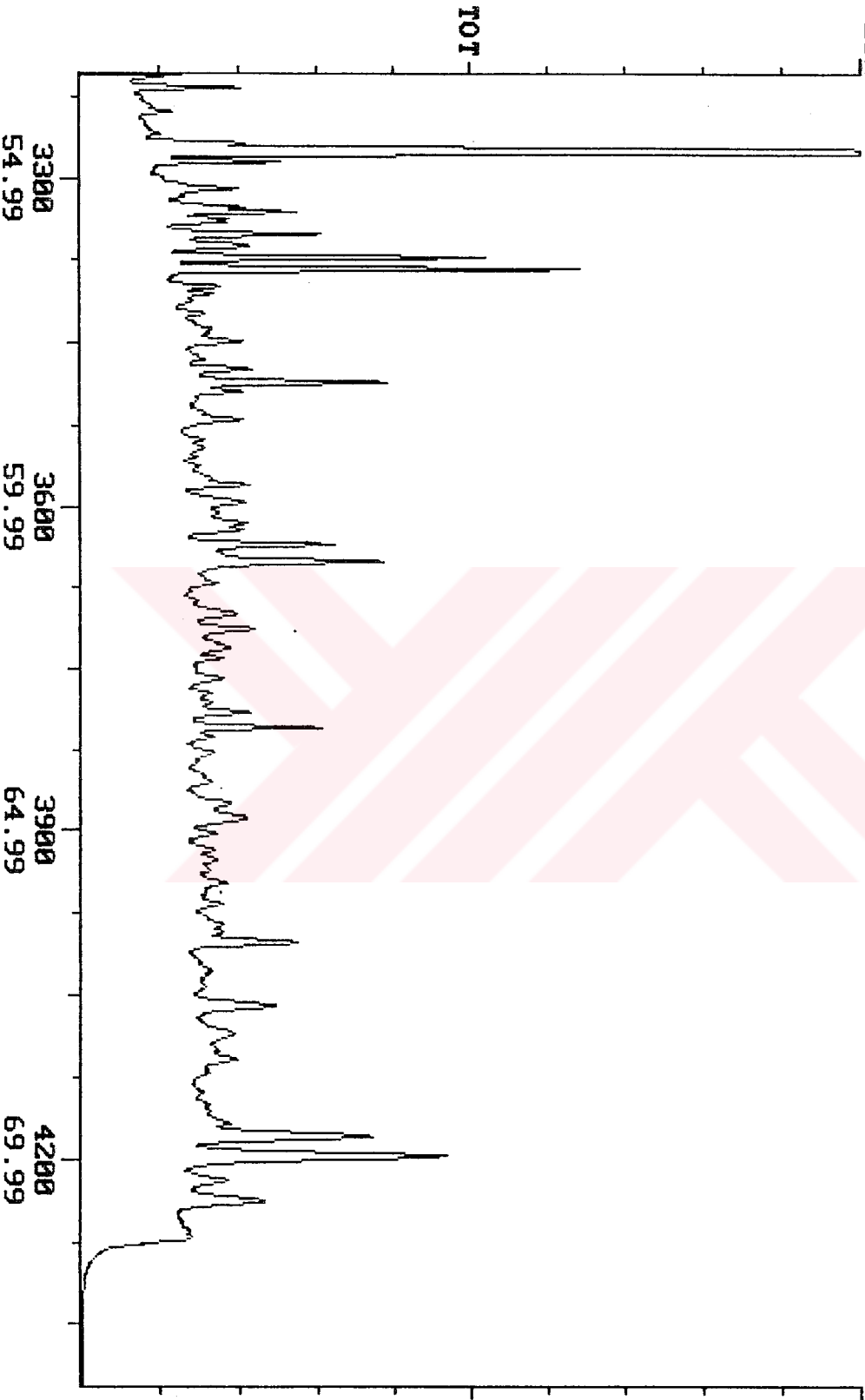
Şekil 6.1a. Uzun Samsun Sigara Ekstrakt Kromatogramı (Kromatografik Koşullar Metinde Verilmiştir)

Chromatogram Plot  
Comment: UZUN SAMSUN  
Scan No: 2602 Retention Time: 23.33  
Plotted: 2002 to 3202 Range: 1 to 4499  
Date: 12/22/94 14:19:45  
RIC: 20999  
Mass Range: 36 - 287  
100% = 120917977  
25%



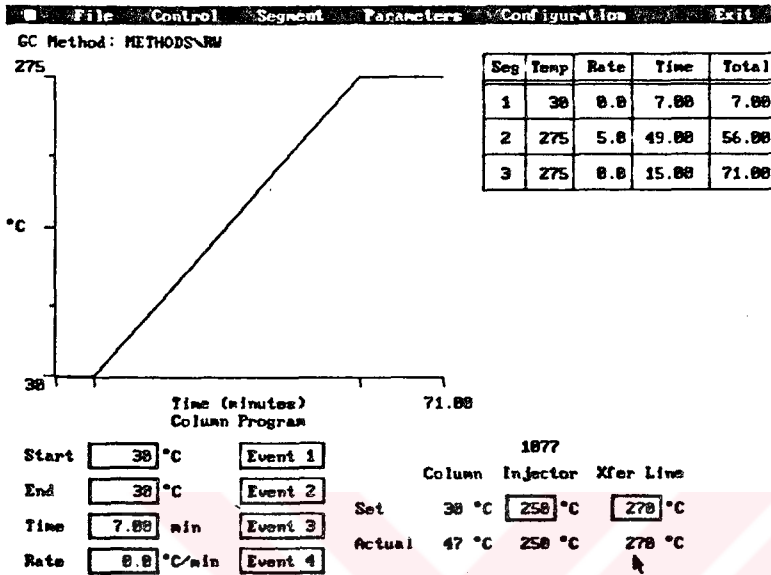
Şekil 6.1b. Uzun Samsun Sigara Ekstrakti Kronatogramı (Kromatografik Koşullar Metinde Verilmiştir)

Chromatogram Plot  
Comment: UZUN SAMSUN  
Scan No: 3804 Retention Time: 23.33 RIC: 20999 Mass Range: 36 - 287  
Plotted: 3204 to 4404 Range: 1 to 4499 100% = 120917977  
C:\DATA\TEST\USAM2212 Date: 12/22/94 14:19:45



Şekil 6.1c. Uzun Samsun Sigara Ekstrakt Kromatogramı (Kromatografik Koşullar Metinde Verilmiştir)

Tablo 6.1. Kromatografik Koşullar



Tablo 6.2. Kütle Spektrometresi Koşulları

File Segment Exit

Acquisition Method: METHODS\NRW Method End Time: 71.00  
Current Segment: 1 of 1 Segment Time: 0.00 to 71.00

Mass Range  to  m/z Ion Mode

Scan Time  seconds Ion Preparation

( 4 uScans)

Segment Length  minutes Ion Control

Fil/Pul Delay  minutes Cal Gas

Peak Threshold  counts

Mass Defect  amu/100u

Background Mass  m/z

Tune File

Description

PREVIOUS SEGMENT NEXT SEGMENT

**Tablo 6.3. GC/MS İle Uzun Samsun Sigarasında Tayin Edilen Maddeler**

No	Saniye	Pik Alanı	Bileşik Adı (m/e)
1	746	1 249 376	83, 53, 82, 39 SON : 83
2	755	16 421 030	ALKOL
3	845	16 778 168	83, 56, 39, 41 SON : 83
4	871	47 306 004	57, 41, 39, 85 SON : 85
5	877	6 313 498	56, 41, 39, 70, SON : 85
6	899	47 834 105	57, 70, 41, 55 SON : 71
7	976	39 332 404	57, 70, 41, 55 SON : 71
8	1182	2 500 748	57, 70, 41, 55 SON : 71
9	1187	1 041 828	70, 43, 41, 71 SON : 71
10	1205	5 933 703	41, 57, 56, 85 SON : 85
11	1281	18 163 823	41, 85, 71, 56 SON : 85
12	1448	460 574	DİMETİLBENZEN
13	1553	316 287	ALKOL
14	1597	473 975	?
15	1613	1 193 303	?
16	1682	394 059	FENOL
17	1710	634 316	43, 41, 57, 70 SON : 108
18	1716	403 755	ALKOL
19	1732	834 699	ALKOL
20	1798	14 335 752	ALKOL
21	1980	641 284	?
22	2021	4 308 199	ALKOL
23	2106	437 568	ETİLFENOL
24	2131	1 518 912	1-METİL - 1H - İNDEN
25	2205	2 223 802	ALKOL
26	2227	11 115 847	ALKOL
27	2259	1 800 003	57, 41, 43, 71 SON : 146
28	2374	2 702 686	ALKOL
29	2399	4 444 303	ALKOL
30	2411	27 415 242	159, 43
31	2419	14 746 157	ALKOL
32	2504	197 412 755	NİKOTİN
33	2512	6 131 207	43, 121, 93, 136 SON : 194

No	Saniye	Pik Alanı	Bileşik Adı (m/e)
34	2521	4 581 402	ALKOL
35	2551	1 967 576	?
36	2565	11 492 649	ALKOL + 177, 143, 158, 192 SON : 92
37	2580	8 251 964	ALKOL
38	2598	23 939 526	ALKOL
39	2608	3 324 513	41, 81, 69, 67 SON : 175
40	2958	5 823 095	43, 156, 141 SON : 156
41	2673	3 300 757	?
42	2687	25 766 635	?
43	2703	28 779 241	?
44	2710	10 121 060	179, 43, 57, 71 SON: 180
45	2750	8 135 111	ALK.
46	2766	23 521 782	ALK.
47	2791	6 499 845	?
48	2809	6 703 585	?
49	2840	8 954 786	170, 155, 119, 189 SON: 208
50	2883	4 521 533	ALK.
51	2910	5 621 409	ALK.
52	2925	11 635 858	ALK.
53	3005	4 215 177	ALK.
54	3044	2 423 352	KOTİNİN ( C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>20</sub> )
55	3061	6 255 967	ALK.
56	3075	14 901 847	ALK.
57	3091	2, 925, 162	ALK.
58	3123	41 004 265	111, 69, 57, 70 SON: 125
59	3138	3 076 539	ALK.
60	3205	8 315 818	ALK.
61	3217	14 644 688	ALK.
62	3239	3 524 872	ALK.
63	3277	330 237 153	?
64	3285	13 914 073	ALK.
65	3330	25 958 508	ALKAN
66	3352	22 349 903	ALK.
67	3363	14 646 687	C <sub>16</sub> mm METİL ESTERİ

No	Saniye	Pik Alanı	Bileşik Adı (m/e)
68	3374	45 979 559	?
69	3384	61 967 467	?
70	3400	6 657 306	FTALAT
71	3449	8 276 842	69, 82, 41, 80 SON: 121
72	3475	9 846 399	ALK.
73	3487	30 424 306	ALK.
74	3635	22 435 656	ALK.
75	3651	31 104 321	123, 81, 43, 95 SON: 215
76	3699	11 346 13	ALK.
77	3713	11 018 559	ALK.
78	3729	8 621 129	191, 43, 217, 192 SON:217
79	3740	4 093 299	ALK.
80	3758	6 450 725	ALK.
81	3789	9 719 719	83, 55, 41, 97 SON: 125
82	3803	23 306 639	ALK.
83	4000	21 835 561	ALK.
84	4058	22 918 199	81, 41, 280, 310 SON: 310
85	4179	48 389 364	81, 95, 41, 69 SON: 203
86	4196	79 260 177	81, 95, 41, 69 SON: 203
87	4237	25 253 974	ALK.





**EK**

**Kütle Spektrumları**

Background Subtract

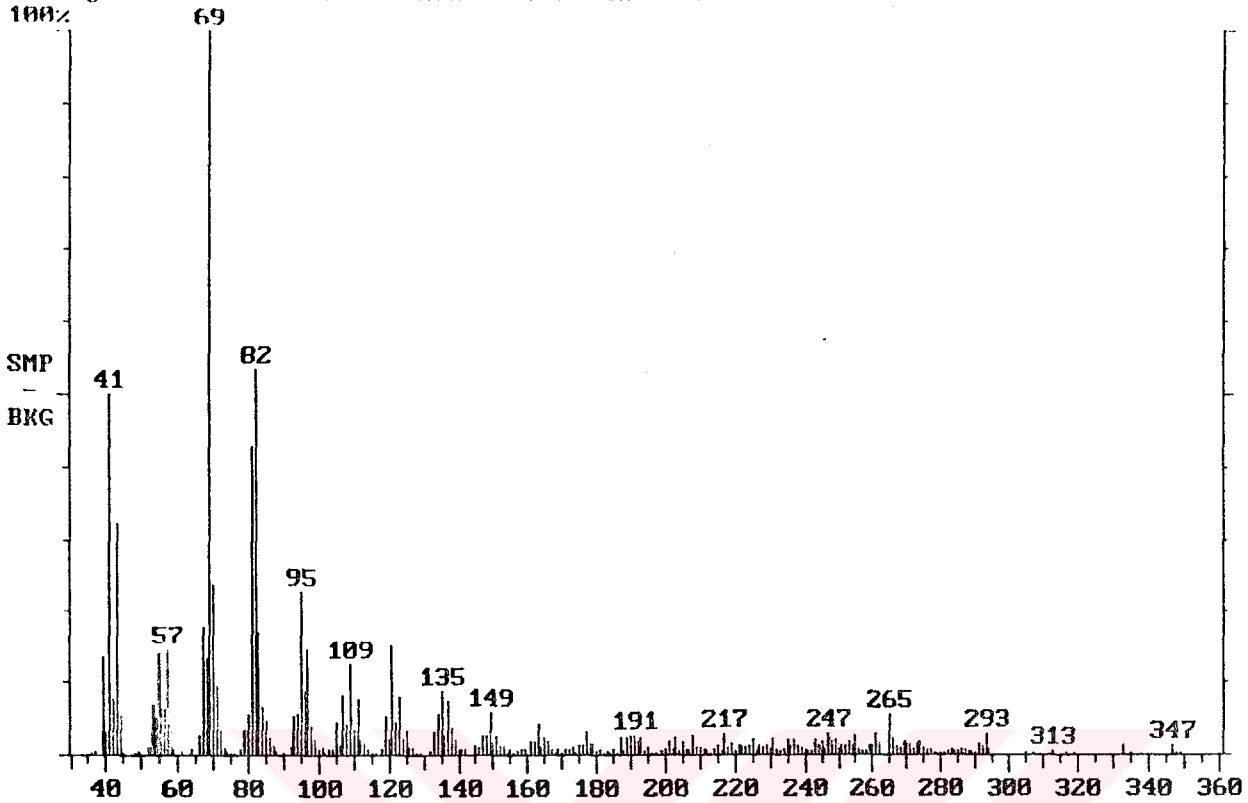
C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Comment: UZUN SAMSUN

