KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEKİ PCDD/F KONSANTRASYONLARININ GC/MS-NCI YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çevre Müh. Mahmut Kemal KORUCU

Ana Bilim Dalı: Çevre Mühendisliği

Danışman: Doç. Dr. Aykan KARADEMİR

KOCAELİ, 2008

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEKİ PCDD/F KONSANTRASYONLARININ GC/MS-NCI YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çevre Müh. Mahmut Kemal KORUCU

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 22 Mayıs 2008

Tezin Savunulduğu Tarih: 25 Temmuz 2008

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Aykan KARADEMİR
(.....)

Üye
Doç. Dr. Ertan DURMUŞOĞLU
(.....)

Üye
Yrd. Doç. Dr. Mehmet KOBYA
(.....)

KOCAELİ, 2008

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Literatürde ilk olarak 19. yüzyılın sonlarına doğru tanımlanan poliklorlu dibenzo-p-dioksin ve dibenzofuran (PCDD/Fs) bileşiklerinin çevre ve halk sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinin gün yüzüne çıkması pek çok araştırmaya zemin hazırlamış ve günümüze kadar yapılan sayısız araştırma bu bileşikler hakkındaki birçok bilinmeyenin açık bir şekilde ortaya çıkarılmasını sağlamıştır. Dioksin kaynakları üzerindeki emisyon azaltma çalışmalarının yanı sıra bu bileşiklerin çevresel örneklerdeki seviyelerinin doğru bir şekilde ortaya koyulabilmesini amaç edinen ölçüm çalışmalarının bu gelişmelerdeki önemi oldukça büyüktür. Kaynaklardaki iyileştirme çalışmalarının sağlayacağı başarı ne kadar büyük olursa olsun özellikle enstrümental PCDD/F analizi çalışmaları, iyileşmelerin doğru bir şekilde belirlenebilmesi ve izlenmesi açısından önemini uzun bir süre koruyacağa benzemektedir.

İstisnai durumlar dışında bilimsel bilgi anlamında pek çok araştırmacı tarafından fazla önemsenmeyen yüksek lisans çalışmaları, çalışmayı yapan öğrencinin bu çalışma sırasındaki kişisel kazanımları açısından çok önemli bir adım olarak değerlendirilebilir. Yüksek lisans çalışmalarımda geçirdiğim süre zarfında yaşadığım olumlu ya da olumsuz tüm deneyimlerin hayatımın geri kalanında yapacağı etkiler ve bu sürecin sağladığı tüm bireysel kazanımlar şahsım açısından her hangi bir büyüklükle ölçülemez ve bu süreçte sağladıkları katkılar için minnettar olduğum insanların tüm emekleri küçük bir teşekkürle geçiştirilemeyecek kadar önemlidir.

Tüm yoğunluğuna rağmen ilgisini ve desteğini hiçbir koşulda esirgemeyerek bireysel akademik gelişimime büyük katkı sağlayan ve her zaman bir tez danışmanından çok daha fazlası olan danışman hocam Doç. Dr. Aykan KARADEMİR'e,

Yüksek lisans sürecimin her aşamasında emeğini ve ilgisini üzerimde hissettiğim, karşılaştığım tüm problemleri çözebilmek adına her türlü desteği koşulsuz bir şekilde sağlayan değerli hocam Doç. Dr. Ertan DURMUŞOĞLU'na,

Birlikte çalıştığımız süre boyunca özelikle laboratuar çalışmalarında sağladığı büyük katkı ve emekler için çalışma arkadaşım Uzman Seda ASLAN'a,

Bölüm başkanlığını yürüttüğü Çevre Mühendisliği Bölümünün tüm olanaklarından sağlanmamıza yardımcı olan ve gerekli tüm imkanları sağlayan sayın Prof. Dr. Savaş AYBERK'e ve kendisi aracılığı ile burada adını sayamadığım, ilk günden bu yana desteklerini esirgemeyen tüm Çevre Mühendisliği Bölümü personeline,

Ve son olarak bu süreçte büyük bir sabırla tüm huysuzluklarıma katlanabilme başarısı gösteren değerli arkadaşlarım, sevgili annem ve tüm aileme sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Mahmut Kemal KORUCU

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
ŞEKİLLER DİZİNİ v
TABLOLAR DİZİNİ vi
SİMGELER viii
ÖZET xi
İNGİLİZCE ÖZET xii

BÖLÜM 1. GİRİŞ 1

BÖLÜM 2. POLİKLORLU DİBENZO-P-DİOKSİN VE DİBENZOFURANLAR 4
2.1. Genel Yapıları 4
2.2. PCDD/F Bileşiklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri 6
2.2.1. PCDD/F bileşenlerinin çözünürlükleri 7
2.2.2. PCDD/F bileşiklerinin buhar basınçları 8
2.2.3. PCDD/F bileşikleri için henry sabitleri 10
2.2.4. PCDD/F bileşikleri için oktanol/su bölümlenme katsayısı (K_{ow}) 11
2.2.5. PCDD/F bileşikleri için organik karbon bölümlenme katsayısı (K_{oc}) 12
2.2.6. PCDD/F bileşiklerinin fotolozi 13
2.3. PCDD/F Bileşiklerinin Oluşum Mekanizmaları ve Potansiyel Kaynakları 14
2.4. Dioksin Bileşiklerinin Çevredeki Dağılımları 20
2.5. Dioksin Bileşenlerinin Toksisiteleri ve Sağlık Etkileri 21
2.5.1. Toksik eşdeğerlik (TEQ) ve toksisite eşdeğerlik faktörleri (TEF) 22
2.5.2. Dioksin bileşiklerinin sağlık etkileri 25
2.5.2.1. Laboratuar hayvanları üzerindeki etkiler 26
2.5.2.2. İnsanlar üzerindeki etkileri 28
2.5.3. Dioksin benzeri toksisiteye sahip diğer bileşikler 29
2.5.4. Tolere edilebilir günlük alım (TDI) 30
2.5.5. Kabul edilebilir risk 32

BÖLÜM 3. ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEKİ PCDD/F SEVİYELERİ VE PCDD/F BİLEŞENLERİNİN ANALİZİ 33
3.1. Çevresel Örneklerdeki PCDD/F Seviyeleri 33
3.1.1. Havadaki PCDD/F konsantrasyonları 35
3.1.2. Toprak ve bitki örtüsündeki PCDD/F konsantrasyonları 41
3.1.3. Gıda maddelerindeki PCDD/F konsantrasyonları 46
3.1.3.1. Yumurtalar 49
3.1.3.2. Bitkisel ve hayvansal yağlar 50
3.1.3.3. Süt ve günlük süt ürünleri 51
3.1.3.4. Et ve et ürünleri 53
3.1.3.5. Hububat, bakliyat, meyve ve sebzeler 53
3.1.3.6. Balıklar ve deniz ürünleri 54

3.1.4. Sedimentlerdeki PCDD/F konsantrasyonları.....55
3.2. Çevresel Örneklerdeki PCDD/F Bileşenlerinin Analizi 57

BÖLÜM 4. GAZ KROMATOGRAFİSİ VE KÜTLE SPEKTROMETRİSİ 62
4.1. Genel Bilgi.....62
4.2. Kromatografi.....62
4.2.1. Kromatografi teorisi 67
4.2.1.1. Maddenin kromatografi kolonunda hareketi 69
4.2.1.2. Tabak teorisi ve sınırlamalar.....72
4.3. Gaz Kromatografisi (GC) 73
4.3.1. Gaz kromatografisi teorisi 75
4.3.1.1. Alıkonma zamanı (t_r).....76
4.3.1.2. Alıkonma hacmi (Vr) 76
4.3.1.3. Düzeltilmiş alıkonma hacmi (Vr^0) 77
4.3.1.4. Alıkonma faktörü (Rf).....77
4.3.2. Tabak teorisi ve gaz-sıvı kromatografisi 78
4.3.3. Kolon verimliliği.....79
4.3.4. Maddelerin ayrılmaları 81
4.3.5. Gaz kromatografisi sisteminin temel bileşenleri.....82
4.3.5.1. Taşıyıcı gazın akışının ve basıncının ayarlanması 83
4.3.5.2. Numune enjekte etme kısmı 83
4.3.5.3. Kromatografi kolonu 84
4.3.5.4. Dedektörler 86
4.3.6. Niceliksel analiz.....87
4.3.6.1. Gaz numunelerin niceliksel analizi 90
4.3.6.2. Sıvı numunelerin niceliksel analizi 91
4.4. Kütle Spektrometrisi (MS) 94
4.4.1. Kütle spektrometrisinin temel prensipleri 97
4.4.1.1. İyonizasyon.....98
4.4.1.1.1. İyonlaşma süreci ve iyonizasyon çeşitleri 99
4.4.1.1.1.1. Fotoiyonizasyon 99
4.4.1.1.1.2. Elektron etki iyonizasyonu 100
4.4.1.1.1.3. Kimyasal iyonizasyon.....101
4.4.1.1.1.4. Alev iyonizasyonu.....101
4.4.1.1.1.5. Alan iyonizasyonu.....102
4.4.1.2. Parçalanma (fragmentasyon) 102
4.4.2. Kütle spektrometresinin temel bileşenleri.....103
4.4.2.1. İyon kaynağı 104
4.4.2.2. Kütle analizörü.....105
4.4.2.2.1 Kütle çözünürlüğü 106
4.4.2.3. Kütle dedektörü.....107
4.4.3. Gaz kromatografisi ve kütle spektrometrisinin ortak kullanımı (GC/MS).....108

BÖLÜM 5. KİMYASAL İYONİZASYON (CI) VE NEGATİF KİMYASAL İYONİZASYON (NCI) UYGULAMASI.....112
5.1. Kimyasal İyonizasyon.....113
5.1.1. Kimyasal iyonizasyonda iyonların oluşumu.....114
5.1.2. Kimyasal iyonizasyonda iyon kaynağı.....116
5.1.3. Kimyasal iyonizasyonda hassasiyet.....116

5.1.4. Kimyasal iyonizasyonda aşırı gürültü 117
5.2. Pozitif Kimyasal İyonizasyon (PCI) Teorisi 118
5.2.1. Proton transferi 119
5.2.2. Hidrit çıkarma 121
5.2.3. Ekleme 121
5.2.4. Yük değişimi 122
5.3. Negatif Kimyasal İyonizasyon (NCI) Teorisi 123
5.3.1. Elektron tutma 124
5.3.2. Ayırıcı elektron tutma 125
5.3.3. Çift iyon teşkili 125
5.3.4. İyon-molekül reaksiyonları 125
5.4. PCDD/F Analizlerinde NCI ile Birikte Ayıraç Gaz Olarak Metan Kullanımı ... 126

BÖLÜM 6. DENEYSEL ÇALIŞMALAR VE BULGULAR 128
6.1. Çalışmada Kullanılan GC/MS Sistemi 128
6.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Madde, Çözelti ve Malzemeler 130
6.3. Sistemin Çalıştırılması 132
6.4. CI İyon Kaynağının Temizlemesi 133
6.4.1. Temizleme prosedürü 134
6.5. PCDD/F Analizi İçin Uygun Metodun Geliştirilmesi 138
6.6. Pik Çözünürlüklerinin Doğrulanması 143
6.7. Kalibrasyon Çalışmaları 143
6.8. Konjenerlere Ait Ölçüm Limitlerinin Saptanması 147
6.9. Konjenerlere Ait Bağıl Alıkonma Zamanlarının (RRT) Saptanması 149
6.10. Konjenerlere Ait Bağıl Tepki Faktörlerinin (RRF) Saptanması 151
6.11. Numunelerin PCDD/F Analizi 154
6.11.1. Numunelerin toplanması ve analize kadar saklanması 155
6.11.2. Numunelerin ekstraksiyon için hazırlanması 156
6.11.3. Numunelerinin ekstraksiyonu ve ekstraksiyonu yapılan numunelerin ayırma öncesi yoğunlaştırılması 156
6.11.4. Numunelerin asit-baz yıkaması ile ayırma işlemine tabi tutulması 158
6.11.5. Clean up uygulaması ve son yoğunlaştırma 162
6.11.5.1. Silikajel kolonu clean up prosedürü 163
6.11.5.2. Alumina kolonu clean up prosedürü 163
6.11.5.3. Karbon kolonu clean up prosedürü 164
6.11.5.4. Son yoğunlaştırma 165
6.11.6. HRGC/LRMS-NCI Analizi 165

BÖLÜM 7. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME 168

KAYNAKLAR 175
EKLER 182
ÖZGEÇMİŞ 211

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Poliklorlu dibenzo-p-dioksinler ve poliklorlu dibenzo furanların yapısı 4
Şekil 3.1. PCDD/F bileşiklerinin doğadaki taşınımı 34
Şekil 4.1. Bir analitin kolon içerisindeki davranışı 65
Şekil 4.2. Kromatografi sistemlerinde alıkonma zamanı 65
Şekil 4.3. Gaz kromatografisinde karışım içerisindeki bileşenlerin birbirlerinden ayrılması 75
Şekil 4.4. Gaz kromatografisi sistemlerinin temel bileşenleri 82
Şekil 4.5. Bir enjeksiyon bloğunun şematik gösterimi 84
Şekil 4.6. Bir kütle spektrometresinin temel bileşenler 104
Şekil 4.7. Kütle çözünürlük değerinin saptanması 107
Şekil 5.1. Kimyasal iyonizasyon (CI) iyon kaynağı 117
Şekil 6.1. Çalışmada kullanılan GC/MS sistemi 129
Şekil 6.2. İyon kaynağının temizlenmesi 137
Şekil 6.3. Konjenerlerin tanımlanabilmesi için geliştirilen metotların kromatogramları 141
Şekil 6.4. Numunelerin hazırlanma ve ekstraksiyonuna ait bazı görüntüler.....160
Şekil 6.5. Numunelerin yoğunlaştırılması ve ayrılmasına ait bazı görüntüler 161

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Dioksin bileşiklerinin klor sayıları, homolog isimleri ve her bir homolog grubuna ait konjener sayılar 5
Tablo 2.2. Bazı zehirli kimyasalların LD_{50} değerleri 6
Tablo 2.3. Bazı PCDD konjenerlerinin sudaki çözünürlükleri 8
Tablo 2.4. 2,3,7,8-TCDD konjenerinin çeşitli çözücü maddeler içerisindeki çözünürlüğü 8
Tablo 2.5. Bazı PCDD/F bileşiklerinin 25 C^0 deki buhar basınçları 9
Tablo 2.6. Sıcaklığa bağlı sıvı buhar basıncının kirşof denkleminden hesaplanmasında kullanılan sabitlerin 17 PCDD/F konjeneri için aldığı değerler..... 10
Tablo 2.7. 17 adet 2,3,7,8 substientli dioksin izomeri için Henry sabitleri 11
Tablo 2.8. 17 adet 2,3,7,8 substientli dioksin izomeri için K_{ow} değerleri..... 12
Tablo 2.9. 17 adet 2,3,7,8 substientli dioksin izomeri için K_{oc} değerleri 13
Tablo 2.10. 17 adet 2,3,7,8 substientli dioksin izomerinin temiz bitki yüzeyleri için saptanmış fotolitik yarılanma ömürleri (t = h) 14
Tablo 2.11. İngiltere'de 1997 yılında farklı kaynaklardan yayılan toplam PCDD/F emisyonları 18
Tablo 2.12. Çeşitli ülkeler için atmosfere atılan PCDD/F bileşenlerinin tahmini değerleri..... 19
Tablo 2.13. Toksik eşdeğerlik faktörlerinin karşılaştırılması 23
Tablo 2.14. Dioksin ve dioksin benzeri PCB bileşenleri için WHO/TEF değerleri.... 24
Tablo 2.15. TCDD veya toksik eşdeğeri PCDD/F bileşiklerinin alım limitlerinin kronolojik gelişimi..... 31
Tablo 3.1. Farklı ülkelerdeki hava numunelerinde 2,3,7,8 substientli PCDD/F konsantrasyonları (fg/m^3)..... 37
Tablo 3.2. Ortam havası PCDD/F konsantrasyonlarındaki mevsimsel değişimler..... 38
Tablo 3.3. Dünyanın değişik bölgelerindeki PCDD/F bileşiklerinin atmosferik birikim akıları ve bu akıların 2,3,7,8 TCDD eşdeğeri (TEQ) bazındaki değerlerinin karşılaştırılması..... 40
Tablo 3.4. Eski bir kentsel katı atık yakma tesisi yakınından toplanan numunelerdeki PCDD/F konjener ve homolog miktarları (ng/kg kuru madde) 42
Tablo 3.5. Bazı Avrupa Birliği üyesi ülkelerde topraktaki toplam PCDD/F konsantrasyonları (ng TEQ / kg kuru madde)..... 43
Tablo 3.6. Farklı kaynaklardan derlenen değişik bölgelere ait toprak ve bitki örtüsü numunelerinin PCDD/F analizi sonuçları 44
Tablo 3.7. Kuru ve yaş ağırlıklar için nem yüzdelerine bağlı olarak PCDD/F konsantrasyonları..... 45
Tablo 3.8. 2001-2003 yılları arasında yayınlanan bazı çalışmalardan derlenmiş, değişik ülkelere ait gıda yoluyla PCDD/F alım değerleri ve bu alım değerlerine katkıda bulunan başlıca gıda grupları 48
Tablo 3.9. Çeşitli kaynaklarda yumurta numuneleri için verilen konsantrasyon değerleri (pg/gr yağ) 50

Tablo 3.10. Çeşitli kaynaklarda bitkisel ve hayvansal yağ numuneleri için verilen konsantrasyon değerleri (pg/gr yağ) 51
Tablo 3.11. Çeşitli kaynaklardan derlenen süt ve süt ürünlerine ilişkin elde edilmiş bazı konsantrasyon değerleri 52
Tablo 3.12. Çeşitli kaynaklarda farklı türlerden elde edilen et ve et ürünleri için verilen konsantrasyon değerleri (pg/gr yağ).....53
Tablo 3.13. Çeşitli kaynaklarda hububat, bakliyat, meyve ve sebzeler için verilen konsantrasyon değerleri (pg/gr kuru ağırlık).....54
Tablo 3.14. Çeşitli kaynaklarda bazı balık türleri için verilen konsantrasyon değerleri (pg/gr yaş ağırlık) 55
Tablo 3.15. Farklı bölgelere ait sediment numunelerindeki PCDD/F seviyeleri 56
Tablo 3.16. PCDD/F analizi için bazı kaynaklarda verilen gaz kromotografisi koşulları ve ölçüm limitleri 59
Tablo 3.17. PCCD/F analizlerinde numunenin safsızlaştırılması (Clean up) için kullanılan çeşitli adsorbentler.....61
Tablo 4.1. Kromatografi türlerinin sınıflandırılması 64
Tablo 4.2. Kromatografi tekniklerinde etkin olan kuvvetler.....64
Tablo 5.1. Ayıraç gaz proton ilgileri.....120
Tablo 5.2. Bazı organik bileşenlerin PCI için proton ilgileri 120
Tablo 5.3. Farklı ayıraç gazlarla PCDD/F ve PCB bileşiklerinin ölçüm limitleri ve NCI kütle spektrumundaki karakteristik iyonları 127
Tablo 6.1. CI için başlangıç ayarlama (Tune) parametreleri 132
Tablo 6.2. U.S.EPA Metot 8290 Matrix Spiking Solution EDF 5008 etiketsiz standart çözeltisinde bulunan konjenerlerin molekül ağırlıkları ve konsantrasyonları 138
Tablo 6.3. Konjenerlerin tanımlanabilmesi için geliştirilen metotlar.....139
Tablo 6.4. Metot 7'de elde edilen piklere ait alıkonma zamanları ve PCDD/F konjenerleri.....142
Tablo 6.5. 2 numaralı kalibrasyon için yapılan enjeksiyonlar sonucu elde edilen pik alanları ve geometrik ortalamaları 145
Tablo 6.6. Kalibrasyon çalışmalarından elde edilen eğri denklemleri ve eğrilerin R^2 değerleri.....146
Tablo 6.7. Ölçüm limitlerinin saptanması için yapılan enjeksiyonlardan elde edilen sonuçlar 147
Tablo 6.8. 1 ve 2 numaralı kalibrasyon çalışmaları için elde edilen ölçüm limiti değerleri.....148
Tablo 6.9. 2 Numaralı (pilot) kalibrasyon çalışması için yapılan enjeksiyonlardan elde edilen bağıl alıkonma zamanları 150
Tablo 6.10. 2 numaralı kalibrasyon çalışmasında elde edilen RRF değerleri.....152
Tablo 6.11. Kalibrasyon çalışmalarında elde edilen RRF değerlerinin standart sapma (SD), aritmetik ortalama (Ort.) ve bağıl standart sapma değerleri (RSD %).....153
Tablo 6.12. Yumurta ve süt numuneleri için elde edilen analiz sonuçları.....167

SİMGELER

A	: Kromatogramda her bir konjenere ait pik alanı
A	: Kromatografi kolonu faz kesiti
A^o	: Uzunluk birimi (Angstrom)
a	: İvme (cm/sn^2)
C	: Konsantrasyon
CDI	: Kronik günlük alım değeri ($mg.kg^{-1}.gün^{-1}$)
Da	: Dalton kütle birimi (1.665402×10^{-27} kg ± 0.59 ppm)
eV	: Enerji birimi (elektronVolt)
F_a	: Kromatografik hesaplamalar için düzeltme faktörü, (birimsiz)
F_e	: Gazın kromatografi çıkışındaki saniyedeki hızı (m/sn)
f	: Kromatografi kolonunda tabak kesri
g^1	: Enjeksiyonu yapılan madde miktarı, (mikrolitre)
H	: Henry sabiti, ($atm.m^3.mol^{-1}$)
h	: Tabak teorisi için tabak kalınlığı
h	: Pik yüksekliği
K	: Kromatografi kolonu içerisindeki dağılma katsayısı, (birimsiz)
K_{oc}	: Organik karbon bölümlenme katsayısı , ($ml.g^{-1}$)
K_{ow}	: Oktanol/su bölümlenme katsayısı, (birimsiz)
k^1	: Alıkonma faktörü, (birimsiz)
l	: Kromatografi kolonunun boyu, (m)
LD_{50}	: Deneklerin yarısının ölümüne neden olan konsantrasyon seviyesi
LOAEL	: Toksik etkinin görüldüğü en düşük konsantrasyon seviyesi
MRL	: Kanser olmayan etki için en düşük risk seviyesi (pg/kg.gün)
m	: Kütle (kilogram)
m/z	: İyonlara ait kütle-yük oranı (thomson)
NOAEL	: Hiçbir toksik etkinin görülmediği en yüksek konsantrasyon seviyesi
P	: Basınç, (torr)
ppb	: Milyarda bir kısım
ppm	: Milyonda bir kısım
ppt	: Trilyonda bir kısım
ppq	: Katrilyonda bir kısım
R^2	: Korelasyon katsayısı, (birimsiz)
R	: Kütle çözünürlüğü,
Rf	: Kolonda alıkonma faktörü, (birimsiz)
RfD	: Referans doz (pg/kg.gün)
RRT	: Bağıl alıkonma zamanı, (birimsiz)
RRF	: Bağıl tepki faktörü, (birimsiz)
RSD	: Bağıl standart sapma, (birimsiz)
RSD	: Kanser için risk spesifik doz (pg/kg.gün)
RT	: Alıkonma zamanı, (dakika)
r	: Kromatografi kolonunda tabak sayısı

SD : Standart sapma (birimsiz)
SF : Kanserojenlik eğim faktörü ($kg.gün.mg^{-1}$)
S/N : Kromatografik piklere ait sinyal-gürültü oranı
TDI : Tolare edilebilir günlük alım değeri (pg/kg.gün)
TEF : Toksik eşdeğerlik faktörü
TEQ : Toksik eşdeğerlik değeri
t_0 : Ölü zaman, (dakika)
t_R : Alıkonma zamanı, (dakika)
t'_r : Düzeltilmiş alıkonma zamanı, (dakika)
$t_{1/2}$: Yarılanma ömrü
V : Kromatografide kullanılan toplam çözücü hacmi (ml)
Vg : Kolonda alıkonmayan gazın hacmi (ml)
Vh : Kolon tabak hacmi (ml)
V_0 : Ölü hacim (ml)
Vr : Alıkonma hacmi (ml)
Vr^0 : Düzeltilmiş alıkonma hacmi (ml)
u : Atomik kütle birimi (1.665402×10^{-27} kg ± 0.59 ppm)
w : Pik genişliği
y : Zaman birimi (yıl)
α : Maddelerin kolonda dağılma oranı, (birimsiz)
μ_i : i bileşeni için bindirme derecesi
Δc : Isı kapasitesi değişimi, ($J/mol^{-1}\ K^{-1}$)
ΔH : Entalpi değişimi, (kJ/mol^{-1})
Δm : Spektrumdaki çözümlenebilir iki pikin kütle farkı
Δc_p : Isı kapasitesi değişimi

Alt indisler

k : k. sıradaki bileşen
l : sıvı
m : kromatografi kolonu için hareketli faz
m : erime noktası
n : n. sıradaki bileşen
n : tabak teorisi için devir sayısı
r : tabak teorisi için r. sıradaki tabak
s : katı
s : kromatografi kolonu için sabit faz
vap : buharlaşma

Kısaltmalar

AED : Atomik Emisyon Dedektörü
AHH : Arilhidrokarbon Hidroksilaz
AhR : Arilhidrokarbon Reseptörü
ATSDR : Agency for Toxic Substances and Diseases Registry
CB : Klorlu Benzenler
CI : Kimyasal İyonizasyon
CP : Klorlu Fenoller
DNA : Deoksiribonükleikasit
DIP : Direct Prob
EC : European Commission

ECD : Elektron Yakalama Dedektörü
EI : Elektron Impact
ELIZA : Enzyme-Linked İmmunosorbent Assays
FI : Field İonization
FID : Alev İyonizasyon Dedektörü
FPD : Alev Fotometrik Dedektörü
GC : Gaz Kromatografisi
GC/MS : Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi
HED : High Energy Dynode
HMIP : Her Majesty's Inspectorate of Pollution
HRGC : Yüksek Çözünürlüklü Gaz Kromatografisi
HRMS : Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi
HRGC/LRMS : Yüksek Çözünürlüklü Gaz Kromatografisi/Düşük Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi
HRGC/HRMS : Yüksek Çözünürlüklü Gaz Kromatografisi/Yüksek çözünürlüklü Kütle Spektrometresi
HxCDD/F : Hekza klorlu dibenzo-p-dioksin ve furan bileşikleri
HpCDD/F : Hepta klorlu dibenzo-p-dioksin ve furan bileşikleri
IARC : Uluslar arası Kanser Araştırma Ajansı
IPCS : International Programme on Chemical Safety
LC : Sıvı Kromatografisi
LRMS : Düşük Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi
MALDI : Matrix-Assisted Laser Desorption
MIM : Çoklu İyon Görüntüleme
MS : Kütle Spektrometresi
MSD : Kütle Spektrometre Dedektörü
MS/MS : Düşük Çözünürlüklü Tandem Kütle Spektrometresi
NCI : Negatif Kimyasal İyonizasyon
OSA : Office of The Science Advisor
OCDD/F : Okta klorlu dibenzo-p-dioksin ve furan bileşikleri
PAH : Poliaromatik Hidrokarbonlar
PBDB : Polibromlu dibenzodioksinlar
PBDF : Polibromlu dibenzofuranlar
PCB : Poliklorlu bifeniller
PCDDs : Poliklorlu dibenzo-p-dioksinler
PCDFs : Poliklorlu dibenzofuranlar
PCDD/F : Penta klorlu dibenzo-p-dioksin ve furan bileşikleri
PCDD/Fs : Poliklorlu dibenzo-p-dioksinler ve Furanlar
PCI : Pozitif Kimyasal İyonizasyon
PID : Fotoiyonizasyon Dedektörü
PFDTD : Perfllloro-5,8-dimetil-3,6,9-trioksidodekan
PVC : Polivinilklorür
SFE : Supercritical Fluid Extraction
SIM : Selected Ion Monitoring
TCD : Termal Kondüktivite Dedektörü
TCDD/F : Tetra klorlu dibenzo-p-dioksin ve furan bileşikleri
UV : Ultraviyole radyasyon
US EPA : United States Environmental Protection Agency
WHO : World Health Organization

ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEKİ PCDD/F KONSANTRASYONLARININ GC/MS-NCI YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Mahmut Kemal KORUCU

Anahtar Kelimeler: Çevresel Örnekler, PCDD/F Bileşikleri, Gaz Kromatografisi ve Kütle Spektrometrisi (GC/MS), Negatif Kimyasal İyonizasyon (NCI).

Özet: Çevresel örneklerdeki 17 PCDD/F konjenerinin seviyelerinin belirlenmesi çoğunlukla yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi ve yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi (HRGC/HRMS) sistemleri ile gerçekleştirilmektedir. Dioksin analizleri için gerekli olan hassasiyet ve stabiliteyi büyük oranda sağlayan bu sistemlerin en büyük problemi kurulum, işletim ve bakım maliyetleridir. Bu uygulamaya alternatif olarak gösterilebilecek bir sistem olan negatif kimyasal iyonizasyon sürecinin kullanıldığı yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi ve düşük çözünürlüklü kütle spektrometresi sistemleri (HRGC/LRMS-NCI) gerekli hassasiyeti sağlarken, stabil olma noktasında oldukça zayıftır.

Bu çalışmada; iyonlaşma süreci olarak negatif kimyasal iyonizasyonun kullanıldığı bir HRGC/LRMS sisteminin 17 PCDD/F konjeneri için sağladığı hassasiyet ve bu konjenerlere verdiği tepkinin stabilitesi araştırılmıştır. Bu araştırma sırasında konjener miktarları belli olan bir standart çözelti yardımıyla sistem için uygun bir metot geliştirilmiş ve uygun çalışma koşulları saptanmıştır. Oluşturulan bu metot aracılığı ile üç farklı kalibrasyon çalışması yapılmış ve bu çalışmalarda elde edilen konjener piklerinin çözünürlük ve stabiliteleri incelenmiştir. Ayrıca kalibrasyon çalışmaları sırasında 17 PCDD/F konjeneri için sağlanan en düşük ölçüm limitleri saptanmış olup bu ölçüm limitlerinin çok düşük konsantrasyon seviyelerine sahip gıda numuneleri için uygulanabilirliği tartışılmıştır. Son olarak; uygulan metot kullanılarak 2 adet inek sütü ve 2 adet tavuk yumurtası üzerinde yapılan analiz çalışmaları sonucunda elde edilen veriler sunulmuştur.

DETERMINATION OF PCDD/Fs LEVELS IN ENVIRONMENTAL SAMPLES USING BY GC/MS-NCI METHOD

Mahmut Kemal KORUCU

Keywords: Environmental Samples, PCDD/Fs, Gas Chromatography and Mass Spectrometry (GC/MS), Negative Chemical Ionization (NCI).

Abstract: Determination of the levels of 17 PCDD/F congeners in environmental samples are generally performed by high resolution gas chromatography and high resolution mass spectrometry systems (HRGC/HRMS). The main problem for that system ensuring required sensitivity and stability for dioxin analyses is the high costs related to construction, operation and maintenance. On the other hand, high resolution gas chromatography and low resolution mass spectrometry equipped with negative chemical ionization (HRGC/LRMS-NCI) systems that could be seen as a possible alternative to the HRGC/HRMS provides required sensitivity but not stability.

In this study, the sensitivity and the stability of a HRGC/LRMS-NCI system for dioxin analyses including 17 2,3,7,8-substituted PCDD/F congeners were investigated. In the course of the research, an applicable method was developed to be used for dioxin analyses by HRGC/LRMS-NCI and optimum operational conditions were determined. By this method, three different calibration studies were fulfilled and sensitivities and stabilities of the peaks were examined. Furthermore, minimum detection limits for 17 PCDD/Fs was determined during the calibration studies and applicability of the dedection limits for food samples was discussed. Finally, the data obtained from the analyses of two cow's milks and two chicken's eggs by the method were presented.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Çeşitli kaynaklardan atmosfere atıldıktan sonra çevresel ortamlarda büyük bir birikim potansiyeli gösteren dioksin bileşenleri, oluşturdukları çeşitli olumsuz sağlık etkileri nedeniyle bilinen en tehlikeli kimyasal maddeler arasında değerlendirilmektedir. Çok sık kullanılan dioksin terimi aslında 210 olası konjeneri bünyesinde barındıran ve poliklorlu dibenzo-p-dioksinler ve dibenzo furanlar (PCDD/Fs) olarak bilinen bir kimyasal madde grubunu tanımlamak için kullanılır. Bu kimyasal madde grubu içerisinden özellikle 2,3,7 ve 8 numaralı bağlarında klor atomu bulunduran 17 adet konjener sağlık riskleri açısından ön plana çıkmaktadır ve dioksinler ile ilgili yapılan incelemelerin çoğu bu 17 konjener üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu 17 konjenerin başta gıda maddelerindeki çok düşük konsantrasyonları olmak üzere çevresel numunelerdeki seviyelerinin doğru bir şekilde belirlenebilmesi çevre ve insan sağlığı açısından son derece önemli olup oldukça hassas ve pahalı çalışmaları gerektiren önemli bir araştırma konusudur.

Poliklorlu dibenzo-p-dioksinler ve dibenzofuranlar kimya literatüründe ilk olarak 1872 yılında Merz ve Wirth isimli araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır. Bu kimyasal grubunun sağlık etkilerine ilişkin ilk rapor ise Kimming ve Schulz tarafından 2,4,5 Triklorafenol üreten Almanya'daki bir fabrikada 2,3,7,8 Tetraklora dibenzo-p-dioksin (TCDD) bileşeninin çalışanlarda klorakneye neden olan bir bileşen olarak tanımlandığı 1957 yayınlan bir makaledir. Dioksin bileşenlerinin gözlemleme ve miktar tayinine yönelik olarak kullanılan ilk analitik ölçüm tekniği tavuk edama faktörleri ile ilişkili bir çalışmada kullanılmıştır. Yine bu amaçla 1963 yılında Firestone ve arkadaşları mikrokoulametric dedektörler kullandıkları bir gaz kromatografik ölçüm tekniği yayınlamışlardır. Campbell ve Friedman 1966 yılında hayvan yağı ekstraktındaki olası 9 dioksin bileşenini ölçebilmek için ECD dedektörü ile çalıştırılan bir GC sistemi ve ince tabaka kromatografisi safsızlaştırma sistemi kullanmış ve bu yöntemle elde ettikleri ölçüm limitini 0.2 ppb olarak yayınlamışlardır. Porter ve Burke 1970 yılında yaptıkları bir çalışmada aluminyum

oksit (alumina) kullanılan bir sıvı kolon kromatografisi yardımıyla dioksin bileşenlerinin PCB gibi girişim yapan diğer bileşenlerden ayrılabileceğini göstermişlerdir. Kütle spektrometresi, dioksin bileşenlerinin ölçümü konusunda yapılan çalışmalarda ilk olarak 1972 yılında Firestone tarafından kullanılmış olup bu çalışmacı MS tekniğini 21 ticari klorafenol içerisindeki hekza, hepta ve okta doksin ve furan bileşiklerinin gözlemlenmesinde kullanmıştır. Ardından Baughman ve Meselson 1972 ve 1973 yıllarında 2,3,7,8 TCDD konjenerini 10^{-12} gibi düşük seviyelerde gözlemleyebilme kapasitesine sahip yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrik sinyal görüntüleme metotlarını yayınlamışlardır ve metot Vietnam balık numunelerinde başarıyla uygulanmıştır. Genelde quadrupole kütle analizörleri ile uygulanan düşük çözünürlüklü kütle spektrometreleri çoğunlukla hassasiyetteki düşüklük nedeniyle sınırlandırılmıştır. Örneğin 1974 yılında Buser ve Bosshardt 2,3,7,8 TCDD bileşenini GC ve quadrupole analizörü ile ölçmüş ancak ölçüm limiti 500 pg seviyesinde kalmıştır. Ardından 1977 yılında aynı çalışmacı tekniğini yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi (kılcal kolon) ilavesi ile ilerletmiştir. Bu ilerleme ona, azalan pik genişliği sonucunda artan kaynak konsantrasyonunun sağladığı daha düşük seviyelere inebilme yetisini kazandırmıştır. 1976 yılında Hunt ve arkadaşları 2,3,7,8 TCDD bileşeni için hassasiyet ve seçicilik artışını negatif kimyasal iyonizasyon (NCI) tekniği ile arttırdıklarını öne sürmüşlerdir (Hass et al., 1978).