Average of: 3447 to 3451 Minus: 3419 to 3423

100% = 218374



Background Subtract

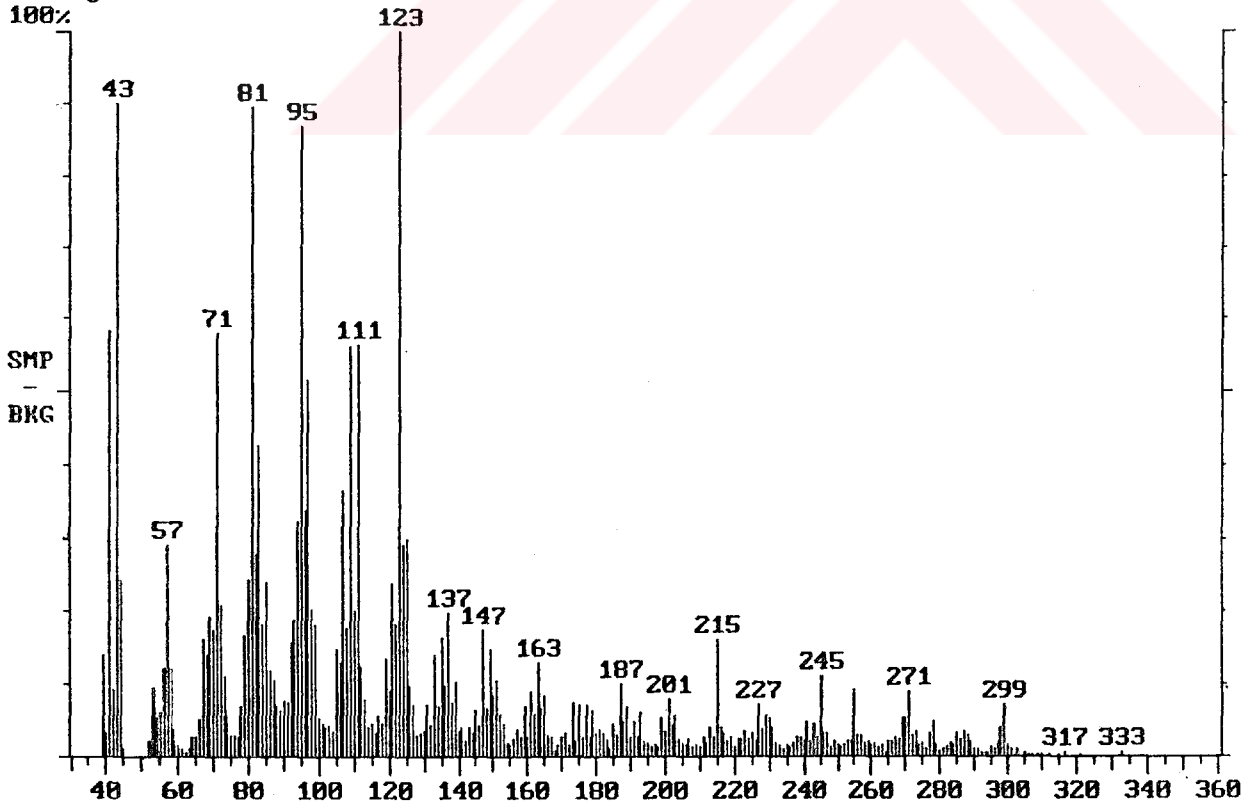
C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Comment: UZUN SAMSUN

Average of: 3648 to 3652 Minus: 3674 to 3678

100% = 269871



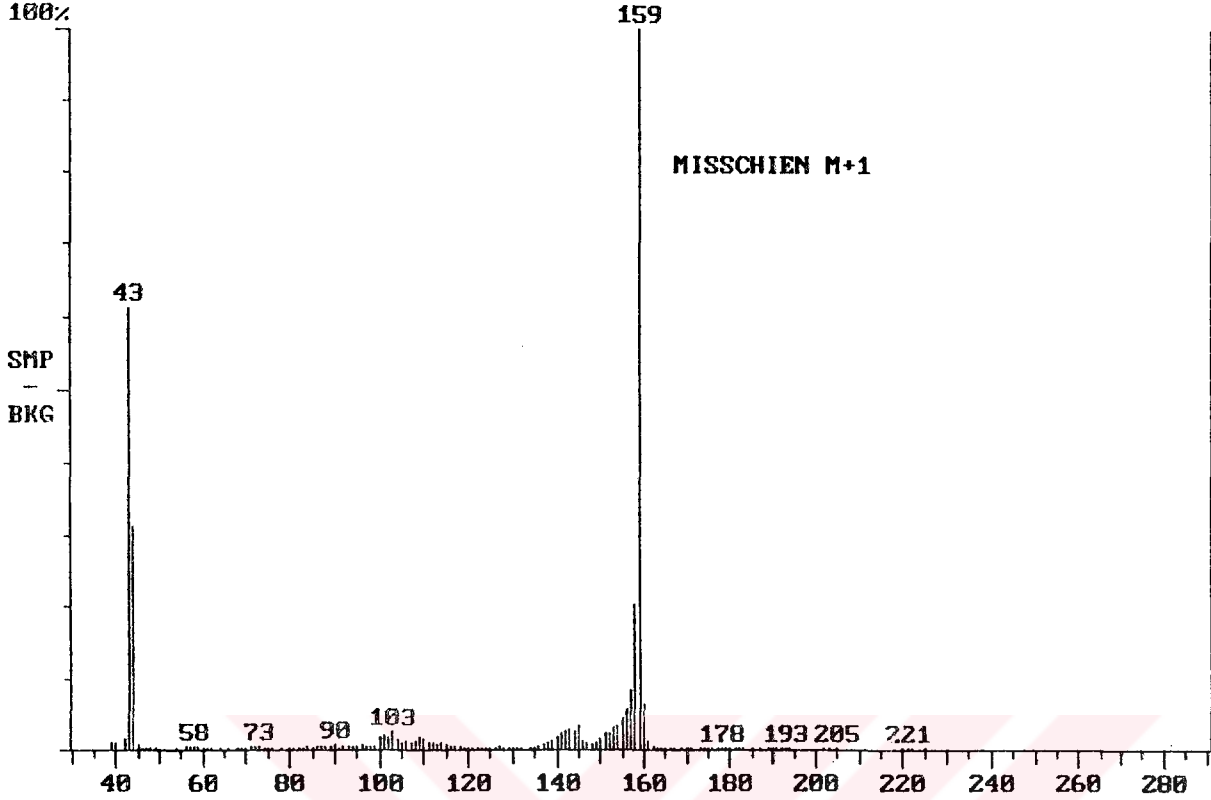
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

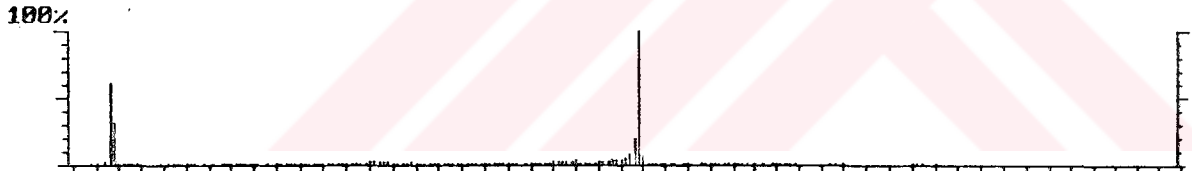
Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 2410 to 2412 Minus: 2426 to 2428

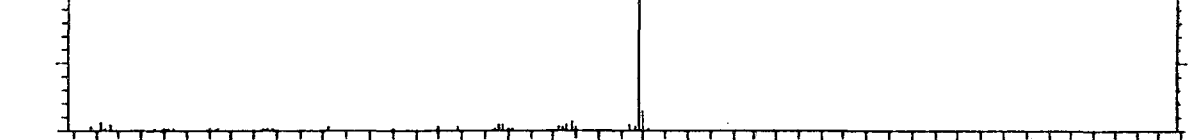
100% = 1990257



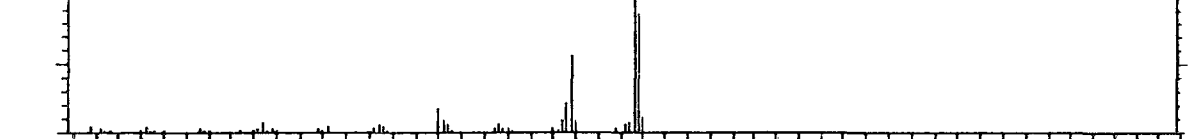
Library Search C:\DATA\TEST\USAM2212 Acquired: 22 Dec 1994 Scan number 2411  
Comment: UZUN SAMSUN



100% Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methyl) CAS 483-77-2 \*



100% 1H-Indole, 1,2,3-trimethyl- CAS 1971-46-6



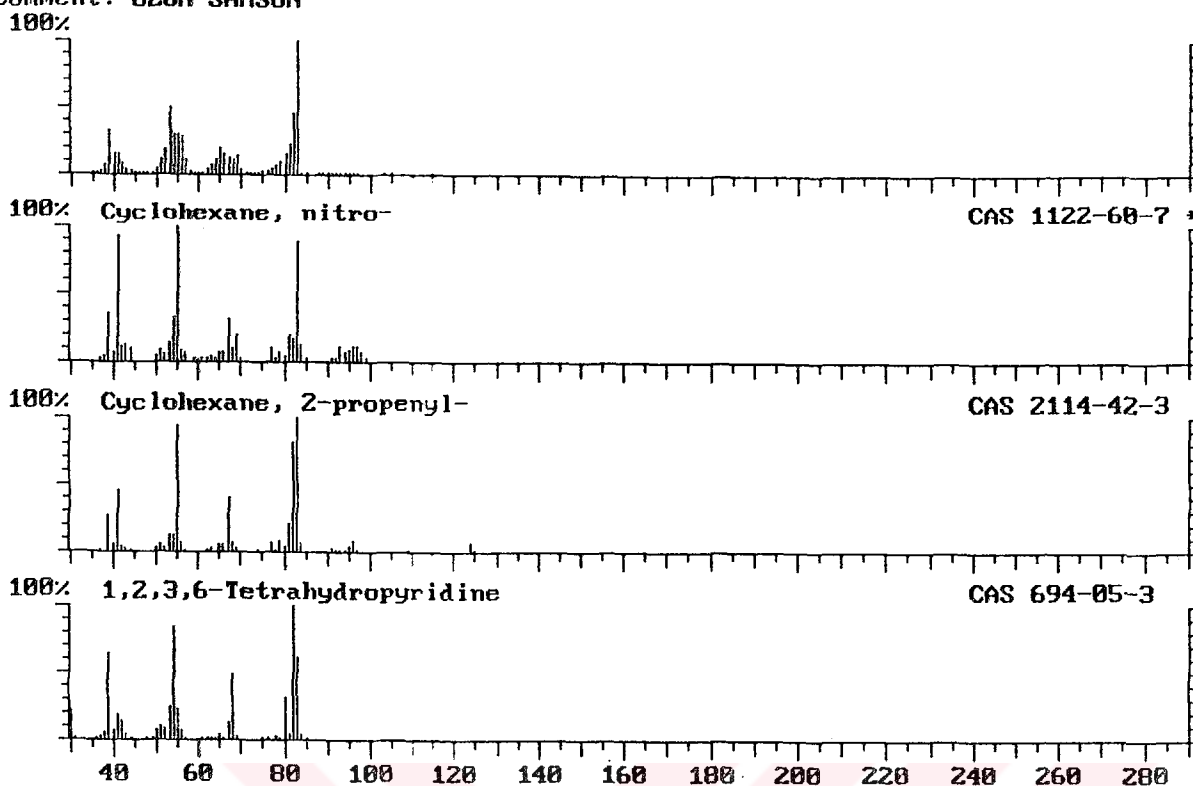
100% 1H-Indole, 2,3,5-trimethyl- CAS 21296-92-4

Formula C15.H22

Rank 1 Index 69808

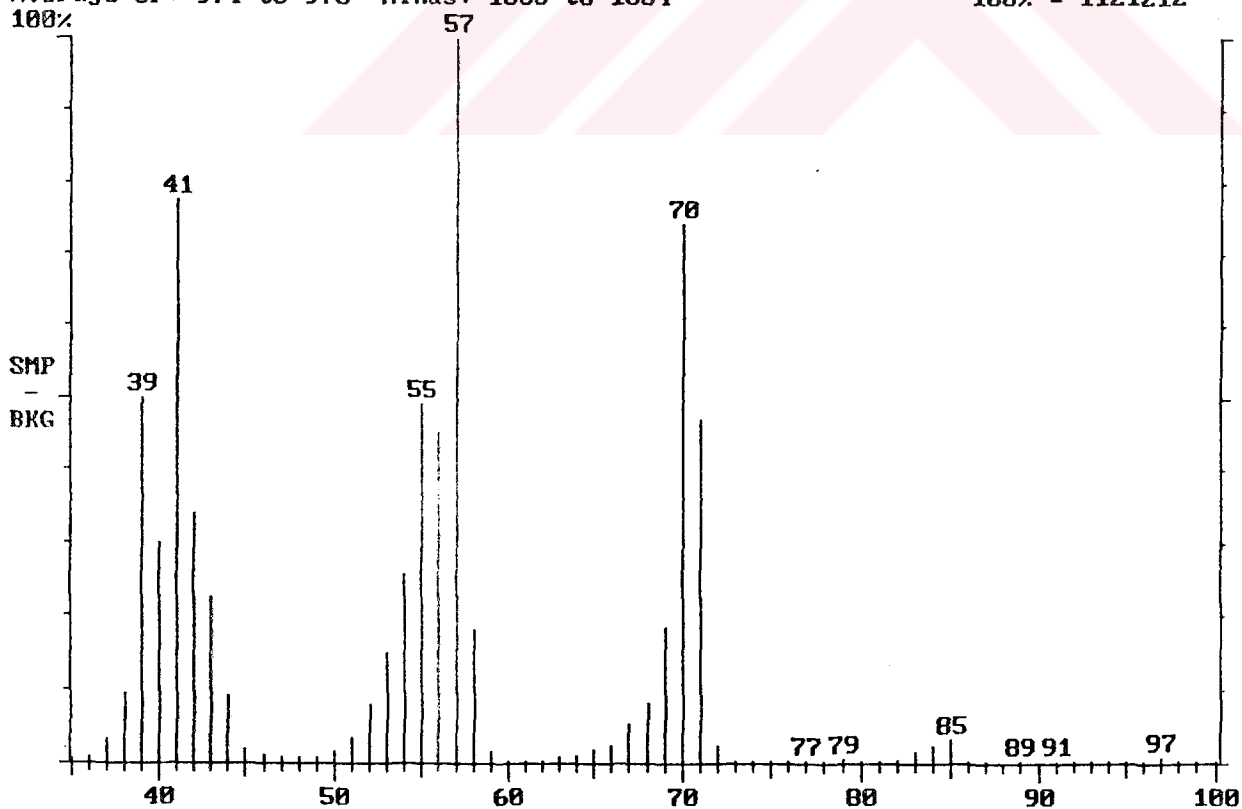
MolWeight:202 Search:All LocalNorm:On P:617 F:774 R:598 CAS# 483-77-2

Library Search C:\DATATEST\USAM2212 Acquired: 22 Dec 1994 Scan number 746  
 Comment: UZUN SAMSUN



Formula C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>N.O<sub>2</sub> Rank 1 Index 42889  
 MolWeight:129 Search:All LocalNorm:0n P:653 F:653 R:334 CAS# 1122-60-7

Background Subtract C:\DATATEST\USAM2212 Date: 12/22/94 14:19:45  
 Comment: UZUN SAMSUN  
 Average of: 974 to 978 Minus: 1000 to 1004 100% = 1121212



Background Subtract

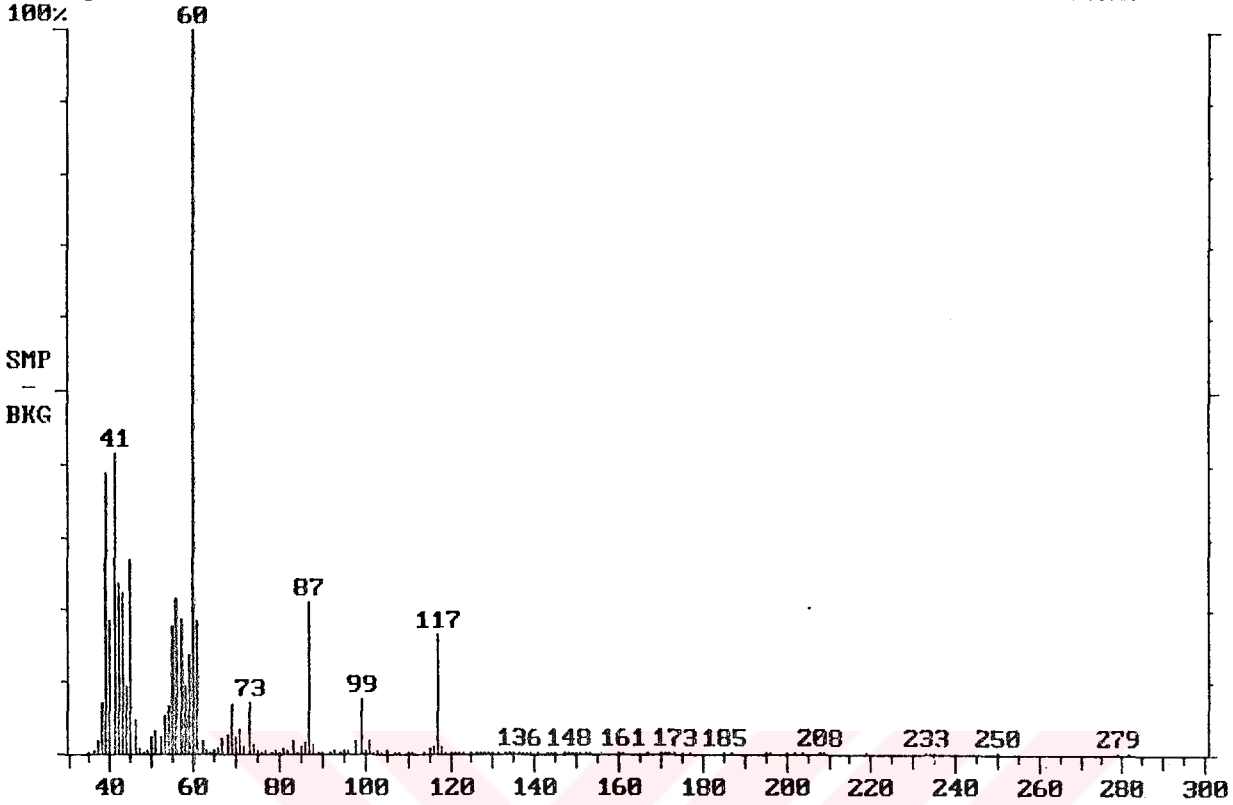
C:\DATA\TEST\NUSAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Comment: UZUN SAMSUN

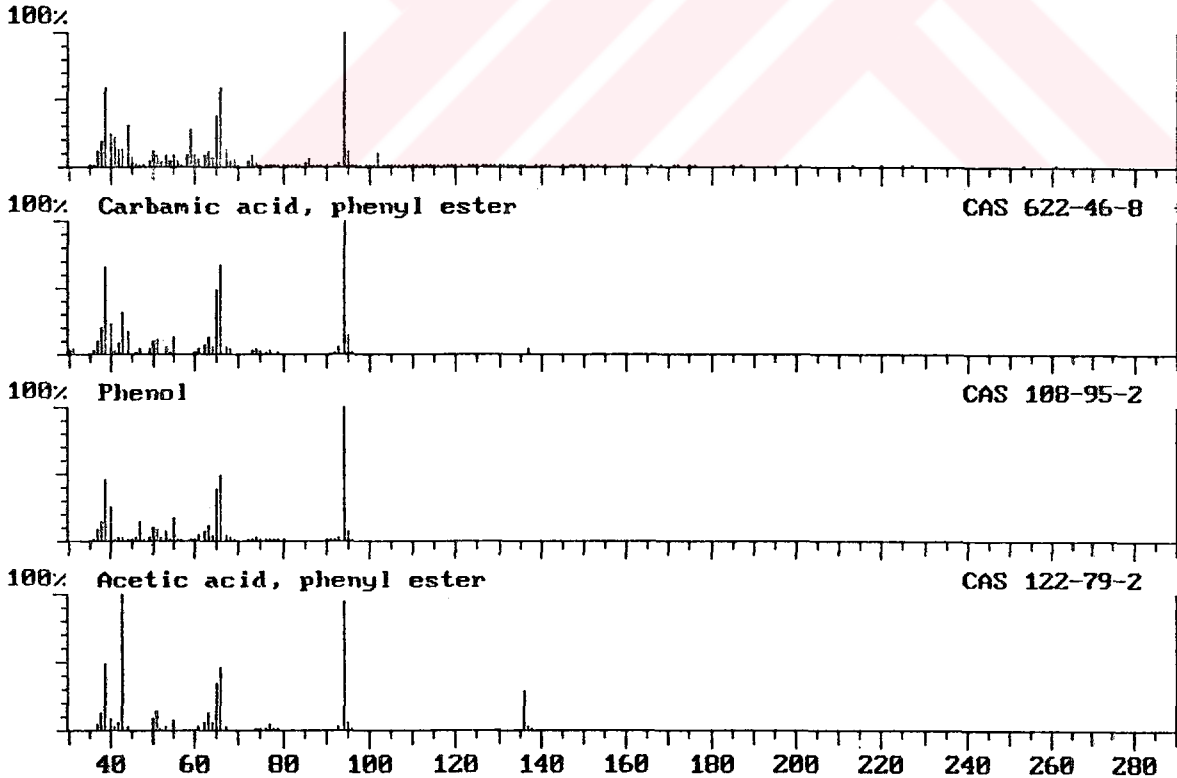
Average of: 1595 to 1599 Minus: 1583 to 1587

100% = 17269



Library Search C:\DATA\TEST\NUSAM2212 Acquired: 22 Dec 1994 Scan number 1682

Comment: UZUN SAMSUN



Formula C7.H7.N.O2

Rank 1 Index 6729

MolWeight:137 Search:All LocalNorm:On P:710 F:825 R:330 CAS# 622-46-8

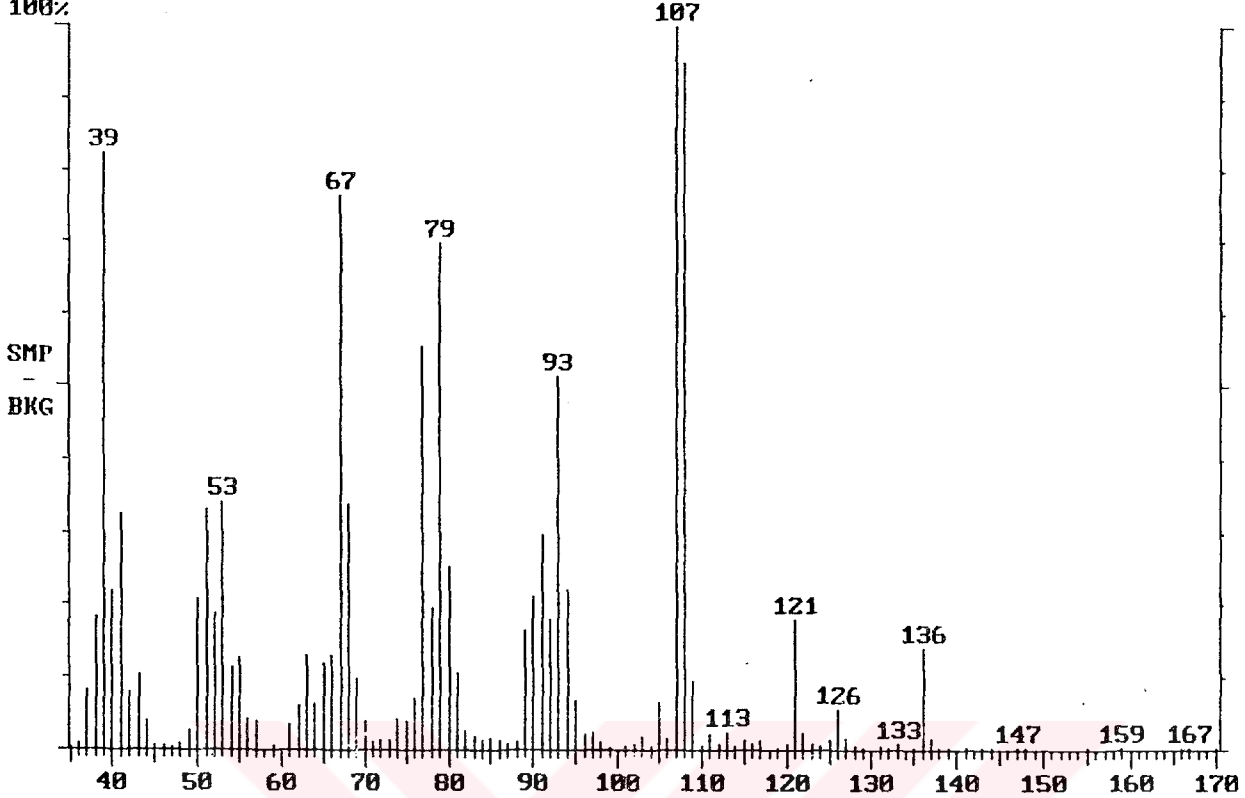
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATATEST\USAM2212

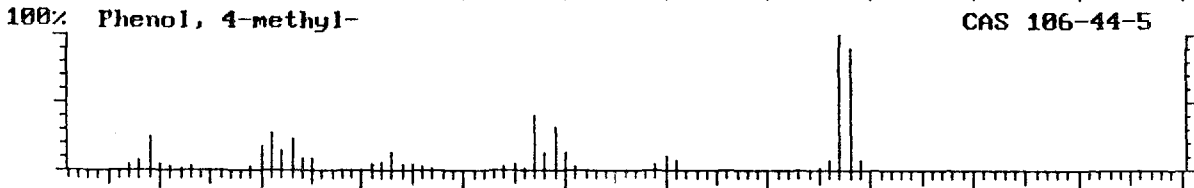
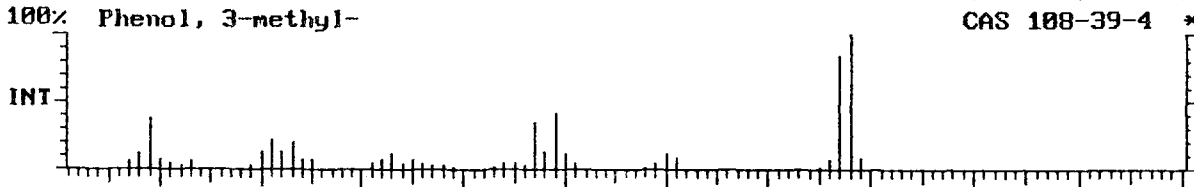
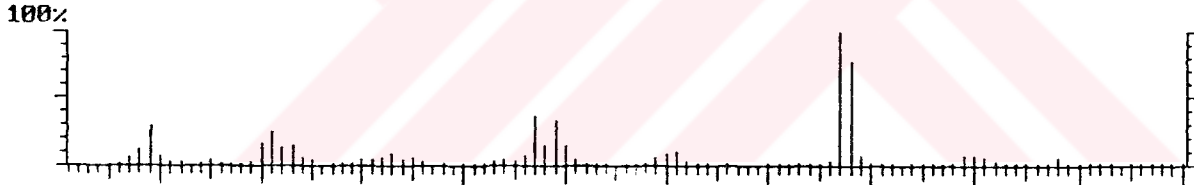
Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 1865 to 1867 Minus: 1873 to 1875  
100%

100% = 12355



Library Search C:\DATATEST\USAM2212 Acquired: 22 Dec 1994 Scan number 1907  
Comment: UZUN SAMSUN



Formula C7.H8.O

MolWeight:108

Search:All LocalNorm:On, P:835 F:919 R:394 CAS# 108-39-4

Rank 1 Index 41513

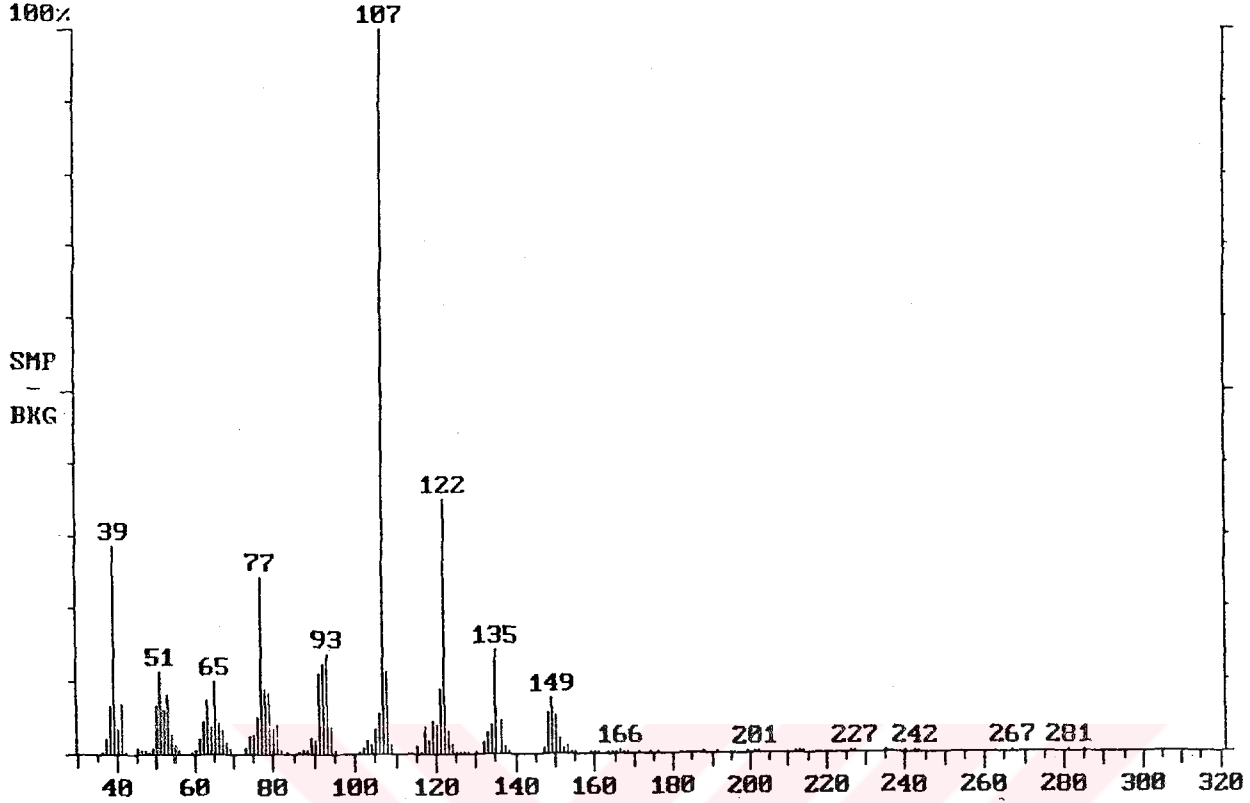
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 2104 to 2108 Minus: 2085 to 2089  
100%