Dioksin analizlerinde NCI kullanımı, ilk öne sürüldüğü 1976 yılından bu yana üzerinde yoğun araştırmalar yapılan analitik bir metottur. PCDD/F bileşikleri gibi negatif iyon oluşturma potansiyeli ve elektron yakalama eğilimi yüksek olan moleküllerde sağladığı daha az sayıda moleküler parçalanma aracılığı ile yüksek hassasiyet sağlayan bu metodun en tartışılan yönü kütle spektrumundaki önemli sayılabilecek zamansal değişimler yani düşük stabilitedir. Dioksinler açısından bakıldığında özellikle en toksik konjener olması nedeniyle büyük önem taşıyan 2,3,7,8 TCDD konjenerine verdiği zayıf tepki de metodun tartışılan bir diğer zayıf yönüdür. Ancak günümüzde en güvenilir PCDD/F analiz metodu olarak gösterilen HRGC/HRMS ile karşılaştırıldığında, NCI modülü ile işletilen düşük çözünürlüklü MS sistemlerinin kurulum ve işletim maliyetlerindeki azlık ve sağladığı büyük hassasiyet bu metodun geliştirilmesini teşvik eden en önemli nedenler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışmada; kütle spektrometresi üzerinde EI iyonizasyon modülü takılı olan bir yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi ve düşük çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRGC/LRMS) sisteminin iyon kaynağının negatif kimyasal iyonizasyon için kullanılan bir iyon kaynağı ile değiştirilerek işletilmesi ve bu işletim sırasında sistemde uygulanacak çevresel numunelerdeki PCDD/F analizleri için sağlanacak hassasiyetin ve stabilitenin konjener bazında değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçla; tez kapsamında kullanılan sistem üzerindeki önemli değişkenler kontrol altında tutularak etiketsiz bir standart çözelti yardımıyla sistemin 17 PCDD/F konjenerine verdiği tepkiler ölçülmüş ve kalibrasyon çalışmaları yürütülmüştür. Kalibrasyon çalışmalarında elde edilen sonuçların karşılaştırılabilmesi için farklı zamanlarda yapılan 3 farklı kalibrasyon çalışması bir arada değerlendirilmiştir. Yapılan enjeksiyonlar sonucunda elde edilen ölçüm limiti, RRT ve RRF değerleri her bir konjener için ayrı ayrı değerlendirilmiş ve yorumlanmıştır.

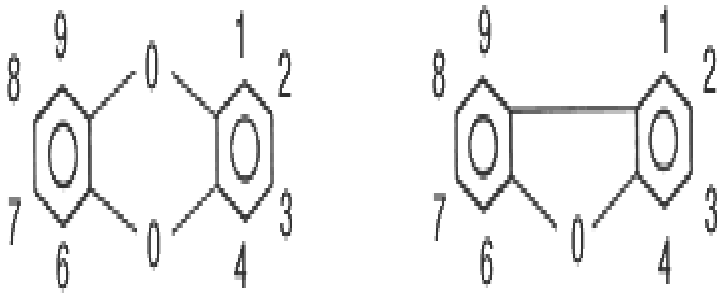
Çalışmanın ilk bölümünde; poliklorlu dibenzo-p-dioksinler ve dibenzofuranların fiziksel ve kimyasal özellikleri, oluşum mekanizmaları ve potansiyel kaynakları, çevredeki dağılımları ve insanlar üzerindeki olumsuz sağlık etkileri gibi konularda bazı bilgiler sunulmuş olup bu bilgiler bölüm 2 başlığı altında toplanmıştır. Bölüm 3'de dioksin analizleri için gerekli olan en düşük hassasiyetin daha iyi anlaşılabilmesi için hava, toprak, bitki örtüsü, gıda maddeleri ve sedimentlerdeki PCDD/F bileşiklerinin seviyeleri hakkında bazı literatür bilgileri sunulmuş olup, bu konsantrasyon seviyelerinin ne gibi sistemlerle ve ne şekilde analiz edildiği kısaca özetlenmiştir. Ardından dioksin analizlerinde kullanılan ve en uygun metot olarak bilinen GC/MS sistemlerinin her iki bileşeni de (gaz kromatografisi ve kütle spektrometrisi) 4. bölümde detaylı bir şekilde anlatılmıştır. 5. bölümde; çalışmanın deneysel kısmında kullanılan ve amacını teşkil eden kimyasal iyonizasyon tekniği ve bu tekniğin bir alt kolu olan negatif kimyasal iyonizasyon yöntemi (NCI) ile ilgili genel bilgiler sunulmuştur. Teorik altyapısı bu şekilde oluşturulan çalışmanın 6. bölümünde tez kapsamında yürütülen deneysel çalışmalar detaylı bir şekilde sunulmuştur. Çalışmanın son bölümünde, deneysel çalışmalar ile elde edilen bulguların literatür bilgileri ile bir arada değerlendirilmesi ile ulaşılan çeşitli sonuçlar sunulmuş ve bu sonuçlar değerlendirilmiştir.

BÖLÜM 2.POLİKLORLU DİBENZO-P-DİOKSİN VE DİBENZOFURANLAR

2.1. Genel Yapıları

20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren US EPA ve WHO gibi çevre araştırmaları konusunda büyük etkinliğe sahip kuruluşlar tarafından kamuoyuna "bilinen en toksik kimyasal maddelerden biri" olarak yansıtılan dioksin türevleri günümüze kadar önemini korumuş ve üzerinde çok ciddi çalışmaların yapıldığı bir konu haline gelmiştir.

Halk arasında çok yaygın bir şekilde kullanılan "dioksin" terimi genel olarak poliklorludibenzo-para-dioksinler (PCDDs) ve poliklorludibenzo furanlar (PCDFs) olarak bilinen bir kimyasal madde grubunu tanımlamak için kullanılır. Her iki bileşen grubunda da moleküller birbirlerine oksijen atomları ile bağlanmış iki benzen halkası içerirler. PCDD formlarında benzen halkaları iki oksijen köprüsü ile bağlanırken PCDF formlarında bu bağlanma bir karbon bağı ve bir oksijen köprüsü ile sağlanmaktadır. Şekil 2.1'te PCDD ve PCDF bileşiklerinin temel yapıları ve bu yapı üzerinde bulunan benzen halkalarına klor veya herhangi başka bir halojenin hidrojen atomları ile yer değiştirmek suretiyle bağlanabileceği pozisyonlar numaralarla gösterilmiştir (HMIP, 1996).



PCDDs **PCDFs**

Şekil 2.1: Poliklorludibenzo-p-dioksinler ve poliklorludibenzo furanların yapısı

Poliklorlu dibenzo-p-dioksinler ve furanlar (PCDD/Fs) yani kısaca dioksinler; çok benzer fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip halkalı, klorlu organik bileşiklerdir. Bu kimyasal gruplara ait moleküller içerisindeki klor atomlarının sayısı konumsal izomerlerin geniş ölçekli sayısını ortaya çıkarır. Dioksin grubuna ait her bir molekül "konjener" olarak adlandırılmakta olup toplamda 75 PCDD konjeneri ve 135 PCDF konjeneri mevcuttur. Bu konjenerler arasında aynı klor atom sayısına sahip olanlar ise "homolog" olarak adlandırılır. Homolog grupları genel olarak örneğin dört klorlular için (Tetraklora) TCDD veya TCDF, altı klorlular için (Hekzaklora) HxCDD ve ya HxCDF, tüm olası bağ konumlarında klor atomu bulunan sekiz klorlu homolog grubu için (Oktaklora) ise OCDD ve ya OCDF gibi kısaltmalarla adlandırılır. Tablo 2.1'de dioksin bileşiklerinin 1-8 aralığında değişen klor atomu sayısına bağlı olarak değişen homolog grupları ve toplam konjener sayıları verilmiştir.

Tablo 2.1: Dioksin bileşiklerinin klor sayıları, homolog isimleri ve her bir homolog grubuna ait konjener sayıları

Klor Atomlarının Sayısı	**Homolog (Kısaltma)**	**PCDD İzomerlerinin Sayısı**	**PCDF İzomerlerinin Sayısı**
1	Monokloro (M)	2	4
2	Dikloro (D)	10	16
3	Trikloro (Tr)	14	28
4	Tetrakloro (T)	22	38
5	Pentakloro (Pe)	14	28
6	Hekzakloro (Hx)	10	16
7	Heptakloro (Hp)	2	4
8	Octakloro (O)	1	1
TOPLAM KONJENERLER		**75**	**135**

210 adet olası PCDD/PCDF konjenerinin toplamı arasından 17 adet izomer toksisiteleri ile ön plana çıkar. Bu izomerlerin en önemli ortak özelliği 2,3,7 ve 8 numaralı halojen bağlanabilir konumlarının hepsinin klor atomuyla bağlanmış olmasıdır. Sözü edilen bu 17 konjener arasından en yüksek akut toksisiteye sahip konjener ise 2,3,7,8- tetraklora dibenzo-p-dioksin olarak bilinmektedir (guinea-pig

için 1 mikrogram/kg LD_{50}). 2,3,7,8–TCDD bileşenin akut toksisitesinin diğer bazı zehirli maddelerle karşılaştırılabilmesi için değişik kaynaklardan derlenen bazı zehirli kimyasalların LD_{50} (Lethal Doze 50) değerleri Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2: Bazı zehirli kimyasalların LD_{50} değerleri

BİLEŞİK	**MOLEKÜLER AĞIRLIĞI**	**Lethal Doz (mikrog/kg)**
Botulinus-Toksin A	900000	0,00003
Tetanus-Toksin	100000	0,0001
Diphteria-Toksin	72000	0,3
2,3,7,8-TCDD	322	1
Curare	696	500
Stirisin	334	500
Sodyum Siyanit	49	10000

2.2. PCDD/F Bileşiklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Dioksin bileşenlerinin belli başlı fiziksel ve kimyasal özellikleri; bu bileşenlerin doğada bulunma şekilleri, insanlar üzerindeki olumsuz etkileri, taşınım mekanizmaları ve saptanmalarına yönelik olarak geliştirilen analitik metotlar üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Poliklorlu dibenzo-p-dioksin (PCDD) ve dibenzofuran (PCDF) bileşiklerinin hemen hemen bütün özellikleri birbirleri ile büyük benzerlikler gösterdiği için bu bileşikler çoğu kaynakta ortak bir başlık altında ele alınır. PCDD/F bileşiklerinin kendilerine has fiziksel-kimyasal özelliklerinin bir sonucu olarak ortaya çıkan ve hemen her kaynakta bulunabilecek en genel PCDD/F davranışlarını şu şekilde özetlemek mümkündür.

PCDD/F bileşikleri;

- Yüksek kimyasal, termal ve biyolojik stabilite,
- Suda düşük, yağda yüksek çözünürlük,
- Asit ve bazlara karşı yüksek dayanıklılık, biyoakümülasyon potansiyeli yüksek,

- Düşük buhar basınçları ve su çözünürlükleri, güçlü toprak adsorbsiyonu ve hidrofobiklikleri gibi özellikleri nedeniyle toprak ekosistemlerindeki hareketlilikleri çok zayıf,
- UV radyasyonu ile parçalanabilme gibi genel özelliklere sahiptir.

Dioksinler genel olarak; yüksek erime noktası (>593 K), düşük buhar basıncı (atmosferik basınç altında < 10^{-6}), düşük su çözünürlüğü ve yüksek lipofililik gibi özelliklerle anılırlar. Bu özelliklerinin bir yansıması olarak dioksin birikimi organik maddeler ve canlıların yağ dokularında meydana gelir. Dioksin bileşenlerinin son durakları sedimentler olarak bilinir ve sucul ortamlardaki düşük PCDD/F konsantrasyonları katı partüküller, kolloidler ve organik maddeler üzerinde bağlıdır. Yüksek fiziksel, kimyasal ve biyolojik stabiliteleri nedeniyle fotoliz, biodegradasyon ve uçuculuk gibi özellikleri çok zayıftır. Toprak ekosistemlerinde biriken PCDD/F bileşiklerinin sızıntı yapmaları, çözücülerin bulunma durumları haricinde beklenen bir durum değildir. Ancak erozyon ve yüzeysel akış gibi etmenlerin dioksin hareketliliği üzerinde etkili olduğu bilinmektedir.

Önceden de bahsedildiği gibi dioksin bileşenlerinin analizine yönelik olarak yapılacak her hangi bir çalışmada bu bileşenlerin özellikleri hakkında yeterli bir bilgi sahibi olmak son derece önemli bir konu olduğundan, çalışmanın bu kısmında PCDD/F bileşiklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri incelenecektir.

2.2.1. PCDD/F bileşenlerinin çözünürlükleri

Çözünürlük; bir bileşenin belli miktarda bir çözelti içerisindeki çözünebilme kapasitesi olarak tanımlanır ve özellikle kalıcı organik kirleticilerin doğada ne gibi ortamlarda birikim yapacağını gösteren bir özelliktir. PCDD/F bileşiklerinin çözünebilme kapasitelerini genel olarak suda çözünebilme ve solventlerde çözünebilme olarak iki ayrı şekilde ele almak mümkündür. Özellikle yüksek klor sayılı konjenerler olmak üzere tüm dioksin bileşenlerinin sudaki çözünürlükleri çok düşüktür. Bu tip bileşikler sucul ortamlarda partükül maddelere adsorbe olma ve sediment tabakasında birikme eğilimi gösterirler. Tablo 2.3'de bazı dioksin bileşenlerinin sudaki çözünürlük değerleri verilmektedir. PCDD/F bileşiklerinin

çözücü maddeler (solvent) içerisindeki çözünebilme kapasiteleri sudaki çözünürlüklerden farklıdır. Tablo2.4'de 2,3,7,8-TCDD'nin farklı çözücülerdeki çözünürlükleri verilmektedir.

Tablo 2.3: Bazı PCDD konjenerlerinin sudaki çözünürlükleri (IPCS,1989)

BİLEŞEN	**Sudaki Çözünürlük (gr/L)**	
	20.0 C^0	**40.0 C^0**
1,3,6,8-TCDD	(3.2 ± 0.2) x 10^{-7}	(3.9 ± 0.4) x 10^{-7}
1,2,3,7-TCDD	(4.3 ± 0.1) x 10^{-7}	(12.7 ± 0.8) x 10^{-7}
1,2,3,4,7-PeCDD	(1.2 ± 0.1) x 10^{-7}	(4.6 ± 0.1) x 10^{-7}
1,2,3,4,7,8-HxCDD	(4.4 ± 0.1) x 10^{-7}	(19.0 ± 0.1) x 10^{-7}
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	(2.4 ± 0.1) x 10^{-7}	(6.3 ± 0.2) x 10^{-7}
OCDD	(0.4 ± 0.1) x 10^{-7}	(2.0 ± 0.2) x 10^{-7}

Tablo 2.4: 2,3,7,8-TCDD konjenerinin çeşitli çözücü maddeler içerisindeki çözünürlüğü (IPCS,1989)

ÇÖZÜCÜ	**Çözünürlük (25 C^0)**	
	gr/L	**gr/kg**
O-Diklorobenzen	1,8	1,4
Klorobenzen	0,8	0,72
Pekloroetilen	0,68	0,48
Kloroform	0,55	0,37
Benzen	0,47	0,57
Aseton	0,09	0,11
Dimetilsülfoksit	<0,1	<0,1
Methanol	0,01	0,01
Su	2 x 10^{-7}	2 x 10^{-7}

2.2.2. PCDD/F bileşiklerinin buhar basınçları

Buhar basıncı parametresi çevresel kirleticilerin doğadaki hareket mekanizmaları ve davranışlarını anlamak için son derece önemli bir parametredir. PCDD/F bileşiklerinin buhar basınçlarını saptamaya yönelik olarak yapılmış pek çok çalışma mevcut olmakla birlikte bu çalışmaların büyük çoğunluğu toksikolojik öneme sahip olan 2,3,7,8 sübstientli konjenerler için yapılmıştır.

Buhar basıncı herhangi bir kirleticinin hava, hava partükülleri, su, toprak ve bitkiler üzerindeki dağılımlarını anlayabilmek için çok sık kullanılan bir parametredir. Bir kirleticinin uçuculuk potansiyelini belirlemede kullanılan en önemli parametre buhar basıncıdır. Bu parametreyi katı buhar basıncı (P_S) ve sıvı buhar basıncı (P_L) olarak iki kısımda incelemek mümkündür. Kirleticilerin sıvı buhar basıncı değerleri P_L; bu bileşiklerin ekosistemlerdeki davranışlarını iyi bir şekilde karakterize edebildiği için özel bir öneme sahiptir. Tablo2.5'da PCDD/F bileşiklerinden bazılarının 25 C^0 deki P_S değerleri ile birlikte erime noktası T_m, buharlaşma entalpileri (T_m değerindeki ΔH_{vap}) ve buharlaşma reaksiyonu için ısı kapasitelerindeki değişimler (Δc_p) gibi bazı fizikokimyasal parametreler sunulmuştur (Mai, 2005).

Tablo 2.5: Bazı PCDD/F bileşiklerinin 25 C^0 deki buhar basınçları (Mai, 2005)

BİLEŞİK	**Log P_S^0 (Torr)**	**T_m (Kelvin)**	**ΔH_{vap} (kJ/mol^{-1})**	**Δc_p (J/mol^{-1} K^{-1})**
2,8 – DiCDD	- 4.95 (± 0.05)	424	84,1	-104,5
1,2,4 – TriCDD	- 5.42 (± 0.08)	402	83,9	-100
1,2,3,4 – TCDD	- 6.77 (± 0.11)	463	85,6	-95,6
2,3,7,8 – TCDD	- 8.38 (± 0.16)	579	79,9	-95,6
1,2,4,7,8-PeCDD	- 7.71 (± 0.08)	479	91,8	-91,2
1,2,3,7,8-PeCDD	- 8.00 (± 0.38)	514	88,7	-91,3
2,8 – DiCDF	- 5.10 (± 0.08)	458	74,2	-78,7
2,4,6 – TriCDF	- 5.16(± 0.05)	390	84,2	-74,3
2,3,8 – TriCDF	- 5.73 (± 0.07)	464	78,8	-74,3
1,3,7,8 – TCDF	- 6.58 (± 0.09)	Veri yok	Veri yok	-69,8
2,3,7,8 – TCDF	- 6.90 (± 0.13)	501	80,3	-69,8
1,2,3,7,8-PeCDF	- 8.09 (± 0.10)	500	83,8	-65,4
2,3,4,7,8 -PeCDF	- 7.31 (± 0.07)	470	85,8	-65,4

Sıvı buhar basıncı değeri P_L ise Kirşof Denklemi olarak bilinen 2.1 numaralı denklikten bulunur. Denklem 2.1'deki P_L değeri sıcaklığın bir fonksiyonu olup denklikteki A,B ve C değerleri 2,3,7,8 sübstientli 17 dioksin konjeneri için Tablo 2.6'de verilmiştir.

$$\text{Log } P_L^0 \text{ (T)} = (A–B)/T + C \log T \quad (2.1)$$

2.2.3. PCDD/F bileşikleri için henry sabitleri

Henry sabiti dioksin bileşenlerinin topraktan havaya ya da havadan bitkilere geçişi gibi dönüşüm mekanizmalarının tahmininde çok sık kullanılan bir parametredir. Bu sabitin dioksin bileşenleri için hesaplanması adına yapılmış pek çok çalışma mevcut olup bu çalışmalarda dioksinler için henry sabiti ve sıvı buhar basınçları arasında güçlü bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Bu korelasyon Denklem 2.2 deki ampirik ifade ile gösterilmektedir. 2,3,7,8 substientli dioksin konjenerleri için hesaplanmış henry sabitleri Tablo 2.7'de verilmiştir.

$$\log H \text{ (298 K)} = 0.291 \log P_L^0 + 1.31 \quad (2.2)$$

Tablo 2.6: Sıcaklığa bağlı sıvı buhar basıncının kirşof denkleminden hesaplanmasında kullanılan sabitlerin 17 PCDD/F konjeneri için aldığı değerler (Mai, 2005)

KONJENER	A	B	C
2,3,7,8 –TCDD	46,89	7061	-11,499
1,2,3,7,8-PeCDD	44,87	7079	-10,971
1,2,3,4,7,8-HxCDD	42,99	7132	-10,437
1,2,3,6,7,8-HxCDD	42,96	7132	-10,437
1,2,3,7,8,9-HxCDD	42,90	7130	-10,437
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	40,88	7142	-9,904
OCDD	38,26	6985	-9,370
2,3,7,8 – TCDF	35,91	6019	-8,399
1,2,3,7,8-PeCDF	34,15	6081	-7,865
2,3,4,7,8-PeCDF	33,99	6084	-7,865
1,2,3,4,7,8-HxCDF	32,14	6106	-7,332
1,2,3,6,7,8-HxCDF	32,12	6108	-7,332
1,2,3,7,8,9-HxCDF	31,92	6114	-7,332
2,3,4,6,7,8-HxCDF	31,99	6108	-7,332
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	30,03	6090	-6,798
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	29,69	6089	-6,798
OCDF	27,96	6148	-6,267

Tablo 2.7: 17 adet 2,3,7,8 substientli dioksin izomeri için Henry sabitleri

BİLEŞEN	Log H
2,3,7,8 –TCDD	2,79
1,2,3,7,8-PeCDD	2,83
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2,84
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2,84
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3,08
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	3,08
OCDD	3,29
2,3,7,8 – TCDF	2,57
1,2,3,7,8-PeCDF	2,72
2,3,4,7,8-PeCDF	2,59
1,2,3,4,7,8-HxCDF	2,72
1,2,3,6,7,8-HxCDF	2,72
1,2,3,7,8,9-HxCDF	3,02
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2,75
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2,85
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	3,00
OCDF	3,11

2.2.4. PCDD/F bileşikleri için oktanol/su bölümlenme katsayısı (K_{ow})

Oktanol/Su Bölümlenme Katsayısı; belirli bir sıcaklık ve sabit çevre şartlarında bir kimyasalın oktanol ve su fazlarındaki konsantrasyonlarının oranı olarak bilinen bir parametredir. Bu parametre pek çok çevre uygulamasında yaygın bir kullanım alanına sahip olup çoğu çevresel modelleme ve tahmin çalışmalarında yararlanılan bir büyüklüktür. Bu parametrenin büyük olduğu durumlarda söz konusu kirleticilerin organik fazlarda bağlanabilme eğiliminde olduğu ve biyoakümülasyon potansiyellerinin arttığı gibi bazı yorumlar yapılır. Literatürde K_{ow} şeklinde bir kısaltma ile kullanılan bu parametre aynı zamanda kirleticilerin sudaki çözünürlük değerleri ile güçlü bir ilişkiye sahiptir. Dioksin bileşenlerinin köklü bitkilerdeki toprak alım değerlerinin tahmini gibi modelleme çalışmalarında da sık kullanılan bir parametre olduğu için PCDD/F konjenerlerinin K_{ow} değerlerinin saptanmasına yönelik pek çok çalışma yapılmış ve özellikle 2,3,7,8 sübstientli 17 dioksin konjeneri için K_{ow} değerleri pek çok kez doğrulanmıştır. 17 adet toksik PCDD/F bileşeni için literatürde verilen K_{ow} değerleri Tablo 2.8'de sunulmuştur.

Tablo 2.8: 17 adet 2,3,7,8 substientli dioksin izomeri için K_{ow} değerleri

BİLEŞEN	Log K_{ow}
2,3,7,8 –TCDD	7,02
1,2,3,7,8-PeCDD	7,50
1,2,3,4,7,8-HxCDD	7,80
1,2,3,6,7,8-HxCDD	7,80
1,2,3,7,8,9-HxCDD	7,80
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	8,20
OCDD	8,60
2,3,7,8 – TCDF	6,50
1,2,3,7,8-PeCDF	7,00
2,3,4,7,8-PeCDF	7,00
1,2,3,4,7,8-HxCDF	7,50
1,2,3,6,7,8-HxCDF	7,50
1,2,3,7,8,9-HxCDF	7,50
2,3,4,6,7,8-HxCDF	7,50
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	8,00
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	8,00
OCDF	8,00

Tablodan da anlaşılacağı üzere artan klor atomu sayısı ile birlikte K_{ow} değerleri de artmaktadır. Bu değerler göz önünde bulundurulduğunda özellikle yüksek klor sayısına sahip PCDD/F bileşiklerinin topraktaki organik maddelere güçlü bir adsorblanma eğiliminin varlığı ve bu kirleticilere maruz kalacak her türlü canlının özellikle yağ dokularında birikme potansiyellerinin yüksek olduğu gibi sonuçlar çıkarmak mümkündür.

2.2.5. PCDD/F bileşikleri için organik karbon bölümlenme katsayısı (K_{oc})

Pek çok kirletici için olduğu gibi PCDD/F bileşiklerinin ekosistemlerdeki taşınım mekanizmalarının ortaya çıkarılmasında da çok sık kullanılan bir parametre olan toprak bölümlenme katsayısı, özellikle PCDD/F konjenerlerinin su kütlesi ve askıda katı maddeler arasındaki bölümlenme oranlarını ifade eden adsorbsiyon bölümlenme katsayılarının tahmini ve kirlenmiş topraklardaki bitkilerin alt yüzeyindeki konsantrasyonların tahmini gibi modelleme konularında kullanılan bir büyüklüktür. PCDD/F bileşiklerinin biyolojik olarak bulunma koşulları ve genel davranış biçimleri büyük oranda katı ve sıvı fazlar arasındaki bölümlenmelerine bağlı olduğundan bu parametre daha da büyük önem kazanır. Örnek bir genelleme yapmak gerekirse; dioksin bileşenleri gibi suda çözünebilme yeteneği zayıf ve adsorbsiyon katsayıları

yüksek kirleticilerin sucul ortamlarda baskın bir şekilde askıda katılar üzerinde bağlı olarak bulunduğunu söylemek mümkündür. Tablo 2.9'da 17 adet toksik dioksin konjeneri için elde edilmiş K_{oc} değerleri verilmektedir.

2.2.6. PCDD/F bileşiklerinin fotolozi

Fotodegredasyon PCDD/F bileşiklerinin çevredeki abiyotik taşınımında önemli bir parametredir. PCDD/F bileşiklerinin fotoliz yarılanma ömrü fotokimyasal bozunma ve parçalanma reaksiyonlarının karekterize edilmesinde kullanılan en önemli büyüklüktür ve PCDD/F bileşikler için yapılan risk yönetimi çalışmalarında vazgeçilmez bir öneme sahiptir. Tablo 2.10'da 17 adet toksik PCDD/F konjeneri için saptanmış fotolitik yarılanma ömürleri ($t_{1/2}$) verilmektedir. Bugüne kadar yapılmış pek çok çalışmada PCDD/F bileşenlerinin direkt fotoliz, fotokatalitik süreçler ve biyolojik parçalanma gibi etkileşimlerle parçalanmasında deklorinizasyon işleminin baskın olduğu açıklanmıştır (Mai, 2005).

Tablo 2.9: 17 adet 2,3,7,8 substientli dioksin izomeri için K_{oc} değerleri

BİLEŞEN	**Log K_{oc}**
2,3,7,8 –TCDD	6,4-7,2
1,2,3,7,8-PeCDD	6,6-7,5
1,2,3,4,7,8-HxCDD	7,1-7,6
1,2,3,6,7,8-HxCDD	7,4-7,7
1,2,3,7,8,9-HxCDD	6,6-8,2
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	7,5-7,9
OCDD	6,8-7,9
2,3,7,8 – TCDF	7,0-7,5
1,2,3,7,8-PeCDF	7,4-8,0
2,3,4,7,8-PeCDF	7,2-7,8
1,2,3,4,7,8-HxCDF	7,4-8,0
1,2,3,6,7,8-HxCDF	7,4-8,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-
2,3,4,6,7,8-HxCDF	6,8-7,7
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	7,9-8,3
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	6,7-7,9
OCDF	7,4-8,3

Tablo 2.10: 17 adet 2,3,7,8 substientli dioksin izomerinin temiz bitki yüzeyleri için saptanmış fotolitik yarılanma ömürleri (t = h) (Mai, 2005)

BİLEŞEN	Log $t_{1/2}$
2,3,7,8 –TCDD	1,74
1,2,3,7,8-PeCDD	1,76
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1,96
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1,88
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1,97
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1,92
OCDD	2,02
2,3,7,8 – TCDF	1,66
1,2,3,7,8-PeCDF	1,74
2,3,4,7,8-PeCDF	-
1,2,3,4,7,8-HxCDF	-
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1,87
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1,90
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1,85
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1,93
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1,93
OCDF	2,00

2.3. PCDD/F Bileşiklerinin Oluşum Mekanizmaları ve Potansiyel Kaynakları

Dioksin bileşenlerinin kaynakları, doğaya salınım miktarları ve bu salınım sonrasındaki haraketliliklerinin saptanmasına yönelik olarak yapılmış tüm çalışmalarda dikkat çekilen en önemli nokta; bu bileşenlerin doğadaki birikimine neden olan en önemli etmenin her türlü yanma olaylarını kapsayan insan faaliyetleri olduğu ve doğal oluşum mekanizmalarının insan faaliyetleri neticesinde oluşan dioksin birikiminin yanında çok ama çok düşük seviyelerde olduğudur. PCDD/F bileşiklerinin laboratuar çalışmalarında kullanımı dışında herhangi bir ticari amaçla üretimine henüz rastlanmamıştır. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda dioksin bileşenlerinin oluşumu genel olarak yanma olayı üzerinde odaklanır ve bu olay sırasında PCDD/F bileşenlerinin ne gibi oluşum mekanizmalarının etkisinde atmosfere salındığının ayrıntılı bir şekilde ortaya çıkarılması büyük önem taşır. PCDD/F bileşiklerinin yanma olayı sırasında oluşumuna dair literatürde genel olarak tanımlanan ve birbirleri ile iç içe girmiş (1) PCDD/F bileşiklerinin yakılan atığın içerisinde bulunması, (2) PCDD/F bileşiklerinin öncül bileşiklerden oluşması ve (3) De nova oluşumu şeklinde 3 teori mevcuttur ve bunlar Karademir (2002) tarafından şu şekilde özetlenmiştir:

(1) Yakma sistemine beslenen atık madde PCDD/F içeriyor olabilir ve bunun bir kısmı yanma ısısınca sağlanan ısıl gerilimden etkilenmeyip bacadan atmosfere atılır. Bu teori, dioksin ve furan oluşumunun en doğru açıklaması sayılmasa da (bu emisyonların oluşumunda diğer iki kuramın baskın olduğu düşünülür) dioksin benzeri PCB'lerin emisyonunu açıklayabileceği düşünülen en basit teoridir.

(2) PCDD/F'ler öncül bileşiklerin ısıl parçalanmaları ve ardından moleküler olarak yeniden düzenlenmeleri sonucu oluşabilirler. Bu öncül bileşikler yapısal olarak PCDD/F moleküllerine benzeyen klorlu aromatik hidrokarbonlardır. Tanımlanan öncül bileşikler arasında poliklorlu bifeniller (PCB'ler), klorlu fenoller (CP'ler) ve klorlu benzenler (CB'ler) bulunmaktadır. PCDD/F'lerin oluşumunun öncül bir bileşiğin kondanse olarak uçucu kül partüküllerinin yüzeyindeki tutunma bölgelerine adsorplanması sonucunda olduğu düşünülür. Uçucu kül partüküllerinin yüzeylerindeki aktif bölgeler kimyasal reaksiyonları teşvik ederek PCDD/F'lerin oluşumuna yol açar. Bu reaksiyonların partüküllere sorbe olmuş inorganik klorürlerin varlığı ile katalizlendiği gözlenmiştir. 250-450 ^{o}C aralığındaki sıcaklıkların bu reaksiyonların oluşması için gerekli bir koşul olduğu; bundan daha düşük ya da daha yüksek sıcaklıkların ise prosesi engellediği tanımlanmıştır. Dolayısıyla, öncül teorisi sıcaklıkların bu aralıkta olduğu, yakma sisteminin çıkış kısmına ve yakma odasının yüksek sıcaklıklı bölgesinin dışına odaklanır. Bu kısımlar, organik maddelerin yanmasından kaynaklanan gaz ve buharların bacaya, ısı eşanjörüne, kaynama kazanlarına ya da hava kirliliği kontrol ekipmanlarına doğru hareket ederken soğumaya uğradığı bölümlerdir.

(3) PCDD/F'ler, (2)'de tanımlanan ve soğuk bölge denen kısımlarda "de novo" olarak sentezlenebilirler. Bu teoriye göre PCDD/F'ler, moleküler yapı bakımından kendilerine benzemeyen maddelerden oluşmaktadırlar. Daha açıkça söylenirse, bunlar öncül maddeler değildirler ve petrol ürünleri, klorlu plastikler (PVC'ler), klorlu olmayan plastikler (polistiren), selüloz, lignin, kok, kömür, partükül karbon ve hidrojen klorür gazı gibi birbirinden farklı maddelerdir. PCDD/F oluşumu, bir klor vericisi (pre-dioksin molekülüne bir klor atomu sağlayan bir molekül) ile bir kimyasal ara maddenin klorlanmasını, yani öncülün oluşmasını gerektirir. (2) ve (3) no.lu teoriler arasındaki temel farklılık, (2)'de beslenen atıkta bir öncül madde

olması gerekiyor iken, (3)'te öncül olarak tanımlanmayan ayrı bir maddenin yanması sonucunda önce öncüllerin ve sonunda da dioksin benzeri moleküllerin oluşmasıdır (Karademir, 2002).

Yanma süreçleri sırasında yukarıda sözü edilen 3 genel oluşum teorisinin bir ve ya bir kaçının ortak bir ürünü olarak oluşan dioksinler çeşitli kaynaklardan atmosfere salınırlar. Literatürde sıklıkla üzerinde durulan dioksin kaynaklarını; katı ve tehlikeli atıkların, arıtma çamurlarının ve klinik atıkların yakılması (insinerasyon), yüksek sıcaklıkta çelik üretimi, ergitme işlemleri, metal geri dönüştürme fırınları, kömür ve petrol ürünlerinin yakıldığı güç santralleri, klor ve klorlu organik bileşiklerin üretildiği sanayi dalları gibi endüstriyel süreçlerin yanı sıra orman yangınları ve yanardağ patlamaları gibi doğal olaylar olarak özetlemek mümkündür. Ayrıca klorlu bileşikler içeren pestisitlerin kullanımı, motorlu araçlar ve dioksin bileşenleri ile kontamine olmuş ekosistem öğelerinden difüzyon yoluyla tekrar atmosfere salınım olayları da birer dioksin kaynağı olarak gösterilmektedir. EPA (2003) tarafından ABD'de en önemli dioksin kaynaklarının envanterini çıkartmaya yönelik olarak yapılan bir sınıflandırmaya göre en önemli dioksin kaynakları 5 ayrı grupta toplanabilir.

1- Yanma Kaynakları:

PCDD/F bileşikleri pek çok yanma sürecinde oluşurlar. Bu yanma süreçleri; atık insinerasyonu (kentsel katı atık, arıtma çamuru, klinik ve tehlikeli atıklar), kömür, ağaç ve petrol ürünleri gibi çeşitli yakıtların yakılması, çimento fırınları gibi diğer yüksek sıcaklık kaynakları ve orman yangınları, bina yangınları ve atıkların açık yakılması gibi kontrolsüz yakma işlemleri olarak gösterilebilir.