100% = 28969



Library Search

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

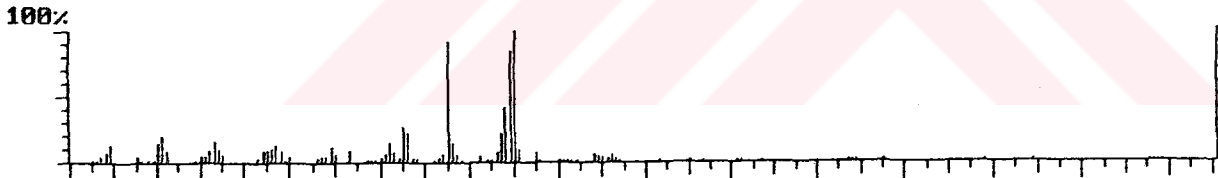
Comment: UZUN SAMSUN

Scan No: 2121

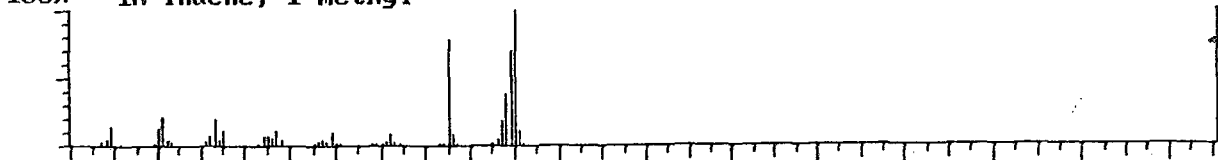
Retention Time: 35.34

RIC: 198934

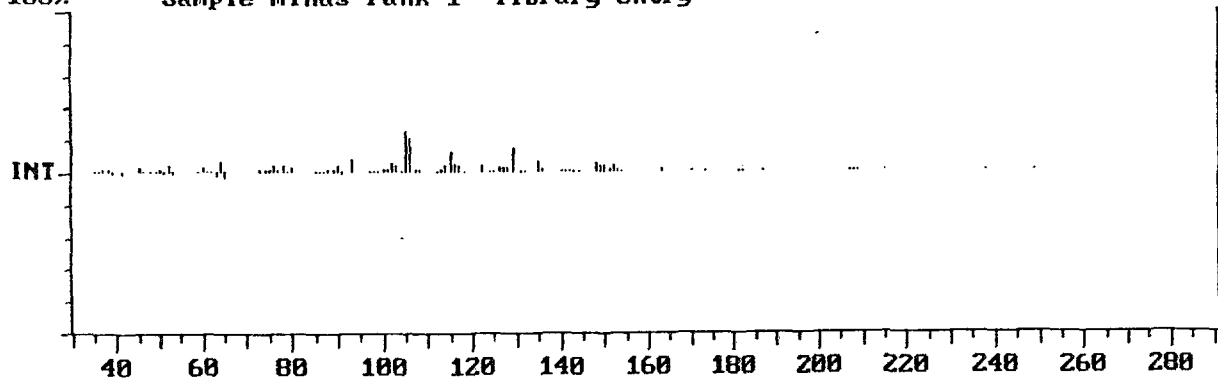
Mass Range: 36 - 278



1H-Indene, 1-methyl-



Sample minus rank 1 library entry



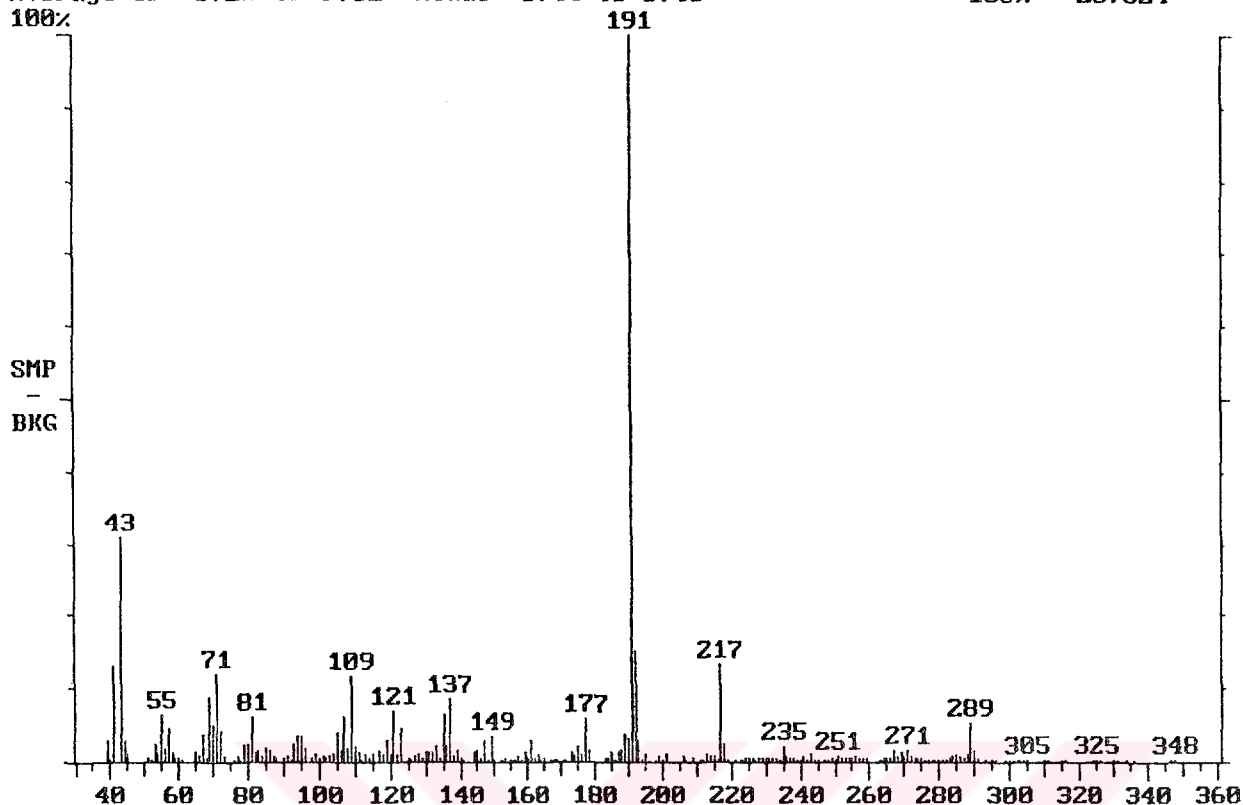
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 3728 to 3732 Minus: 3744 to 3748

100% = 287624



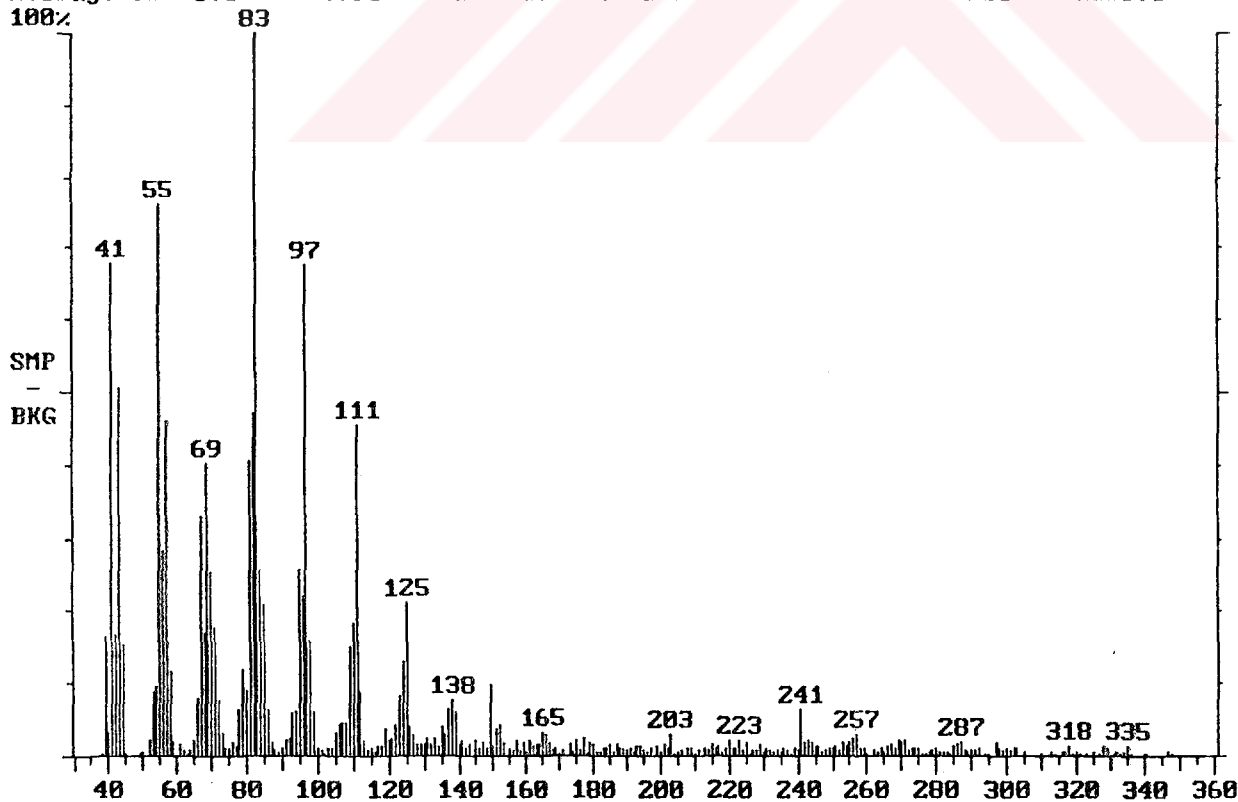
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 3786 to 3790 Minus: 3764 to 3768

100% = 135876





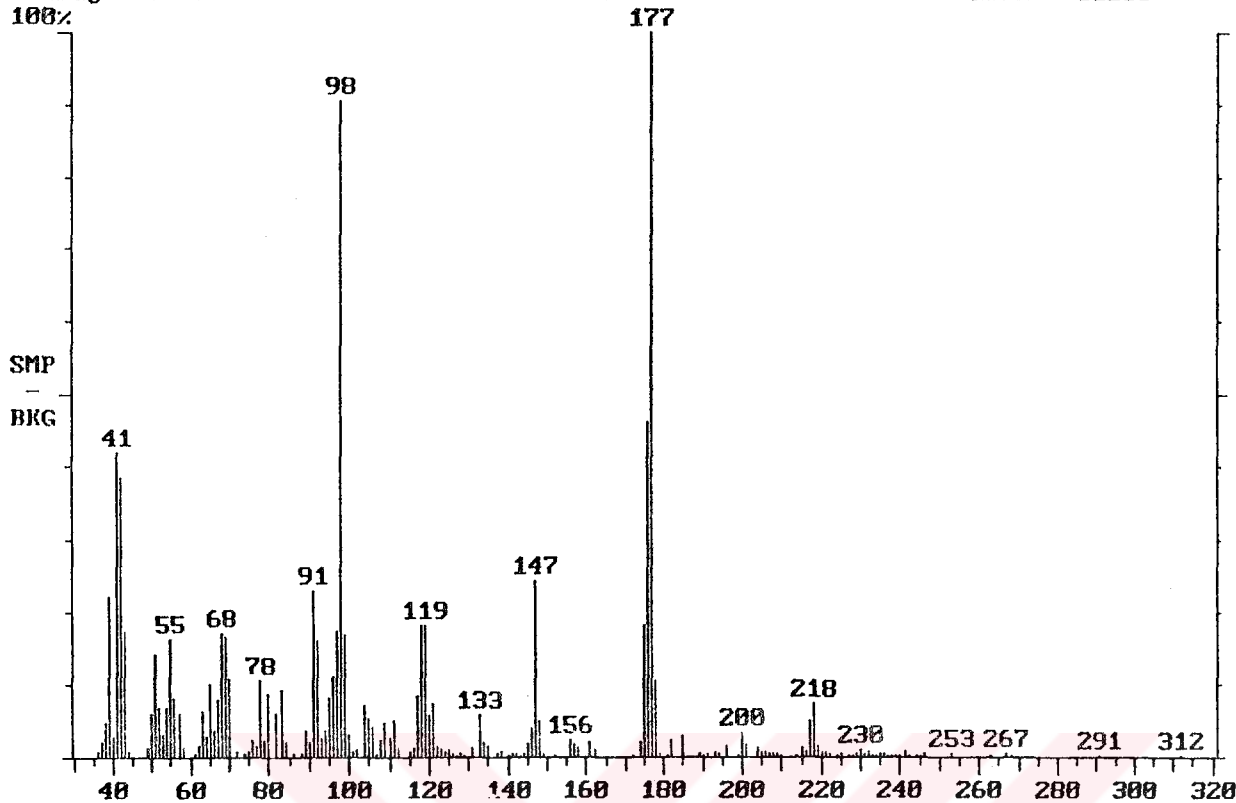
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

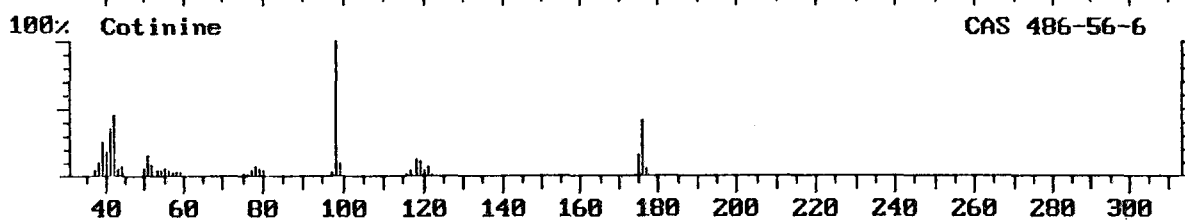
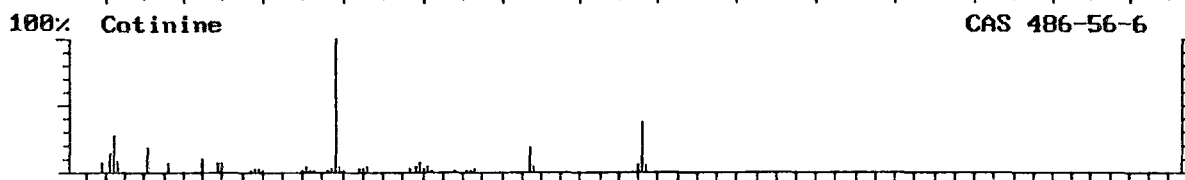
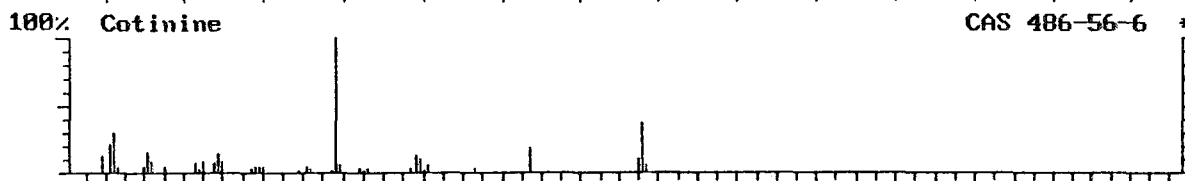
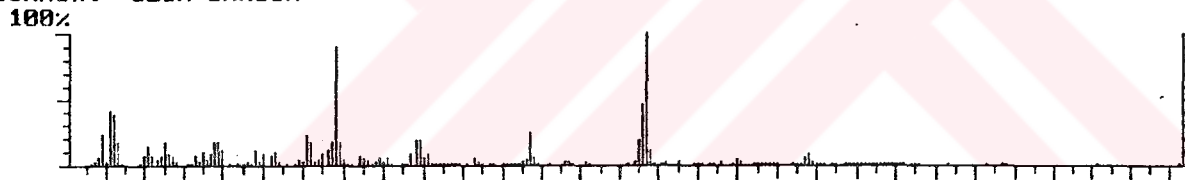
Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 3042 to 3045 Minus: 3055 to 3057

100% = 81218



Library Search C:\DATA\TEST\USAM2212 Acquired: 22 Dec 1994 Scan number 3043  
Comment: UZUN SAMSUN



Formula C10.H12.N2.O

Rank 1 Index 16680

MolWeight:176 Search:All LocalNorm:On P:618 F:790 R:533 CAS# 486-56-6

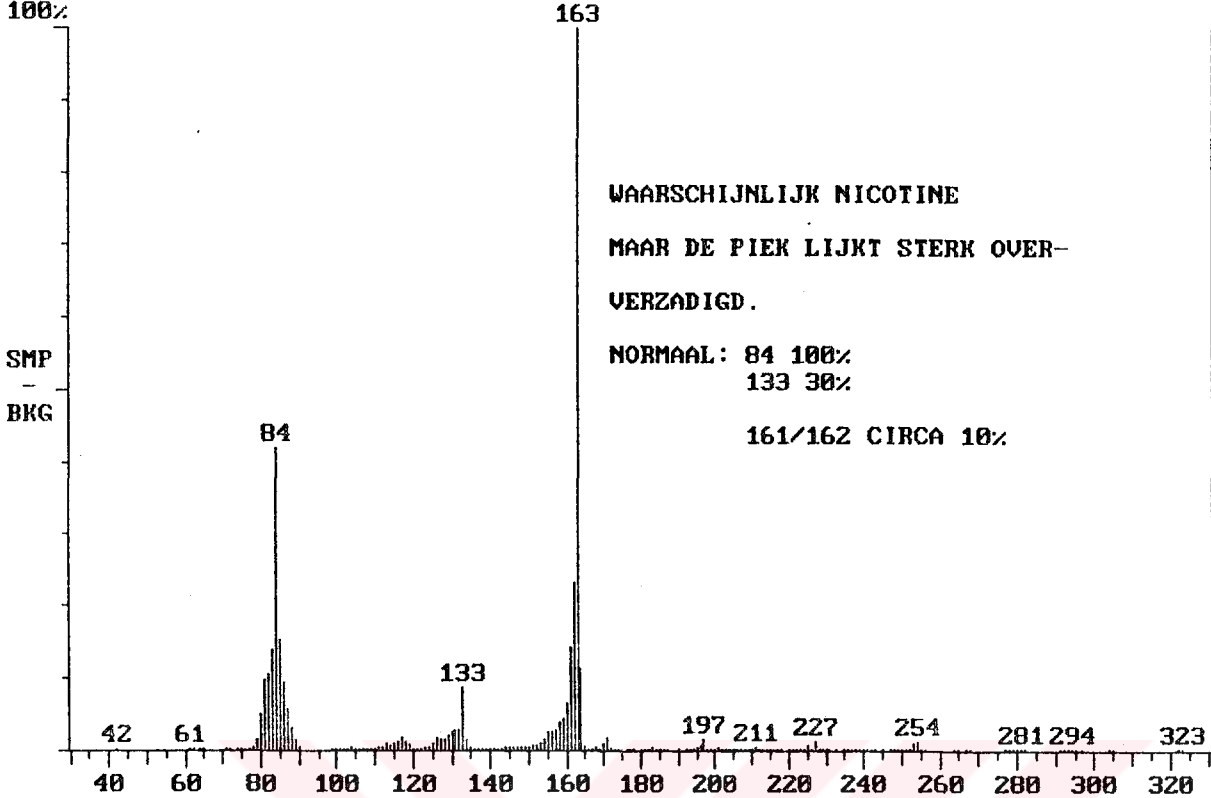
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\NUSAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

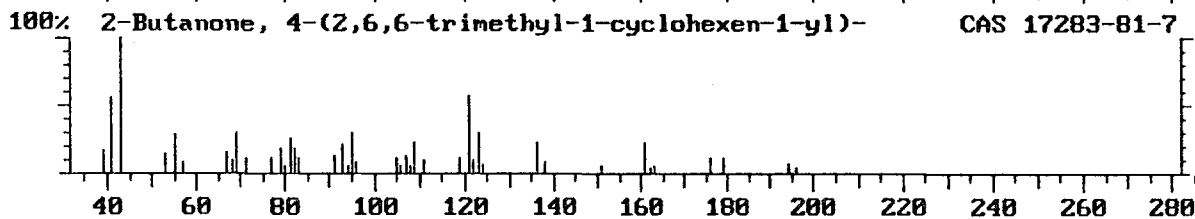
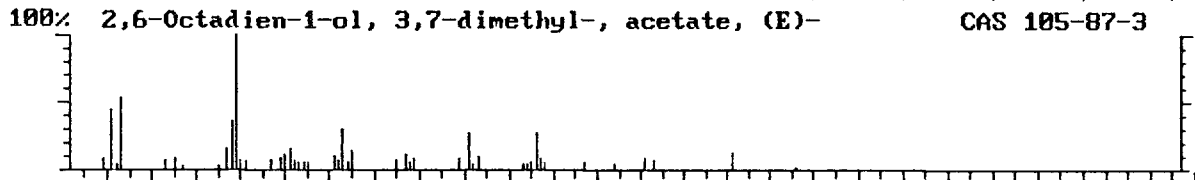
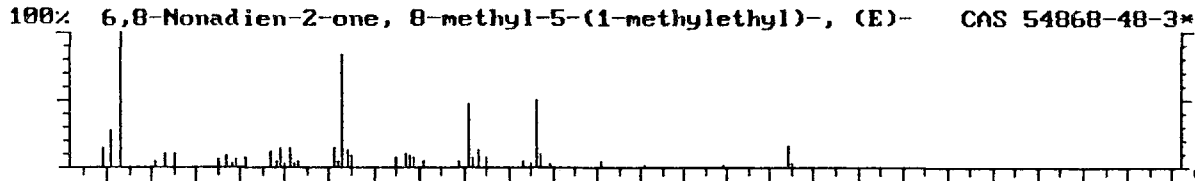
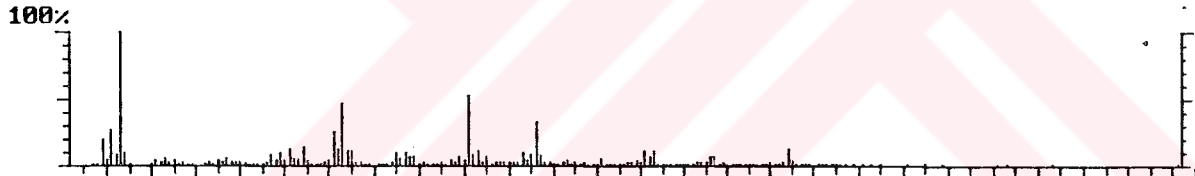
Average of: 2502 to 2506 Minus: 2485 to 2489

100% = 9155702



WAARSCHIJNLIJK NICOTINE  
 MAAR DE PIEK LIJKT STERK OVER-  
 VERZADIGD.  
 NORMAAL: 84 100%  
 133 30%  
 161/162 CIRCA 10%

Library Search C:\DATA\TEST\NUSAM2212 Acquired: 22 Dec 1994 Scan number 2511  
 Comment: UZUN SAMSUN



Formula C13.H22.O Rank 1 Index 21365  
 MolWeight:194 Search:All LocalNorm:On P:701 F:898 R:265 CAS# 54868-48-3

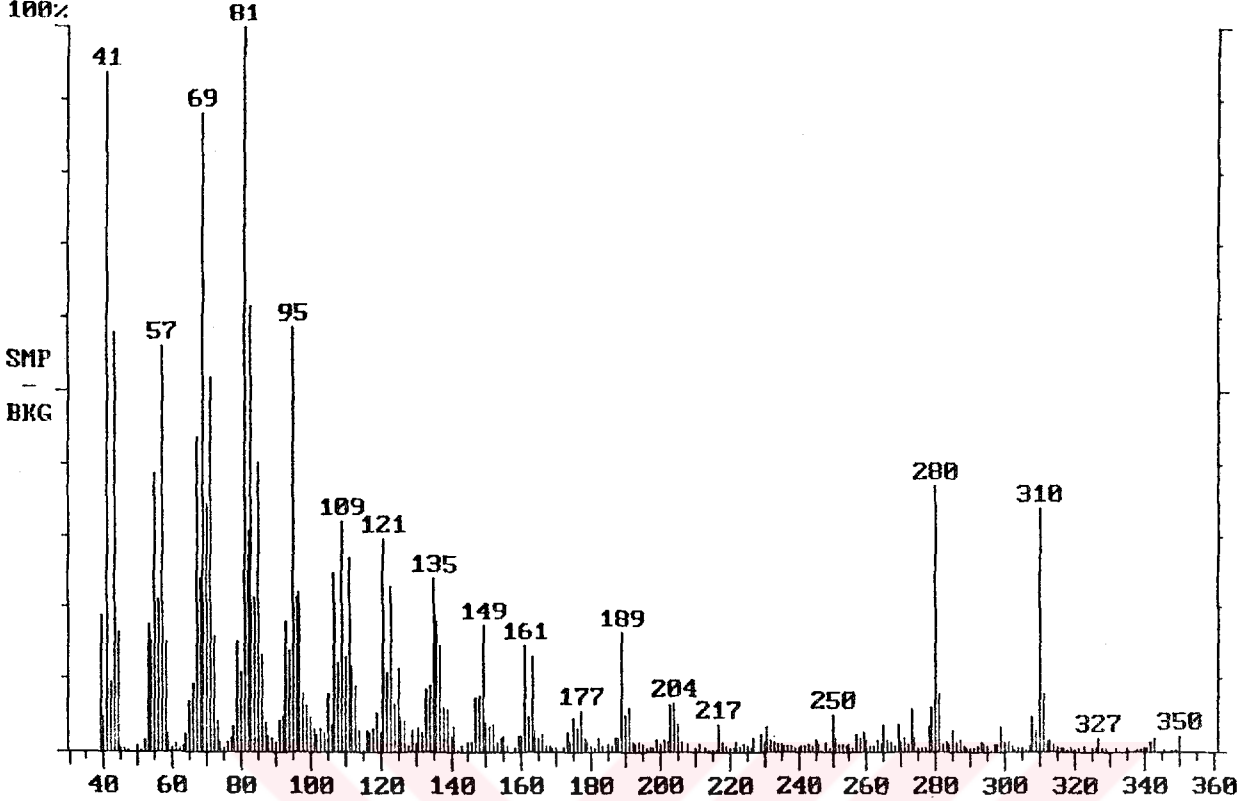
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 4057 to 4061 Minus: 4046 to 4050  
100%

100% = 149812



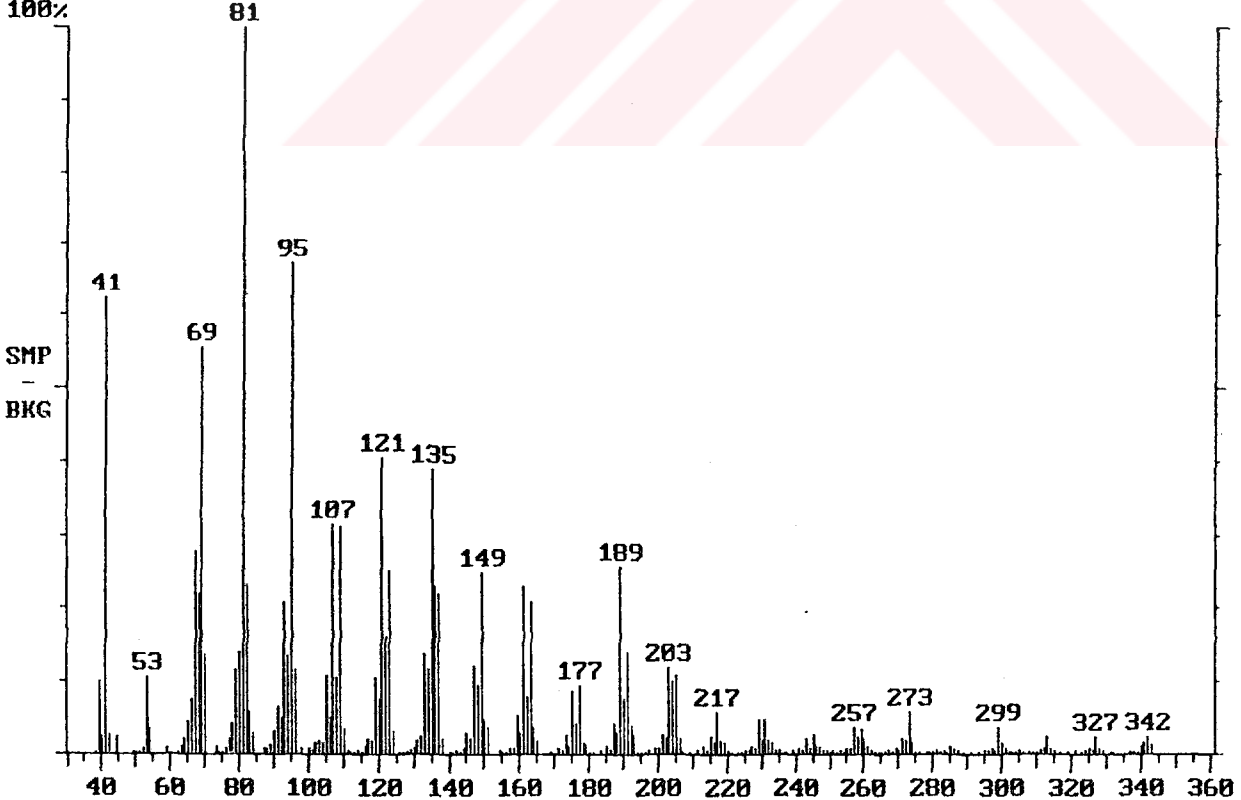
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 4176 to 4180 Minus: 4148 to 4152  
100%