2- Metal Eritme, Temizleme ve İşleme Kaynakları:

PCDD/F bileşikleri demir madeni sinterleme, çelik üretimi ve metal geri dönüşümü gibi birincil ya da ikincil metal işlemleri sırasında oluşabilirler.

3- Kimyasal Üretimi:

PCDD/F bileşikleri, klorla ağartılmış ağaç hamuru, klorlu fenoller (pentaklorafenol gibi), poliklorlubifeniller, fenoksiherbisitler (2,4,5-T gibi) ve dikloraetilen gibi klorlu alifatik bileşiklerin üretimi sırasında ara ürünler olarak ortaya çıkabilirler.

4- Biyolojik ve Fotokimyasal Süreçler:

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar belli çevresel şartlar altında klorlu fenol bileşikleri üzerinde mikroorganizma faaliyetleri sonucunda PCDD/F bileşiklerinin oluşabildiği rapor edilmiştir. Aynı şekilde yüksek klorlu fenol bileşiklerinin fotolizinin de dioksin oluşumunda etkili olabileceği belirtilmektedir (EPA, 2003).

5- Rezervuar Kaynaklar:

PCDD/F bileşiklerinin kalıcı ve hidrofobik yapıları, toprakta, sedimentlerde, organik maddede birikim yapmalarına ve atık bertarafı alanlarında yıllarca bozunmadan kalmalarına neden olur. "Rezervuar" denilen bu ortamlardaki dioksin bileşikleri tozlar veya sedimentlerin yeniden süspanse olarak taşınmasıyla doğada yeniden dağılabilirler. Bunlar global düzeyde önemli bir kaynak olmamakla birlikte, yerel bazda önem kazanabilirler. Örneğin, sedimentlerden uçuculaşma ile doğal yollardan ya da değişik sondaj işlemleri sonucunda dioksinler ortaya çıkabilir. Birikim yoluyla havadan yapraklar üzerine gelen dioksinler orman yangınlarında ya da yaprak kompostlama işlemlerinde yeniden hareketlilik kazanabilirler (Karademir, 2002).

Çeşitli ülkelerde yapılan araştırmalar sözü edilen tüm bu kaynaklardan yayılan PCDD/F emisyonlarının miktarlarının toplam emisyon miktarı üzerindeki payının ülkeden ülkeye farklılıklar gösterdiğini vurgulamakta ise de genel olarak atık yakma işlemleri sonucunda çevreye yayılan PCDD/F emisyonlarının en baskın emisyon kaynağı olduğunu söylemek mümkündür. Bu konuda yapılmış çok sayıda çalışma olmakla birlikte bir karşılaştırma yapabilmek açısından aşağıda iki farklı kaynaktan alınmış veriler sunulmuştur. Tablo 2.11'de 1997 yılında İngiltere'de yapılan bir PCDD/F emisyon envanterinin sonuçları, Tablo 2.12'de ise EPA tarafından 1994

yılında yayınlanmış bir rapordan Karademir (2002) tarafından alınmış olan farklı ülkeler için oluşturulmuş bir envanter çalışmasının sonuçları sunulmuştur.

Tablo 2.11: İngiltere'de 1997 yılında farklı kaynaklardan yayılan toplam PCDD/F emisyonları (Rada et al., 2006)

KAYNAK	**EMİSYON (gram I-TEQ/yıl)**
Güç İstasyonları (kömür ve petrol)	12
Endüstriyel Kömür Yakma	7
Evsel Kömür Yakma	14
Endüstriyel Odun Yakma	16
Evsel Odun Yakma	10
Kömür Üretimi	1
Sinterleme Ünitesi	43
Elektrik Ark Fırınları (demir ve çelik)	9
Demirsiz Metal Üretimi	22
Kimya Endüstrisi	14
Evsel Atık Yakma Tesisleri	11
İnsenerasyon – Kimyasal Atık	4
İnsenerasyon – Klinik Atık	24
İnsenerasyon – Arıtma Çamuru	3
Taşımacılık	12
Yangınlar ve Kontrolsüz Zirai Yakma	64
TOPLAM	**254**

Tablo 2.12: Çeşitli ülkeler için atmosfere atılan PCDD/F bileşenlerinin tahmini değerleri (Karademir, 2002)

Emisyon Kaynakları	Almanya (gr TEQ.y^{-1})	Avusturya (gr TEQ.y^{-1})	İngiltere (gr TEQ.y^{-1})	Hollanda (gr TEQ.y^{-1})	İsviçre (gr TEQ.y^{-1})	ABD (gr TEQ.y^{-1})
Endüstriyel ve Evsel Prosesler						
Kağıt Endüstrisi	-	4	-	-	1-5	2.7
Evsel Çamur İnsinerasyonu	0.01-1.1	<1	-	0.3	-	23
Kimyasal Üretim İşlemleri						
Organik Kimyasallar	-	-	-	0.5	-	-
Yakma ve İnsinerasyon Kaynakları						
Evsel Atık İnsinerasyonu	5.4-432	3	1150	382	90-150	3000
Tehlikeli Atık İnsinerasyonu	0.5-72	6	11	16	<1	35
Klinik Atık İnsinerasyonu	5.4	4	32	2.1	2-3	5100
Çimento Fırınlar	-	-	-	-	-	350
Metalürji İşlemleri						
Lastik Yakma	-	-	-	-	-	0.3
Demir Ergitme/Saflaştırma	1.3-18.9	19[a]	-	30	6-16	-
Diğer Metalleri Ergitme/Saflaştırma	38-380	-	-	-	-	230
Atık Elektrik Kablolarının Geri Kazanımı	-	-	-	1.5	-	-
Varil İşlenmesi	-	-	-	-	2-14	1.7
Güç/Enerji Üretimi						
Kurşunlu Benzin Kullanımı	7.2	<1[b]	613[b]	7.0[b]	-	-
Kurşunsuz Benzin Kullanımı	0.8	-	-	-	-	1.3
Dizel Yakıt Kullanımı	4.6	-	-	-	3-22	86
Odun Yakma	-	70	16	12	-	40[c];320[d]
Kömür Yakma (Isınma Amaçlı)	1.1	<1[e]	989	3.7	-	-
Kömür Yakma (Endüstriyel Amaçlı)	-	-	301	-	-	-
Kömür Yakma (Kullanım Amaçlı)	-	-	199	-	-	-
Petrol Yakma (Isınma Amaçlı)	1.2	-	2	-	-	-
Kar Kömürü Yakma (Isınma Amaçlı)	1.8	-	-	-	-	-
TOPLAM	**67-926**	**<109**	**3870**	**484**	**100-200**	**9200**

[a] Tüm metalürji işlemleri için.
[b] Toplam yakıt türleri için.
[c] Evsel ısınma amaçlı
[d] Endüstriyel kullanım için.
[e] Toplam kömür yakma işlemleri için.

2.4. Dioksin Bileşiklerinin Çevredeki Dağılımları

Yukarıda sözü edilen herhangi bir kaynaktan atmosfere salınan dioksin bileşenlerinin çevredeki akıbetleri temel olarak bu bileşiklerin fiziksel ve kimyasal özellikleri tarafından belirlenir. Dioksin bileşenlerinin kaynaktan salınımından sonra önce toprak, bitki örtüsü ve yüzeysel sulara ıslak ve kuru birikim gibi çeşitli birikim mekanizmalarının etkisi altında birikimi, ardından söz konusu toprak ve bitki örtüsünden faydalanan insan ve hayvanların yağ dokularında birikme şeklinde seyreden seyahati yaygın bir kabule göre dip sedimentlerinde son bulunur ve bu yolculuk sırasındaki sergiledikleri davranışları tipik kalıcı organik kirleticiler ile aynıdır. PCDD/F bileşiklerinin çevre ve ekosistemler arasındaki dağılımlarının boyut ve şeklinin saptanmasına yönelik olarak günümüze kadar pek çok çalışma yapılmış olmakla birlikte, bu kirleticilerin hareket mekanizmaları henüz net bir şekilde açıklanamamıştır. Öte yandan yapılmış tüm bilimsel çalışmalar konunun üzerindeki sis perdesini her geçen gün biraz daha aralamakta olup hali hazırda konuyla ilgili olarak söylenebilecek pek çok sonuç mevcuttur. PCDD/F bileşiklerinin hareket ve dağılımları ile ilgili olarak artık büyük bir araştırmacı grubu tarafından kabul görmüş belli başlı sonuçları aşağıdaki şekilde özetlemek mümkündür.

PCDD/F bileşikleri yüksek lipofillik ve düşük su çözünürlükleri nedeniyle toprak, sediment ve su kütlelerinde baskın olarak partükül ve organik materyaller ile etkileşime girerler. PCDD/F'lerin atmosferik partükül maddeler üzerindeki davranışları ile ilgili olarak mevcut olan en önemli bilgi; bu bileşikler için partükül ve gaz fazlar arasında bir bölümlenme olgusunun mevcut olduğudur. Partüküler konjenerin hangi fazda bulunacağını kontrol eden en önemli iki parametre konjenerin buhar basıncı ve atmosferik sıcaklığıdır. Düşük klor sayılı konjenerler gibi görece yüksek buhar basınçlı konjenerler büyük oranda gaz fazında bulunur. Toprakta adsorbe olmuş PCDD/F konjenerleri partükül maddeye adsorbe olmadan önce çok küçük miktarda süzülme, desorbe olma ya da buharlaşma potansiyeli gösterir.

Eldeki mevcut veriler, özellikle dörtten büyük klor sayısına sahip konjenerlerin pek çok çevresel koşul altında büyük oranda stabil olduklarına işaret etmektedir. Bu konjenerlerin çevresel açıdan uğrayabilecekleri en önemli dönüşümün gaz fazındaki

sorplanmamış türlerin hava/toprak, ya da su/hava ara yüzeylerinde, ya da organik çözücülerle ilişkili olarak fotodegradasyona uğramaları olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra yapılmış birçok çalışma, bu yüksek klor sayılı konjenerlerin bazı ligninolitik mantarlar tarafından parçalanabildiğini ve sediment bölgelerinde bu konjenerler için, düşük bir hızda da olsa bir miktar anaerobik parçalanmanın olduğunu göstermektedir. Bu parçalanma süreçleri daha çok düşük klor sayılı (daha toksik) konjenerler için etkili olur. Olduğu yerde toprağa gömülme, yeniden süspanse olarak havaya karışma ya da erozyonla birlikte su kütlelerine taşınma, toprağa sorplanan PCDD/F bileşiklerinin dağılmasının en baskın yollarıdır.

Su kütlesine giren PCDD/F'ler de partüküllerle birlikte çökerek sedimentlere gömülürler. Bu bakımdan bu bileşiklerin çevredeki son duraklarının sedimentler olduğu düşünülmektedir. Atmosferdeki PCDD/F bileşiklerinin uzaklaştırılması ise fotodegradasyon ya da ıslak ve/veya kuru birikim gibi süreçler aracılığı ile olur.

PCDD/F bileşiklerinin vejetasyon üzerine buhar faz kuru birikiminin, karasal ve zirai besin döngüsüne dioksin girişinde en baskın yol olduğu düşünülmektedir. Ayrıca PCDD/F bileşiklerinin karalar üzerine atmosferik birikiminin ardından su kütlelerine doğru oluşan erozyon ve yüzeysel akışın, sucul ortamlardaki canlıların besin döngüsündeki dioksin varlığının en büyük sorumlusu olduğu sanılmaktadır (EPA, 2003).

2.5. Dioksin Bileşenlerinin Toksisiteleri ve Sağlık Etkileri

Uzun yıllardır PCDD/F bileşiklerinin çevre ve halk sağlığı üzerinde yapabileceği olumsuz etkilerin saptanmasına yönelik olarak yapılan sayısız çalışmanın ortaya koyduğu veriler, dioksinler için artık hemen her kez tarafından bilinen ve kabul gören yüksek toksisite gerçeğini ortaya çıkarmıştır. Dünyanın çeşitli bölgelerindeki değişik saygın kuruluşlar tarafından yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar 210 adet PCDD/F bileşiği arasından, 2,3,7,8 numaralı bağlarında klor atomu bulunduran 17 adet konjenerin toksik etkilerinin son derece önemli olduğunu vurgulamaktadır.

Çevre ve halk sağlığı ile ilgilenen WHO, EPA ve benzeri kuruluşların sunduğu veriler ışığında, bu güne kadar yapılmış dioksin toksisitesi değerlendirmelerinde, sözü edilen 17 konjener haricindeki herhangi bir dioksin bileşeninin toksik etkisi göz önünde bulundurulmamış ve bu etki sıfır olarak kabul edilmiştir. Bu anlamda; herhangi bir biyotik ya da abiyotik numune içerisinde bir karışım olarak bulunan tüm dioksin bileşenlerinin toplam toksik etkisinin belirlenmesinde sadece 2,3,7,8 substientli 17 dioksin izomerinin toksik etkileri göz önünde bulundurulur. Burada ortaya çıkan en önemli sorun ise bu 17 konjenerinin her birinin farklı toksisite değerlerine sahip olduğudur. Uzun yıllardır yapılan toksisite çalışmalarında bu konjenerlerin gerek in vivo gerekse in vitro çalışmaları için birbirleri arasındaki farklar detaylı bir şekilde ortaya koyulmuştur. Söz konusu 17 konjenerin toksisiteleri arasındaki anlamlı farklar araştırmacıları yapılacak toksisite değerlendirmelerinde kullanılacak bir toplam toksisite yaklaşımının kullanımına yöneltmiş ve bu amaçla toplam bir toksisite eşdeğerlik konsepti geliştirilmiştir.

2.5.1. Toksik eşdeğerlik (TEQ) ve toksisite eşdeğerlik faktörleri (TEF)

Toksik eşdeğerlikler (TEQ) konsepti; normal şartlarda dioksin ve benzeri bileşiklerin herhangi bir numune matrisi içerisinde bir karışım halinde bulunacağından, risk değerlendirmesi ve yasal düzenlemelerin oluşturulmasında kullanılabilecek değerlerin elde edilebilmesi adına geliştirilmiş bir yaklaşımdır. Bu yaklaşımın oluşturulmasında tüm dioksin ve benzeri bileşiklerin göreli toksisiteleri, in vitro ve in vivo çalışmalarında elde edilen sayısal verilere göre 2,3,7,8 TCDD konjenerinin toksisitesine oranlanır ve her bileşen için ayrı bir Toksik Eşdeğerlik Faktörü (TEF) elde edilir. Bu yaklaşım dioksin bileşenlerinin reseptör etkili hareket mekanizmalarının birbirleri ile aynı olduğu kabulüne dayanır. Ancak bu yaklaşım; özellikle dioksin bileşenlerinin birlikte bulunmalarından ötürü ortaya çıkabilecek ortak etkiler, birbirlerini sönümleme ve toksikokinetik farklılaşmalar gibi etkilerin ihmal edilmesi olmak üzere bazı sınırlamaları bünyesinde barındırır (WHO, 2000).

Önceki yıllarda hem in-vivo hem de in-vitro olarak yapılan toksisite çalışmalarında toksikolojik olarak ön plana çıkan 17 adet 2,3,7,8 substientli dioksin konjenerinin TEF şemalarının çıkartılmasında atılan adımlar US EPA-OSA (1992) tarafından

sırasıyla; ilk olarak 1986 yılında Kaliforniya Sağlık Departmanı tarafından geliştirilen DHS-TEF şeması, ardından 1987 yılında EPA tarafından geliştirilen EPA TEF/87 şeması ve son olarak NATO önderliğindeki uluslar arası bilimsel bir komite tarafından geliştirilen NATO/CCMS I-TEF/88 şeması olarak belirtilmiştir. Bu yaklaşımlara ait TEF değerleri Tablo 2.13'de karşılaştırılmıştır.

Tablo 2.13: Toksik eşdeğerlik faktörlerinin karşılaştırılması (US EPA-OSA, 1992)

BİLEŞEN	**DHS-TEF**	**EPA-TEF/87**	**I-TEF/89**
Mono-,Di- ve Tri-CDD	0	0	0
2,3,7,8 Klorlu TCDD	1	1	1
Diğer TCDD	0	0,01	0
2,3,7,8 Klorlu PeCDD	1	0,5	0,5
Diğer PeCDD	0	0,005	0
2,3,7,8 Klorlu HgCDD	0,03	0,04	0,1
Diğer HgCDD	0	0,0004	0
2,3,7,8 Klorlu HpCDD	0,03	0,001	0,01
Diğer HpCDD	0	0,0001	0
OCDD	0	0	0,001
Mono-,Di- ve Tri-CDF	0	0	0
2,3,7,8 Klorlu TCDF	1	0,1	0,1
Diğer TCDF	0	0,001	0
1,2,3,4,7,8KlorluPeCDF	1	0,1	0,05
2,3,4,7,8 KlorluPeCDF	1	0,1	0,5
Diğer PCDF	0	0,001	0
2,3,7,8 Klorlu HgCDF	0,03	0,01	0,1
Diğer HgCDF	0	0,0001	0
2,3,7,8 Klorlu HpCDF	0,02	0,001	0,01
Diğer HpCDF	0	0,00001	0
OCDF	0	0	0,001

Bunun yanında 90'lı yılların başından bu yana Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yürütülen Uluslar arası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS) kapsamında geliştirilen WHO-TEF şemaları I-TEF/89 şeması kadar olmasa da, dioksin toksisitesinin değerlendirilmesinde kullanılır. WHO tarafından 17 adet toksik dioksin bileşeniyle, ileride de kısaca değinilecek olan dioksin benzeri PCB bileşenleri için 1997 yılında saptanmış ve 2005 yılında yeniden düzenlenmiş TEF verileri Tablo 2.14'de bir arada verilmiş ve değişen değerler koyu olarak işaretlenmiştir.

Tablo 2.14: Dioksin ve dioksin benzeri PCB bileşenleri için WHO/TEF değerleri (Van den Berg et al., 2006)

BİLEŞEN	WHO 1998 TEF	WHO 2005 TEF
Klorlu Dibenzo-p-dioksinler		
2,3,7,8 TCDD	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	0,01
OCDD	0,0001	**0,0003**
Klorlu Dibenzofuranlar		
2,3,7,8-TCDF	0,1	0,1
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	**0,03**
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	**0,3**
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	0,01
1,2,3,6,7,8,9-HpCDF	0,01	0,01
OCDF	0,0001	**0,0003**
Non-orto PCB'ler		
PCB 77	0,0001	0,0001
PCB 81	0,0001	**0,0003**
PCB 126	0,1	0,1
PCB 169	0,01	**0,03**
Mono-orto PCB'ler		
105	0,0001	**0,00003**
114	0,0005	**0,00003**
118	0,0001	**0,00003**
123	0,0001	**0,00003**
156	0,0005	**0,00003**
157	0,0005	**0,00003**
167	0,00001	**0,00003**
189	0,0001	**0,00003**

Yukarıda verilen TEF şemalarından anlaşılacağı üzere en toksik dioksin konjeneri olarak bilinen 2,3,7,8-TCDD konjenerinin toksisite değeri 1 olarak alınır ve diğer 17 konjener toksiklik seviyelerine bağlı olarak 1 ile 0 arasında değişen toksisite eşdeğerlik faktörleri alır. Toksik eşdeğerlik kavramı TEQ ise her bir konjenere ait TEF değeri ile bu konjenerin söz konusu numune içerisindeki konsantrasyonunun çarpımı ile bulunur. Bir numunenin toplam toksik eşdeğerliği ise numune içerisinde bulunan tüm PCDD/F konjenerlerinin kendilerine atanmış TEF değerleriyle çarpılmasından elde edilen büyüklüklerin toplamından elde edilir. Bu durum matematiksel olarak Denklem 2.3'deki şekilde ifade edilir.

$$\text{Toplam Toksik Eşdeğerlik (TEQ)} = \sum_{n=1}^{k} C_n * TEF_n \qquad (2.3)$$

Burada; C_n ifadesi numune matrisi içerisinde bulunan konjener konsantrasyonunu, TEF_n ifadesi ise konjenerin seçilmiş şemadaki (WHO-TEQ, I-TEQ gibi) TEF değerini simgeler. TEF değerleri birimsiz büyüklükler olduğundan toplam toksik eşdeğerliğin birimi, konjenerin konsantrasyon birimi ile aynıdır.

2.5.2. Dioksin bileşiklerinin sağlık etkileri

Bugüne kadar hayvanlar üzerinde yapılan in vivo, in vitro, epidemiyolojik çalışmalar ve akut insan maruziyetlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi gibi birçok çalışma dioksin ve benzeri bileşiklerin insan sağlığı üzerindeki bazı olumsuz etkilerini net bir şekilde ortaya koymuştur. WHO-IPCS (1998) tarafından bu olumsuz etkiler; dermal toksisite (klorakne gibi), bağışıklık toksisitesi, üreme ve gelişme üzerine olumsuz etkiler, teratojenik etki, endokrin yıkımı ve kanserojen etki olarak verilmiştir. Tüm bu olumsuz etkilerin PCDD/F bileşenleri ile gerçek ilişkisinin ortaya koyulması adına birçok çalışma yapılmış ve pek çok bulgu elde edilmiştir. Elde edilen bu bulguların ortaya koyulması ve tartışılması çok kapsamlı bir konu olduğundan, çalışmanın bu bölümünde sadece bazı genel bilgiler sunulacaktır. PCDD/F bileşenlerinin olumsuz etkilerine geçmeden önce bu bileşiklerin toksikokinetikleri hakkında kısa bir bilgi vermek faydalı olacaktır.

Dioksin ve benzeri bileşiklerin toksikokinetik belirteçlerinin bağlı olduğu en önemli 3 özellik; lipofilik karakter, metabolizma ve akciğerlerdeki CYP1A2 sitokromuna bağlanmadır. Lipofillik; artan klor sayısıyla yükselir, absorbsiyon ve doku bölümlenmesini kontrol eder. Metabolizma; yok etmede hız sınırlayıcı etmen olarak öne çıkar. Kalıcı organik kirleticiler yavaş bir şekilde metabolize ve elimine olurlar, bu yüzden bioakümülasyona uğrarlar. Kısmen Arilhidrokarbon Reseptörü (AhR) tarafından kontrol edilen CYP1A2 oluşumu, en toksik dioksin bileşeni olan TCDD'nin karaciğer birikimine yol açar. Oluşuma dair yapı-aktivite ilişkisi, CYP1A2'ye bağlanmaya göre farklılıklar gösterir. Söz konusu bu karaciğer proteinine bağlanma olayı, doku dağılımında doğrusal olmayan bir doz ilişkisini ortaya çıkarır ki burada doz artarken akciğer dokularındaki konsantrasyon artışına rağmen karaciğer dokularındaki konsantrasyonda azalmaya neden olur. Bu protein indüksiyonu hem hayvan hem de insanlarda meydana gelir ve bu oluşum organik kirleticilerin akciğerlerdeki yağ miktarlarına oranını arttırır (WHO-IPCS, 1998).

Dioksin bileşenlerinin temel toksikokinetik davranışları hayvanlar ve insanlar için benzer yapıdadır. Bu anlamda yapılmış pek çok çalışmada hayvanlar için geliştirilen genel toksikolojik modeller insanlara uyarlanmış ve sonuçların aynı olacağı kabulünden yola çıkarak dioksin bileşenlerinin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinin açıklanmasına çalışılmıştır. Bu tip çalışmalarda yapılan bazı kabuller, toksikolojik verilerin gerçeği yansıtmadığı yönündeki tartışmalara yol açsa bile eldeki mevcut veriler dünyaca tanınan pek çok kuruluş tarafından kabul görmüştür ve bu verilerden yola çıkarak yeni bulgulara ulaşma çalışmaları büyük bir hızla devam etmektedir. Aşağıda; dioksin bileşenlerinin laboratuar hayvanları ve insanlar üzerindeki olumsuz etkilerine dair şimdiye kadar elde edilmiş ve büyük oranda kabul görmüş küçük bir özet bilgi sunulmuştur.

2.5.2.1. Laboratuar hayvanları üzerindeki etkiler

Toksikolik Etkiler: PCDD/F bileşiklerinin toksik ve biyokimyasal etkilerinin hemen hepsi büyük oranda Ah reseptörü ile ilişkilendirilir. Tüm poliklorlu aromatik hidrokarbonların bir prototipi olarak 2,3,7,8-TCDD bileşenin Ah reseptörü mekanizmasının incelendiği bir çalışmanın özetinde WHO (2000), bu bileşiğin

hayvanlar üzerinde gösterdikleri toksikolojik etkileri; ölüm, kilo kaybı, bağışıklık zayıflaması, ödemler, dermal (özellikle klorakne) - gelişim – üreme - nöro davranışsal – akciğer - endokrin toksisiteleri, yağ metabolizması ve hormon seviyelerinde değişimler, hormonlara ve büyüme faktörlerine tepki modülasyonu, tümör artışı ve arilhidrokarbon hidroksilaz (AHH) ve EROD gibi enzimlerin aktivitelerinin oluşumu şeklinde sıralamıştır.

Balıklar, kuşlar ve memelilerde, TCDD ve benzeri türlere maruz kalmayı takiben oluşan ve gelişmeyi etkileyen toksisite, muhtemelen insanlarda da aynı seviyede oluşacaktır. İnsanların üreme ve gelişme fonksiyonlarındaki ters etkilere nasıl ve hangi seviyede tepki vereceğini kesin olarak ifade etmek mümkün değildir. Geleneksel toksisite çalışmaları insanlar için hiçbir kötü etkinin gözlenmediği düzeyin (NOAEL) 1 ng. kg^{-1} vücut ağırlığı.$gün^{-1}$ civarında olduğunu göstermektedir (Karademir, 2002).

Karsinojenik Etkiler: Dünya Sağlık Örgütü'nün değişik fare türleri üzerinde yaptığı çalışmalarda dioksin bileşenlerinin kanserojen etkisi saptanmış ve rapor edilmiştir. Söz konusu kemirgenlerin pek çok organında kanser oluşumu gözlemlenmekle birlikte baskın olarak bu oluşum akciğerler üzerinde yoğunlaşmıştır. Çalışmalar sonucunda hiçbir etkinin görülmediği doz olarak NOAEL değeri 1 ng/kg.vücut ağırlığı.gün olarak verilmiş olup, bu dozda farelerin akciğerindeki TCDD miktarı 540 ng/kg yaş ağırlık olarak saptanmıştır. Sonuç olarak WHO-IARC (1997) tarafından dioksin bileşenlerinin, kemirgenlerin değişik organlarında kanserojen etki yaptığı açıklanmıştır.

Mutajenik Etkiler: 90'lı yıllarda Uluslar Arası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından TCDD bileşenleri üzerinde yapılan çalışmalar bu bileşenlerin DNA üzerine direkt olarak kovalent bağ oluşumunun olmadığını belirtmiş ve bu bileşeni non-mutajenik olarak değerlendirmiştir. Ancak ilerleyen yıllarda yapılan bazı çalışmalar bu bileşenin eş kromatid değişimi ve insan limfosit kültürleri üzerinde mikro çekirdek oluşumu gibi birçok farklı etkilerinin olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu bakımdan; son yıllarda dioksin bileşenlerinin DNA üzerinde kalıcı etkilerinin varlığı

ciddi bir araştırma konusu haline gelmiştir ve bu etkiyi doğrulayan pek çok kanıt mevcuttur.

2.5.2.2. İnsanlar üzerindeki etkileri

Toksikolik Etkiler: Dioksin bileşiklerinin insanlar üzerindeki olumsuz etkilerine dair eldeki mevcut bilgilerin çoğu endüstriyel bölgelerdeki çok yüksek maruziyetler ya da kazalar ve yüksek dozda zehirlenme olaylarından elde edilen veriler olarak ön plana çıkar. Elde edilen veriler genel olarak hayvan deneylerinden elde edilen bulgular ile benzerlik göstermekle birlikte yüksek dozda PCDD/F maruziyetini sonucunda oluşan en önemli zehirlenme belirtisi; dermatolojik bir tepki olan kloraknedir. Klorakne; yüksek dozda dioksin bileşenlerine maruz kalma sonucunda ortaya çıkan, acı verici akne benzeri dermatolojik bir rahatsızlıktır. WHO-IARC (1997)' ye göre yüksek dozda dioksin maruziyetine neden olan kazalar ve zehirlenme vakaları sonucunda insanlar üzerinde oluşan klorakne haricindeki toksik etkiler; çocuk ve yetişkinlerin akciğer enzim seviyelerindeki değişimler, yetişkinlerin bağışıklık sistemi ve glukoz metabolizmalarındaki değişimler, anne sütü aracılığı ile dioksin maruziyetine uğrayan bebeklerin tiroid hormonu seviyelerinde sapmalar ve nörodavranışsal tahribatlar olarak gösterilebilir.

Karsinojenik Etkiler: Endüstriyel alanlarda yapılan çok sayıda yüksek dozda maruziyet ve kaza çalışmalarından elde edilen veriler dioksin bileşiklerinin insanlar üzerindeki potansiyel kanserojen etkisinin varlığına işaret etmektedir. Ayrıca yapılan pek çok epidemiyolojik çalışma da, yüksek dozda dioksin maruziyeti ile kanser riski arasındaki ilişkiyi net bir şekilde ortaya koymaktadır. Uluslar Arası Kanser Araştırma Ajansı'nın 1997 yılında yaptığı çalışmalar sonucunda 2,3,7,8-TCDD konjenerini 1. sınıf kanserojen madde olarak ilan etmesinin yanında diğer dioksin konjenerleri için böyle bir sınıflama yoktur.

EPA'nın 1988'deki TCDD ve benzeri bileşiklerin kanserojenliğine bağlı insan veri tabanını incelemesinden buyana birçok yeni ölüm oranı çalışmaları tamamlanmıştır. Bunlardan en önemlileri Fingerhut tarafından 5172 işçi ile 1991 yılında yapılan çalışma, Monz tarafından 1583 işçi ile 1991 yılında yapılan çalışma, Zober

tarafından 247 işçi ile 1990 yılında yapılan ufak çalışma ve 18 000'den daha fazla işçi ile Saracci tarafından 1991 yılında yapılan çalışmalardır. Bu çalışmaları yorumlamada bir belirsizlik olduğu halde (çünkü bütün potansiyel yıpratıcı etkiler ortadan kaldırılamamakta ve diğer kanserojenlerle tesadüfen maruz kalma mümkün olmaktadır), bütün çalışmalar dioksin ve benzeri bileşiklere maruz kalma ile kanser ölümlerindeki artış arasında bir bağ olduğunu göstermektedir. Saracci'nin çalışması dışındaki diğer çalışmalar, etki dozunu belirlemeye olanak veren bazı maruz kalma bilgilerine sahiptir. Buna ek olarak, Bartazzi (1993)'te Seveso'daki klorofenoksi herbisitleri, klorofenoller ve dioksinlere maruz kalan kadınlar hakkında daha sınırlı sonuçlar mevcuttur.

Özetle, dioksin ve benzeri bileşiklere maruz kalmış insan toplulukları üzerinde yapılan çalışmalarda oluşan veriler, hayvanlarda yapılan ve epidemiolojik çalışmalarla birlikte, bu bileşiklerin insan üzerinde kanserojen etkilerinin olduğu yönündeki kanıyı güçlendirmektedir (Karademir, 2002).

2.5.3. Dioksin benzeri toksisiteye sahip diğer bileşikler

PCDD/F bileşikleri ile ilgili bugüne kadar yapılmış pek çok çalışmada, henüz doğruluğu tam olarak kanıtlanmamış olsa da dioksin bileşikleri ile benzer toksik özellikler gösterdiği düşünülen iki tür bileşikten daha söz edilir. Bu bileşiklerden ilki kimyasal yapısı dioksinlerle aynı olup sadece klor atomlarının yerinde brom atomları bulunan polibromlu dibenzodioksin ve furanlar (PBDD ve PBDF), diğeri ise yine halojenli aromatik hidrokarbon sınıfına giren poliklorlubifenillerin (PCB) bazılarıdır.

a-) Polibromlu Dibenzodioksin (PBDD) ve Dibenzofuranlar (PBDF): Oluşum mekanizmaları ve yapıları bakımından çok büyük benzerlikler gösteren PCDD/F ve PBDD/F bileşenlerinin toksik etkilerinin de birbirleri ile aynı ya da benzer olduğu birçok kaynakta belirtilmekle birlikte, PBDD/F bileşiklerinin toksisiteleri hakkında yapılmış çalışma sayısı, bu düşünceyi kesinleştirecek kadar yeterli değildir. PBDD/F bileşiklerinde de tıpkı PCDD/F bileşiklerinde olduğu gibi 75 adet PBDD ve 135 adet PBDF olmak üzere değişik konumlarında değişik sayılarda halojen bulunduran toplam 210 adet değişik izomer mevcuttur.

En toksik dioksin bileşeni olan 2,3,7,8-TCDD konjenerinin oktanol/su bölümlenme katsayısı 5,95 iken 2,3,7,8-BrDD konjeneri için bu değer 6,50'dir. 2,3,7,8-BrDD konjenerinin sudaki çözünürlük değeri, 2,3,7,8-TCDD için verilen 19 ppt'den daha düşüktür. Bromlu ve klorlu dioksinler/furanlar arasında bir karşılaştırma yapıldığında; bromlu bileşiklerin ve özellikle 1 numaralı pozisyonlarında halojen bulunduranların lipofillikleri daha fazladır. Ancak bromlu bileşenlerin zayıf kimyasal stabiliteleri bu bileşenlerin kalıcılık potansiyellerini düşürür (Weber and Greim, 1997).

b-) Poliklorlu Bifeniller (PCB): Dioksinler gibi halojenli aromatik hidrokarbonlar sınıfından olan poliklorlu bifeniller (PCB'ler olarak da bilinir), PBDD/F'lerin aksine, üzerlerinde çok araştırma yapılmış ve doğadaki dağılımları ve sağlık etkileri geniş bir şekilde tanımlanmıştır. Ancak, olası toplam 209 PCB konjenerinde sadece 12 tanesinin dioksin benzeri bir toksisiteye sahip olduğu sanılmaktadır. Bu dioksin benzeri bileşikler, orto konumuna birden fazla bağlanma olmayan dört veya daha fazla klor atomuna sahip konjenerlerdir. Bu bileşikler, halkaları aynı düzlemde dönebildikleri için (eğer dönüşleri orto konumuna bağlı klor atomları tarafından bloke edilmemişse) bazen koplanar PCB'ler olarak adlandırılırlar (Karademir, 2002).

2.5.4. Tolere edilebilir günlük alım (TDI)

Tolere Edilebilir Günlük Alım terimi (TDI), WHO (2003) tarafından "insanların tüketilebileceği gıda veya içme suyunda bulunan bir maddeyi ortalama bir insan ömrü boyunca ve her gün tüketen bireylerde dikkate değer herhangi bir sağlık riski oluşturmayacak miktarın vücut ağırlığı başına bir ifadesi" şeklinde tanımlanan bir ölçü birimidir. Konu üzerine çalışma yapan bazı çevreler dioksin bileşenlerinin tamamının 1. sınıf kanserojen madde olduğunu ve bu bileşenler için her hangi bir tolere edilebilir doz değerinin mümkün olamayacağını yani bu değerin sıfır (0) olmasını gerekliliğini savunurken bazı çevreler kabul edilebilir bir risk değerinin mümkün olabileceğini ileri sürmektedir. Örneğin Dünya Sağlık Örgütü 1990 yılında Hollanda'da gerçekleştirdiği toplantısının ardından yetişkin bir insan için kabul edilebilir TCDD alımını, bir kilogram vücut ağırlığı başına 10 pg olarak vermiştir. Bir başka deyişle Dünya Sağlık Örgütünün insan maruziyetinin azaltılmasına yönelik

olarak her türlü çabanın gösterilmesi gerekliliği ile birlikte PCDD/F bileşikleri için kabul ettiği TDI değeri 10 pg-TEQ/kg vücut ağırlığı/gün'dür. İlerleyen yıllarda yine WHO yapılan laboratuar çalışmalarında elde ettiği verilere dayanarak, dioksinler için saptadığı "gözlenen en küçük etki düzeyi" LOAEL değerini 10 belirsizlik faktörüne bölerek bulduğu NOAEL (hiçbir kötü etkinin gözlenmediği düzey) değerinden faydalanarak TDI değerini 1-4 pg TEQ/kg vücut ağırlığı/gün aralığına çekmiştir.