100% = 502696

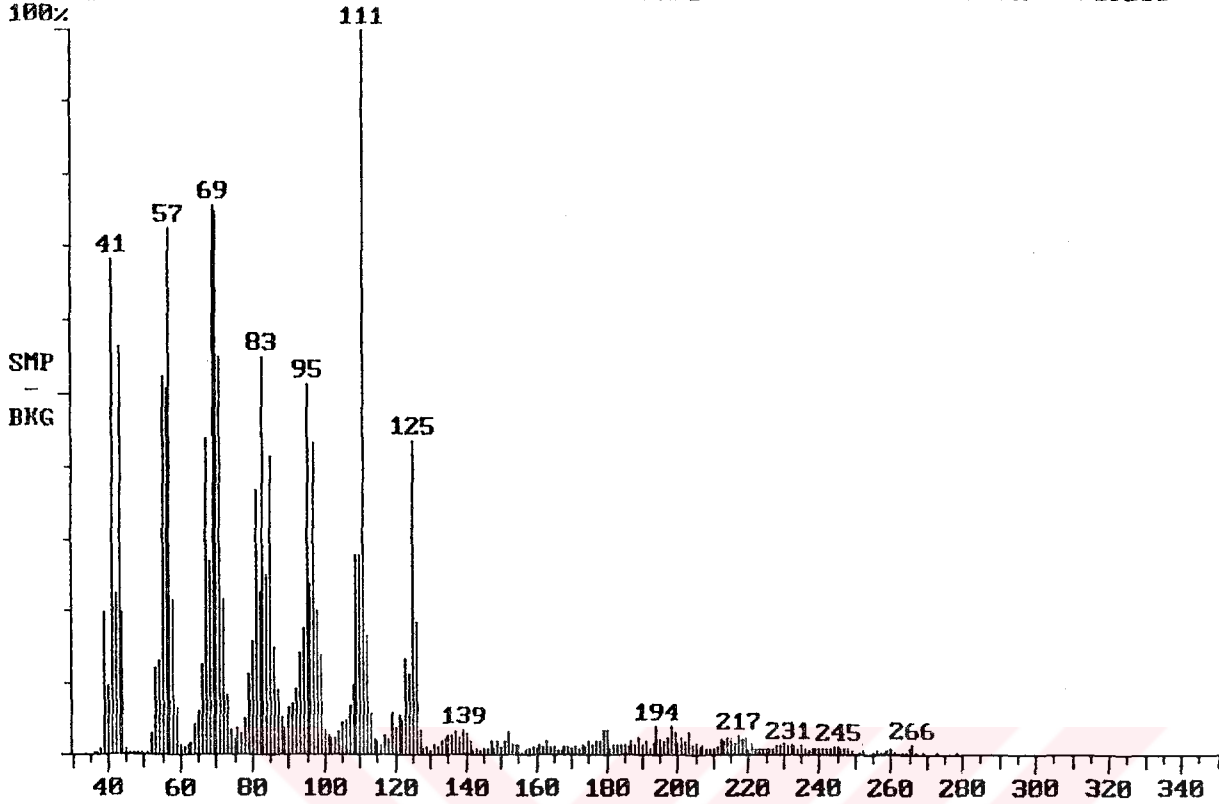


Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 3123 to 3125 Minus: 3131 to 3133  
100% = 519286

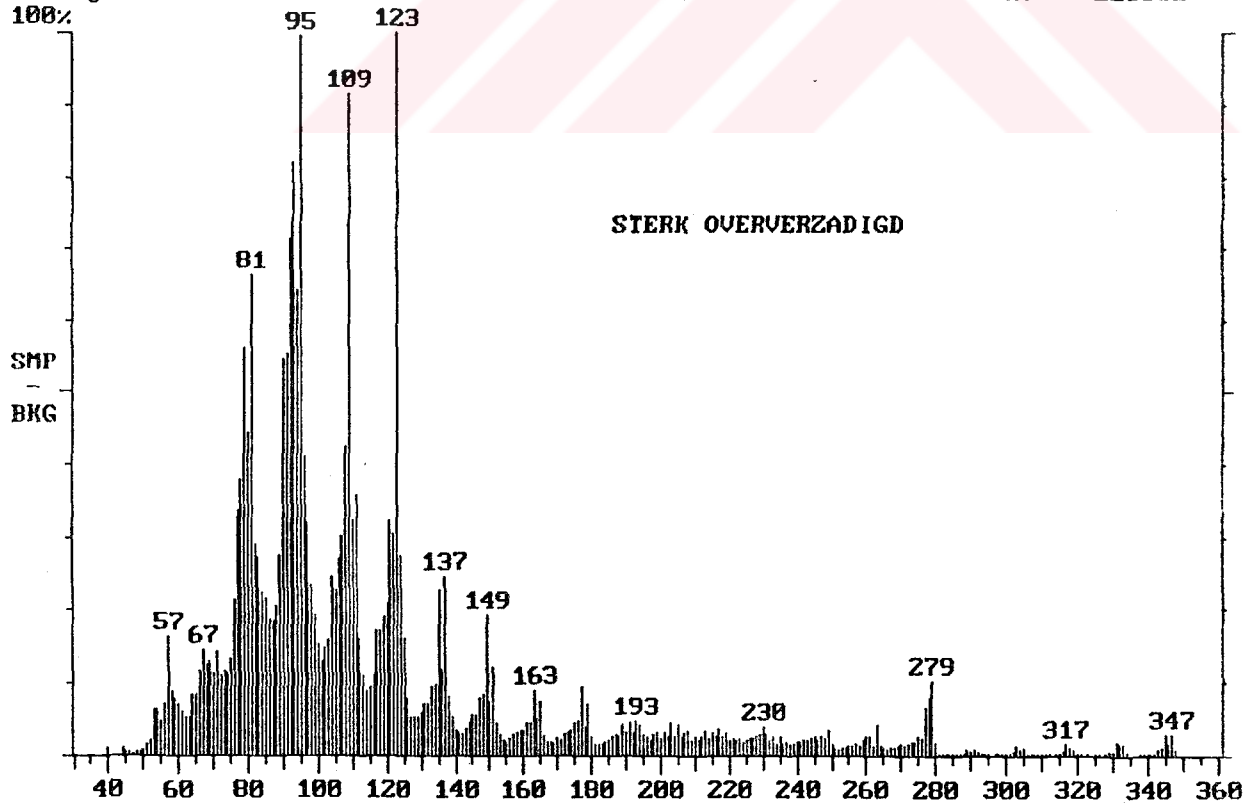


Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

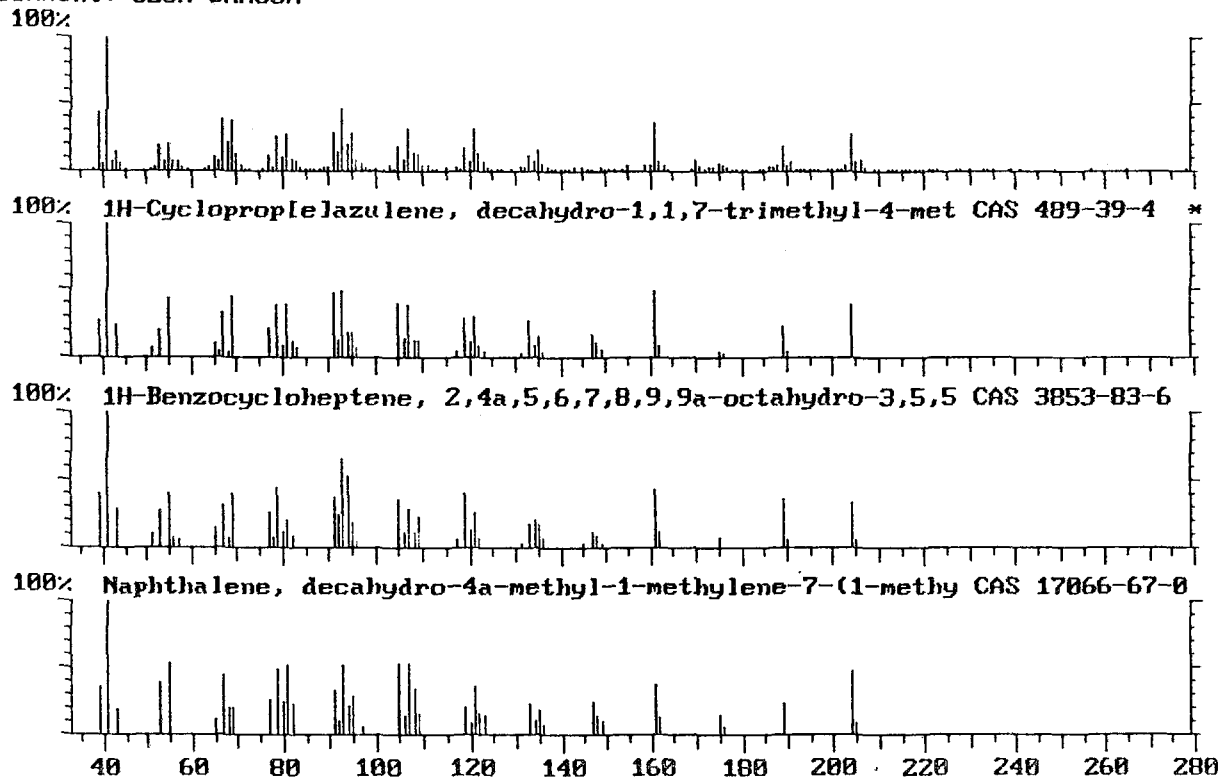
C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 3274 to 3278 Minus: 3246 to 3250  
100% = 2225362



Library Search C:\DATA\TEST\USAM2212 Acquired: 22 Dec 1994 Scan number 2792  
Comment: UZUN SAMSUN



Formula C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>

Rank 1 Index 69946

MolWeight:204 Search:All LocalNorm:On P:764 F:918 R:304 CAS# 489-39-4

Background Subtract

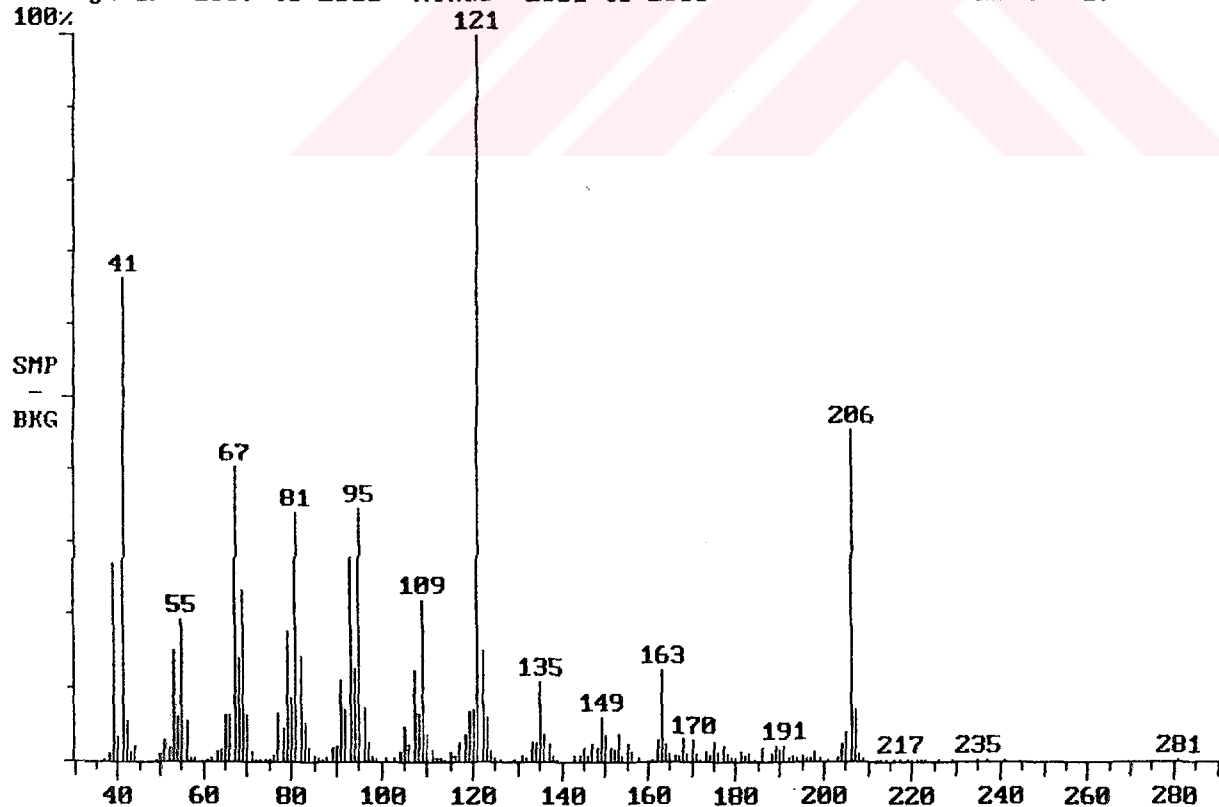
C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Comment: UZUN SAMSUN

Average of: 2807 to 2811 Minus: 2831 to 2835

100% = 171108



Background Subtract

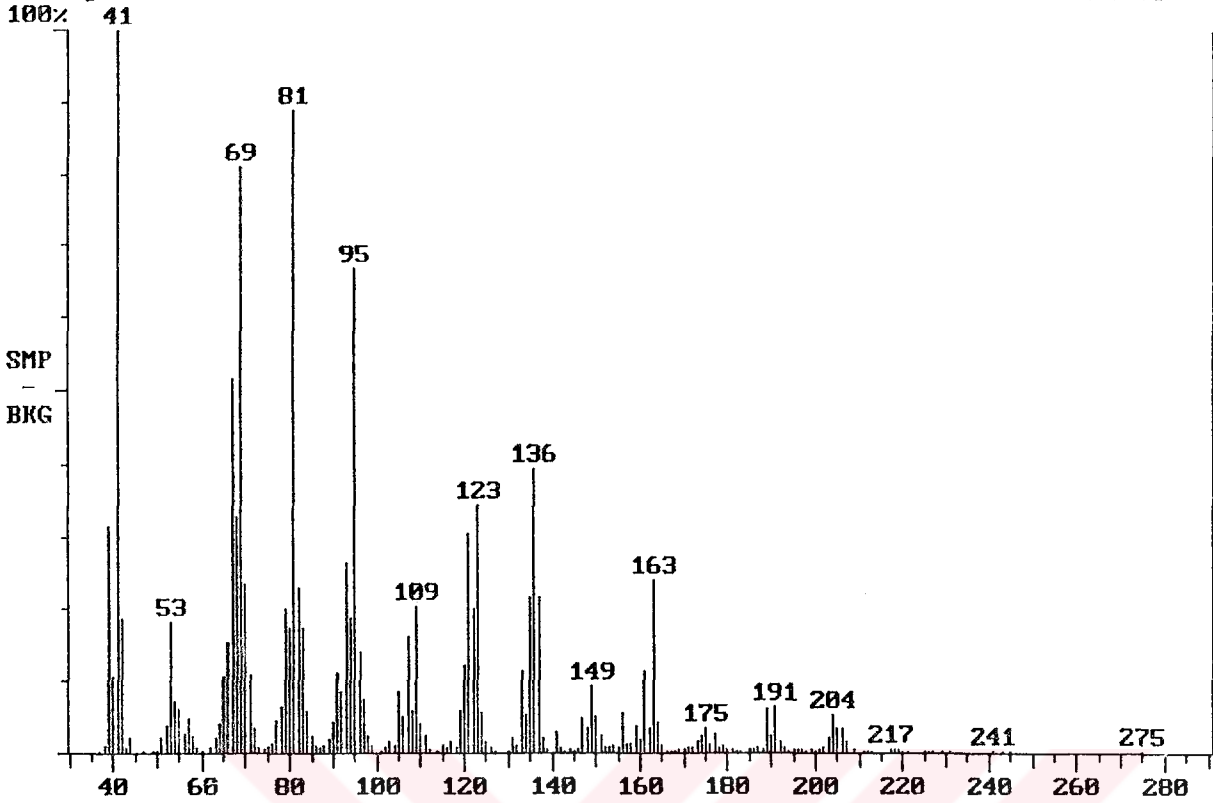
C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Comment: UZUN SAMSUN

Average of: 2685 to 2689 Minus: 2677 to 2681

100% = 392984



Background Subtract

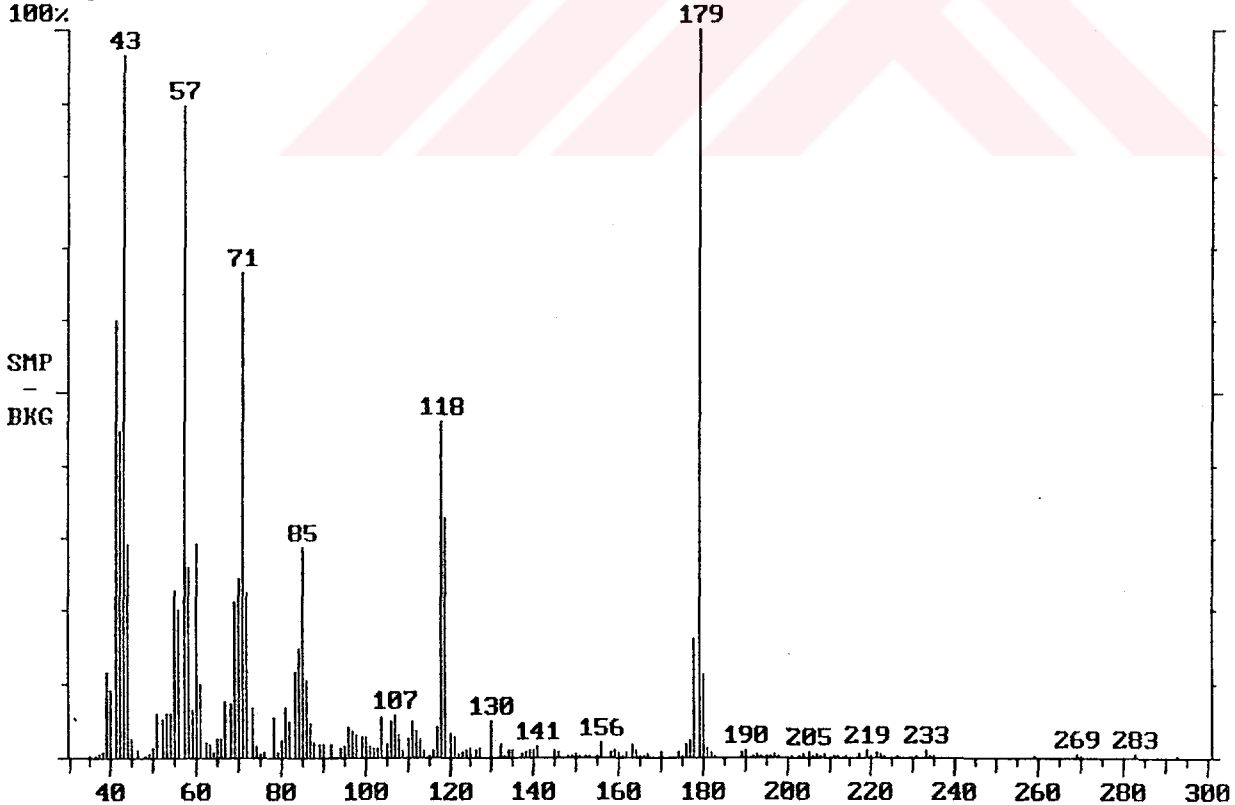
C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Comment: UZUN SAMSUN

Average of: 2708 to 2712 Minus: 2727 to 2731

100% = 204786



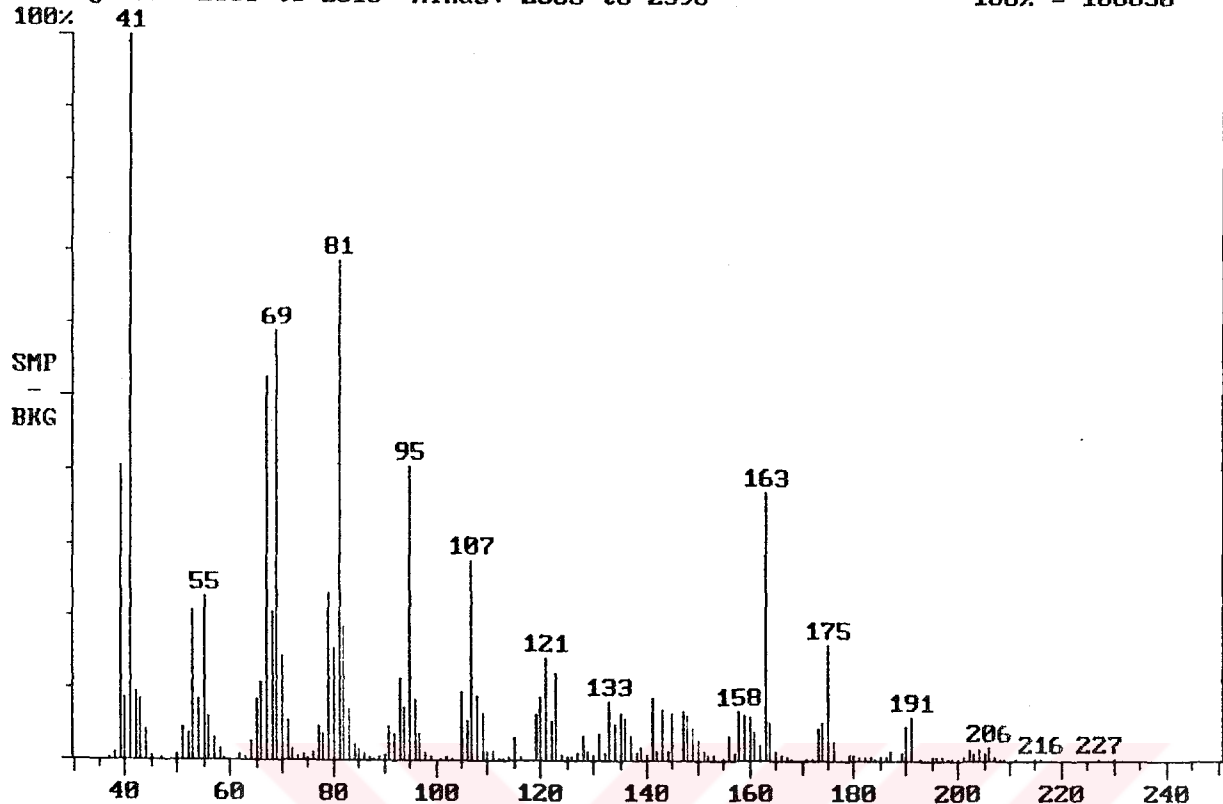
Background Subtract  
 Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

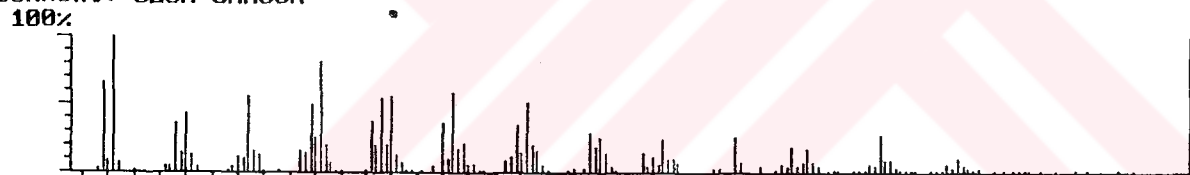
Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 2606 to 2610 Minus: 2586 to 2590

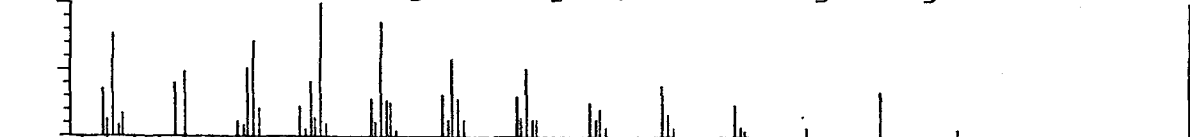
100% = 108630



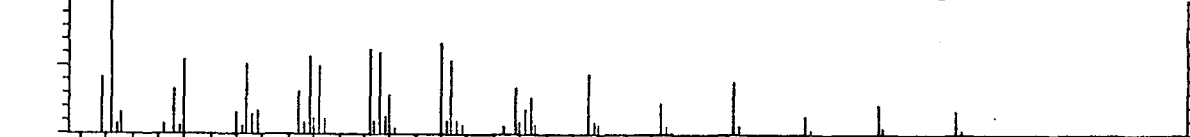
Library Search C:\DATA\TEST\USAM2212 Acquired: 22 Dec 1994 Scan number 2673  
 Comment: UZUN SAMSUN



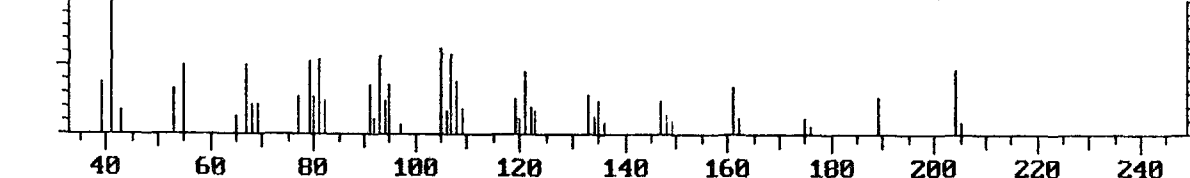
100% Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl CAS 515-13-9 \*



100% Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methy CAS 17066-67-0



100% Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methy CAS 17066-67-0



Formula C15.H24

Rank 1 Index 69889

MolWeight:204 Search:All LocalNorm:On P:755 F:927 R:775 CAS# 515-13-9

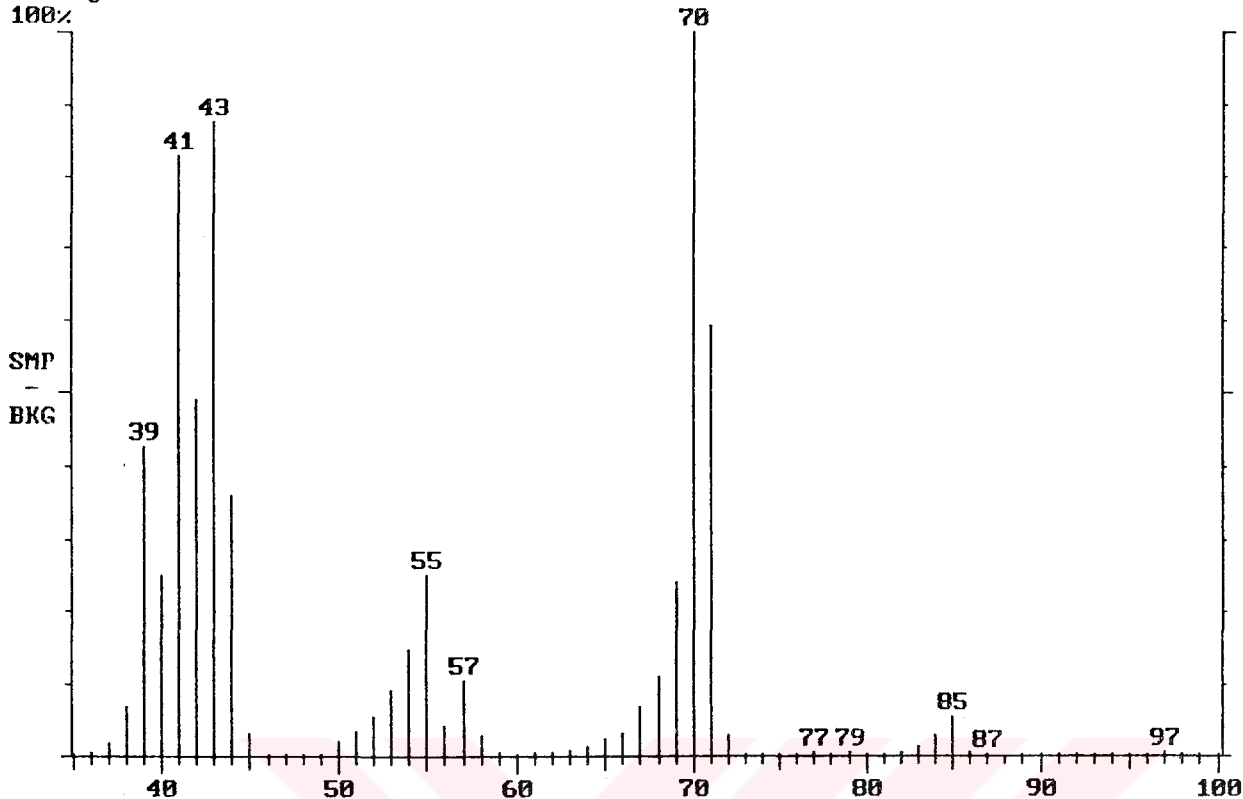
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 1187 to 1188 Minus: 1195 to 1197  
100%