Yukarıda da belirtildiği üzere PCDD/F bileşikleri için bir limit alım değerinin geliştirilmesinde pek çok uyuşmazlık mevcuttur ve bu değer değişik ülkelerde değişik kurumların öne sürdüğü yaklaşımların kabulü şeklinde kullanılmaktadır. Bunun yanında dünya genelindeki pek çok ülke bir limit alım değeri olarak çoğunlukla US EPA ya da WHO tarafından geliştirilen değerleri kullanmaktadır. Dioksin bileşiklerinin tolere edilebilir doz kavramının geliştirilmesinde yaşanan gelişmeler kronolojik olarak Tablo 2.15'de verilmiştir.

Tablo 2.15: TCDD veya toksik eşdeğeri PCDD/F bileşiklerinin alım limitlerinin kronolojik gelişimi (Hays and Aylward, 2003)

YIL	**ORGANİZASYON AJANSI**	**DEĞERİN TANIMI**	**TCDD ya da TEQ Alımı (pg / kg.gün)**
1985	US EPA	RSD; Kanser için Risk Spesifik Doz	0,006
1989	US ATSDR	MRL; Kanser olmayan etki için Minimal Risk Seviyesi	1
1990	US FDA	RSD; Kanser için Risk Spesifik Doz	0,057
1991	WHO	TDI; Tolere Edilebilir Günlük Doz	10
1993	HWC (Kanada)	TDI	10
1996	HCN (Hollanda)	Sağlık Bazlı Maruziyet Sınırı	1
1998	WHO	TDI	1-4
1998	US ATSDR	MRL	1
1999	Japonya Çevre Ajansı ve Sağlık Bakanlığı	TDI	4
2000	ECSCF	Tolere Edilebilir Haftalık Alım	1 (7 pg/kg.hafta)
2000	US EPA	RSD RfD; Referans Doz	0,001 0,001 – 0,01
2001	ECSCF	Tolere Edilebilir Haftalık Alım	2 (14 pg/kg.hafta)
2001	WHO/FAQ JECFA	Geçici Tolere Edilebilir Aylık Alım	2.3 (70 pg/kg.ay)

2.5.5. Kabul edilebilir risk

İlk olarak EPA tarafından öne sürülen ve günümüzde hala geçerliliğini koruyan kabul edilebilir risk kavramı, kanserojen etki gösteren bir kimyasalın bir insan üzerinde ortaya çıkaracağı kanser riskinin sayısal ifadesi şeklinde tanımlanabilir. EPA tarafından; her hangi bir kanserojen maddeye ömür boyu maruz kalan bir insan üzerinde bu maddenin kanser oluşturma potansiyeli yani kanser riskinin 10^{-4} (on binde bir) ile 10^{-6} (milyonda bir) aralığında olması istenmektedir.

Her hangi bir kimyasalın olasılık olarak bir insan üzerinde oluşturacağı ömür boyu kanser riski; söz konusu kimyasalın vücuda günlük giriş miktarı ile bu kimyasalın kendine has bir değer olan eğim faktörü ile çarpımından elde edilir. Bu durum Denklem 2.4'de ifade edilmiştir.

$$\text{Risk} = \text{CDI} \times \text{SF} \qquad (2.4)$$

Burada;

CDI = Kronik günlük doz ($mg.kg^{-1}.gün^{-1}$),

SF = Kanserojenlik eğim faktörü, ($kg.gün.mg^{-1}$).

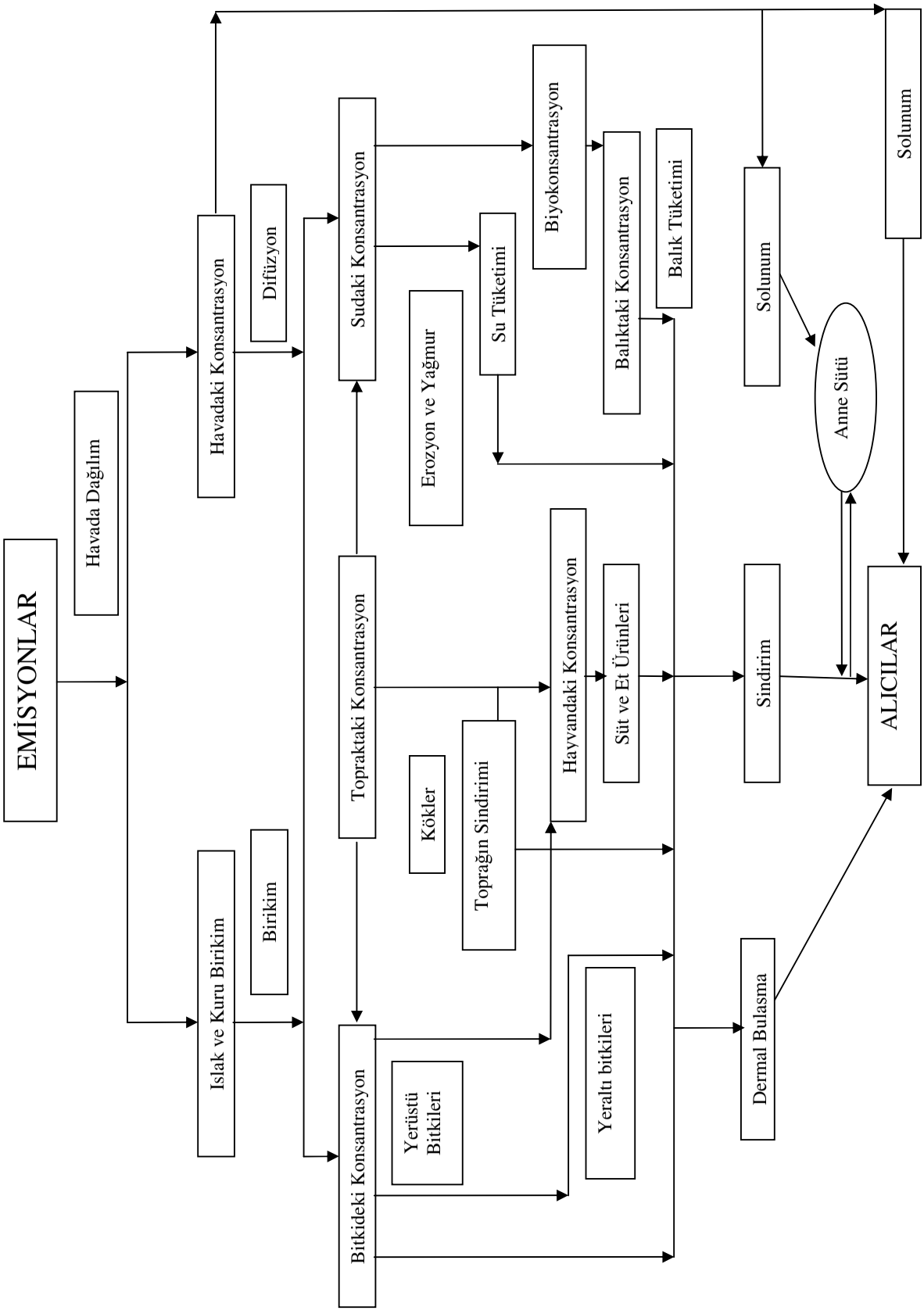
EPA tarafından dioksinler için verilen kanserojenlik riski ya da eğim faktörü 100 000 $kg.gün.mg^{-1}$'dir. Bu değerin, oldukça aşırı bir durumu gösterdiği, insineratör emisyonlarından kaynaklanan küçük dozlar için daha düşük bir değerin daha gerçekçi olacağı yolunda eleştiriler mevcut olsa da, bu yargı henüz deneysel çalışmalarla doğrulanamamıştır ve halen kullanılmaktadır (Karademir, 2002).

BÖLÜM 3. ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEKİ PCDD/F SEVİYELERİ VE PCDD/F BİLEŞENLERİNİN ANALİZİ

3.1. Çevresel Örneklerdeki PCDD/F Seviyeleri

Önceki bölümde kaynakları ve oluşum mekanizmaları ile ilgili bazı genel bilgilerin sunulduğu PCDD/F bileşikleri, atmosfere salındıktan sonra çeşitli dağılım mekanizmalarının etkisi altında dağılır ve genel alıcılar olan insanlara ulaşırlar. Bu sürecin ilk basamağında kaynaktan salınan PCDD/F konjenerleri bölgenin meteorolojik değişkenlerinin etkisi altında hava kütlesi içerisinde yayılır. Hava kütlesi içerisinde yayılmış olarak bulunan dioksin konjenerleri ıslak birikim, kuru birikim ve difüzyon gibi süreçler aracılığı ile yüzeysel su, bitki ve toprak gibi alıcı ortamlarda değişik oranlarda birikirler. Bu noktadan sonra insanların söz konusu ortamlarla direkt olarak teması ya da yine bu ortamlarla etkileşim içerisinde bulunan bitki, sebze, meyve ya da hayvanlar ve bu hayvanların ürünleri ile beslenmesi sonucunda PCDD/F bileşikleri insan vücuduna ulaşır. PCDD/F bileşiklerinin oluştuğu kaynaktan insan vücuduna ulaşana kadar geçirdiği süreci Şekil 3.1'deki gibi sembolize etmek mümkündür.

Yukarıda kısaca özetlenen ve Şekil 3.1'de şematik olarak gösterilen taşınım süreçleri sonucunda insanlara ulaşan PCDD/F bileşiklerinin maruziyet yolları ile ilgili olarak bir çok alt başlığı incelemek mümkündür. İnsanların dioksin bileşenlerine maruz kalma yollarını genel başlıklar altında toplamak gerekir ise; 1- PCDD/F konjenerleri ile kirlenmiş havanın solumu, 2- su ve toprak ile temas, 3- kirlenmiş su, toprak ve hava ile etkileşim içerisindeki diğer canlı ve bu canlıların ürünlerinin insanlar tarafından sindirilmesi şeklinde 3 ana başlık saymak mümkündür. Sözü edilen bu 3 genel maruziyet yolunun ağırlıkları hakkında bu güne kadar pek çok çalışma yapılmış olup, bu çalışmaların çoğunda dermal yolla maruziyetin ihmal edilebilecek kadar az, gıda tüketimi ile alımın ise en baskın yol olduğu vurgulanmaktadır.



Şekil 3.1: PCDD/F bileşiklerinin doğadaki taşınımı

PCDD/F bileşiklerinin insanlar tarafından tüketilen gıda maddeleri aracılığı ile vücuda girdiği ve dioksin bileşenlerine insan maruziyetinin çok büyük bir oranının gıda tüketimi yolu ile olduğu uzun yıllardır bilinen bir gerçektir. Yapılan araştırmaların pek çoğu, insan bünyesine sindirim, solunum ve dermal temas gibi 3 genel yolla giriş yapan PCDD/F bileşiklerinin yaklaşık % 90-95 gibi bir oranının gıda tüketimi aracılığı ile alındığını belirtmektedir. Bu açıdan bakıldığında; çevresel numunelerdeki PCDD/F bileşiklerinin insan sağlığı üzerinde oluşturacağı tehditlerin biçim ve miktarının belirlenmesine yönelik olarak yapılacak her hangi bir çalışmada hava, toprak ve bitki örtüsü analizlerinden ziyade, besin maddelerindeki PCDD/F konsantrasyonlarının belirlenmesi büyük önem arz eder. Bunun yanında; sözü edilen diğer çevresel ortamlardaki PCDD/F bileşiklerinin seviyelerinin belirlenmesi, bu kirleticilere yönelik olarak yapılan modelleme ve risk değerlendirmesi gibi çalışmalarda son derece önemlidir. Her iki durum bir arada değerlendirildiğinde ve dioksinlerin büyük sağlık tehlikeleri de göz önünde bulundurulduğunda PCDD/F bileşiklerinin doğadaki taşınımı sırasında uğradığı her noktadaki konsantrasyonlarının doğru bir şekilde belirlenmesi çevre ve halk sağlığı açısından son derece önemlidir.

Çalışmanın bu bölümünde; PCDD/F bileşiklerinin sırasıyla hava, toprak ve bitki örtüsü, gıda maddeleri ve son durakları olan sedimentler gibi çevresel ortamlardaki konsantrasyon seviyeleri ve bu konsantrasyon seviyelerinin belirlenmesine yönelik olarak yapılan analiz çalışmaları detaylı olarak açıklanacaktır.

3.1.1. Havadaki PCDD/F konsantrasyonları

PCDD/F bileşiklerinin kaynakta oluşumu ve atmosfere salınımının ardından alıcılara ulaşana kadar geçirdiği tüm süreçler üzerinde büyük bir öneme sahip olan atmosferik dağılım, birikim ve bozunma süreçleri ile dioksin konjenerlerinin ne şekilde, nereye ve ne kadar dağıldığının belirlenebilmesindeki ilk ve en önemli basamak hava örneklerindeki PCDD/F bileşiklerinin belirlenmesi aşamasıdır. Hava örneklerindeki PCDD/F konjenerlerinin miktarlarının belirlenmesi ve bu konjenerlerin etkilendiği süreçlerin boyutları üzerine bugüne kadar sayısız çalışma yapılmış ve bu bileşiklerin havadaki durumları ile ilgili pek çok veri ortaya koyulmuştur. Öte yandan konuyla

ilgilenen çevrelerin mevcut kapsamlı bilgi birikimleri dahi bu bileşenlerin atmosferik durumları hakkındaki bazı belirsizlikleri ortadan kaldırmaya yetmemektedir. EPA 2003'e göre mevcut veriler ışığında havadaki PCDD/F seviyelerine ilişkin olarak verilebilecek en genel kabuller; konsantrasyonların kırsal alanlara göre kentsel bölgelerde daha büyük, etkili dioksin kaynaklarının çevrelerinde en yüksek olduğu ve artan klor sayısıyla konjener miktarlarının da arttığıdır.

Ortam havasındaki PCDD/F konsantrasyonları, üzerinde çalışılan bölgedeki kirletici kaynak yoğunluğuna göre farklılık gösterebileceği gibi bölgenin meteorolojik şartları, ölçümün yapıldığı zaman aralığı (gece-gündüz) ve mevsim farklılıkları gibi birçok değişkenden etkilenir. PCDD/F bileşiklerinin havadaki davranışları ve konsantrasyonları üzerine yayınlanan derlemelerinde Lohmann and Jones (1998); dioksin bileşenlerinin havadaki toplam konsantrasyon aralıklarını; kaynaklardan uzak bölgeler için 0.5 pg/m^3 (TEQ değeri yaklaşık 10 fg/m^3), kırsal bölgeler için 0.5–4 pg/m^3 (20–50 fgTEQ/m^3) ve endüstriyel kentler için 10–100 pg/m^3 (100–400 fgTEQ/m^3) şeklinde belirtmiştir. Bakoglu et al. (2005); yoğun endüstriyel baskı altındaki Kocaeli'de yaptıkları çalışmada hava numuneleri için bulduğu konsantrasyon seviyelerini 1,11–31,7 pg/m^3 (I-TEQ değerleri 23,3–563 fg/m^3) aralığında vermektedir. İki çalışmacının sunduğu değerler karşılaştırıldığında ufak sapmalar dışında büyük benzerlikler göze çarpmaktadır. Bu anlamda yukarıda verilen değer aralıkları bir kesinlik ifade etmemekle birlikte, PCDD/F bileşiklerinin havadaki konsantrasyonlarının hangi seviyelerde olabileceği hakkında genel bir bilgi vermektedir.

Hava numunelerindeki PCDD/F bileşiklerine konjener dağılımları açısından bakıldığında bir genelleme yapmak son derece zordur. PCDD/F konjenerlerinin miktar ve dağılımları genel olarak söz konusu ortam ve çevresinde bulunan dioksin kaynaklarının konjener profilleri ve bölgedeki dağılma mekanizmaları tarafından belirlenir. Bu anlamda her bölgenin kendine has bir konjener dağılımının olacağını ve bu dağılımın yıl içerisinde çok defa değişeceğini söylemek mümkündür. Correa et al. (2004) tarafından değişik kaynaklardan derlenen hava numunesi PCDD/F konjener dağılımları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1: Farklı ülkelerdeki hava numunelerinde 2,3,7,8 substientli PCDD/F konsantrasyonları (fg/m^3) (Correa et al. 2004)

BÖLGE	2,3,7,8-PCDDs							2,3,7,8-PCDFs										TOPLAM
	2378 TCDD	12378 PeCDD	123478 PeCD	123678 HxCDD	123789 HxCDD	1234678 HpCDD	OCDD	2378 TCDF	12378 PeCDF	23478 PeCDF	123478 HxCDF	123678 HxCDF	123789 HxCDF	234678 HxCDF	1234678 HpCDF	1234789 HpCDF	OCDF	
Houston, USA	0,9	4	6	12	12	211	781	5	5	8	10	9	11	4	49	6	101	1235
Athens, Yunanistan	17	6	3	29	42	81	127	27	31	53	47	20	22	13	100	14	70	702
Bridgeport, USA	1,1	6	7	12	12	124	467	12	8	13	19	13	14	30	59	8	70	873
Bristol, USA	0,7	3	5	8	9	92	290	6	5	8	13	8	9	14	34	5	34	544
Lankaster, İngiltere	1,7	10	12	28	22	260	1300	12	24	20	28	23	3	28	88	13	72	1945
Lankaster, İngiltere	4	17	16	31	26	268	780	25	7	49	75	58	7	63	198	29	160	1813
KuzeyKore	4	4	9	14	10	92	222	58	59	84	81	65	31	89	259	46	381	1508
Göthenburg İsveç	4	2	3	6	81	109	263	11	11	9	18	9	1	13	23	94	50	707
LosAngeles USA	5	20	38	42	43	250	1900	21	77	77	150	250	42	35	95	9	56	3110
PadreIsland USA	0,1	0,7	0,7	1,8	1,5	32	102	0,6	0,6	0,8	1,4	1	0,1	1,3	7,1	0,4	4,9	157
Big Bend, USA	0	0,1	0,3	0,6	0,6	8,9	29	0,2	0,2	0,4	0,6	0,6	0,1	0,8	3,9	0,4	3,3	50

PCDD/F bileşiklerinin mevsimsel konsantrasyon değişimleri üzerindeki genel kanı kış aylarındaki konsantrasyon seviyelerinin yaz aylarındakilere göre daha büyük olduğudur. Bu farkın altında yatan temel nedenler olarak ise; kış aylarında özellikle evsel ısınma gibi yanma kaynaklarındaki artışlar ile fotoliz, ıslak ve kuru birikim, bazı kimyasal reaksiyonlar ve difüzyon gibi kayıp reaksiyonlarının düşüklüğü gösterilebilir. Ayrıca kış aylarının yaz aylarına oranla daha fazla termal inversiyon eğilimi göstererek emisyonları hapsetmesi de bu fark üzerine etkilidir. Lohmann and Jones (1998) tarafından bir araya getirilen ve farklı ülkelerdeki yaz ve kış ayları PCDD/F ölçümlerinin sonuçlarının verildiği bir derleme Tablo 3.2'de sunulmuştur.

Tablo 3.2: Ortam havası PCDD/F konsantrasyonlarındaki mevsimsel değişimler (Lohmann and Jones, 1998)

ÜLKE	**Mevsim**	**$\Sigma P_{4\text{-}8}$CDD/Fs (pg/m^3)**	**OCDD Yüzdesi**	**PCDD/PCDF Oranı**	**YIL**
Almanya, Augsburg	Yaz Kış	1,2 6,6	29 23	1,4 -	1992-93
Almanya, Hessen	Yaz Kış	3 10	- -	1,2 0,5	1990
Almanya, Kalsruhe ve Stutgart	Yaz Kış	2,2 4,4	16 27	0,75 1,5	1992
Almanya, Hornisgrinde	Yaz Kış	1,6 0,80	15 31	0,45 1,6	1992
Japonya Tokyo	Yaz Kış	44 120	10 8	0,69 0,58	1990-92
Japonya, Kentsel	Yaz Kış	44 44	17 11	1,2 0,86	1992
USA, Kırsal	Yaz Kış	0,47 1,28	- -	3,62 2,4	1996

Yukarıda, PCDD/F konjenerlerinin yaz ve kış ayları arasındaki konsantrasyon farkları üzerinde belirleyici bir etmen olarak gösterilen birikim (deposition) olayı genel olarak ıslak ve kuru birikim şeklinde iki kısımda incelenir ve bu olguların büyüklüğü; sıcaklık, yağış, rüzgar hızı ve yönü, karışım yüksekliği (mixing height), güneş ışığının yoğunluğu ve nemlilik gibi birçok iklimsel ve atmosferik koşuldan etkilenir. İklim ve atmosferik koşulların yanı sıra PCDD/F konjenerlerinin spesifik fiziksel ve kimyasal özellikleri de birikim olayı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Tüm bu değişkenler bir araya getirildiğinde PCDD/F bileşiklerinin herhangi bir bölge havasındaki konjener dağılımı, ıslak ve kuru birikimi, gaz fazı ve partükül fazı

arasındaki bölümlenme oranları ve konsantrasyonları gibi niceliklerinin çok fazla değişkenlik gösterdiğini söylemek mümkündür.

PCDD/F bileşiklerinin değişik bölgelerdeki atmosferik birikim akısı (ıslak ve kuru birikim toplamı) ile ilgili olarak Moon et al. (2005) tarafından yapılan çalışmada; Kore'nin değişik kent ve banliyolarından 1 yıl boyunca her ay toplanan hava numunelerinin incelenmesi sonucunda PCDD/F bileşiklerinin birikim akısının kentsel bölgelerde 1-3.7 ng TEQ/m^2/yıl aralığında, varoş olarak nitelendirilen banliyolarda ise 0.5–4.6 ng TEQ/m^2/yıl aralığında değişim gösterdiği rapor edilmiştir. Çalışmada kentsel bölgelerdeki PCDD/F birikim hızı ise, daha önce değişik bölgeler için rapor edilen değerlerden düşük bir değer olan 0.04 cm/s olarak tahmin edilmiştir. Aynı çalışmada bu değerlerin dünyanın değişik bölgelerindeki değerlerle karşılaştırılabilmesi ve farklılıkların ortaya koyulabilmesi için verilen birikim akıları Tablo.3.3'de verilmiştir. Oluşan bu farklılıkların temel nedeni olarak her bölgenin kendi atmosferik koşulları ve dioksin kaynaklarının çeşitliği gösterilmiştir.

PCDD/F bileşikleri gibi yarı uçucu organik bileşenlerin gaz ve partükül fazlar arasındaki dağılımı; bu bileşiklerin fiziksel kimyasal özellikleri, ulaşılabilir durumdaki partüküllerin boyut ve özellikleri, ortamın sıcaklığı ve bağıl nem gibi koşullar tarafından belirlenir. PCDD/F bileşiklerinin atmosferik koşullarda gaz ve partükül fazları arasındaki dağılımlarına yönelik olarak yapılmış çalışmalar birbirlerinden farklı sonuçları ortaya çıkarmış olsa da göze çarpan en önemli sonuç; büyük klor sayılı PCDD/F konjenerleri ve düşük sıcaklıkların yüksek bir partükül bağlanma etkileşimini doğurduğudur. Buradan da anlaşılacağı üzere ortam sıcaklığı bu tip bileşenlerin gaz ve partükül fazlar arasındaki dağılımlarını belirleyen en önemli faktördür. Dioksin bileşikleri için bu dağılım oranı genel olarak klor sayıları bazında verilir ve bu klor sayıları ile bölünme oranları arasında bir korelasyon yakalanmaya çalışılır. Örneğin; literatürdeki genel kanıya uygun bir şekilde Oh et al. (2001); 3 farklı bölgeden aldıkları hava numunelerinde yüksek klor sayılı dioksinlerin baskın olarak partükül fazda, düşük klorluların ise gaz fazda bulunduğunu ifade etmiştir.

Tablo 3.3: Dünyanın değişik bölgelerindeki PCDD/F bileşiklerinin atmosferik birikim akıları ve bu akıların 2,3,7,8 TCDD eşdeğeri (TEQ) bazındaki değerlerinin karşılaştırılması (Moon et al, 2005)

BÖLGE	**Açıklama**	**Toplam Akı ($ng/m^2/yıl$)**	**TEQ Eşdeğeri ($ng\ TEQ/m^2/yıl$)**	**YILLAR**
Daeyeon-dong,Kore	Kentsel	68-228	1,0-3,7	2002
Gijang-gun, Kore	Banliyo	38-252	1,1-4,6	2002
Tokyo,Japonya	Kentsel	760-2200	10-32	1996-1998
Yokohoma,Japonya	Kentsel	440-1800	4,9-20	1996-1998
Tsukuba, Japonya	Banliyo	240-3500	4,8-22	1996-1998
Tanzawa, Japonya	Kırsal	160-980	2,2-14	1996-1998
Matsuyama, Japonya	Kentsel	92-612	1,3-5,3	1995-1996
Kyoto, Japonya	Kentsel	365-475	5,4-7,3	1999-2000
Lamar, ABD	-	46	-	-
George, ABD	-	49	-	-
Indianapolis, ABD	Banliyo	540	-	1990-1991
Bloomington, ABD	Kentsel	370	-	1990-1991
Bolsever, İngiltere	-	550	3,3	-
Manchester, İngiltere	Kentsel	360-2200	-	1990-1991
Cardiff, İngiltere	Kentsel	375-2060	-	1990-1991
Bielefeld, Almanya	-	240-4160	-	1992
Westphalia, Almanya	Kentsel	270-1800	3,5-30	1992
Stutgart, Almanya	-	839-1825	11-13,4	1992
Karlshruhe, Almanya	-	990-9855	11,3-28,8	1992
Eggenstein, Almanya	-	1277-3175	11,3-17,9	1992
Honisgrinde,Almanya	-	2373-3650	17,2-18,6	1992
Bayreuth, Almanya	-	26,4-138	0,26-2,32	1996
Bayreuth, Almanya	Kentsel	45-230	0,73-3,96	1994-1995
Württemberg,Almanya	Kentsel	-	12,4-14,9	1992
Württemberg,Almanya	Banliyo	-	8,8-13,9	1992
Württemberg,Almanya	Kırsal	-	1-3,7	1992
Flanders, Belçika	Kentsel	-	1,24-9,12	1993-1999
Flanders, Belçika	Kırsal	-	0,25-4	1993-1999
Venice, Italya	Kentsel	4,22-49,1	0,07-3,36	1993-1999
Porto Marghera,İtalya	Endüstriyel	10,6-172	0,01-1,9	1993-1999
Venice, Italya	Kırsal	0,01-39,9	0,01-2,26	1993-1999

3.1.2. Toprak ve bitki örtüsündeki PCDD/F konsantrasyonları

PCDD/F bileşiklerinin doğadaki taşınımları sırasında büyük bir birikim potansiyeli gösterdiği ve bu kirletici grubunun besin zincirine katılımında çok büyük bir önem taşıyan toprak ve bitki örtüsündeki dioksin seviyelerinin saptanma çalışmaları çok farklı amaçlar için kullanılabilmektedir. Yapılan literatür taramasına göre toprak ve bitki örtüsü üzerinde yapılan PCDD/F analizlerinin en genel amaçlarını şu şekilde özetlemek mümkündür.

- Üzerinde yoğunlaşılan ve önemli bir dioksin salınımına neden olduğu düşünülen her hangi bir kaynağın gelecekte oluşturacağı etkiyi saptayabilmek için referans (baseline) değerleri belirlemek.
- Herhangi bir kaynağın (genelde bir insineratör, nadiren de olsa bir alan) toprak ve bitki örtüsü üzerinde önemli bir PCDD/F birikimine yol açıp açmadığını ve eğer açtıysa bu birikimin boyutlarını saptamak.
- Bir bölgedeki dioksin kirliliğinin seviyesini belirlemek, kirlilik seviyesini diğer başka bölgelerle karşılaştırmak ve halk sağlığı açısından oluşturacağı riski değerlendirmek.
- Bir bölgedeki PCDD/F kirliliğinin zamansal değişimini gözlemlemek ve değişimin (azalma ya da artma) nedenlerini yorumlamak.
- PCDD/F bileşiklerinin topraktan canlıya (biyoakümülasyon), havadan toprağa (ıslak–kuru birikim) ya da topraktan havaya (buharlaşma) gibi taşınım mekanizmalarını özellikle konjener bazında incelemek ve bu mekanizmaları modellemek.
- Geçmiş yıllarda yapılan çalışmaların doğruluk ve güvenilirliğini sınamak, var ise önemli değişimleri gözlemlemek/yorumlamak için aynı numune noktalarından alınan numuneleri analiz ederek kontrol etmek.

Yukarıda sözü edilen PCDD/F kirliliğinin toprak ve bitki örtüsündeki kirlilik seviyelerinin ölçülme amaçlarından en baskınının, başta atık yakma tesisleri olmak üzere değişik kirletici kaynaklarının çevresindeki alanlar üzerindeki etkilerini gözlemleyebilmek olduğu söylenebilir. Bunun yanı sıra risk ve dağılım modelleme çalışmalarına yönelik olarak toprak ve bitki örtüsünde PCDD/F analizleri de

literatürde çok sık karşılaşılan analiz çalışmalarındandır. Özellikle bölgesel çalışmalar anlamında literatürde pek çok veriye ulaşılabilmektedir ve bu veriler ışığında toprak ve bitki örtüsündeki PCDD/F kirlilik seviyeleri hakkında genel bir bilgi edinmek mümkündür. Örneğin; İspanya'daki bir atık yakma tesisinin çevresinde yaptığı etkiyi araştırmaya yönelik olarak yapılan bir çalışmada Schuhmacher et al. (2000) tarafından konjener bazında elde edilen sonuçlar Tablo 3.4'de sunulmuştur.

Tablo 3.4: Eski bir kentsel katı atık yakma tesisi yakınından toplanan numunelerdeki PCDD/F konjener ve homolog miktarları (ng/kg kuru madde) (Schuhmacher et al., 2000)

KONJENER	**TOPRAK**		**VEJETASYON**	
	ORTALAMA	**S. SAPMA**	**ORTALAMA**	**S. SAPMA**
2,3,7,8 TCDD	0,53	0,55	0,10	0,07
Toplam TeCDD	47,00	78,45	19,55	23,03
1,2,3,7,8-PeCDD	1,56	1,49	0,18	0,09
Toplam PeCDD	47,62	60,75	12,37	12,01
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2,20	1,89	0,10	0,06
1,2,3,6,7,8-HxCDD	5,71	4,10	0,22	0,15
1,2,3,7,8,9-HxCDD	5,36	3,71	0,14	0,10
Toplam HxCDD	73,55	53,74	5,36	4,60
1,2,3,4,6,7,8HpCDD	75,87	68,55	1,66	1,05
1,2,3,4,6,7,8HpCDD	151,53	147,59	3,68	2,02
OCDD	649,03	761,35	6,78	5,82
2,3,7,8-TCDF	17,50	22,90	1,26	0,56
Toplam TeCDF	72,58	66,98	29,73	20,81
1,2,3,7,8-PeCDF	3,21	3,24	0,43	0,24
2,3,4,7,8-PeCDF	6,57	6,54	0,40	0,22
Toplam PeCDF	63,68	59,81	10,85	7,92
1,2,3,4,7,8-HxCDF	14,58	11,20	0,30	0,26
1,2,3,6,7,8-HxCDF	4,82	3,51	0,28	0,21
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,33	0,25	0,05	0,00
1,2,3,7,8,9-HxCDF	6,15	4,09	0,24	0,21
Toplam HxCDF	55,00	39,33	3,14	2,48
1,2,3,4,6,7,8HpCDF	34,21	26,74	1,18	1,02
1,2,3,4,7,8,9HpCDF	4,10	4,13	0,09	0,01
Toplam HpCDF	57,48	45,44	1,72	1,34
OCDF	40,62	43,94	0,98	0,75
I-TEQ	**12,24**	**8,84**	**0,70**	**0,38**
PCDD/PCDF	**3,52**	**1,97**	**0,99**	**0,23**

Özellikle belirli bir kaynak üzerine yoğunlaşılan çalışmalardaki genel eğilim kaynağın etkisini artan uzaklıklara göre saptamaktır ve bu etkiler her bölgenin kendi koşullarına göre değişim gösterir. Genel olarak artan uzaklıklarla konsantrasyonların azalma eğiliminde olması beklenilir ancak bu eğilim her zaman doğrusal değildir. Tablo 3.4'de sonuçları verilen çalışma kapsamında araştırmacılar, üzerinde çalıştıkları tesisi merkez kabul eden 3 km yarıçapındaki bir daire içerisinden 250, 500, 750, 1000, 1500 ve 3000 metre uzaklıklardan alınan 24 toprak ve 24 vejetasyon numunesini incelemiş, kaynaktan uzaklıkla konsantrasyon arasındaki ilişki ve numunelerdeki konjener dağılımları ile kaynağın konjener dağılımı arasındaki benzerlikleri ortaya koymuşlardır. Öte yandan sözü edilen tüm bu ilişkiler incelenen bölge ve kaynağa bağlı olarak değişen niceliklerdir.

Toprak ve bitki örtüsü numunelerindeki PCDD/F konsantrasyonlarının toksik eşdeğerlik bazında bir karşılaştırmaları yapıldığında geniş bir değer aralığı ile karşılaşılır. Bu değişkenlik temel olarak dioksin kaynaklarının çeşitliliği ve bölgesel koşullardaki farklılıklar ile açıklanabilir. Toprak numunelerindeki konsantrasyon seviyelerine yönelik bir bilgi vermesi açısından, değişik toprak türleri için Avrupa Birliği üyesi bazı ülkelerde elde edilen konsantrasyon değerleri Tablo 3.5'de sunulmuştur. Hem toprak hem de bitki örtüsü numuneleri için değişik kaynaklardan derlenen konsantrasyon seviyeleri ise Tablo 3.6'da verilmiştir.

Tablo 3.5: Bazı Avrupa Birliği üyesi ülkelerde topraktaki toplam PCDD/F konsantrasyonları (ng TEQ / kg kuru madde) (Roots et al., 2004)

ÜLKE	Herhangi Bir Tip	Orman	Çayır	Tarım Arazisi	Kırsal	Kirletilmiş Toprak
Avusturya	-	0,01 - 64	1,6 - 14	-	-	332
Belçika	2,7 - 8,9	-	-	-	2,1 - 2,7	-
Finlandiya	-	-	-	-	-	85000
Almanya	0.1 - 42	10 - 30	0.004-30	0,03 - 25	1	30000
Yunanistan	2 - 45	-	-	-	-	1144
İrlanda	0,15 - 8.6	4,8	0,8 - 13	-	-	-
İtalya	0,057-0,12	-	0,1 - 43	1,9 - 3,1	-	-
Lüksemburg	1,8 - 20	6	-	-	1,4	-
Hollanda	2 - 55	-	-	-	2,2 - 17	98000
İspanya	0,63 - 8,4	-	-	-	0,1 - 84	-
İsveç	-	-	-	-	0,11	11446
İngiltere	0,87 - 87	-	-	-	0,78 - 20	1585

Tablo 3.6: Farklı kaynaklardan derlenen değişik bölgelere ait toprak ve bitki örtüsü numunelerinin PCDD/F analizi sonuçları

ÜLKE	Bölge	Analiz Tarihi	Numune Sayısı	Konsantrasyon (pg I-TEQ / gr) KURU AĞIRLIK				REFERANS
				ORTALAMA	MEDYAN	MİNUMUM	MAXİMUM	
TOPRAK								
İtalya	Po Valley	2000	3	*	*	0,70	1,50	Caserini et al. (2004)
	Veneto	2000-2001	3			1,10	1,40	
	Adige Valley	2001	3			0,08	1,20	
Tayvan	Hsinchu	2001	8	*	*	0,52	5,02	Cheng et al. (2003)
Kore	Buchon	1999-2000	10	*	*	1,25	74,98	Oh et al. (2006)
Kore	Changwon	*	23	*	*	0,20	3720,00	Im et al. (2002)
İngiltere	Newcastle	2006	86	120,00	32,00	6,00	1911,00	Vizard et al (2006)
İspanya	Katalonya	1996-97, 1999	72	*	*	0,11	5,80	Domingo et al. (2001)
İspanya	Barselona	1999	24	*	*	1,22	35,28	Domingo et al. (2000)
İspanya	Katalonya	2000	4	37,00	0,29	0,14	0,75	Schuhmacher et al (2002b)
İspanya	*	1996	11	0,88	0,67	0,27	2,24	Eljarrat et al (2002)
		1998	5	0,46	0,28	0,18	1,15	
		1999	5	0,52	0,54	0,34	0,78	
		1997	24	1,17	0,87	0,10	3,87	
		1998	24	12,22	9,06	1,20	34,28	
		1999	24	14,41	11,85	1,33	54,23	
İspanya	Montcada/Barselona	1996	24	6,91	3,52	0,30	44,26	Domingo et al (1999)
		1997	24	4,47	2,56	0,15	29,27	
İspanya	Montcada/Barselona	1998	24	9,90	4,80	0,10	127,00	Schuhmacher and Domingo (2006)
		2002	15	5,50	2,20	0,40	16,90	
İspanya	Adria del Besos/Barselona	*	24	12,24	9,06	1,22	34,28	Schuhmacher et al (2000)
İspanya	Constanti/Katalonya	1996	40	1,68	0,67	0,13	24,20	Schuhmacher et al (2002a)
		1998	40	1,59	0,75	0,12	17,20	
BİTKİ ÖRTÜSÜ								
İspanya	Katalonya	2000	16	0,16	0,16	0.08	0.29	Schuhmacher et al (2002)
İspanya	Tarragana Katalonya	1997	24	0.23	0.20	0.11	0.50	Schuhmacher et al (1998)
İspanya	Adria del Besos/Barselona	*	24	0.70	0.58	0,33	1,98	Schuhmacher et al (2000)
İspanya	Constanti/Katalonya	1996	40	0,61	0,53	0,24	1,22	Schuhmacher et al (2002a)
		1998	40	0,31	0,23	0,14	2,01	

Bazı çalışmacılar ölçüm sonuçlarını ıslak ağırlık üzerinden verse de toprak ve bitki örtüsü için yapılan analiz çalışmalarının sonuçları genel olarak kg.kuru numune ağırlığı üzerinden verilir. Bunun yanında numune sonuçlarının gram ıslak numune ağırlığı başına verildiği pek çok çalışma da mevcuttur. PCDD/F seviyelerinin ıslak ya da kuru numune ağırlığı üzerinden verilmesi, önemli bir ayırımın yapılması gerekliliğini ortaya çıkarır. Bir numune içerisindeki toplam su miktarı bölgeden bölgeye ve hatta aynı bölgenin farklı noktalarında büyük değişimler göstermektedir. Bu durumda herhangi bir numune içerisindeki PCDD/F konsantrasyonlarının ıslak ağırlık üzerinden verilmesi, kuru numune ağırlığı üzerinden verilen sonuçlarla karşılaştırma açısından büyük zorluklar doğurur. Bu zorluğu aşmanın en kolay yolu numunelerin PCDD/F konsantrasyonları ile birlikte nem miktarlarının da saptanmasıdır. Ayrıca alınan örneklerin fiziksel ve kimyasal yapısı ile toprak numuneleri için özellikle organik karbon içeriği parametresi PCDD/F birikimi ile doğrudan ilişkilendirildiğinden, sağlıklı bir karşılaştırma yapabilmek için bu özelliklerin de kapsamlı bir şekilde ortaya koyulması gerekir. Numunenin nem içeriğine bağlı olarak konsantrasyondaki değişimi göstermek adına, Roots et al. (2004) tarafından 5 farklı toprak numunesi için verilen sonuçlar Tablo 3.7'de verilmiştir.

Tablo 3.7: Kuru ve yaş ağırlıklar için nem yüzdelerine bağlı olarak PCDD/F konsantrasyonları (Roots et al., 2004)

NUMUNE	NEM (%)	KONSANTRASYON (pg I-TEQ WHO/gr yaş ağırlık)	KONSANTRASYON (pg I-TEQ WHO/gr kuru ağırlık)
1	18.9	0.29	1.53
2	17.9	0.22	1.23
3	17.3	0.11	0.64
4	18.4	0.21	1.14
5	26.2	0.61	2.33

Bir toprak kütlesindeki dioksin birikiminin en temel nedenleri ıslak ve kuru atmosferik birikim ile geçmiş kaynaklı kirlilik olarak gösterilebilir. Bazı kaynaklarda bu süreçlere ilave olarak bitki köklerinden alım ve topraktan buharlaşan konjenerlerin yüzeye tutunma süreçleri da eklenmektedir. Vejetasyon numunelerindeki birikimin en temel kaynakları ise buhar fazı absorbsiyonu, kuru partükül birikimi, yaş partükül birikimi ve kökler aracılığı ile topraktan alım olarak

sıralanabilir. Meneses et al. (2002) bu kaynaklar arasından en etkili olanını buhar faz absorbsiyonu, en zayıf etkiye sahip olanını ise kökler aracılığı ile alım olarak göstermiştir. Topraklar için ise geçmiş kirlilikten sonraki en etkin birikim kaynağı ıslak birikim olarak gösterilebilir. Schröder et al. (1997)'ye göre toprak üzerine oluşan toplam birikimde ıslak birikimin payı; yüksek klor sayılı konjenerlerin birikiminde % 85 ve düşük klor sayılı konjenerlerin birikiminde % 60 olarak gösterilebilir.

3.1.3. Gıda maddelerindeki PCDD/F konsantrasyonları

Genelde gıda maddelerindeki dioksin seviyeleri çok düşüktür ve çoğu zaman pek çok konjener ölçüm limitlerinin altında kalır. Yakın bir zamana kadar gıda ürünlerinde ppt (trilyonda bir kısım–pg/gr) ve daha düşük seviyelerde bulunan PCDD/F konsantrasyonlarının saptanabilmesi; analitik ölçüm metotlarının hassasiyetlerindeki düşüklük, yağ içerikleri çok fazla olan gıdaların ekstraksiyonunda karşılaşılan zorluklar ve başta klorlu organik bileşikler olmak üzere bazı potansiyel girişimlerin varlığı gibi nedenlerle engellenmiştir. Ancak günümüzde tüm bu zorluklar çeşitli şekillerde aşılmış ve dioksin seviyelerinin oldukça düşük olduğu bilinen gıda ürünlerindeki seviyeleri pek çok çalışmacı tarafından belirlenmiştir. Artık literatürde gıda ürünlerinin PCDD/F seviyelerine ilişkin pek çok veriye ulaşılabilmekte ve değişik gıda gruplarının kirlilik seviyelerine yönelik olarak detaylı bilgiler edinilebilmektedir.

PCDD/F bileşiklerinin doğadaki taşınımları sırasında büyük bir birikim potansiyeli gösterdiği gıda maddelerinin dioksin seviyeleri ve konjener dağılımlarının belirlenmesi halk sağlığı açısından son derece önemli bir konudur. PCDD/F bileşiklerinin gıdalardaki seviyeleri ve insan maruziyetindeki ağırlığı üzerine yapılan çalışmaların çoğunda insanların günlük PCDD/F alımlarının % 90-95 gibi bir oranının gıdalar yoluyla gerçekleştiği ve gıda tüketiminin dioksin alımındaki birincil kaynak olduğu vurgulanmaktadır (Fries, 1995; Malisch, 1998; Jensen and Bolger, 2001; Tsutsumi et al., 2001; Focant et al., 2002; Llobet et al., 2003; US EPA, 2003; Papadopoulos et al., 2004; Kiviranta et al., 2004; Bocio and Domingo, 2005; Loutfy et al., 2006; Darnerud et al., 2006, Sasamoto et al., 2006). Ayrıca Travis and

Hattemer-Frey (1991) tarafından yürütülen ve bir uçuculuk modeli çalışmasında en toksik PCDD/F konjeneri olan 2,3,7,8 TCDD bileşeninin insan vücuduna girişindeki en baskın yolun % 99 gibi bir değerle gıda tüketimi (özellikle et ve günlük ürünler) olduğu vurgulanmıştır. Bu açıdan bakıldığında PCDD/F bileşiklerinin ortaya çıkarabileceği olumsuz sağlık etkilerinin ortadan kaldırılması ve mevcut risklerin doğru bir şekilde ortaya koyulabilmesi için gıda ürünlerindeki konsantrasyon seviyelerinin ortaya çıkarılması ve bu seviyelerin yüksek bir hassasiyetle ölçülebilmesi son derece önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) PCDD/F bileşenlerinin vücuda alımı için sınır değeri tolere edilebilir günlük (TDI) değer bazında 1-4 pg TEQ/kg vücut ağırlığı/gün aralığı olarak belirtmiştir. Burada 4 pg TEQ/kg vücut ağırlığı/gün değeri maksimum TDI değeri olarak düşünülmüş olup, sağlanması temel amaç olarak edinilmesi istenen günlük alım değeri ise 1 pg TEQ/kg vücut ağırlığı/gün'dür (Van Leeuwen et al., 2000). Gıda ürünleri ile PCDD/F alım miktarları, katkı oranlarının % 90 gibi bir seviyede olmasından ötürü TDI değerleri ile yapılacak karşılaştırmalarda belirleyici bir role sahiptir. Pek çok çalışmanın da ortaya koyduğu gibi insanların günlük alım miktarlarının pek çoğu gıda ürünlerinden kaynaklanır ve yine pek çok çalışmacı gıda ürünleri ile alımın en baskın şeklinin hayvansal kökenli ve günlük yağlı gıdaların tüketiminden kaynaklandığında hem fikirdir. Farklı bölgelerde yaşayan insanların tüketim alışkanlıklarındaki farklılıklar gıda yolu ile dioksin alımlarını belirleyen en önemli etmen olup bölgesel alım çalışmalarında elde edilen farklı değerlerin en büyük nedeni bu tüketim alışkanlıklarındaki farklılıklardır. İnsanların gıda tüketimi yoluyla aldıkları PCDD/F miktarlarının belirlenmesine yönelik olarak yapılan çalışmalarda, çalışmaya konu olan bölgenin özelliklerini yansıtan çeşitli sayı ve niteliklerde gıda sınıflandırmaları yapılır ve araştırma bu sınıflandırma üzerinden yapılır. Örneğin Tsutsimi et al. (2001) tarafından Japonya'da yürütülen bir çalışmada gıda maddeleri; pirinç ve pirinç ürünleri, bakliyat, tohumlar ve patates, şeker ve tatlandırıcılar, yağlar, hububat, meyveler, yeşil sebzeler, mantar ve deniz otları, baharat ve içecekler, balık ve deniz kabukluları, et ve yumurta, süt ve günlük ürünler, hazır yiyecekler ve su şeklinde 14 farklı gruba ayrılmıştır. Grup sayıları araştırmacıların tercihlerine göre farklılaşabilir. Bocio and Domingo (2005) tarafından 2001-2003 yılları arasında çeşitli araştırmacıların yaptığı gruplandırmalar ve bu gruplar için elde edilen alım değerleri ile toplam alıma yaptıkları katkı yüzdeleri Tablo 3.8'de verilmiştir.

Tablo 3.8: 2001-2003 yılları arasında yayınlanan bazı çalışmalardan derlenmiş, değişik ülkelere ait gıda yoluyla PCDD/F alım değerleri ve bu alım değerlerine katkıda bulunan başlıca gıda grupları (Bocio and Domingo, 2005)

ÜLKE	İncelenen Gıda Grupları	Günlük PCDD/F Alımına Katkıda Bulunan Başlıca Gıda Grupları ve Katkı Yüzdeleri	Günlük Alım Değeri (pg WHO TEQ / gün)
Finlandiya	Balık ve balık ürünleri, sebzeler, un, et ve et ürünleri, yumurta, süt	Balık ve balık ürünleri - % 82.3 , süt- % 7.8, et ve et ürünleri - % 7.2	46 (I–TEQ)
Japonya	Balık ve kabuklu deniz ürünleri, et ve et ürünleri, süt ve günlük ürünler, sebze ve meyveler, bakliyat, bitkisel ve hayvansal yağlar.	Balık ve kabuklu deniz ürünleri - %37, yumurta da dahil olmak üzere et ve et ürünleri-% 11.6, sebze ve meyveler-% 9.1	81.9
Birleşik Devletler	Balık, et ve et ürünleri, yumurta, sebzeler, süt ve günlük ürünler.	Et ve et ürünleri- % 32.1-36.1, günlük ürünler-% 28.7-30.5, sebzeler- % 21.3-23.6	Erkek 123 Bayan 86
Belçika	Et, yumurta, balık ve deniz ürünleri, süt ve süt ürünleri.	Balık ve deniz ürünleri- % 40, süt ve süt ürünleri-% 30, et-% 21	65.3
Katalonya/İspanya	Süt ve günlük ürünler, yumurta, etler, balık, zeytinyağı	Balık-% 78, günlük ürünler- % 9.1, et- % 8.1	46.9
Bask Bölgesi/İspanya	Yumurta, et ve et ürünleri, balık, süt ve günlük ürünler, bitkisel ve hayvansal yağlar.	Süt ve günlük ürünler - % 32.4, et ve et ürünleri - % 24, balık - % 21.3	54.4
Beijing/Çin	Etler, yumurta, balık ve balık ürünleri, süt, hububat ve bakliyat, sebze ve meyveler, seker, meşrubatlar.	Etler - % 34.8, balık ve balık ürünleri - % 28.6, yumurta - % 20.7	72.5
Tayvan	Et, balık ve deniz ürünleri, süt ve süt ürünleri.	Balık ve deniz ürünleri - % 50	Erk.30.7 Bay. 21.9
Kore	Hububat, sebze ve meyveler, balık ve kabuklu deniz ürünleri, günlük ürünler, et ve süt.	Balık ve kabuklu deniz ürünleri- % 45.1, hububat- % 20, sebzeler- % 17.2	31
Katalonya/İspanya	Balık ve kabuklu deniz ürünleri, sebze ve meyveler, süt ve günlük ürünler, hububat, bakliyat, et ve et ürünleri, yumurta, bit. ve hayvansal yağlar	Balık ve kabuklu deniz ürünleri- % 31, günlük ürünler-%25, hububat-% 14, et ve ürünleri-% 13	95.4
Tayvan	Sebze ve meyveler, balık ve deniz ürünleri, et ve et ürünleri, yumurta, süt ve günlük ürünler, hububat, bitkisel ve hayvansal yağlar.	Ürünler tüketicilerin kanındaki PCDD/F miktarları ile ilişkilendirilmiştir.	Rapor edilmemiştir.
Tarragona/İspanya	Sebze ve meyveler, et ve et ürünleri, balık ve deniz ürünleri, süt ve günlük ürünler, bakliyat, yumurta, bitkisel ve hayvansal yağlar.	Balık ve deniz ürünleri- % 33.7, bitkisel ve hayvansal yağlar- % 15.3, hububat- % 14.4, günlük ürünler-% 13.7, yumurta-% 2	59.6

U.S. EPA tarafından 2003 yılında yayınlanan ve Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ve bazı Asya ülkelerinde çeşitli çevresel ortamlardaki dioksin seviyelerinin belirlendiği çalışmaların sonuçlarının bir arada yayınlandığı raporda, gıda maddeleri için elde edilen verilerin bir arada değerlendirilmesi ile elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenmiştir:

- Çeşitli gıda türlerindeki PCDD/F ve PCB bileşiklerinin Avrupa ve Amerika için elde edilen TEQ değerleri benzerlikler göstermektedir.
- Hepta ve Okta gibi yüksek klor sayılı PCDD/F konjenerlerinin miktarları, düşük klor sayılı PCDD/F konjenerlerine göre daha yüksektir. Yüksek klor sayılı konjenerlerden dioksin bileşenleri furan bileşenlerine göre daha baskındır.
- Gıdalarda toplam TEQ değerlerinde en büyük paya sahip bileşen PeCDD konjeneridir.
- Balık, et, yumurta, süt ve günlük ürünler gibi hayvansal kökenli gıda maddelerinin yüksek yağ yüzdesine sahip olanlarının toplam PCDD/F miktarı düşük yağ yüzdesine sahip olanlardan daha yüksektir.
- Genel olarak tüm gıda maddeleri arasından en yüksek PCDD/F konsantrasyonuna sahip gıda türleri balıklar ve deniz kabuklularıdır.

Yukarıda da değinildiği üzere gıda maddelerini çeşitli sayı ve tiplerdeki gruplara ayırmak mümkündür. Ancak bu bölümde yalnızca belli başlı ve özellikle hayvansal kökenli gıda türlerinin dioksin seviyelerinin genel durumları ile ilgili kısa bilgiler sunulacaktır.

3.1.3.1. Yumurtalar

Yumurta numunelerindeki PCDD/F konjenerlerinin seviye ve dağılımlarını belirleyen en önemli etmenler; tavukların beslenme şekilleri (suni yem, doğal bitki örtüsü vs.), yetiştirilme şekilleri (kümeste, açık alanlarda vs.) ve kirlenmiş toprak ve bitki örtüsüne maruziyet oranlarıdır. Yumurtalar için PCDD/F seviyelerinin maksimum değeri EC tarafından 3 pg WHO-TEQ/gr yağ, PCDD/F ve PCB toplamı için 6pg WHO-TEQ/gr yağ olarak kabul edilmektedir. EC (2000)'e göre; Avrupa ülkeleri genelinde yapılan pek çok çalışmadan elde edilen veriler bir araya

getirildiğinde yumurta numuneleri için elde edilen ortalama PCDD/F konsantrasyonları 0.5–2.7 pg I-TEQ/gr yağ aralığındadır. Pek çok çalışmacıya göre kümeslerde beslenen hayvanların yumurtalarındaki konsantrasyonlar, serbest olarak beslenen tavuklarınkinden daha düşüktür ve serbest olarak beslenen tavukların yumurtalarındaki kirlenme seviyesi özellikle endüstriyel bölgeler için tavukların tükettiği toprak ve bitki örtüsünün geçmiş kaynaklı kirliliğine bağlı olarak zaman zaman sınır değerlerin üzerine çıkabilmektedir. Çeşitli kaynaklardan derlenen ve çeşitli yumurta numunelerindeki PCDD/F konjenerlerinin seviyelerini gösteren bazı veriler Tablo 3.9'da verilmiştir.

Tablo 3.9: Çeşitli kaynaklarda yumurta numuneleri için verilen konsantrasyon değerleri (pg/gr yağ)

KONJENERLER ve REFERANSLAR	Focant et al. (2002)	Llobet et al.(2003)	Papadapoulos et al. (2004)	Bocio and Domingo (2005)	Pirard and De Pauw (2005a)
2,3,7,8 –TCDD	0.14	0.17	0.08	0.06	5.82
1,2,3,7,8-PeCDD	0.56	0.12	0.13	0.06	18.20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.48	0.15	0.15	0.10	15.60
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1.72	0.35	0.13	0.18	33.70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.39	0.12	0.15	0.12	17.70
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	6.59	3.38	0.17	0.85	29.10
OCDD	63.02	15.03	1.71	3.70	0.00
2,3,7,8 – TCDF	1.80	0.36	0.09	0.40	164.00
1,2,3,7,8-PeCDF	1.22	0.14	0.08	0.28	236.00
2,3,4,7,8-PeCDF	2.18	0.17	0.08	0.29	279.00
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.24	0.22	0.13	0.61	272.00
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.23	0.10	0.12	0.32	281.00
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.05	0.04	0.14	0.10	219.00
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.00	0.20	0.18	0.44	25.20
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	4.05	0.25	0.11	0.63	237.00
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.00	0.07	0.11	0.12	33.70
OCDF	1.99	0.37	0.51	0.71	5.73

3.1.3.2. Bitkisel ve hayvansal yağlar

Avrupa ülkelerinde bu gıdalara yönelik olarak yapılan çalışmalarda bu türlerde bulunan PCDD/F konsantrasyonlarının 1 pg TEQ/gr yağ seviyesinde ya da bu seviyenin altında olduğu saptanmıştır ve en yüksek konsantrasyon değerleri balık yağlarında bulunmuştur. Bitkisel yağlar için bulunan değerler ise genelde ölçüm limitlerindedir. Bu konuyla ilgili bazı örnekler Tablo 3.10'da sunulmuştur.

Tablo 3.10: Çeşitli kaynaklarda bitkisel ve hayvansal yağ numuneleri için verilen konsantrasyon değerleri (pg/gr yağ)

REFERANSLAR	Eppe et al. (2004)		Papadopoulos et al. (2004)		Bocio and Domingo (2005)	Guruge et al. (2005)		
KONJENERLER	Sığır yağı		Zeytin Yağı	Balık Yağı	Bit. -Hay. Yağ	Balık Yağı	Tavuk Yağı	Domuz Yağı
2,3,7,8 –TCDD	0.28	0.38	0.080	0.110	0.050	0.600	<0,02	<0,02
1,2,3,7,8-PeCDD	2.04	1.71	0.090	0.190	0.100	0.900	0.23	0.3
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.04	1.82	0.110	0.170	0.100	0.630	<0,02	<0,02
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.07	2.25	0.110	0.330	0.100	0.890	0.43	0.22
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.81	1.95	0.100	0.170	0.100	<0,02	<0,02	<0,02
1,2,3,4,6,7,8HpCDD	2.02	1.50	0.460	1.180	0.340	5.200	3.9	<0,02
OCDD	4.60	4.42	7.490	1.670	2.210	39.000	5.4	11
2,3,7,8 – TCDF	2.50	0.34	0.100	1.490	0.090	2.900	3.2	0.27
1,2,3,7,8-PeCDF	1.99	2.23	0.100	0.290	0.170	1.500	<0,02	<0,02
2,3,4,7,8-PeCDF	1.69	2.12	0.080	0.720	0.120	2.000	1.6	0.47
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.94	1.91	0.090	0.220	0.240	0.500	0.75	0.3
1,2,3,6,7,8-HxCDF	2.14	1.95	0.100	0.290	0.130	0.520	0.53	0.14
1,2,3,7,8,9-HxCDF	2.28	2.21	0.100	0.360	0.100	<0,02	<0,02	<0,02
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.97	1.93	0.090	0.180	0.210	0.780	0.61	<0,02
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.89	2.14	0.150	0.620	0.310	3.700	2.3	0.22
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.65	2.14	0.090	0.220	0.200	<0,02	<0,02	<0,02
OCDF	5.14	3.57	0.930	0.260	0.230	2.500	<0,02	<0,02

3.1.3.3. Süt ve günlük süt ürünleri

Özellikle sanayileşmiş bölgelerde ve yaz aylarında otlatmak için dışarıya çıkarılan hayvanlardan elde edilen sütler ve bu sütler ile yapılan ürünlerdeki PCDD/F seviyeleri zaman zaman tehlikeli seviyelere ulaşabilmektedir. Süt ve süt ürünlerinde PCDD/F seviyelerinin ulaşabileceği maksimum değer EC tarafından 3 pg WHO-TEQ/gr yağ şeklinde verilmiştir ve Avrupa Birliği ülkelerinde yapılmış birçok çalışmadan derlenen sonuçların sunulduğu bir raporda (European Commission Health and Consumer Protection Directorate General, 2000) süt numuneleri için elde edilen ortalama PCDD/F seviyeleri 0.32–2.1 ng I-TEQ/kg süt yağı aralığındadır. Bu değer aralığı ticari tüketim yasağı getirilen değerin altında olmakla birlikte EC tarafından aşıldığında mutlaka kaynağının araştırılması ve önlem alınması gereken eylem sınır değeri olan 2 pg WHO-TEQ/gr yağ değerinin bazı bölgelerde aşıldığı belirtilmiştir. Süt ve sütten elde edilen günlük süt ürünlerindeki PCDD/F konsantrasyonlarının araştırıldığı farklı çalışmalardan derlenmiş olan bazı değerler Tablo 3.11'de sunulmuştur.

Tablo 3.11: Çeşitli kaynaklardan derlenen süt ve süt ürünlerine ilişkin elde edilmiş bazı konsantrasyon değerleri

ÜRÜNLER	BİRİM	KONSANTRASYONLAR				REFERANSLAR
Pastorize Süt	pg I-TEQ/gr yağ	0,29 – 1,75 (* 0,65, **0,29)				Durand et al., (2000) * Ortalama, ** Standart Sapma
İnek Sütü	ng I-TEQ / kg süt yağı	1.9 (a)	1.3 ± 0.23 (b)	0.51 ± 0.19 (c)		Schmid et al., (2003) a : 1984, b : 1990/1991, c : 2001
		8.5 ± 3.0 (a)	3.0 ± 0.87 (b)	0.63 ± 0.26 (c)		
		1.8 (a)	1.1 ± 0.74 (b)	0.36 ± 0.097 (c)		
Pastorize İnek Sütü	pg WHO-TEQ / gr yağ	1.09±0.30 (* 0.86 – 1.59)				Focant et al., (2003) * Değer Aralığı
Süt ve Günlük Süt Ürünleri	pg WHO-TEQ / gr Taze Ağırlık	*0,044	**0,022	***0,002	****0,709	Diletti et al., (2004) *Ortalama, **Medyan, ***Minimum, ****Maksimum
Süt, Peynir, Tereyağı, Yoğurt	pg WHO-TEQ / gr yağ	0,354*	0,110**	1,33***		Hamm et al., (2005) * Ortalama, ** Minimum , *** Maksimum
İnek Sütü ve Türevleri (Dondurma, Tereyağı)	pg WHO TEQ / gr ürün	0.071 ± 0.159 *	0.025 (0.004 – 0.709)**			Taioli et al., (2005) * Ortalama Değer ± SS ** Medyan (Değer Aralığı)
Buffalo, Koyun ve Keçi Sütü		0.020 ± 0.009 *	0.024 (0.009 – 0.027) **			

3.1.3.4. Et ve et ürünleri

İnsanlar tarafından tüketilen et ve et ürünlerindeki PCDD/F konsantrasyonları tüketilen etin elde edildiği hayvan türü ve hayvanın yetiştirilme koşullarından (yer, beslenme biçimi gibi) oldukça etkilenmektedir. Bu nedenle et ve et ürünleri ile ilgili olarak verilecek genel bir konsantrasyon aralığı büyük oranda yanıltıcı olabilir. Bu konuyla ilgili olarak bir fikir vermesi açısından bazı araştırmacılar tarafından et ve et ürünleri için elde edilmiş PCDD/F seviyeleri Tablo 3.12'de sunulmuştur.

Tablo 3.12: Çeşitli kaynaklarda farklı türlerden elde edilen et ve et ürünleri için verilen konsantrasyon değerleri (pg/gr yağ)

REFERANSLAR	Papadopoulos et al. (2004)					Schecter et al. (2001)		
KONJENERLER	Sığır	Kuzu	Domuz	Tavuk	Sığır Karaciğeri	Koyun	Domuz	Sosis Sucuk
2,3,7,8 –TCDD	0.07	0.09	0.08	0.06	0.11	0.025	0.032	0.025
1,2,3,7,8-PeCDD	0.16	0.11	0.11	0.09	0.12	0.125	0.125	0.125
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.12	0.11	0.14	0.16	1.16	0.182	0.125	0.125
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.29	0.16	0.13	0.14	0.43	0.646	0.166	0.360
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.09	0.14	0.13	0.15	0.34	0.137	0.125	0.125
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.2	0.78	2.18	0.74	20.57	2.740	1.570	3.990
OCDD	6.26	5.01	16.13	3.11	129.59	4.290	8.000	25.70
2,3,7,8 – TCDF	0.07	0.13	0.07	0.06	0.77	0.064	0.181	0.053
1,2,3,7,8-PeCDF	0.09	0.08	0.09	0.07	0.09	0.125	0.125	0.125
2,3,4,7,8-PeCDF	0.33	0.22	0.1	0.07	1.29	0.125	0.125	0.125
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.27	0.24	0.11	0.11	1.61	0.160	0.125	0.350
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.13	0.17	0.12	0.11	0.25	0.282	0.593	0.708
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.23	0.25	0.25	0.13	0.18	0.125	0.125	0.245
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.09	0.09	0.13	0.14	0.25	0.125	0.125	0.364
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.63	0.52	0.98	0.15	3.27	1.420	0.185	0.889
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.13	0.09	0.22	0.09	0.61	0.125	0.125	0.125
OCDF	0.77	0.6	2.3	0.16	2.28	0.394	0.299	0.564

3.1.3.5. Hububat, bakliyat, meyve ve sebzeler

Pek çok araştırma sonucunda hububat, bakliyat meyve ve sebze numunelerinde PCDD/F konjenerleri için elde edilen veriler genel olarak ölçüm limitlerinin altında ya da yakınındadır. Bu tip gıda ürünleri için yapılan genel sınıflandırmalarda ürünün yapraklı ya da köklü olması durumu göz önünde bulundurulmakta olup bu iki türün birikim mekanizmaları birbirlerinden farklıdır. Hububat, bakliyat, meyve ve sebze ürünleri için çeşitli kaynaklarda sunulmuş bazı veriler Tablo 3.13'de verilmiştir.

Tablo 3.13: Çeşitli kaynaklarda hububat, bakliyat, meyve ve sebzeler için verilen konsantrasyon değerleri (pg/gr kuru ağırlık)

REFERANSLAR	Llobet et al. (2003)			Bocio and Domingo (2005)			
KONJENERLER	Sebze	Meyve	Bakliyat	Sebze	Hububat	Bakliyat	Meyve
2,3,7,8 –TCDD	0.010	<0,02	<0,02	0.020	0.02	0.02	0.020
1,2,3,7,8-PeCDD	<0,04	<0,04	<0,04	0.020	0.02	0.02	0.020
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.020	<0,04	<0,04	0.040	0.04	0.04	0.040
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.030	<0,04	<0,04	0.040	0.04	0.04	0.040
1,2,3,7,8,9-HxCDD	<0,04	<0,04	<0,04	0.040	0.04	0.04	0.040
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.190	0.04	0.06	0.170	0.04	0.05	0.060
OCDD	0.830	0.16	0.29	0.920	0.53	0.73	0.350
2,3,7,8 – TCDF	0.090	0.03	0.05	0.070	0.02	0.02	0.020
1,2,3,7,8-PeCDF	0.030	0.01	0.03	0.050	0.02	0.02	0.020
2,3,4,7,8-PeCDF	0.030	0.01	0.02	0.060	0.02	0.02	0.020
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.130	0.08	0.08	0.090	0.04	0.04	0.030
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.040	0.02	0.03	0.060	0.04	0.04	0.040
1,2,3,7,8,9-HxCDF	<0,04	<0,04	<0,04	0.040	0.04	0.04	0.040
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.090	0.06	0.06	0.050	0.04	0.04	0.040
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.170	0.04	0.07	0.150	0.04	0.05	0.040
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.030	<0,04	0.02	0.040	0.04	0.04	0.040
OCDF	0.270	0.11	0.13	0.470	0.14	0.24	0.080

3.1.3.6. Balıklar ve deniz ürünleri

U.S EPA (2003)'e göre tüm gıda türleri arasında en yüksek PCDD/F seviyesine sahip tür balıklar ve deniz ürünleridir. Ancak bu durum hem bu gıda grubu içinde çok fazla sayıda ürünün bulunması hem de ürünlerin yetiştiği coğrafi koşullar göz önünde bulundurulduğunda her zaman gerçeklenmeyebilir. Balık türleri için PCDD/F seviyeleri genel olarak; maruziyet seviyelerine, yağ miktarlarına, yaşamsal faaliyetlere ve türlerin haraketlilik oranlarına bağlı olarak değişmektedir. Kirletici kaynaklara yakın yerlerden toplanmış yağ oranı yüksek dip türleri genel olarak en yüksek kirlilik seviyelerinde bulunurken, kirletici kaynaklara yakın yerlerden toplanmış olsa bile hareketli ve az yağlı türler daha düşük kirlilik göstermektedirler.

EC (2000)'e göre Avrupa ülkeleri için yapılan çalışmalarda balık ve deniz ürünleri için elde edilen değerler 1 pg I-TEQ/gr ürün seviyesinin altındadır ve diğer gıda gruplarından farklı olarak bu gıda grubu için elde edilen veriler büyük salınımlar gösterebilmektedir. Ayrıca toplumların tüketim alışkanlıkları göz önünde bulundurulduğunda, örneğin balık tüketiminin çok yüksek olduğu Japonya gibi ülkelerde bu gıda grubunun toplam alıma etkisi çok büyük seviyelerde olabilirken, nisbeten daha az deniz ürünü tüketen toplumlarda bu katkı ihmal edilebilir

seviyelerde olabilmektedir. Tablo 3.14'de bazı balık türleri için elde edilmiş değerler sunulmuştur.

Tablo 3.14: Çeşitli kaynaklarda bazı balık türleri için verilen konsantrasyon değerleri (pg/gr yaş ağırlık)

REFERANSLAR	Schecter et al. (2001)		Choi et al. (2002)			Loutfy et al. (2007)	
KONJENERLER	Okyanus Balığı	Tatlı su Balığı	Uskumru			Bolti Balığı	Mallet Balığı
2,3,7,8 –TCDD	0.033	0.149	0.00	0.00	0.00	0.020	0.075
1,2,3,7,8-PeCDD	0.125	0.251	0.22	0.00	0.00	<0,015	0.065
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.125	0.145	0.00	0.03	0.00	<0,03	<0,03
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.125	0.257	0.00	0.00	0.00	<0,03	<0,03
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.125	0.198	0.00	0.00	0.02	<0,03	<0,03
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.166	1.140	0.00	0.00	0.00	<0,045	<0,045
OCDD	0.450	5.880	0.00	0.41	0.00	0.169	0.123
2,3,7,8 – TCDF	0.165	0.693	1.50	2.00	1.18	0.673	0.779
1,2,3,7,8-PeCDF	0.125	0.367	0.29	0.36	0.24	0.029	0.121
2,3,4,7,8-PeCDF	0.125	0.365	0.82	1.81	1.00	0.068	0.309
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.530	0.162	0.20	0.08	0.00	<0,03	<0,03
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.237	0.962	0.00	0.12	0.00	<0,03	<0,03
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.136	0.125	0.00	0.00	0.00	<0,03	<0,03
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.206	0.125	0.00	0.00	0.00	<0,03	<0,03
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.694	1.500	0.06	0.05	0.00	<0,045	<0,045
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.125	0.131	0.00	0.00	0.00	<0,045	<0,045
OCDF	0.249	0.250	0.00	0.00	0.00	<0,060	<0,060

3.1.4. Sedimentlerdeki PCDD/F konsantrasyonları

Sedimentler genelde PCDD, PCDF, PCB ve PBDE gibi kalıcılık özelliği yüksek bileşenler için bir son durak olarak kabul edilirler. Bu bileşenler ile kirlenmiş sedimentler; akümülatif bileşenleri bünyelerinde biriktirme potansiyeline sahip akuatik organizmalar, balık ve deniz ürünleri ile beslenen diğer canlılar ve insanlar için istenmeyen düzeylerde riskler oluşturabilirler.

PCDD/F bileşiklerinin su kütleleri içerisindeki konsantrasyonlarının belirlenmesine yönelik olarak yürütülen çalışmaların hemen hepsi, bu bileşenlerin sudaki konsantrasyonlarının çok düşük seviyelerde olmasından kaynaklanan analiz zorluklarından kurtulmak için su kütlesi içerisindeki sedimentler ve canlı dokular üzerine yoğunlaşmaktadır. Özellikle dip sedimentlerinin derinlikle değişen konsantrasyon farkları analize konu olan bölgenin kirlenme geçmişine (rezervuar kaynaklar gibi) ışık tutan önemli indikatörler olarak kullanılırlar. Bunun dışında pek

çok çalışma kirlenmiş bölgeler için yüzey sedimentleri (son çökelen tabaka) ya da en üst tabakalar üzerine yoğunlaşarak bir kirlenme profili çıkarmaya çalışmaktadır.