100% = 83767



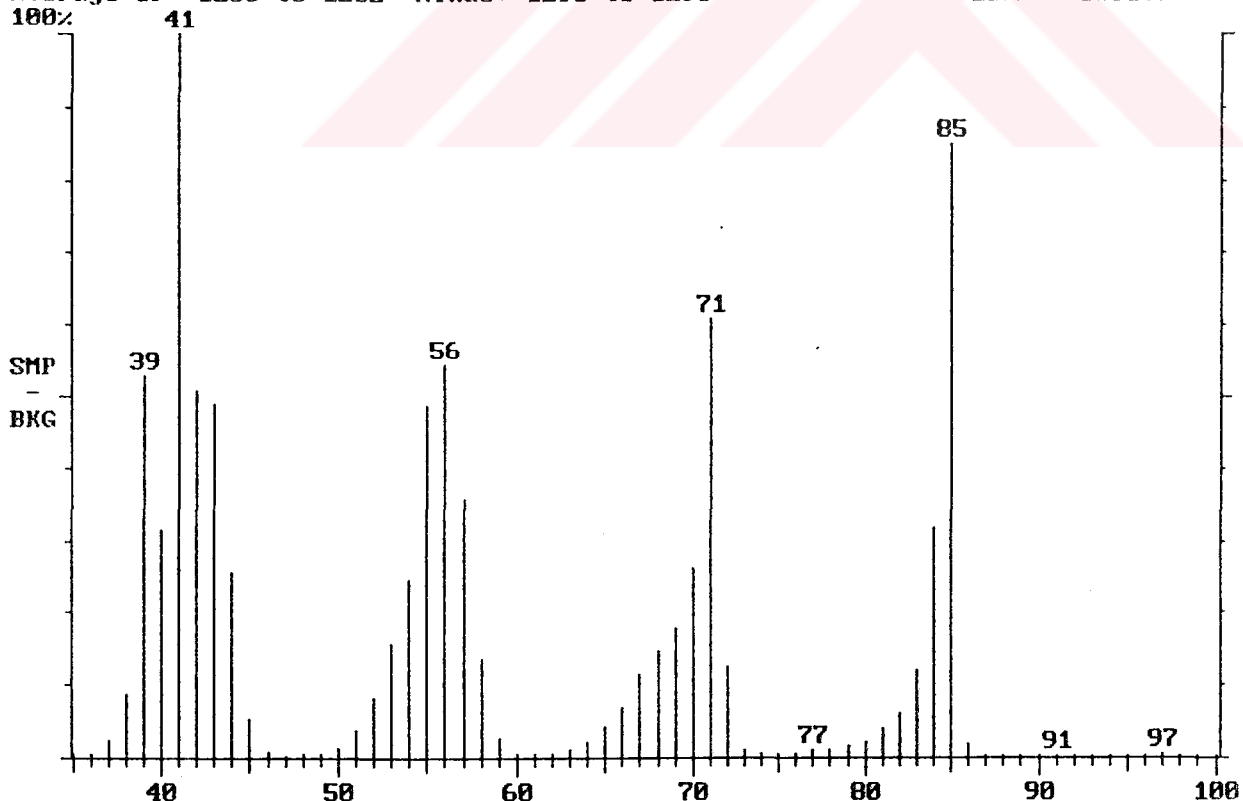
Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

Average of: 1280 to 1282 Minus: 1293 to 1295  
100%

100% = 569352



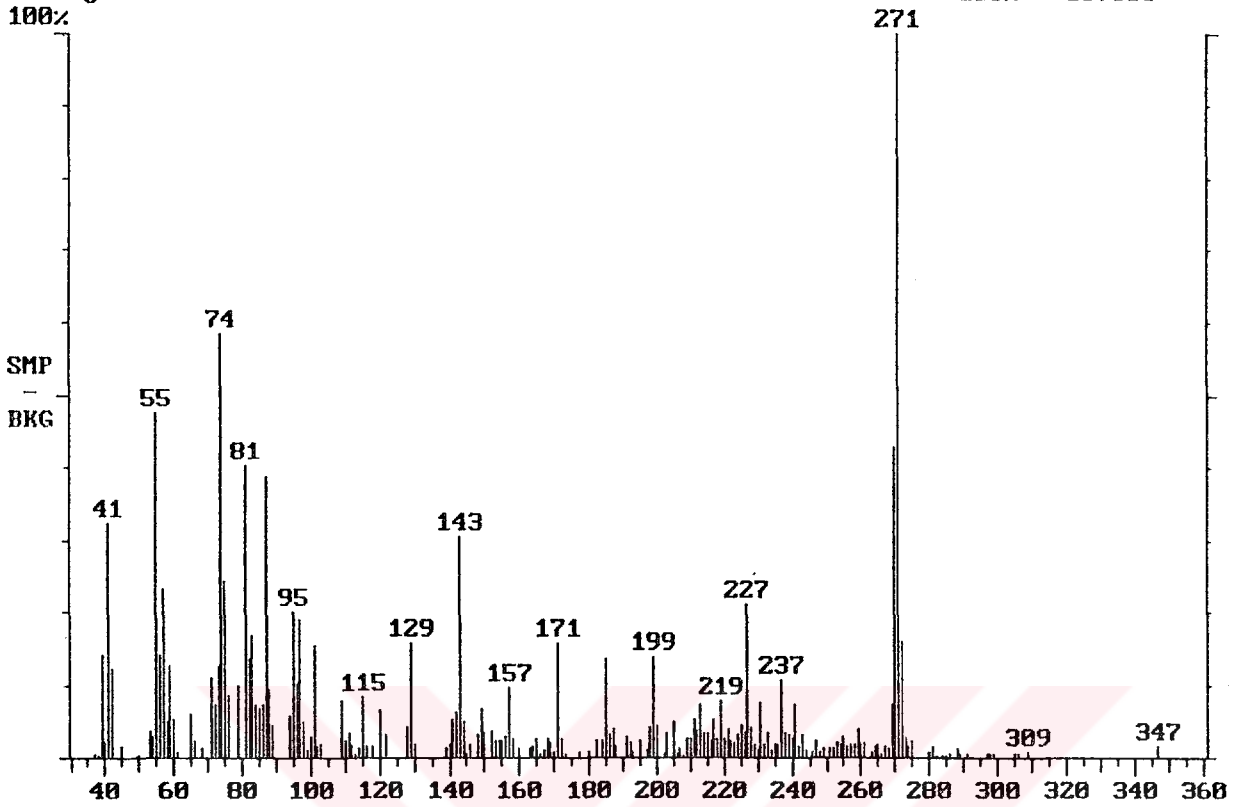


Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN  
Average of: 3363 to 3365 Minus: 3359 to 3361  
100%

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

100% = 107035

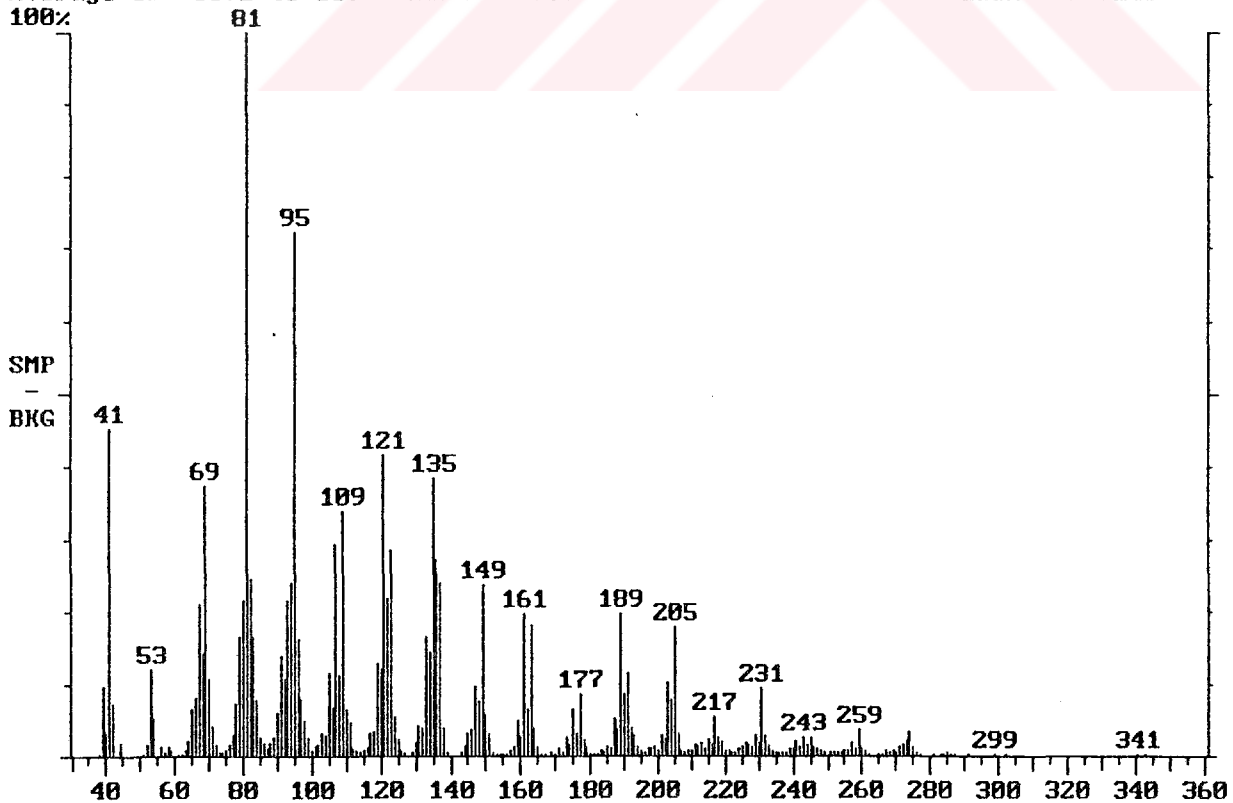


Background Subtract  
Comment: UZUN SAMSUN  
Average of: 3372 to 3376 Minus: 3390 to 3394  
100%

C:\DATA\TEST\USAM2212

Date: 12/22/94 14:19:45

100% = 657248



## ÖZET

Polisiklik aromatik hidrokarbonların birçoğu kanserojen maddelerdir. PAH lar çevreye egzoz gazı, gıda maddeleri, sigara vb. ile yayılmaktadırlar. Sigarada bulunan 4000 i aşkın madde içerisinde PAH lar önemli bir yer tutmaktadırlar. Bundan dolayı sigaranın yanmasıyla oluşan PAH lar üzerinde pek çok araştırma yapılmıştır.

Yapılan çalışmaların ilkinde ters-faz ve normal faz kolonlarda PAH ların alıkonma mekanizmaları incelendi. Bunun için ters-faz kolon olarak LiChrosorb C18 ve normal faz kolon olarak da Si-CN kullanıldı. Her iki sistemde de aynı karbon sayılı PAH ların L/B ye karşı k' grafiği çizildi. Ters-fazda ayırımın normal faza göre daha iyi olduğu görüldü.

İkinci çalışmada ise sigara izmaritinde bulunan BaP yi tayin etmek için yöntem geliştirildi. Öncelikle BaP nin geri alınabilirliğine bakıldı. Gerçek örneklerde yapılan tayin için ters-faz yüksek basınç sıvı kromatografisi kullanıldı. Yapılan çalışmalarda benz(a)pirenin geri alınabilirliği %50.92 olurken üç farklı sigaranın izmaritlerinde ortalama 78 ng/filtre bulunmuştur.

Dördüncü bölümde XAD-2 reçinesinin sigara filtresindeki BaP adsorpsiyonu incelendi.

Beşinci bölümde çeşitli Türk sigaralarından alınan tek sigara izmaritlerinin asetonitrilde çözünmeden sonra n-heksan ile sıvı-sıvı ekstraksiyonları yapıldı ve Gaz Kromatografisi ile alınan kromatogramların kalite kontrolünde "Finger-Print" olarak kullanılabilirliği araştırıldı. Bunun için elektron yakalama detektörü ve 2 m uzunluğunda Chrom G A/W DMCS (80/100 mesh) üzerine emdirilmiş %2.5 SE-30 dolgulu kolon kullanıldı. Alınan kromatogramlarda sigaralar arasında belirgin farklılıkların olması tür belirlemede yardımcı olabileceğini ortaya koymaktadır.

Son çalışmada ise Uzun Samsun sigara filtre zifiri ekstraktının GC/MS spektrumları alınarak yorumlandı.

## SUMMARY

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are carcinogenic substances. PAHs were spread to environment by means of exhaust gases, foodstuff, cigarettes, etc. PAHs have an import place among more than 4000 substances existing in cigarette, cigarette smoke and filter tar. That is why researches have been carried out continuously on the development of new methods for the determination PAHs.

The first chapter gives some general idea about the properties and analysis of cigarette and filter. In the second chapter the retention mechanisms of PAHs on reverse and normal phase high pressure liquid chromatography were investigated based on number of carbon atoms, shape factor and water solubility capacity factors,  $k'$  versus the number of carbon atom  $n$ , or shape factor  $L/B$  for both modes of chromatography were drawn. It was observed that resolutions PAHs in reverse phase mode was better.

The third chapter covers the determination of BaP in cigarette filter tar by means of HPLC. First part gives the recovery studies showing a recovery of 50.92% an maximum BaP was found an average 78 ng/filter in three different Turkish Cigarettes. A new liquid chromatographic method for the determination of benz(a)pyrene (BaP) in cigarette filter tar was presented in the next chapter. The recovery of BaP from filter by the proposed method was as high as 50.92 per cent. The method was applied to various Turkish cigarettes.

XAD-2 was used as clean-up medium for filter extract for improving the above method. This was given as a separate chapter.

Chromatogram of filter tar extract obtained under certain chromatographic conditions were tried to use as a "finger-print" for quality control the results were presented in chapter five.

The last chapter evaluates the GC/MS chromatogram of along Samsun Cigarette

## ÖZGEÇMİŞ

1961 Çarşamba doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi Ankara' da, lise öğrenimimi Niğde Kız Öğretmen Lisesi' nde tamamladım. 1983 yılında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü' nden mezun oldum. 1984-1985' te özel sektörde çalıştım. 1989' da "Sigara Filtre Zıfırında Benz(a) Piren' in HPLC ile Tayini" konulu yüksek lisans tezini tamamladım. Halen 1985 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı' nda başladığım Araştırma Görevliliğine devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk annesiyim.