Sedimentlerdeki kirlenme seviyesi ve profili pek çok değişkenden aynı anda etkilenmektedir. Bu değişkenler analize konu olan bölgenin coğrafi ve iklim şartlarından, yakın çevresindeki kirletici kaynaklarının türlerine kadar pek çok sayıda olabilir. Bu nedenle sedimentlerdeki PCDD/F seviyelerinin durumunu çok genel ifadelerle belirtmek oldukça zordur. U.S. EPA (2003)'e göre sedimentlerdeki PCDD/F konjenerlerinin dağılım ilişkileri kirletici kaynaklar tarafından belirlenir. Genel olarak sedimentlerdeki PCDD/F konjenerlerinin konsantrasyonları artan klor sayısıyla orantılı olarak artar ve bu seviyeler kaynaklardan uzaklaştıkça azalır. Sedimentlerdeki PCDD/F seviyelerine ilişkin genel bir bilgi verebilmek adına, dünyanın farklı bölgelerinde elde edilmiş bazı değerler Tablo 3.15'de sunulmuştur.

Tablo 3.15: Farklı bölgelere ait sediment numunelerindeki PCDD/F seviyeleri (Bellucci et al., 2000)

BÖLGE	**PCDD (ng/kg)**	**PCDF (ng/kg)**	**TEQ (ng/kg)**
Batı Baltık Denizi	9 – 2602	2 - 491	0.1 – 17.5
Umber Halici, UK	1915 – 2777	738 – 1054	14 – 24
Siyah Kaya Limanı, CT, USA	18226 – 19946	4367 – 4608	223 – 250
Bedford Limanı, MA, USA	1707 – 7564	258 – 7543	10 – 761
Chemie Limanı, Hollanda	2484 – 5752	39123 – 89395	434 – 923
St. Lauren Limanı, Hollanda	3670 – 31994	3065 – 19956	352 – 1849
Frierfjorden, Norveç	30550 - 70870	274900 - 401200	6234 – 1944

3.2. Çevresel Örneklerdeki PCDD/F Bileşenlerinin Analizi

Biyolojik ve/veya çevresel kökenli numune çeşitlerindeki dioksin seviyelerinin belirlenmesi için en sık kullanılan ölçüm tekniği gaz kromatografisi ve kütle spektrometrisi (GC/MS) birlikteliğidir. Bu uygulamada numunenin analize hazırlanma aşaması son derece kritiktir ve numune içerisindeki PCDD/F bileşenlerinin yağlı materyal ve diğer organik bileşenlerden ayrılabilmesi için güçlü bir ekstraksiyon ve temizleme (clean up) uygulaması gerekmektedir. Ayrıca analizde kullanılan tüm kimyasal madde ve malzemelerin dioksin kontaminasyonundan tam anlamıyla arındırılmış olduğundan emin olmak için büyük dikkat gerekmektedir. Numune içerisindeki PCDD/F bileşenlerinin analizde kullanılan cam malzemelerin yüzeylerinde adsorbe olmak suretiyle yok olması analizde yanlış sonuçlar doğmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle cam malzemeler için uygulanan temizleme prosedüründeki kurutma süreci, cam malzeme yüzeylerinde aktif bölgeler oluşturabileceğinden ötürü kullanılmamalıdır. Tüm girişim olasılıklarının yokluğu analiz koşullarında tekrarlanabilir bir şekilde gösterilmelidir. Analizi yapan kişiler PVC eldiven kullanımından kaçınmalıdırlar. Bu uygulamalardaki temel numune hazırlama basamakları; numunin lipofilik bir organik solvent ile ekstraksiyonunun ardından çeşitli evaporasyon ve kolon kromatografisi adımları ile numunenin konsantre edilmesi, temizlenmesi ve damıtılması olarak özetlenebilir.

Çevresel numunelerin PCDD/F analizinde kullanılan metotlar genel olarak metot ölçüm limitleri ppt seviyelerinde olan hassas ölçüm yöntemleridir. Hassasiyet, doğruluk ve seçicilik ancak hazırlık aşamalarının büyük bir dikkatle uygulanması sonucunda elde edilir. Bu değişkenlerin durumu kullanılan analiz metodunun yanı sıra teknisyenin tecrübeleri, numune matrisinin doğası, analitlerin numunedeki konsantrasyonları ve olası girişimlerin durumuna göre farklılıklar gösterir. Yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi (HRGC) PCDD/F analizlerinde çok sık kullanılır. Kullanılan MS metodu düşük çözünürlüklü (LRMS), yüksek çözünürlüklü (HRMS) ve tandem LRMS (MS/MS) şeklinde olabilmektedir. Bu uygulamalarda kullanılan başlıca iyonizasyon teknikleri ise elektron etki iyonizasyonu (EI), kimyasal iyonizasyon (CI) ve negatif kimyasal iyonizasyondur (NCI). Düşük hassasiyetlerine rağmen en sık kullanılan teknik EI'dır. CI ve NCI tekniklerinin kullanımı EI ile

karşılaştırıldığında daha az moleküler parçalanmadan ötürü daha yüksek hassasiyet sağlar. NCI negatif iyon oluşturma potansiyeli ve elektronları yakalama eğilimi yüksek bu tip bileşenler için oldukça seçicidir. GC/MS analizinin miktar tayinlerinde çoklu iyon görüntüleme (MIM) modunun kullanımından ziyade seçilmiş iyon görüntüleme (SIM) modu yaygın olarak kullanılır. Bu analizlerde miktar tayinleri ve performans doğrulaması için ^{13}C ya da ^{37}Cl etiketli PCDD/F bileşikleri gibi izotopik olarak etiketlenmiş iç standartlara ihtiyaç duyulur. Çevresel numunelerdeki PCDD/F seviyelerinin belirlenmesinde GC/MS sistemlerinin kullanımının yanında kısıtlı da olsa enzim biyoçözümlemesi ve ELISA (enzyme-linked immunosorbent assays) tabanlı monoklonal antibody tekniği gibi biyolojik metotlarda mevcut olup henüz geliştirilme aşamasındadırlar (ATSDR, 1998).

Elektron eklemeli negatif iyon kimyasal iyonizasyon kütle spektrometrisi çevresel numunelerdeki klorlu aromatik hidrokarbonların analizinde kullanılan önemli bir tekniktir ve bunun en önemli nedeni tekniğin kendisine has yüksek hassasiyet ve seçiciliğidir. Ancak bu özelliklerin önemi, değişken ve tekrarlanabilirliği az olan sonuçlar ve kütle spektrumundaki istenmeyen bazı piklerin varlığı gibi nedenlerle zayıflatılır. NCI tekniği pozitif iyon modu ile karşılaştırıldığında yüksek elektron ilgisi ve/veya termal elektron yakalama bölgelerine sahip bileşenler için yaklaşık 3 kat daha düşük ölçüm limitleri sağlayabilmektedir. Bu nedenle NCI tekniği polihalojenli aromatik analitlerin ölçümü için tercih edilen bir yöntemdir. Negatif iyon kütle spektrumunda çeşitli süreçler sonunda oluşan iyonların çokluğu birçok değişkenden etkilenmekle birlikte bu değişkenlerin en önemlileri ve süreç için en kritik olanları; numune basıncı, ayıraç gazın basıncı ve doğası, iyonlaştırıcı elektronların enerjisi ve akımının durumu ile iyon kaynağının sıcaklığıdır (Laramee et al., 1986). Çevresel numunelerdeki PCDD/F analizinde karşılaşılan zorluklar, metot seçimi için hassasiyet, seçicilik ve tekrarlanabilirlik gibi değişkenlerin göz önünde bulundurulmasını gerekli kılmaktadır. PCDD/F bileşiklerinin çevresel numunelerdeki analizi için kullanılan standart metot yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi ve yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisidir (HRGC/HRMS). Düşük çözünürlüklü tandem MS (MS/MS) tekniği gerekli seçiciliği sağlamakla birlikte HRGC/HRMS tekniğine göre bir kat daha az hassasiyete sahiptir (Reiner et al., 1991). Bu metotlar ile birlikte dioksin analizi için kullanılan ve literatürde farklı

çalışmacıların tercih ettiği çok sayıda farklı kolon ve fırın sıcaklıkları mevcut olup bunlardan bazıları Tablo 3.16'de sunulmuştur.

Tablo 3.16: PCDD/F analizi için bazı kaynaklarda verilen gaz kromotografisi koşulları ve ölçüm limitleri (Singh and Kulshrestha, 1997)

Bileşenler	**Kolon (Kılcal)**	**Sıcaklık (C^0)**	**Sabit Akışlı Taşıyıcı Gaz (cm/s)**	**Dedektör**	**Ölçüm Limiti**
PCDDs/Fs	DB-5 ya da SP-2330 (60m x 0.25 mm x 0.2µm)	60(2min)., 30/min.,210 2/min., 300(10min)	He - 30	MS ECD	60 fg/gr
PCDDs/Fs	DB-5 (60m x 0.25mmx 0.25µm)	220(2min)., 5/min..260 1/min., 300(10min)	He - 25	MS	0,003 pg
PCDDs/Fs	DB-5 (30m x 0.25mmx 0.25µm)	40(2min)., 30/min., 210 2/min., 285(10min)	He - 22	MS	1 pg/gr
PCDDs/Fs	DB-5 (50m x 0.32mmx 0.25µm)	250(5min)., 1.2/min., 300(5min)	He - 25	ECD	1 pg/gr
PCDDs/Fs	DB-5 (60m x 0.25mmx 0.15µm)	90(5min)., 25/min..200 (15min)., 4/min., 250 (15min)	He - 25	MS	14 fg/gr
PCDDs/Fs	HP-5 (25m x 0.2 mm x 0.33µm)	100(1min)., 20/min., 200, 5/min..280	He - 30	MS	1 pg/gr
PCDDs/Fs	DB-5 (60m x 0.25mmx 0.25µm) (40m x 0.25mmx 0.25µm)	120(1min)., 20/min., 210, 3/min., 300 (15min)	He - 25-35	MS	19 pg/gr
Cl_4-Cl_6DD/F	HP Ultra-2 (25m x 0.2mmx 0.33µm)	120(3min)., 10/min., 180, 2/min., 280 (15min)	He - 30	AED	6 ng
PCDDs/Fs	DB-5 (40m x 0.32mmx 0.25µm)	90(3min)., 10/min., 180 2/min., 280 (5min)	H_2 - 50	FID	6 ng
Cl_4-Cl_7DD/F	DB-5 (40m x 0.32mmx 0.25µm)	120(3min)., 20/min., 170, 1.7/min., 285 (1min)	H_2 - 50	ECD	1 pg
Cl_7-Cl_8DD/F	DB-5 (40m x 0.32mmx 0.25µm)	120(3min)., 20/min., 170, 4/min., 285 (1min)	H_2 - 50	ECD	9 ng
2,3,7,8 Cl_4-Cl_8DD/F	HP-Ultra-2 (25m x 0.32mmx 0.17µm)	120(5min)., 20/min., 180, 2/min., 260 (5min)	He - 30	MS	<1 pg
2,3,7,8 Cl_4DD/F	SP-2331 (60m x 0.25mmx 0.2µm)	100(1min)., 20/min., 180, 5/min., 250 (120min)	He - 22	MS	0.1 pg/gr
PCDDs/Fs	SP-2331 (60m x 0.32mmx 0.2µm)	120(3min)., 20/min., 180, 2/min., 250 (20min)	He - 50	MS	50 fg/gr
PCDDs/Fs	DB-5 (60m x 0.25mmx 0.25µm)	150(1min)., 20/min., 190, 3/min., 300 (10min)	He - 25	MS MS/MS	<1pg/gr
Cl_4-Cl_8DD/F	HP-Ultra-2 (50m x 0.2mmx 0.11µm)	120(5min)., 20/min., 180, 2/min., 260 (5min)	He - 30	MS	8 pg/gr

Yukarıda tabloda verilen kolonlar dışında dioksin analizi için kullanılan diğer bazı kılcal kolonlar; Nordion-NB-54 (25 m), DB-Dioxin, DB-5-MS (60 m), Rtx2230 (polar) ve Supelco SP2332 (polar) şeklinde gösterilebilir. Sistemlerde kullanılan fırın programları ise kullanıcılar tarafından sistemde konjenerlerin en iyi şekilde ayrıldığı program olacak şekilde deneyerek belirlenir.

Dioksin analizi için çevresel numunelerin GC/MS gibi hassas sistemlere getirilmeden önce bir dizi işleme tabi tutularak safsızlaştırılması analizin hassasiyeti için son derece önemlidir. Analitik ölçüm işleminden önce numunenin organik ve yağlı materyali ekstraksiyon işlemi ile numuneden izole edilir. Toprak, sediment ve açık yakma sonucu oluşan kül ve uçucu küllerin ekstraksiyonu için uygun olarak tanımlanmış ekstraksiyon prosedürü sokslet ekstraksiyonudur. Bu işlemde en sık kullanılan organik çözücüler ise; toluen, hekzan, diklorometan, diklorometan-aseton (1/1; v/v) 2 propanol-diklorometan (1/1; v/v) ve benzen olup ekstraksiyon süreleri 12 – 60 saat aralığında değişmektedir. Bu tip numuneler için kullanılan bir diğer ekstraksiyon çeşidi ise SFE (Supercritical Fluid Extraction) olarak tanımlanmaktadır.

Biyolojik kökenli numuneler ekstraksiyon işleminden önce dokuların parçalanması için dondurulur. Ardından numune daha iyi bir ekstraksiyon sürecinin gerçekleşmesi ve ileri aşamalardaki girişimlerin önüne geçebilmek adına suyu absorblayan sodyum sülfat ile karıştırılarak homojen hale getirilir. Bu homojen karışım bir süre bekletildikten sonra solventle ekstrakte edilir. Genel olarak kan ve süt hariç tüm biyolojik numunelerin ekstraksiyonu Dean Stark aparatının kullanıldığı sokslet ekstraksiyonu ile ekstrakte edilir (Singh and Kulshrestha, 1997).

Numunelerin ekstraksiyonu sırasında PCDD/F bileşikleri ile birlikte PCB ve PAH gibi kalıcı organik kirleticiler de ekstrakte edilir. Bunun gibi topraktan toprak organik maddesi, biyolojik materyallerden yağ ve bitkisel numunelerden klorofil bileşenleri de ekstrakte edilir ve bu bileşenler GC/MS analizinde girişime neden olur. Bu girişimin önüne geçmek için numunenin tipine göre değişen bir dizi temizleme (clean up) işlemi kullanılır. En sık temizleme prosedürü; ekstraktın hekzan, diklorometan, siklohekzan, pentan, toluen ve nonan gibi farklı elusyon solventleri kullanarak çeşitli adsorbent kolonlardan elue edilmesi ile gerçekleştirilir. Farklı

tipteki numunelerin safsızlaştırılması (clean up) için ve genel olarak cam kolonlarda kullanılan adsorbent maddeler için literatürde verilen bazı bilgiler Tablo 3.17'da özetlenmiştir.

Çevresel numunelerdeki PCDD/F seviyelerinin belirlenmesine yönelik olarak geliştirilmiş bazı metotlar tüm analiz adımlarını (numune hazırlama, ekstraksiyon, clean up, yoğunlaştırma ve GC/MS analizi gibi) detaylı bir şekilde standartlaştırmaktadır ve en sık kullanılan standart metotlar EPA 8280, EPA 8290, EPA 1613, EPA TO-9A ve M-23 olarak gösterilebilir.

Tablo 3.17: PCCD/F analizlerinde numunenin safsızlaştırılması (Clean up) için kullanılan çeşitli adsorbentler (Singh and Kulshrestha, 1997)

ANALİZİ YAPILAN BİLEŞİKLER	**NUMUNE TİPİ**	**ADSORBENT**
TCDD	Toprak	Alumina
Tetra-Octa PCDDs/Fs	Sediment	Silica, Alumina, Karbon
	Toprak, Kül,Uçucu Kül	Potasyum Silikat-Silikajel, Bazik Alumina, Celite
PCDDs/Fs	Toprak	Deaktivesilika, Aktif Alumina,
	Toprak, Sediment	Asidik/Bazik Silikajel
	Uçucu Kül, Toprak	Nonan içindeSilika,NaOH/SilikaSilika, H_2SO_4/Silika Silika/Na_2SO_4
	Uçucu Kül, Sediment	Deaktive Alumina,Aktif Bakır, Deaktive Silikajel, Alumina
TCDD	2,4,5-T asit	Silika Mikro Kolon, Alumina
	2,4,5-T ester	Alumina
PCDDs/Fs	Balık	Biobeads S-X3 ile GPC kolonu
	Biojenik Madde	SodyumSülfat, PotasyumSilikat, H_2SO_4/Silikajel/Na_2SO_4
	İnsan Kanı	H_2SO_4/Silika, Sezyumhidroksit/Silika, Florosil, Carbopack-C
	Süt	Lipidex 1000 ve 5000 Lipofilik jeller,Magnezia Celite, Alumina, Florosil
	Sediment, Hayvan Dokusu	Potasyum Silikat, Sülfürik Asit, Silikajel, Birleşik Potasyum Silikat/H_2SO_4
	Yumurta	Silikajel, Potasyum Silikat, H_2SO_4/Silikajel, Fenol jel ve fenomenex ile SEC, Çoklu Kolon
	İnsan Yağ Dokusu	Sülfirik Asit/Silika, Çoklu Kolon
	Bitki Numuneleri	Silika, NaOH-Silika Silika, H_2SO_4-Silika
	Su	HPLC Bölümleme
	Hava	Çoklu Clean up, Asit Baz Silikajel
	Yağ Numuneleri	Silika, Asidik Alumina, AX-21

BÖLÜM 4. GAZ KROMATOGRAFİSİ VE KÜTLE SPEKTROMETRİSİ

4.1. Genel Bilgi

Önceki bölümde de bahsedildiği üzere çevresel numunelerdeki PCDD/F konjenerlerinin niceliksel tayininde yaygın olarak kullanılan ve dünya çapında kabul görmüş en önemli analitik metot GC/MS olarak bilinen gaz kromatografisi ve kütle spektrometrisidir. Hem dioksin analizlerinde en sık kullanılan metot olması hem de bu çalışmanın metodolojik kısmını teşkil etmesi açısından GC/MS uygulamalarının teorik alt yapısı hakkında detaylı bir bilginin verilmesi son derece yararlı olacaktır. Bu amaçla çalışmanın bu bölümünde; GC/MS uygulamalarının temelini oluşturan gaz kromatografisi ve kütle spektrometrisi uygulamalarının teorilerine geçilmeden önce kromatografi ile ilgili genel bilgiler sunulacaktır. Gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi ile ilgili açıklamaların yapılmasının ardından bu iki uygulamanın bir ortak kullanımı olan GC/MS yöntemi özetlenecektir.

4.2. Kromatografi

Birçok mühendislik alanında, her hangi bir karışım içerisindeki bileşenlerin birbirlerinden ayrılması için kullanılan bazı yöntemler; absorbsiyon, adsorbsiyon, santrifüjleme, dekantasyon, distilasyon, kurutma, çöktürme, kristalizasyon, elektrofarez, elutrasyon, evaporasyon, ekstraksiyon, flokülasyon ve sedimentasyon gibi süreçler şeklinde gösterilebilir ve bir diğer önemli ayırma süreci de kromatografidir. Kromatografi; sabit bir faz içerisinden geçen hareketli bir faz içinde çözünmüş halde bulunan bir karışım içerisindeki analiz edilmesi düşünülen analitin diğer moleküllerden ayrılıp izole edilmesini sağlayan bir metottur. Kromatografi işlemleri hazırlayıcı ve analitik kromatografiler olmak üzere 2 şekilde uygulanır. Hazırlayıcı kromatografi, bir karışımdaki bileşenleri ileri bir kullanım için ayırmayı amaçlar iken, düşük miktarlarda numuneler ile çalışılan analitik kromatografide ise karışım bileşenlerinin seviyelerinin ölçümü amaçlanır.

Kromatografi ilk kez 1900 yılında Rus botanikçi Mikhail Tsvet'in bitki pigmentleri üzerine yaptığı çalışmalarında kullandığı, bitki pigmentlerinin ayrılmasını sağlayan kalsiyum karbonat içeren likid adsorbsiyon kromatografi kolonunu kullanması ile ortaya çıkmıştır ve kromatografi kelimesi ilk olarak yine bu araştırmacı tarafından 1906 yılında yayınlan bir makalede kullanılmıştır. Genel olarak kromatografi; bir karışımın bileşenlerine ayrılması için kullanılan laboratuar tekniklerinin tümüne verilen ortak bir isimdir.

Kromotografi; çeşitli maddelerin, hareketli bir faz yardımıyla, sabit bir faz üzerinde değişik hızlarla hareket etmeleri veya sürüklenmeleri esasına dayanır. Kromotografik yöntemler analitik anlamda nitel ve nicel amaçlar için kullanılabileceği gibi, başka metotlarla çok zor hatta imkansız olan saf maddelerin elde edilmesi için de yararlıdır. Hareketli gaz veya sıvı fazında taşınarak ve kolondan öteki bileşiklerden ayrılmış olarak çıkan saf maddeler kolon çıkışında toplanabilir.

Kromotografi metotları cam veya metal borular içinde gerçekleştirilirler. Cam veya metal borular, bu amaçla ince veya gözenekli bir katıyla iyice doldurulurlar. Böyle bir dolguya sabit faz veya kolon denir. Sistem ya bu haliyle kullanılır veya bir sıvı emdirilir ve bu sıvı sabit, sıvı faz gibi kullanılır. Yukarıda adı geçen gözenekli sabit fazın yerini, özel olarak yapılmış kalın süzgeç kağıtları veya cam levha üzerine tutturulmuş toz halde maddelerden meydana gelmiş ince bir tabaka da alabilir. Bu fazların içinden bir haraketli faz geçirilerek veya yürütülerek maddeler ayrılır. Başlıca kromotografi çeşitleri, kağıt kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, iyon kromatografisi, adsorpsiyon kromatografisi, dağılma kromatografisi ve gaz kromatografisidir (Öztürk, 2000).

Temel olarak adsorbsiyon ve dağılma olaylarının hakim olduğu kromatografi tekniklerini durgun ve hareketli fazlarının durumuna göre; katı-sıvı, sıvı-sıvı, sıvı-gaz ve katı-gaz kromatografileri şeklinde tanımlamak mümkündür. Sabit ve hareketli fazlar üzerinden kromatografi türlerinin sınıflandırılması Tablo 4.1'de ve bu kromatografi türlerinde fazların durumuna göre etkin olan kuvvetler Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.1: Kromatografi türlerinin sınıflandırılması (Scott, 2003).

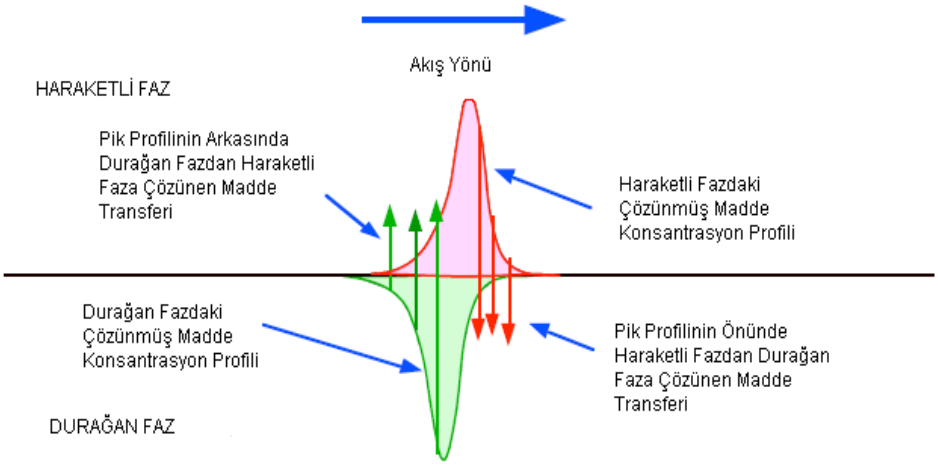
HARAKETLİ FAZ	SABİT FAZ
GAZ Gaz Kromatografisi (GC)	SIVI Gaz-Sıvı Kromatografisi (GLC)
	KATI Gaz-Katı Kromatografisi (GSC)
SIVI Sıvı Kromatografisi (LC)	SIVI Sıvı-Sıvı Kromatografisi (LLC)
	KATI Sıvı-Katı Kromatografisi (LSC)

Tablo 4.2: Kromatografi tekniklerinde etkin olan kuvvetler

Kromatografi Türü	Durgun Faz	Etkin Kuvvet	Hareketli Faz	Etkin Kuvvet
Katı-sıvı	Katı	Adsorbsiyon	Sıvı	Çözünürlük
Sıvı-sıvı	Sıvı	Çözünürlük	Sıvı	Çözünürlük
Sıvı-gaz	Sıvı	Çözünürlük	Saz	Hidrodinamik
Katı-gaz	Katı	Adsorbsiyon	Gaz	Hidrodinamik

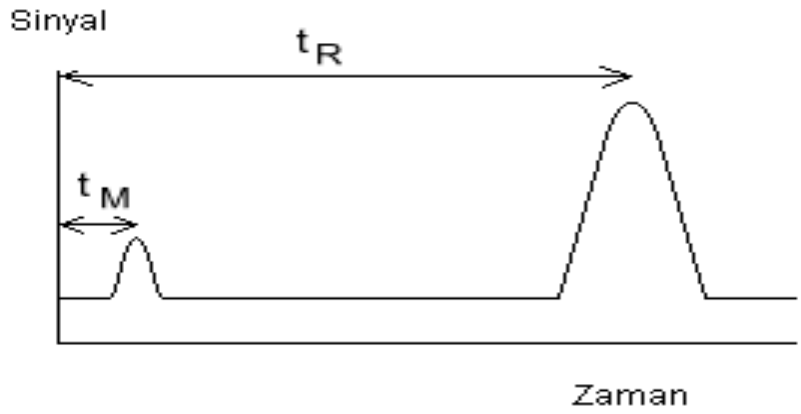
Kromatografi uygulamalarında analitin sabit ve hareketli fazlar arasındaki dağılımı, herhangi bir analit iki faz arasında tersinir bir denge durumundadır şeklinde basit bir ifade ile açıklanabilir ve bu ifade $A_{haraketli\ faz} \leftrightarrow A_{sabit\ faz}$ şeklinde sembolize edilebilir. Bu denge durumunu daha iyi anlayabilmek için, süreç içerisinde yalnızca elusyon olayı göz önünde bulundurulduğunda bir analitin kolon içerisinde elue olmak suretiyle dağılımını simgeleyen bir tersinir denge durumu Şekil 4.1'deki gibi gösterilebilir.

Yukarıda sözü edilen denklik için kullanılan denge sabiti K; durağan fazdaki analit molar konsantrasyonunun hareketli fazdaki konsantrasyona oranı olarak verilir ve bölünme katsayısı olarak adlandırılır.



Şekil 4.1: Bir analitin kolon içerisindeki davranışı

Numunenin bir kromatografi sistemine enjekte edilme anı ile kolonun sonunda bulunan herhangi bir dedektör tarafından gözlenip sinyal verildiği zamana kadarki geçen süreye alıkonma zamanı denir ve t_R ile gösterilir. Sistemden geçen hareketli fazın kolon boyunca yapacağı hareket için geçen süre ise t_M şeklinde gösterilmekte olup bu nicelikler Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Kromatografik sistemlerde analiz edilen her bir analitin alıkonma zamanı birbirinden farklıdır.



Şekil 4.2: Kromatografi sistemlerinde alıkonma zamanı

Kromatografi sistemlerinde alıkonma faktörü olarak adlandırılan k^1; genellikle analitin kolon boyunca gerçekleştirdiği yer değiştirmeyi tanımlamak için kullanılır. Kapasite faktörü olarakda bilinen bu faktör bir A analiti için $k^1_A = t_R - t_M/t_M$ şeklinde tanımlanır. Bir analitin alıkonma faktörü 1'den küçük ise sistemdeki elusyon, alıkonma zamanının doğru bir şekilde saptanmasını zorlaştıracak kadar hızlıdır.

Yüksek alıkonma faktörü değerleri elusyonun uzun sürdüğü anlamına gelir. Bir analitin alıkonma faktörü ideal durumlarda 1–5 aralığında değerler alır.

Yukarıda verilen bilgilere ilave olarak, kromatografi ile ilgili hemen tüm metinlerde ortak kullanıma sahip olan ve konunun daha iyi anlaşılması için büyük önem taşıyan bazı kromatografi kavramlarını şu şekilde açıklamak mümkündür:

- Analit: Kromatografi işlemi sırasında ayrılacak olan bileşen.

- Analitik Kromatografi*:* Bir numune içerisinde bulunan analit veya analitlerin mevcudiyetlerini ve konsantrasyonlarını belirlemede kullanılan metot.

- Hazırlayıcı Kromatografi*:* Analiz edilmektense ileri bir adım için, bileşenlerin yeterli saflıktaki miktarlarının hazırlanması için kullanılan teknik.

- Bağlanmış Faz: Kolon tüpünün iç duvarlarına ya da destek partüküllerine bağlanmış sabit faz.

- Durdurulmuş Faz: Destek partükülleri ya da kolon duvarlarında durdurulmuş sabit faz.

- Hareketli Faz: Belirli bir yönde hareket eden sıvı, gaz ya da süperkritik akışkan faz.

- Sabit Faz: Kromatografi prosedürünün gerçekleşmesi için kolon içerisine sabitlenmiş bileşen.

- Kromatografi: Belirli bir yönde haraket eden hareketli faz ile sabit faz arasında dağıtılan bileşenleri ayırmada kullanılan fiziksel ayırma işlemi.

- Kromatogram: Kromatografi işlemi sonunda elde edilen pikleri belirten görsel çıktı.

- Referans Çizgisi (Baseline): Yalnızca hareketli fazın ortaya çıktığı kromatogram parçası.

- Pik Maksimumu: Herhangi bir pikin en yüksek noktası.

- Enjeksiyon Noktası: Numunenin kolona yerleştirildiği yer/zaman noktası.

- Ölü Nokta: Alıkonmuş bir çözünmüş maddenin olmadığı pik maksimumunun konumu.
- Ölü zaman (t_0): Enjeksiyon noktası ile ölü nokta arasındaki zaman aralığı.

- Ölü hacim (V_0): Enjeksiyon noktası ile ölü nokta arasında kolondan geçen hareketli faz hacmi (Q'nun ml/dakika cinsinden akış oranını belirttiği bir durumda $V_0 = Qt_0$ olur).

- Alıkonma Zamanı (t_r): Enjeksiyon noktası ile pik maksimumu arasındaki zaman aralığı.

- Düzeltilmiş Alıkonma Zamanı (t'_r): Ölü nokta ve pik maksimumu arasındaki zaman aralığı.

- Pik Yüksekliği (h): Pik maksimumu ve referans çizgisi arasındaki geometrik uzaklık.

- Pik Genişliği (w): Pik yüksekliğinin 0.6065 kadarından pik kenarlarına çizilen yatay çizginin uzunluğu.

- Akış: Kolondan ayrılan ve hareket eden hareketli faz.

4.2.1. Kromatografi teorisi

Hakkında genel bilgiler sunulan kromatografi süreçlerinin işleyişi konusunda geçmiş yıllarda bazı teoriler ortaya atılmış olup bu teorilerden en bilineni tabak teorisidir. Tüm kromatografi çeşitleri için geçerli olan mekanizmaların ortak bir tanımı ve tabak teorisi, kromatografi teorisi ve maddelerin kromatografi kolonlarındaki hareketi başlıkları altında Öztürk (2000) tarafından aşağıdaki şekilde açıklanmıştır:

Kromatografi teorisini sıvı-sıvı faz kromatografisi üzerinde incelemek daha kolaydır. Sıvı-sıvı faz kromatografisinde sabit faz, gözenekli katı üzerine emdirilmiş bir sıvı, hareketli faz da bu sıvı ile karışmayan bir başka sıvıdır. Böyle bir kromatografiden elde edilecek sonuç diğer kromatografi çeşitlerine de kolayca uygulanabilir.

Kromatografide dağılma katsayısı ekstraksiyondakinden farklı olarak K ile gösterilir. Buna göre K;

$$K = \frac{\text{Sabit fazdaki madde konsantrasyonu (Cs)}}{\text{Hareketli fazdaki madde konsantrasyonu (Cm)}} \qquad (4.1)$$

dır. Hareketli fazdaki madde kesrine x dersek, eşitlik şöyle olur.

$$x = \frac{Vm}{Vm + KVs} \qquad (4.2)$$

Vm hareketli, Vs sabit fazın hacimleridir. İncelemeler esnasında K'nın madde konsantrasyonuna bağlı olmadığı kabul edilecektir. Aksi halde inceleme içinden çıkılmaz bir hal alır. Kromatografi teorisinde Craing'in karşı akım teorisi esas alınır. Ancak kromatografi teorisi ile Craing'in zıt akım veya çok basamaklı ekstraksiyon teorisi arasında fark vardır. Craing teorisinde fazlar arasında madde dağılır ve fazlar arasında bir denge meydana gelir. Halbuki kromatografide fazlar arsında bir denge meydana gelmez. İki teori arasındaki bu farkı kaldırabilmek için Martin ve Synge teorik tabak teorisini ortaya atmışlardır. Bunlara göre, teorik tabak öyle bir sabit faz (kolon) kalınlığıdır ki, bu kalınlığın üst kısmından giren hareketli faz, ortasına geldiği zaman iki faz arasında denge kurulur. Bu kabulle bir teorik tabak bir Craing kabı haline gelmiş olur. Buna göre bir kromatografi kolonu pek çok sayıda Craing kabı olarak düşünülebilir. Bunun için;

1- Her tabağın homojen ve yüksekliğinin aynı (h) olduğu,
2- Her tabağın hacminin (Vh) aynı olduğu,
3- Hareketli fazdaki madde kesrinin x olduğu kabul edilir.

Bir tabağın hacmi prensip olarak Denklem 4.2'in paydası Vh = Vm+KVs olarak kabul edilir ve bu da;

$$Vh = Vm + KVs = h\,(Am + KAs) \qquad (4.3)$$

şeklindedir. Am ve As hareketli ve sabit fazların kesitleridir. Bunlar sabit fazın ağırlığı, yoğunluğu, kolonun dolu kısmının yüksekliği ve kolonun içine konduğu borunun iç yarıçapından hesaplanabilir.

4.2.1.1. Maddenin kromatografi kolonunda hareketi

Martin ve Synge teorisi maddenin kromatografi kolonunun üstünde çok küçük bir hacimde veya tabakta toplandığını kabul eder. Teoriye göre bu tabak sıfır numaralı (r=0), bu tabağın altında ve hacimleri aynı olan tabaklar da sırasıyla 1,2,3... numaralıdır. Bunlar Craing'in zıt akım metodundaki tüplerin yerlerini alırlar.

Kromatografi işleminin başında söz konusu maddenin tamamen sıfır numaralı (r=0) tabakta olduğu ve bu tabaktan sonra gelen eşdeğer tabaklarda hiç madde olmadığı kabul edilir. Bu durumda kolonun tepesinden çok küçük dV hacminde saf hareketli faz (çözücü) ilave edilirse, bu hacme eşit hacimde bir çözelti sıfır numaralı tabaktan bir numaralı tabağa (r=1), bir numaralı tabaktan aynı hacimde bir çözelti iki numaralı (r=2) tabağa, ondan üç numaralı tabağa devam eder gider. Sıfır numaralı tabaktan bir numaralı tabağa geçen çözelti; sıfır numaralı tabağın hareketli fazındaki maddenin dV/Vm kesrini bir numaralı tabağa taşır. Bu şekilde hareketli fazla bir numaralı tabağa taşınmış olan madde, sıfır numaralı tabaktaki toplam maddenin (orijinal madde) dağılma katsayısı x ile çarpımı kadardır ve

$$\frac{dV}{Vm} \cdot x \qquad (4.4)$$

şeklinde olur. Orijinal maddenin bir kesrini ifade eden bu terim, eşitlik 4.2 ve 4.3'den yararlanarak,

$$f_{1,1} = \frac{dV}{V_h} \qquad (4.5)$$

şeklinde ifade edilir. Bu birinci tabaktaki madde kesridir. Sıfır numaralı tabaktaki madde kesri ise;

$$f_{1,0} = \left(1 - \frac{dV}{V_h}\right) \tag{4.6}$$

olur. Bu iki kesir toplanırsa $f_{1,1}+f_{1,0}=1$ eder.

Craing metodundakine benzer şekilde devam edilirse, üç defa dV kadar saf çözücü ilave edildiğinde (n=3) madde 4 tabakaya yayılmış olur ve her tabaktaki kesri de;

Tabak Sayısı (r)	Kesir
0	$f_{3,0} = \left(1 - \frac{dV}{V_h}\right)^3$
1	$f_{3,1} = \left(1 - \frac{dV}{V_h}\right)^2 \frac{dV}{V_h}$
2	$f_{3,2} = \left(1 - \frac{dV}{V_h}\right)\left(\frac{dV}{V_h}\right)^2$
3	$f_{3,,3} = \left(\frac{dV}{V_h}\right)^3$

şeklinde olur. Bu değer de;

$$\left[\frac{dV}{V_h} + \left(1 - \frac{dV}{V_h}\right)\right]^n \tag{4.7}$$

binominalinin açılımından başka bir şey değildir. Bundan dolayı n devirden veya n defa dV ilaveden sonra r'ninci tabaktaki madde miktarı ile ilk maddenin bir kesri olarak;

$$f_{n,r} = \frac{n!}{r! + (n - r)!} \cdot \left(1 - \frac{dV}{V_h}\right)^{n-r} \tag{4.8}$$

şeklinde verilir. Bir dağılma kromatografisinde kolondaki madde veya maddelerin dağılımı Craing prosesinde tüplerdeki madde dağılımına benzer şekil gösterir. Devir sayısı (n) yeterince çok ise yukarıdaki eşitlik;

$$f_{n,r} = \frac{1}{\sqrt{2\pi r}} \left(\frac{ndV}{rV_h} \right)^r e^{(r - ndV/Vh)} \tag{4.9}$$

şekline dönüştürülebilir. Eşitlikteki ndV yerine V yazılabilir. V kromatografide kullanılan toplam çözücü hacmidir. Buna göre eşitlik;

$$f_{n,r} = \frac{1}{\sqrt{2\pi r}} \left(\frac{V}{rV_h} \right)^r e^{(r - V/Vh)} \tag{4.10}$$

olur. $f_{n,r}$ değerleri V/Vh ye karşı grafiğe geçirilirse çeşitli eğriler elde edilir. Bu eğrilerde r=V/Vh olan yerler maksimumlar veya madde pikleridir. R tabak sayısı ve her tabağın kalınlığı h olduğundan hr;

$$hr = \frac{V}{Am + KAs} \tag{4.11}$$

olur. Eşitlik 4.3'den yararlanılarak bu eşitlik de;

$$hr = hV/V_h \cdot \left(r = \frac{V}{V_h} \right) \tag{4.12}$$

şekline dönüştürülür. Bu son eşitlik, dağılma katsayıları (K) farklı olan maddelerin kolon boyunca farklı yerlerde maksimumlar veya pikler göstereceğini ifade eder.

Ayrıca pikin kolondaki yeriyle hareketli fazın ulaştığı yer karşılaştırılabilir. Hareketli fazın kolon boyunca ulaştığı yer V/Am ile işaretlidir.

Herhangi bir hacimde çözücü kullanıldığı zaman tepeden başlayarak pik uzaklığının çözücünün ulaştığı uzaklığa oranı Rf ile gösterilir ve Rf;

$$Rf = \frac{hV/V_h}{V/Am} = \frac{h\ Am}{V_h} \tag{4.13}$$

şeklindedir. Rf'ye maddenin kolonda alıkonma faktörü denir. Bu eşitlik, Denklem 4.3 ile birleştirilirse;

$$Rf = \frac{Am}{Am + K\,As} \tag{4.14}$$

olur. Burada görülen niceliklerin hepsi genel olarak tayin edilebildiklerinden bir maddenin Rf değeri tayin edilebilir.

Kromatografik ayırımı yapılan madde ikili bir karışımsa (M ve N gibi) alıkonma faktörlerinin oranı;

$$\frac{(Rf)_M}{(Rf)_N} = \frac{Am + K_N As}{Am + K_m As} \tag{4.15}$$

olur. Bu oran maddelerin kolonda sürüklenmelerini veya aldıkları yolu mukayese bakımından çok yararlıdır.

4.2.1.2. Tabak teorisi ve sınırlamalar

- Sıvı-sıvı kromatografisi üzerinde açıklaması yapılan tabak teorisi bütün kromatografi çeşitlerine uygulanabilir.

- Dengeye gelme zamanı akış hızının azaltılmasıyla da sağlanabilir. Böyle bir durumda tabaklar arasında difüzlenme artar ve zararlı olur. Her kolon için uygun bir ayırma zamanı vardır, ama bu ancak deneylerle bulunabilir. Difüzyon ve denge sağlanmaması geniş bantların meydana gelmesine yol açar. Bu da ayırmayı güçleştirir.

- Maddenin dağılma katsayısının konsantrasyonuna bağlı olmadığı kabul edilmiştir. Bu doğru değildir. Bazen maddenin konsantrasyonuna da bağlı olarak dağılma bandı çok genişler ve hatta kuyruklu bir hal alır.

- İki maddenin dağılma katsayılarının sabit olduğu kabul edilmiştir. Gerçekte maddelerin dağılma katsayıları bir arada bulundukları zaman, bazen değişebilir. Bu da şekli bozulmuş kromatogramlar meydana getirir.

- Bütün madde veya maddelerin birinci tabakta olduğu kabul edilmiştir. Bu hiçbir zaman mümkün değildir. Madde miktarı çok az da olsa birçok tabağa dağılır. Bunun sonucu maddenin ayrılması çok sayıda tabaktan birde başlar ve beklenen madde bantları hesaplandığı gibi değil yaygın olur (Öztürk, 2000).

4.3. Gaz Kromatografisi (GC)

Gaz fazında bulunan ya da içerisinde kolayca buharlaştırılabilen bileşenlerin bulunduğu bir karışım içerisindeki hedef bileşenlerin, çeşitli tekniklerle gözlemlenebilecek seviyede birbirlerinden ayrılması için kullanılan kromatografi yöntemlerine gaz kromatografisi adı verilir.

Gaz kromatografisi, uçucu bileşenlerden oluşan bir karışımın bileşenlerini birbirinden ayırmak için kullanılan bir yöntemdir. Birçok uygulamada bu ayırma işlemi; bir karışımdaki her bir bileşeni tanımlamak ve miktarını saptamak için kullanılır ve gaz kromatografisi uygulamalarında bu amaca hizmet eden ilave enstrümanlar mevcuttur. Bazı uygulamalarda bu ayırma işlemi başka uygulamalara hazırlık yapma amacı ile de kullanılır.

Gaz kromatografisi sistemlerinin ortak bileşenlerinden öncül bir öneme sahip olan bileşen, çeşitli adsorbentler ile sıkıca paketlenmiş uzun bir tüpten ibaret olan kromatografi kolonudur. Uygulamalarda kromatografik işlemler arasından en sık kullanım özelliğine sahip olan elusyon tekniğinde, inert bir gaz akışından ibaret olan taşıyıcı gaz kolon boyunca kesintisiz bir şekilde hareket eder ve ayırımı yapılacak karışım, kolonun hemen başlangıç kısmında bu inert gaz akışının içerisine bırakılır (enjeksiyon). Karışımın tek bir saf maddeden ibaret olduğu varsayımı yapılırsa, enjeksiyon anından sonra gerçekleşen olaylar şu şekilde özetlenebilir: Karışımın taşıyıcı gaz içerisine enjekte edilmesinin ardından bileşen taşıyıcı gaz tarafından kolon içerisinde sürüklenir. Karışım sisteme sıvı olarak enjekte edildi ise ilk olarak

karışımın buhar fazına geçmesi sağlanır. Bileşen kolona ulaştığında büyük bir kısmı kolon tarafından adsorplanır ancak her zaman kolonun hareketli fazında bir miktar bileşen kalacak şekilde, kolonun adsorbent yüzeyi ile taşıyıcı gaz arasında bir denge kurulur. Hareketli fazdaki bu bileşen taşıyıcı gaz ile birlikte, kolon ile tekrar bir denge kurana kadar kolon içerisinde kısa bir yol alır. Aynı anda kolon üzerinde adsorblanmış materyal buhar fazı oluşturan temiz taşıyıcı gaz ile yeni bir denge oluşturmak için gaz faz içerisine döner (Littlewood, 1970).

Gaz kromatografisinde hareketli faz olarak kullanılan ve genellikle inert bir yapı gösteren gaza taşıyıcı gaz adı verilir. Sabit fazın yapısına göre gaz kromatografisi aşağıdaki şekilde ikiye ayrılır.

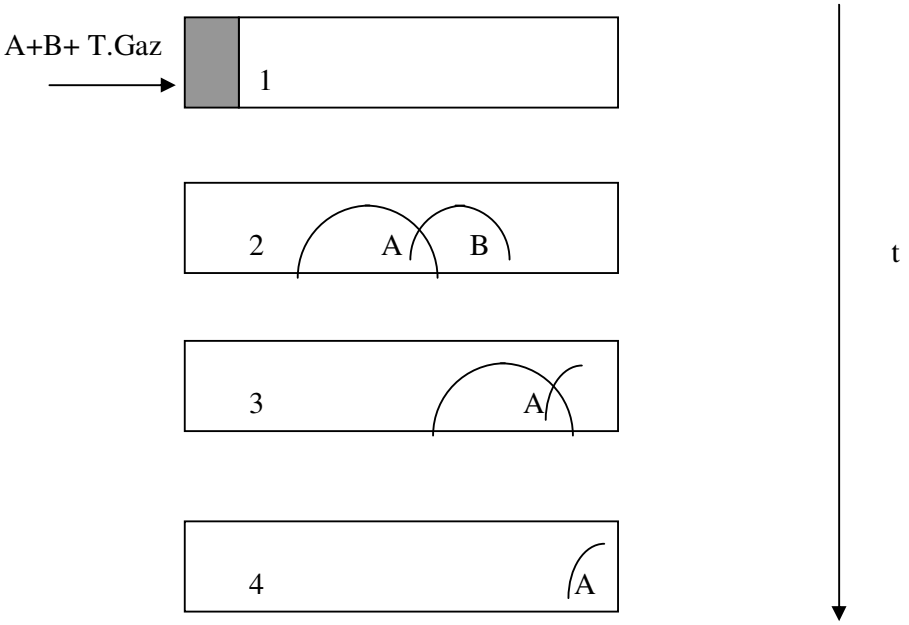
- Sabit Fazı Katı Olan Gaz-Katı Kromatografisi
- Sabit Fazı Sıvı Olan Gaz-Sıvı Kromatografisi

Gaz-katı kromatografisi adsorbsiyon olayına dayandığından bununla elde edilen pikler kuyrukludurlar. Böyle kuyruklu pikler ayırma işlemini güçleştirir. Bundan dolayı gaz-katı kromatografisi çok az kullanılır ve gaz kromatografisi denince akla genellikle gaz-sıvı kromatografisi gelir. Gaz-katı kromatografisinde aktif kömür, alüminyum oksit, silikajel gibi maddeler kullanılır. Gaz-sıvı kromatografisinde yüzeyi geniş gözenekli katı maddeye özel bir sıvı emdirilir. Bu sıvı katı maddenin gözenekleri dahil bütün yüzeyine dağılır ve sabit bir faz gibi davranır. Hareketli olan gaz fazı bu fazın içinden kolaylıkla geçer. Bu kromatografi çeşidinde etkin olan olay dağılmadır. Analizi yapılacak numune içerisindeki maddeler bu iki faz arasında kendi özelliklerine göre dağılırlar.

Gaz kromatografına konan numune içerisindeki maddeler, azot, helyum gibi özel bir gazla sabit fazın içinden sürüklenirler (taşınırlar). Bu arada numune içindeki gazlar (numunenin mutlaka gaz olması gerekmez, sıvı olan numuneler sıcak bir hücrede gaz haline getirilirler) sabit fazla aralarındaki ilgiye göre az veya çok tutulurlar. Tutulma aslında bir nevi frenlemedir ve bu tutulma sürecinde bazı bileşenler çok, bazılarıysa az frenlenirler. Bu frenlenmeye rağmen tüm bileşenler taşıyıcı gaz tarafından dedektöre, oradan da atmosfere atılırlar. Gazların sabit fazla hareketli faz arasında

dağılmalarında, çözünürlük, bağlanma, adsorplanma, moleküler süzülebilme gibi olaylar etkin olabilirler (Öztürk, 2000).

Şekil 4.3'de; içerisinde A ve B gibi iki uçucu bileşen bulunan bir karışımın gaz kromatografında herhangi bir t zaman aralığında geçirdiği süreç özetlenmiştir. Şekilde 1 numara ile gösteren fazda, karışım içerisindeki bileşenler taşıyıcı gaz aracılığı ile kolona girerler. 2 numaralı fazda bileşenler zamanla birbirilerinden az çok, 3 numaralı fazda ise tamamen ayrılırlar. 3 numaralı faz sonunda kolonu terk eden B bileşeni dedektöre A bileşeninden önce girerken, 4 numaralı faz sonunda A bileşeni kolonu terk eder ve B bileşeninin ardından dedektöre girer. Bu durum sonucunda dedektörün vereceği tepkiye göre oluşan kromatogramda ilk görülen pik B iken ardından gelen pik A bileşenidir. Söz konusu kromatogramda her bir bileşen için elde edilen pikler ile taban çizgisi arasında kalan alan, bileşenlerin karışım içerisindeki miktarlarının saptanmasında kullanılır.



Şekil 4.3: Gaz kromatografisinde karışım içerisindeki bileşenlerin birbirlerinden ayrılması

4.3.1. Gaz kromatografisi teorisi

Gaz kromatografisi sistemlerinin teorik altyapısı ile ilgili mevcut bilgilerin bir derlemesinin sunulacağı bu bölümde, tabak teorisinin gaz kromatografisine

uygulanışına geçilmeden önce teorik bilgilerin içerisinde bulunan ve konunun daha iyi anlaşılmasına yardımcı olabilecek bazı terimleri açıklamak faydalı olacaktır.

4.3.1.1. Alıkonma zamanı (t_r)

Bir maddenin gaz kromatografi cihazına enjekte edildikten sonra dedektörde sinyalin (pikinin) görünmesine kadar geçen zamana alıkonma zamanı denir ve t_r ile gösterilir. Hava için bu zaman çok kısadır. Bir kromatogramda alıkonma zamanı en kısa olan gazın piki önce çıkar. Ayırma kolonunda çok az veya hiç alıkonmayan (taşıyıcı gazlar gibi) bir gazın alıkonma zamanı da t_g ile gösterilir.

4.3.1.2. Alıkonma hacmi (Vr)

Bir maddenin sinyalinin dedektörde meydana çıkmasına kadar harcanan taşıyıcı gazın hacmine alıkonma hacmi denir ve Vr ile belirtilip şu denklikle gösterilir:

$$Vr = t_r.Fe \tag{4.16}$$

Burada, Fe gazın cihazdan çıkışında saniyedeki hızını temsil eder.

Ayırma kolonunda çok az veya hiç alıkonmayan bir gazın (taşıyıcı gazlar oksijen gibi) alıkonma hacmi de Vg ile gösterilir.

$$Vg = t_g.Fe \tag{4.17}$$

Bir gazın farklı sıcaklıklardaki akış hızları arasında;

$$F_1/T_1 = F_2/T_2 \tag{4.18}$$

şeklinde bir bağıntı vardır. Burada; T_1 ve T_2 mutlak sıcaklıklardır.

4.3.1.3. Düzeltilmiş alıkonma hacmi (Vr^0)

Düzeltilmiş alıkonma hacmi Vr^0 ile gösterilir. Bu hacim Vr hacminin bir J faktörüyle çarpılmasıyla elde edilir. Bu faktör kolona giren ve kolondan çıkan taşıyıcı gazın basınçlarının farklı olması esasından hareket edilerek bulunmuştur ve aşağıdaki denklikten hesaplanır.

$$J = \frac{3\left[(Pi/Pd)^2 - 1\right]}{2\left[(Pi/Pd)^3 - 1\right]} \tag{4.19}$$

Eşitlikte geçen P_1 ve Pd kolona giren ve kolondan çıkan gazların basınçlarını gösterir (i=içeri, d=dışarı). Buna göre düzeltilmiş alıkonma hacmi;

$$Vr^0 = J\ Vr = Jt_r\ Fe \tag{4.20}$$

Şeklinde gösterilebilir. Bu durum taşıyıcı gaz için de;

$$Vg^0 = J\ Vg = Jt_g\ Fe \tag{4.21}$$

şeklini alır.

4.3.1.4. Alıkonma faktörü (Rf)

Alıkonma faktörü R_f ile gösterilir ve söz konusu gazın kolon içindeki hızının, taşıyıcı gazın kolon içindeki hızına oranıdır. Kolonun boyu l, gazın alıkonma zamanı t_r olduğuna göre, gazın kolon içindeki hızı Denklem 4.22'de, taşıyıcı gazınki ise Denklem 4.23'de gösterildiği şekilde olur.

$$F_1 = l / t_r \tag{4.22}$$

$$F_g = l / t_g \tag{4.23}$$

Buna göre R_f ;

$$Rf = F_l / F_g = \frac{1/t_r}{1/t_g} = \frac{t_g}{t_r} \qquad (4.24)$$

şeklinde olur. Eşitlik (4.20) ve (4.21) dan R_f ;

$$Rf = \frac{t_g}{t_r} = \frac{V_g^{\,0}}{V_r^{\,0}} \qquad (4.25)$$

şeklinde bulunur.

4.3.2. Tabak teorisi ve gaz-sıvı kromatografisi

Daha önce gördüğümüz sıvı-sıvı dağılma kromatografisi teorisi gaz-sıvı kromatografisine de uygulanabilir. Bir maddenin (gaz halinde) sıvı fazıyla (sabit faz) gaz fazı (hareketli faz, taşıyıcın gaz) arasındaki dağılma katsayısı (K_g);

$$K_g = \frac{\text{Sıvı fazdaki madde konsantrasyonu (gr/ml)}}{\text{Taşıyıcı fazdaki madde konsantrasyonu (gr/ml)}} \qquad (4.26)$$

şeklinde tanımlanır.

Maddenin konsantrasyonu çok düşük olduğundan K_g sabit kabul edilir. Daha önce görülen eşitlik gaz-sıvı kromatografisine uygulanırsa;

$$Rf = \frac{Am}{Am + K_g As} \qquad (4.27)$$

elde edilir. A_m kolonun gazla dolu kısmının kesiti, A_s de sabit sıvı fazın kesitini gösterir. R_f değeri, düzeltilmiş gaz hacmin (Vg^0) ve katının üzerine yayılmış olan sıvının (sabit faz) hacmi (Vs) cinsinden de verilebilir.

$$Vg^0 = A_m.l \quad (4.28)$$

$$Vs = A_s.l \quad (4.29)$$

Bu eşitliklerde bulunan A_m ve A_s Denklem (4.27) de yerine koyulursa,

$$Rf = \frac{V_g^{\ 0}}{V_g^{\ 0} + K_g\ Vs} \quad (4.30)$$

bulunur. Denklem (4.26) ve (4.30) den;

$$Vr^0 = Vg^0 + Kg.Vs \quad (4.31)$$

$$Vr^0 = J.t_r\ Fe \quad (4.32)$$

elde edilir. Bu eşitlik bir maddenin alıkonma zamanının; taşıyıcı gazın hacmine, dağılma katsayısı K_g ye, sabit fazdaki sıvının hacmine, taşıyıcı gazın akış hızına bağlı olduğunu ortaya koyar. Bir karışımda bulunan iki gazın alıkonma zamanları arasında,

$$t_r = \frac{V_g^{\ 0} + K_g\ Vs}{J \cdot Fe} \quad (4.33)$$

şeklinde bir bağıntı vardır (Gündüz, 1999).

4.3.3. Kolon verimliliği

Gaz kromatografisinde, bir kolonun verimliliği teorik tabak sayısına (n) bağlıdır. Teorik tabak sayısı maddenin alıkonma zamanıyla dedektörde meydana getirdiği sinyal bandının genişliğinden hesaplanabilir, eğrinin herhangi bir andaki piki;

$$\frac{V}{V_h} = r \tag{4.35}$$

bağıntısından bulunur. Pik kolondan çıktığı zaman r = n olur ve bu denklem;

$$\frac{V}{V_h} = n \tag{4.36}$$

şeklini alır.

Burada n; kolondaki tabak sayısını ifade eder. V hacmi bir madde enjekte edildikten sonra pikinin meydana çıkmasına kadar kullanılan taşıyıcı gazın hacmi veya alıkonma hacmidir. Bilindiği gibi alıkonma hacmi, gazın akış hızı ve zamana bağlıdır.

Akış hızı sabit kabul edilirse,

$$n = \frac{V}{V_h} = kD \tag{4.37}$$

olur.

Eşitlikteki k bir katsayıdır. Yapılan hesaplar pikin doğru kısımlarının uzantılarının zaman eksenini (x ekseni) kestiği noktaların $(n+1) - 2(n)^{1/2}$ ve $(n+1) + 2(n)^{1/2}$ olduğunu gösterir. Bu iki nokta arsındaki tabak farkı;

$$4(n)^{1/2} = \left(\frac{V}{V_h}\right)_2 - \left(\frac{V}{V_h}\right)_1 = kL \tag{4.38}$$

olur. Denklem (4.37) ve (4.38) kullanılarak şu eşitlik elde edilir.

$$n = 16\frac{D^2}{L^2} \tag{4.39}$$

Bu sonuç, kolonun verimliliğinin veya teorik tabak sayısının, maddenin pikinin meydana çıkma zamanı ve pikin genişliğine bağlı olduğu gerçeğini ortaya koyar. Her ikisi de ölçülebilen değerler olduğundan n kolaylıkla hesaplanabilir (Gündüz, 1999).

4.3.4. Maddelerin ayrılmaları

Kromatografinin amacı bir arada bulunan maddeleri ayırmak olduğuna göre, ayrılmanın hangi şartlarda en iyi olduğunun araştırılması gerekir. Daha önce de söylendiği gibi iyi bir ayırma teorik tabak sayısına bağlıdır. Teorik tabak sayısı da maddelerin dağılma oranları α'ya ($K_{g1} / K_{g2} = \alpha$) bağlıdır. Denklem 4.34'de $K_{g2}.V_s$ ve $K_{g1}.V_s$ terimleri V_g^0'ye göre çok büyük yapılırlarsa α;

$$\alpha = \frac{K_{g1}}{K_{g2}} = \frac{t_{r1}}{t_{r2}} \tag{4.40}$$

şeklinde olur. Alıkonma zamanları kolaylıkla ölçülebildiğinden α bulunur. Diyagramla α ve bindirme derecesi yardımıyla teorik tabak sayısı bulunur. Bindirme derecesi;

$$\eta i = \frac{m_1^{\,2} + m_2^{\,2}}{2m_1 m_2} \tag{4.41}$$

şeklinde verilir. Burada; m_1 ve m_2 sırasıyla birinci ve ikinci maddelerin mol sayıları, η_i ise bunlardan m_1 ve m_2 maddelerinden birinin içinde safsızlık olarak kalan ikinci maddenin mol sayısının esas maddeye oranıdır.

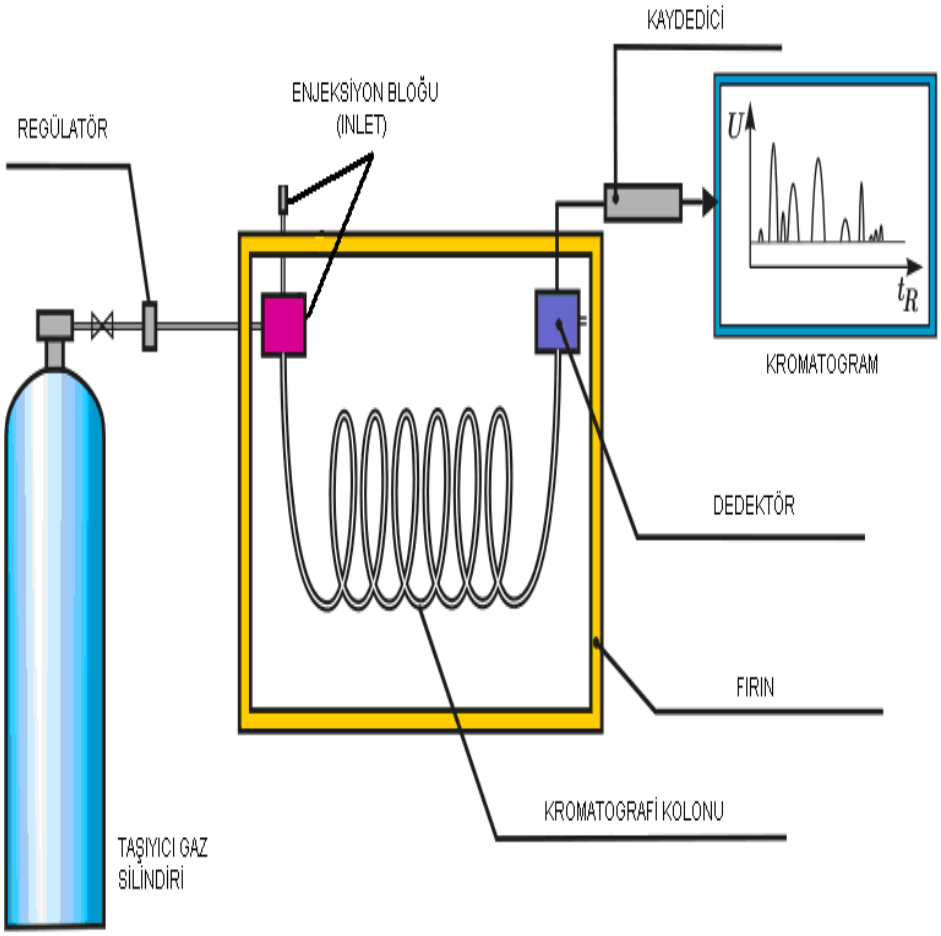
$$\eta_1 = \frac{\Delta m_2}{m_1} \quad , \qquad \eta_2 = \frac{\Delta m_1}{m_2} \tag{4.42}$$

Δm_1 ve Δm_2 safsızlıkların mol sayılarıdır. İyi bir ayırmada η_1 ve η_2 çok küçük ve birbirine eşit olur (Öztürk, 2000).

4.3.5. Gaz kromatografisi sisteminin temel bileşenleri

Genel olarak bir gaz kromatografisi sisteminin temel bileşenleri aşağıdaki şekilde sıralanabilir ve bu bileşenler Şekil 4.4'de gösterilmiştir.

1- Sistem için gereken taşıyıcı gazın alındığı gaz silindiri ve basıncı ayarlayan regülatör
2- Numunenin sisteme enjekte edildiği enjeksiyon bloğu
3- Numune bileşenlerinin ayırımının yapıldığı kromatografi kolonu
4- Kromatografi kolonunun sıcaklığını değiştiren fırın
5- Ayrımı gerçekleştirilen numune bileşenlerinin sinyale dönüştürüldüğü dedektör
6- Sinyallerin kaydedildiği veri kaydedici



Şekil 4.4: Gaz kromatografisi sistemlerinin temel bileşenleri

Yukarıda sözü edilen kromatografi bileşenleri arasından numune enjeksiyon bloğu, kromatografi kolonu ve dedektörler, kromatografik analizlerin en karmaşık bileşenleridir ve bu açıdan bakıldığında diğer bileşenlere nazaran daha ön plandadırlar. Ancak; taşıyıcı gazın sisteme doğru bir akım ve basınçta verilmesi, numunenin sisteme enjekte edilmesinin ardından kolon içerisinde doğru bir şekilde ayrılabilecek sıcaklıklara güvenli bir şekilde getirilmesi ve sistem için kullanılan sıcaklık değişimlerinin kontrollü olarak her defasında hatasız olarak sağlanması sistemin güvenilirliği için son derece önemlidir.

4.3.5.1. Taşıyıcı gazın akışının ve basıncının ayarlanması

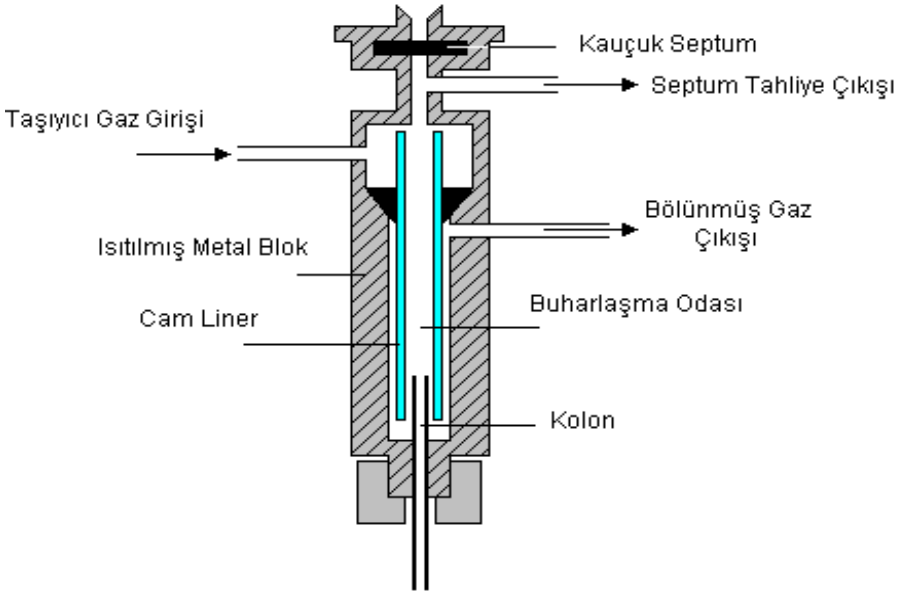
Gaz kromatografisinin güvenilirliği, kullanılan taşıyıcı gazın akışının ve basıncının ayarlanmasına bağlıdır. Çelik tüpten çıkan gaz sırasıyla, önce bir çelik valftan, ondan sonra gaz akışı ayarlayıcısından, daha sonra kapiler bir metal borudan ve en sonunda da 0-4 atmosferlik bir basınç ayarlayıcısından geçirilir. Gaz akımı ayarlayıcısı dakikada 200 ml ye kadar gaz verilebilir. Gazın hızı, gaz ayarlayıcısının içinde bulunan özel iğneli bir valfla ayarlanabilir.

Taşıyıcı gazın içinde bulunan yabancı maddeler, sonucu büyük ölçüde etkilediklerinden, gazın yoluna moleküler büyüklükte bir elek konur. Bu eleğin gözenekleri yaklaşık $5A^0$ dür. Böyle bir elek, su buharının ve hidrokarbonların geçmelerini önler. Çok daha büyük hassasiyet isteyen çalışmalarda gazın yoluna -180^0C ye kadar soğutulan (sıvı hava) bir tuzak konur. Gaz, cihazda kullanılan plastik boruların yüzeylerinden difüzyon ve desorpsiyon olaylarıyla, ek yerlerinden de sızmalar sonucu kirlenebilir. Bunlara mani olmak için mümkün olduğu kadar kısa plastik borular kullanılır ve ek yerleri sıkı sıkıya tutturulur. Bu amaçla en çok kullanılan boru tetrafloropolietilenden yapılanlardır (Gündüz, 1999).

4.3.5.2. Numune enjekte etme kısmı

Gaz kromatografisi sistemlerinin başlangıç noktası olarak değerlendirilebilecek ve numunenin sisteme giriş yaptığı yer olan enjeksiyon bloğu; numunenin ayrımının yapılacağı kolonun başlangıcına tutturulmuş bir buharlaştırma odasıdır. Bir

enjeksiyon bloğunun şematik gösterimi Şekil 4.5'de verilmiştir. Bu bloğa numunenin enjeksiyonu analizcinin elle kullandığı manuel şırıngalar ya da otomatik şırıngalar yardımıyla bir kauçuk septum arasında yapılır. Enjektörün sisteme girişi ile şırınganın buharlaştırma kısmına ulaşması çok kısa sürelerde gerçekleştirilmelidir ve şırınganın bu kısma tam olarak girmesini sağlamak için bu işlem defalarca pratik edilmelidir. Numune ısıtılmış buharlaşma kısmına ulaştıktan sonra taşıyıcı gaz yardımıyla kolona taşınır. Bu taşınma sırasında ne kadar numunenin kolona gideceğini analizcinin tercih ettiği bölünme oranı (split enjeksiyon) belirler. Numune enjeksiyonu tercihe göre bölünmesiz (splitless enjeksiyon) olarak da yapılabilir.



Şekil 4.5: Bir enjeksiyon bloğunun şematik gösterimi

4.3.5.3. Kromatografi kolonu

Kolon gaz kromatografisi cihazının en önemli kısımlarından birisidir. Ayırma kolonunun içi, gazları çeşitli mekanizmalar yardımı ile tutabilen bir maddeyle iyice doldurulmuş bakır, paslanmaz çelik, alüminyum, cam gibi maddelerden yapılmış yaklaşık 4 mm çapında ve 1,2m- 150m ye kadar uzanan spiral şekline getirilmiş bir borudur. Bu uzunlukta iyi doldurulmuş kolonlar 60000 kadar teorik plağın yerini tutabilirler.

Ayırma kolonlarını doldurma da kullanılan yüzeyi geniş maddeler genellikle diatomeli topraklardan yapılır. Böyle topraklar kille karıştırılıp pişirildikten sonra tekrar ufalanıp elenirler. Ufalanıp elenen maddelerin 20-40 μ çapında ve yuvarlak olmaları gerekir. Bu şekilde hazırlanmış olan katı destek maddeleri kromosorp P ve W, Celite, Dicalite gibi çeşitli isimler altında satılırlar. Destek maddelerinden istenen ilk şart bunların üzerine tutturulacak sıvılarla iyice ve düzgün bir şekilde ıslanmalarıdır.

Silikon yağlı kolonlar birçok madde için ve yüksek sıcaklıklarda (350^0C) kullanılabilirlerse de her amaçla kullanılamazlar. Yani üniversal değildirler. Onun için söz konusu analizi yapılacak maddelere göre kolon değiştirmek gerekir. Genellikle, analizi yapılacak numunedeki maddeler polarsa, polar sıvılı, apolarsa apolar sıvılı kolonlar kullanılır.

Aynı polaritedeki maddeler arasında elüsyon, kaynama noktalarıyla paralel gider. Polariteleri farklı fakat kaynama noktaları aynı olan maddeler karışımı için, bunları farklı kuvvette tutacak sıvılar kullanılır. Bu tutulmada maddelerin dipolleri, hidrojen bağları ve katılma kompleksleri verip vermedikleri önemli rol oynar.

Bazen bir sıvı içine bir organik madde katılarak da kromatografi için kullanılabilir. Örneğin, ayrılmaları oldukça güç olan etan, bütan, isobütan, büten, bütadien karışımı glikollü gümüş nitratla çok iyi ayrılırlar. Bu amaçla kullanılan asetil aseton da oldukça iyi sonuç verir.

Kolonların doldurulması çok önemli bir işlemdir. Kolonlar düzken doldurulurlar ve ondan sonra istenen şekilde dikkatle bükülürler. Sıvı maddeyi destek maddesinin (diatomeli preparatlar) üzerine iyice yayabilmek için, sıvının uçucu bir çözücüde hesaplı çözeltisi yapılır ve katı bu çözelti içine atılarak iyice karıştırılır. Destek katısı çözeltiyi iyice emdikten sonra uçucu olan çözücü karışım ısıtılarak buharlaştırılır ve geriye kalan madde kolona doldurulur. Sıvı madde ağırlığı, katı maddeninkinin %30'na çıkabilir. Bir kolon değiştirilmeden yüzlerce analiz için kullanılabilir.

Kolon sıcaklığının 0,1-0,4 dereceye kadar sabit tutulması gerekir. Kolon sıcaklığı, kaynama sıcaklığına eşit olan maddeler kolona girdikten 10-30 dakika sonra kolondan çıkarlar. Pikler en iyi düşük sıcaklıklarda çalışılarak elde edilirler. Ama böyle analizler de çok zaman alırlar. Bir kolon sıvısında aranan başlıca özellikler şunlardır:

- Çalışma sıcaklığında buharlaşmamalı ve bozulmamalı,
- Gazları çözmeli veya tutmalı (farklı K_g ler)
- Kimyaca inert olmalı.

Ayırma kolonu olarak kapilar veya golay kolonları da kullanılır. Bunların iç yarıçapları 0,25-0.50mm, uzunluklarıysa 30-300m kadardır. Böyle bir kolonun kapilar yüzeyine, bu yüzey tarafından şiddetle tutulan bir sıvı kaplanır. Bu kolon çok çeşitli uzunluktaki gazları ayırmada kullanılır ve binlerce teorik tabağa eşdeğerdir (Öztürk, 2000).

4.3.5.4. Dedektörler

Bir karışımın kromatografi kolonunda ayrımının yapılıp kolonu terk etmesinin ardından bir dedektör ile tayinin gerçekleştirilmesi gaz kromatografisi uygulamalarının en önemli adımıdır. Bu adımda, uygulamanın çeşidine göre farklı tiplerdeki dedektörler kullanılabilir. Kromatografi uygulamalarında tayin amacıyla kullanılan bazı dedektörleri; atomik emisyon dedektörü (AED), elektron tutma dedektörü (ECD), alev iyonizasyon dedektörü (FID), alev fotometrik dedektörü (FPD), kütle spektrometresi (MS), fotoiyonizasyon dedektörü (PID) ve termal kondüktivite dedektörü (TCD) olarak saymak mümkündür.

GC sistemlerinde kullanılan dedektörler yapılarındaki farklılardan dolayı farklı seçiciliğe sahip olan ekipmanlardır. Seçici olmayan bir dedektör taşıyıcı gaz dışındaki tüm bileşenlere tepki verirken, seçici bir dedektör fiziksel ve kimyasal özellikleri benzer bileşik gruplarına tepki verir. Spesifik dedektörler ise yalnızca bir kimyasal grubuna tepki veren dedektörlerdir. Ayrıca dedektörleri; konsantrasyona

bağlı dedektörler ve kütle akışına bağlı dedektörler olarak iki grup şeklinde sınıflandırmak da mümkündür.

Bir dedektörün fonksiyonu; kolondan çıkan bileşiklere tepkide tutarlı ve çabuk bir işaret sağlamaktır. Dedektör, kolondan gelen taşıyıcı gaz içinde binde birkaç oranındaki yabancı bir gazı tespit eden düzenektir. Bir gazın pikinin dedektörden geçme zamanı en fazla birkaç saniye kadardır (sinyalin başlayıp bitme zamanı). Modern kılcal GC bugünkü başarısının çoğunu, özellikle alev iyonizasyon dedektörü (FID) olmak üzere yüksek duyarlılıklı iyonizasyon dedektörlerinin gelişmesine bağlıdır. Çoğu laboratuar gaz kromatografisi, genel amaçlı uygulamalar için bu dedektörle teçhizatlandırılmıştır (Öztürk,2000).

Gaz kromatografisinde kullanılacak ideal bir dedektörde olması gereken özellikler şu şekilde sıralanabilir:

- Yeterli hassaslığa sahip olmalı,
- İyi bir kararlılık ve tekrarlanabilirliğe sahip olmalı,
- Birkaç büyüklük derecesine ulaşan çözünenlere çizgisel bir cevap vermeli,
- Yaklaşık 400^0C ye kadar uzanan bir sıcaklık aralığına sahip olmalı,
- Akış hızından bağımsız kısa bir cevap süresi olmalı,
- Yüksek derecede güvenilirlik ve kullanım kolaylığı olmalı,
- Tüm çözünenlere verilen cevaplar birbirine benzemeli ya da bu duruma bir alternatif olarak, bir veya birkaç sınıf çözünene kolay tahmin edilebilir ve seçici bir cevap vermeli,
- Numuneden zarar görmemelidir.

4.3.6. Niceliksel analiz

Gaz kromatografisinde dedektörler tarafından elde edilen sinyallerden (piklerden) yararlanılarak kantitatif tayinler yapılabilir. Tayinlerde çoğunlukla sinyallerin (piklerin) alanları ya da yükseklikleri esas alınır. Sinyallerin yüksekliği çeşitli faktörlerden etkilenir. Bu faktörlerin başında taşıyıcı gazın hızı gelir. Taşıyıcı gazın

hızına göre sinyal geniş veya dar olabilir. Ayrıca sıcaklık, kolonun doldurulma şekli ve doldurulmasında kullanılan maddelerde sinyalin yüksekliğini az çok etkilerler.

Sinyal alanları, genellikle taşıyıcı gaz akımı hızının tersiyle lineer olarak arttığından değişik hızlar için düzeltme katsayılarının verilmesi gerekir. Yalnız iki maddenin alanlarının birbirine oranı (yüksekliklerin aksine) değişmez. Bunlardan yararlanılarak ortama bir standart koyulur. Standardın miktarından ve kapladığı alandan yararlanılarak bilinmeyenin miktarı hesaplanır. Bu işleme sıcaklığın etkisi çok azdır. Sinyalin içinde kalan alan, aşağıda verilen çeşitli metotlarla ölçülebilir.

- Elektronik bir integratör kullanılarak,
- Sinyali kesip tartarak,
- Sinyali olduğu gibi bir milimetrik kağıt üzerine çizerek,
- Üçgen metodu denilen metotla sinyalin yan yüzlerinden çizilen teğetlerin cihazın çizdiği taban çizgisiyle arasında kalan alan hesaplanır. Bu alan esas alanın yaklaşık %96'sı kadardır.
- Sinyalin yarı yüksekliğinden (h/2) tabana paralel olarak çizilen doğrunun, sinyal içinde kalan kısmıyla sinyal yüksekliğinin (h) çarpılmasından bulunan alan, bulunması gerekenin yaklaşık %84'ü kadardır (Öztürk, 2000).

Dedektörlerin her bileşiğe karşı duyarlılığı aynı değildir, yani her bileşiğin aynı miktarı aynı şiddete sinyal oluşturmaz. Bu nedenle, ölçülen pik büyüklüklerinden bileşik miktarlarına geçebilmek için önceden kalibrasyon yapmak ve buna göre hesaplama yapmak gerekir. Bu hesaplamalar 3 şekilde özetlenebilir:

1- Düzeltme Faktörü: Bilinen miktarlarda karıştırılmış s, a ve b bileşikleri karışımının bilinen miktarı sisteme enjekte edilerek kromatogram alınır ve bu bileşiklerin büyüklükleri yukarıda verilen yöntemlerden biri yardımıyla bulunur. Enjekte edilen bileşiğin miktarı g^1, bulunan alanı A^1 olursa her bileşik için g^1/A^1 oranı bulunur. Bulunan bu oranlar standart bileşik için bulunan g^1_s/A^1_s oranına bölünürse F_a düzeltme faktörü bulunur. Bu faktör hangi cins dedektör için bulunmuşsa ancak o dedektörden alınan sonuçların hesaplanmasında kullanılır.

Miktarları bilinmeyen bir a, b karışımında bileşenlerin ağırlığı şöyle bulunur: bu karışımın içine standart olarak alınan s bileşiğinden belli ağırlıkta g_s konularak kromatogram alınır. Piklerin büyüklükleri hesaplanır. A bileşiğinin miktarı aşağıdaki denklemlerden kolayca bulunabilir.

$$\frac{A'_a / g'_a}{A'_s / g'_s} = F_a = \frac{A_a / g_a}{A_s / g_s} \qquad (4.43)$$

$$g_a = \frac{A_a \cdot g_s}{F_a \cdot A_s} \qquad (4.44)$$

Burada; g_a ve g_s, a bileşiğinin ve s standardının ağırlıkları, A_a ve A_s, a bileşiğine ve s standardına ait pik alanları, F_a ise a bileşiği için bulunan düzeltme faktörüdür.

2- Mutlak Kalibrasyon: Saf bileşiklerin bilinen miktarlarından bütün koşullar aynı tutularak kromatogramlar alınır. Pik alanları ölçülerek, enjekte edilen miktarlara kraşı grafiğe geçirilir ve bu bir kalibrasyon eğrisidir. Bu eğrinin bir doğru olması ve başlangıç noktasından geçmesi gerekir (madde yok ise, sinyal de yoktur). Bilinmeyen karışımda, kalibrasyonu yapılan bileşiğin miktarını bulmak için, karışımdan belli bir miktar enjekte edilerek kromatogram alınır ve bileşiğin pik alanı ölçülerek kalibrasyon eğrisinden miktarı bulunur. Burada kalibrasyon eğrisi, pik alanları yerine pik yükseklikleri alınarakda çizilebilir.

3- İç Standart: Bu yöntem bağıl kalibrasyon olarak ta bilinir. Bilinen ağırlık oranlarında örnek bileşik ve standart bileşik karıştırılarak kromatogramları alınır. Kromatogramlardan pik alanları ölçülür ve birbirine oranlanarak ağırlık oranlarına karşı grafiğe geçirilir. Miktarı bulunacak bileşiğin olduğu karışıma duyar olarak tartılmış standart bileşik ilave edilerek kromatogram alınır. Pik alanları ölçülüp oranlanarak kalibrasyon grafiğinden ağırlık oranları bulunur. İlave edilen standardın miktarı bilindiğinden diğer bileşiğin miktarı kolayca hesaplanır (Erdik ve diğ., 1980).

4.3.6.1. Gaz numunelerin niceliksel analizi

Gaz analizi GC'deki en kesin uygulamadır, çünkü gaz hacimleri, kalibre edilmiş gaz numune vanaları kullanılarak net bir şekilde numune olarak alınabilir ve bir buharlaştırma aşaması olmadığı için ayrım hataları olma olasılığı düşüktür. Kromotografi ile ilgili literatür bolluğuna rağmen kapiler GC ile gaz analizinin genel yöntemleri üzerine daha az bilgi mevcuttur.

Gaz analizinde genelde dışsal standart yöntemi kullanılır. Bu işlem GC sisteminin, cevap faktörlerinin belirlenmesi için uygun bileşenlerin standart karışımları ile kalibre edilmesi ilkesine dayanır. Ardından benzer koşullarda GC'ye bilinmeyen bir numune aynı hacimde uygulanır ve bileşenlerin konsantrasyonları pik alanlarından ve cevap faktörlerinden hesaplanır.

Başlangıçta sistem çizgiselliğini kurmak amacıyla, söz konusu bileşenleri içeren en az üç kalibrasyon karışımı analiz edilmelidir. Normal kapiler kolonlar için numune hacmi 1-2 ml olup bölüm oranı 100:1 civarındadır. Geniş kolonlar için ise doğrudan enjeksiyon kullanılır ve numune hacminin 100-200 ml'den büyük olması gerekir. Enjeksiyon sonrasında pik alanları ölçülür ve her bileşen için cevap faktörleri (response factor) şöyle belirlenir:

$$RF_i = \frac{A_i}{C_i} \tag{4.45}$$

Burada;

RF_i = i bileşeni için cevap faktörü

A_i = pik alanı (istenen birimlerde)

C_i = orijinal standart karışımdaki i bileşeninin konsantrasyonu olarak verilmiştir.

Sabit hacimde numune almak için, cevap faktörleri istenen kesinlik sınırlarını sağlamalıdır. Herhangi bir uyuşmazlık dedektörün çizgisel olmadığını veya entegratör kuruluşunun hata ürettiğini gösterir.

Çizgisellik bir kez kurulunca istenen konsantrasyonlarını numunelerle aynı düzeylerde içeren herhangi bir tekil referans karışımı, sonraki kalibrasyonlar için kullanılabilir. Kalibrasyondan sonra analizler aynı enjeksiyon işleminin bilinmeyen numuneler için tekrarı ile kolayca yapılır. Daha sonra konsantrasyonlar şu şekilde hesaplanır:

$$C_i^{1} = \frac{A_i^{\prime}}{RF_i} = \frac{A_i^{1}}{A_i} x C_i \qquad (4.46)$$

Burada; Ci^1 ve Ai^1 bilinmeyen numunelerin konsantrasyon ve pik alanlarıdır. Maksimum doğruluk için her analiz ve kalibrasyon işlemi sıralı olarak yapılmalıdır.

4.3.6.2. Sıvı numunelerin niceliksel analizi

Sıvı numuneler için kullanılan çözücülerin seçiminde yüksek bir dikkat gösterilmelidir. Herhangi bir engelleyici safsızlığın olmaması ve solvent piki ile istenen bileşiğin pikinin çakışmaması yönünde öncül testler yapılmalıdır. Uçucu çözücüler normal şekilde kolonun tutma zamanına yakın çıkış yapanlar olarak seçilirler, böylece yaklaşık olarak en uçucu (kompanent) bileşendirler. Çözücü aşırı derecede uçucu olmamalıdır. Bununla beraber numune belirtileri çıkarmadan önce erken buharlaşma ya da enjektördeki buharın geri salınımının bir sonucu olarak tepe kuyruğunu arttırabilir. Hekzan, heptan ya da daha fazla polar numuneler için C_2-C_3 alkoller, metanol, metilen klorit, pentan, tetradiofuran ve aseton gibi oldukça uçucu çözeltiler tercih edilmektedir.

Gaz analizleri için tanımlanan temel harici standart prosedürü, çok daha küçük enjeksiyon hacimleri nedeniyle sıvılar için genel olarak uygun değildir. Kılcal kolonlarda tipik numune hacimleri split enjeksiyon için yaklaşık 0.1 µl den, kolon üzeri enjeksiyon için birkaç mikrolitreye kadar değişen bir aralıktadır. Faktörlerin değişimi bu hacimlerin doğruluğunu etkileyebilir ve numune hacmi için değişimin katsayısı manuel enjeksiyon için %1 den oldukça büyüktür. Oto örnekleyicilerle otomatik enjeksiyon, prosedürün tam bir şekilde kopyalanması nedeniyle bir dereceye kadar bundan daha iyi olacaktır ama burada bile harici standart metotların

kullanımı çok amaçlı yönden yeterince doğru olmayacaktır. Yüzde seviyesindeki nisbi hataların önemsiz olduğu iz analizlerinin bazı durumlarında bir istisna olabilir. Örneğin 1 ppm'de ±%10 'luk değişim 0.9-1.1 ppm ölçeğini verir.

Numune hacmi değişimi problemini aşmak için dahili standart metodu kılcal GC'de nicel analiz için kullanılan çeşitli metotların en doğrusudur. Bu metot, enjeksiyondan önce numuneye uygun bir referans bileşiğinin bilinen bir konsantrasyonunun eklenmesini içerir ve bileşen tepe alanlarının referans bileşeninkine oranları hesaplanır. Bu oranlar enjekte edilen numune miktarından bağımsızdır çünkü dedektör tepkimesinin doğrusal olması nedeniyle tüm tepe alanları numune hacimlerindeki değişimle aynı oranda değişecektir. Eklenen referans bileşiği dahili standart olarak isimlendirilir ve hep mümkün olmamasına rağmen numune bileşenleri olarak aynı kimyasal tipin olmasının mümkün olduğu her yerde seçilir. Daha önemli bir özellikse standardın saf olması ve kromatogramın boş bir bölgesinde pik vermesidir. Ayrıca, analitik hatayı minimize etmek için dahili standart tepe noktası ile numune bileşenleri arasındaki alıkonma zamanındaki aşırı farklardan kaçınılması önerilir. Bazı durumlarda özellikle de çok kompleks numunelerin programlanmış sıcaklık analizinde bir standarttan fazlasını kullanmak avantajlı bile olabilir.

Dahili standart metodu uygulamak için öncelikle dahili standart ve saf bileşenlerin her birinden bilinen yoğunluklar içeren çeşitli kalibrasyon karışımları hazırlayarak Bağıl Tepki Faktörleri (RRF) belirlenir. Kalibrasyon karışımları enjekte edilir, pik alanları ölçülür ve bağıl tepki faktörleri şöyle hesaplanır;

$$RRF_i = \frac{A_i \, x \, C_s}{A_s \, x \, C_i} \tag{4.47}$$

Burada C_s ve A_s sırasıyla standart bileşimin konsantrasyonu ve pik alanıdır. A_i ve C_i Harici Standart Metodu'ndaki gibi numune bileşenleri için aynı özelliklerdir. Analiz bilinmeyen bir numuneye aynı standartdan bilinen bir konsantrasyon ekleyerek ve sonra onu kalibrasyon için kullanıldığı gibi tanımlama koşulları altında analiz edilerek yürütülür.

Her bir C_i^1 bileşeninin konsantrasyonu şöyle belirlenir;

$$C_i = \frac{A_i^{\,1} x C_s^{\,1}}{A_s^{\,1} x\, RRF_i} \tag{4.48}$$

Burada apostrof ile belirtilmiş değerler analiz edilen bilinmeyen numune ile ilgilidir. Dahili standart prosedüründe hataları minimize etmenin yolları şöyle listelenebilir:

- Hacimsel olarak numuneye ekleyerek daima aynı standart konsantrasyonu kullanılır.
- Tüm işlemler için numune hacmi nominal olarak sabit tutulur.
- Herhangi bir koşul ya da kolon yüklenmesinden sonra kesinlikle ve sıklıkla tekrar kalibre edilir.

Dahili standartta bulunan kompleks bir kromatogramda boş alanları bulmak sıklıkla imkansız olabilir. Böyle durumlarda uygun düzeltmeleri yapmak ve ilgilenilen bir alan seçmek mümkündür. Dahili standart gibi aynı olacak, seçilen pozisyonda ortaya çıkan bileşen piki için geçerli değildir ama eklenen standardın önemli bir miktar kadar pik alanını arttırması çok önemlidir. Düzeltilmiş dahili standartta, standart pikin altında ortaya çıkan pik alanını vereceğinden bu bileşeni belirlemek için de kullanılabilir. Aslında bu, eklenen standardın aynı tanımlamaya sahip durumdaki analizin temel hedefidir ve metot sıçrama olarak gösterilir.

Dahili normalizasyon tekniği nadir olarak kullanılır. Bu metot yalnızca, numunenin tüm bileşenleri kromatogramda göründüğünde ve onların alanlarının tümü ölçüldüğünde geçerlidir. Alanlar, aşağıdaki gibi belirlenen kalibrasyon işlemlerinde ölçülen tepki faktörleri için düzeltilir. (Öztürk, 2000).

$$RF_i = \frac{A_i}{C_i \sum\left(\frac{A_i}{C_i}\right)} \tag{4.49}$$

4.4. Kütle Spektrometrisi (MS)

Kütle spektrometrisi (MS); yüklü parçacıkların kütle/yük oranlarını (m/z) ölçen analitik bir tekniktir. Bu tekniğin temel prensibi; organik ya da inorganik bileşenlerden uygun bir metot yardımıyla iyonların üretilmesi, bu iyonların m/z oranlarına göre ayrılması ve yine bu iyonların m/z oranlarına ve çokluklarına göre nicel ve nitel olarak tayin edilmesidir.

Kütle spektrometrisi; bir numuneden genelde pozitif olarak iyonize edilmiş iyon ya da atomları kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayıran ve kaydeden analitik bir metottur ve bu süreçte kullanılan enstrümana kütle spektrometresi denir. Kütle spektometrisi; infrared, ultraviyole/görünür ve nükleer manyetik rezonans spektroskopisi gibi ölçüm metotlarından tamamen farklı bir analitik metottur. Sözü edilen diğer metotlardaki temel prensip; alt enerji seviyesindeki bir molekülü uyarılmış bir enerji seviyesine taşımak için elektromanyetik radyasyonun molekül tarafından absorbsiyonudur. Bu açıdan bu tip yöntemler yıkıcı değildir ve molekül sonuçta eski enerji seviyesine geri döner ve analiz sonunda bozulmamış bir şekilde kalır. Kütle spektrometrisinde ise moleküller yerine iyonlardan faydalanıldığı için numune içerisinde molekül ya da atom formuna geri dönüş mümkün değildir. Temelleri 1886 yılında Alman bir fizikçi olan Goldstein tarafından düşük basınçlı bir elektrik deşarj tüpü içerisindeki pozitif iyonların keşfiyle atılan kütle spektrometrisi günümüze kadar gelişimini sürdürmüş ve bugün pek çok alanda kullanım imkanı bulmuştur (Barker, 1999).

Kütle spektrometre sistemleri, iyonize olmuş atom veya molekülleri birbirinden ayırmak için kütle/yük oranlarındaki farklılıklardan yararlanan düzeneklerdir. Bunun yanında atom veya moleküllerin nicel analizi ve moleküllerin kimyasal ve yapısal bilgilerinin saptanmasında da kullanılır. Bu tekniğin başlıca uygulama biçimlerini şu şekilde sıralamak mümkündür:

- Bilinmeyen bileşenlerin molekül ya da parçalanma ürünlerinin kütlelerinden yararlanarak bileşenin tayini,
- Bir bileşen içerisindeki elementlerin izotopik kompozisyonunun saptanması,

- Bileşenlerin parçalanma ürünlerinin gözlemlenmesi ile gerçekleştirilen yapısal analiz,
- Bir numune içerisindeki bileşenlerin miktar tayini,
- Farklı yaklaşımlar yardımıyla bileşenlerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin belirlenmesi.

İyon kaynağı, analizör ve dedektör olmak üzere 3 temel bileşenden oluşan kütle spektrometrelerinde numune ilk olarak enstrümanın iyonizasyon odasına aktarılır. İyon kaynağı ile buluşan numune molekülleri, iyonların nötral moleküllere nazaran daha kolay işlenebilmesinden ötürü iyonize edilirler. Bu iyonlar m/z oranlarına göre ayrıldıkları yer olan analizör bölgesine aktarılırlar. m/z oranlarına göre ayrımı yapılan iyonlar dedektör tarafından saptanır ve elde edilen sinyallerin bir m/z spektrumu şeklindeki çıktıya dönüştürülmesi adına molekül iyonlarının m/z oranlarının bağıl çokluklar ile birlikte depolandığı bir veri sistemine aktarılır.

Kullanım alanı bulmuş tüm kütle spektrometre sistemleri, yüklü parçacıklar (iyonlar) üzerinde bir kuvvet oluşturmak için elektrik ve manyetik alanlardan faydalanırlar. Kuvvet, kütle ve oluşturulan alanlar arasındaki bağıntı Newton'un ikinci yasası ve Lorentz kuvvet yasası ile açıklanır.

$$F = m \cdot a \qquad \text{(Newton'un İkinci Yasası)} \qquad (4.50)$$

$$F = e\,(E + vxB) \qquad \text{(Lorentz Kuvvet Yasası)} \qquad (4.51)$$

4.50 ve 4.51 numaralı denkliklerde; F iyona uygulanan kuvveti, m iyonun kütlesini, a ivmeyi, e iyonik yükü, E elektrik alanı ve vxB ise uygulanan manyetik alan ile iyon hızının vektörel çarpımını temsil eder. Bu denkliklerden Newton'un ikinci yasasına göre bir ivmeye neden olan kuvvetin kütleye, Lorentz kuvvet yasasına göre ise uygulanan kuvvetin iyonik yüke bağlı olduğu görülür. Bu durumda kütle spektrometre sistemlerinin iyon ayırma işlemlerinde yalnızca kütle yerine kütle/yük (m/z) oranını kullanıyor olmasının nedeni daha net anlaşılmaktadır.

Tüm kütle spektrometre sistemleri yüksek vakum (düşük basınç) altında çalıştırılmalıdır. Bu durum iyonların dedektöre gidene kadar her hangi başka bir gaz molekül ile çarpışmasını engellemek için gereklidir. Gerçekten de meydana gelebilecek çarpışmalar yörüngede sapmalara yol açabilir ve bu durum iyonların instrümanın duvarlarına doğru yük kayıplarına neden olabilir. Bir başka açıdan bu çarpışmalar istenmeyen reaksiyonlara yol açabilir ve bu yolla molekül spektrumunun karışmasına yol açabilir. Bu nedenle analizör içerisinde çarpışmalara yol açabilecek moleküllerden kurtulmak için yüksek vakum uygulanır. Kütle spektrometrelerinin düşük basınç altında çalıştırılmasının temel nedenleri şu şekilde özetlenebilir.

- İyon kaynağı içerisinde bulunan filament normal hava basıncında hızla okside olabilir ve yanabilir.

- Daha düşük bir basınç çok düşük buhar basıncına sahip olan daha az uçucu sıvı ve katıların buharlaşmasını kolaylaştırır. Ayrıca pek çok iyon kaynağı yüksek sıcaklıklara çıkarıldığından vakum, numune materyali ve ya iyon kaynağının metalik iç yapısında çözünmüş olarak bulunabilecek gazların uzaklaştırılmasına yardımcı olur.

- Düşük basınç iyonların atmosferik gaz molekülleri ile çarpışmasını engelleyerek yüklerin bu gazlara aktarılmasını engeller. Aksi takdirde iyonlar yüksek voltajlı plakalar tarafından ivmelendirilemez ve dedektöre ulaşamazlar.

- İyon kaynakları bir hafıza etkisine sahiptirler. Örneğin yüksek buhar basıncına sahip bir bileşenin analizinden sonra düşük buhar basıncına sahip bir bileşenin analiz edilmesi için son numunenin disperse olması için bir miktar zamana ihtiyaç vardır. İyonizasyon verimi %1 seviyelerindedir ve bu yüzden yüklenmemiş pek çok numune molekülü kaynak etrafında süzülmeye devam eder. Yüksek vakum altındaki bir sistemde istenmeyen bu moleküllerin dışarı atılması çok daha çabuk gerçekleşir (Barker, 1999).

4.4.1. Kütle spektrometrisinin temel prensipleri

Kütle spektrometrik bileşen analizlerinin ilk adımı bileşenlerin gaz faz iyonlarının oluşturulmasıdır ve bu durum elektron iyonizasyonu için şu şekilde gösterilebilir:

$$M + e^- \longrightarrow M^{o+} + 2e^- \qquad (4.52)$$

Oluşturulan gaz fazındaki iyonlar normal şartlarda fragmentasyon (parçalanma) sürecine uğrarlar. Söz konusu gaz faz iyonu tek elektron sayısına sahip bir katyon radikali (M^{o+}) olduğu için ya bir radikal ve çift sayılı elektrona sahip bir iyon (EE^+) verecek ya da bir molekül ve yeni bir katyon radikali (OE^{o+}) verecek şekilde parçalanır. Bu parçalanmada oluşan iki tip iyonda farklı kimyasal özelliklere sahiptir. Moleküler iyonlardan üretilen her bir birincil iyon parçalanmaya uğrayabilir ve bu süreç sırayla devam eder. Oluşan tüm iyonlar m/z oranlarına göre spektrometrede ayrılır ve sayıları ile orantılı bir şekilde ölçülürler. Bu ölçüm sonucunda molekülün kütle spektrumu oluşturulur.

Spektrumdaki iyonların çoğu yalnızca bir elektron kaybından kaynaklanan bir yüke sahiptir. Çok yüklü iyonlar da üretilebilmekte olup bu iyonlar elektron yüklerinin, yük birimi olarak alınıp m/z oranlarının hesaplanması ile ölçülür. m/z ifadesinin yükün kütleye oranını temsil ettiği durumda; iyonların toplam yükü q ile, elektron yükü e ile ve iyonların yük sayılarının z ile ifade edildiği eşitlik q = ze şeklindedir ve $e = 1.6x10^{-19}$ olarak alınır. Kütle dalton (Da) ya da atomik kütle birimi (u) cinsinden verildiğinde ve yük elektron yüklerinin sayısı olarak alındığında m/z oranı thomson (Th) cinsinden verilir. Bazen kütle (m), kütle sayısı ve z yük sayısı olmak üzere birimsiz büyüklükler şeklinde de verilebilmektedir. Atomik kütle birimi (u) ve Da temel bir ortak tanımlamaya sahiptirler ve bu $1\ u = 1\ Da = 1.665402 \times 10^{-27}$ kg ± 0.59 ppm şeklindedir. Ancak bunlar geleneksel olarak farklı durumlarda kullanılırlar. Genel olarak stokiyometrik hesaplamaların kullanıldığı ortalama izotopik kütleler ile ilgilenilen durumlarda Da niceliğinin kullanılması önerilir. Kütlelerin her bir elementin ana izotopunu temsil ettiği durumlarda ise u kullanılır (Hoffmann and Stroobant, 2002).

4.4.1.1. İyonizasyon

Kütle spektrometrisinde atomlar yerine moleküllerden üretilen (iyonizasyon) pozitif iyonların analiz edilmesiyle ilgilenilir. İyonizasyon işlemleri çeşitli iyonlaştırma metotlarıyla sağlanmakta olup bir molekülün basit şekilde iyonlaşması aşağıdaki şekilde gösterilebilir.

$$M: \longrightarrow M^{+o} + e^{-} \qquad (4.53)$$

Burada M^{+o} moleküler iyon olarak belirtilir. Yukarıda da sözü edildiği gibi kütle spektrometresi tarafından iyonların kütlesi (m) ve yükü (z) ölçülür ve bu iki büyüklüğün oranı son derece önemlidir. İyonlar sıklıkla bir pozitif yükle yüklenmiş şekildedirler ve bu yüzden z genelde +1'dir. Bu m/z oranının iyonun kendi kütlesine eşit olduğu anlamına gelir. Elbette iyonun kütlesi molekülün bağıl moleküler kütlesine bağlıdır.

Birleştirilmiş atomik kütle birimi (amu, ya da u); ^{12}C atomunun kütlesinin (12) amu değeri ile çarpılmasıdır. Bir atomun bağıl atomik kütlesi (atomik ağırlık) genelde amu şeklinde verilir ve şu denkliğe eşittir:

$$[\text{ (bir atomun kütlesi) / (}^{12}\text{C atomunun kütlesi)] x 12} \qquad (4.54)$$

Bu nedenle tüm atomların kütleleri ^{12}C atomunun kütlesine göre atanır. Birçok elementin tümlevlerinin sayısına (amu cinsinden) yakın bir ortalama bağıl atomik kütlesi (ortalama atomik ağırlık) vardır ve bu durum bu elementlerin izotoplarının büyüklüğünün (abundance) bir sonucudur. Bunun anlamı moleküler kütlelerin hesaplanmasında organik moleküllerde bulunan temel elementlerin çoğunun tümlev değerlerinin atanabileceğidir. Bu nedenle bağıl moleküler kütle; bir bileşendeki atomların ortalama bağıl atomik kütlelerinin toplamıdır. Örneğin oksijenin ortalama bağıl atomik kütlesi ^{16}O izotopunun çokluğunun (% 99.756) bir sonucu olarak 15.994 (16'ya çok yakın) bir değer alır. Benzer şekilde karbon elementi ^{12}C izotopunun

çokluğunun (% 98.90) bir sonucu olarak 12.011 gibi bir ortalama atomik ağırlık değerine sahiptir.

Bir elektron proton ile karşılaştırıldığında çok küçük bir kütleye sahip olduğundan iyonlaşma sırasındaki atomdaki kütle kaybı pek çok kütle analizörünün kütle çözünürlüğü (10^4 amu'da 1 amu) ile karşılaştırıldığında ihmal edilebilecek kadar küçüktür. Bu nedenle kütle spektrometresinde ölçüm amacının, bir moleküler iyonun kütlesinin üretilen benzer moleküllerin kütlesine eşit olduğu olarak gösterilebilir (Barker, 1999).

4.4.1.1.1. İyonlaşma süreci ve iyonizasyon çeşitleri

İyonizasyon; herhangi bir iyonun oluşturulabilmesi adına molekül ya da atomlardan bir veya birden fazla elektronun koparılması sürecine verilen genel addır. Ayrıca iyonlaşma kelimesi tuz gibi iyonik katıların bir çözelti içerisinde, yapısındaki bileşen iyonlarına ayrılmasına da verilen bir isimdir. Sözü edilen ilk durumda bir atomdan elektron koparabilmek yani iyonlaşmayı sağlayabilmek için, negatif yüklü elektron ile pozitif yüklü çekirdek arasındaki bağı kırmak için gerekli olan ve iyonlaşma enerjisi olarak bilinen enerjinin yeterli düzeyde sağlanması gerekir. Özellikle atom ve moleküllerin karakter tayinlerinde farklı yöntemlere uygulanmak suretiyle çok yaygın olarak kullanılan iyonlaştırma işlemi; x ışınları ve ultraviyole ışınlar gibi yüksek enerjili radyasyonların kullanımı (fotoiyonizasyon), yüksek enerjili elektronların (elektron etki iyonizasyonu) ya da küçük moleküler iyonların (kimyasal iyonizasyon) bombardımanı, aleve (alev iyonizasyonu) ve yüksek elektrik alanlara maruz bırakmak (alan iyonizasyonu) gibi çeşitli yollarla sağlanabilmektedir.

4.4.1.1.1.1. Fotoiyonizasyon

İyonlaşma sürecinde kullanılacak iyonizasyon enerjisinin elektromanyetik radyasyondan sağlandığı iyonizasyon türlerine fotoiyonizasyon denir ve iyonizasyonu sağlayan bir foton radyasyonunun varlığı bu şekilde tanımlanır. Tüm elektromanyetik radyasyon türleri iyonizasyonu sağlayacak yeterli enerji seviyesine sahip değildir. Genel olarak iyonizasyonu gerçekleştirebilecek radyasyon türlerini;

dalga boyu görünür ışıktan kısa olan ultraviyole, x ışını ve gama ışını olarak verilebilir.

4.4.1.1.1.2. Elektron etki iyonizasyonu

Özellikle kütle spektrometrisi alanında en sık kullanılan iyonlaştırma uygulaması olarak karşımıza çıkan bu iyonlaşmada (EI) moleküller, hızla hareket eden elektronların oluşturduğu bir akım ile bombardımana tabi tutulur. Bir elektron tabancası tarafından üretilen bu akım ile numune molekülleri vurulur ve numuneden elektron koparılması sağlanır. Bu iyonlaşma şekli birçok gaz faz molekülleri için çok iyi çalışan bir tekniktir ancak aşırı parçalanma mekanizmalarının gerçekleştiği bu süreçte moleküler iyonların gözlenebilmesi zaman zaman zorlaşabilmektedir. Bu iyonlaşma türü için 70 eV iyonlaşma enerjisinin kullanıldığı olağan spektrometre koşulları altında kaynağa giren her 1000 molekülden ortalama 1 adet iyon üretilmektedir ve iyonizasyon süreci sırasında moleküllere 10 – 20 eV enerji transfer edilir. Yaklaşık olarak 10 eV enerjinin pek çok organik molekülü iyonize etmek için yeterli olmasından dolayı, kalan fazla enerji parçalanma mekanizmalarındaki artışa neden olur. Bu aşırı parçalanma bilinmeyen bir analitin yapısal açıklaması için bilgi sağlayabildiği için kullanılabilir bir oluşumdur. Konvansiyonel EI koşullarında negatif iyon oluşumu pozitif iyon oluşumuna göre yetersiz seviyelerdedir (Hoffmann and Stroobant, 2002).

EI hem moleküler hem de fragmant iyonların oluşumuna neden olan bir süreç olduğu için geniş bir kullanıma sahip olan bir yöntemdir. Bu durum hem bağıl moleküler kütlelerin saptanmasına hem de moleküllerin yapısını açıklamaya izin verir ancak aşağıda sıralanan bazı sakıncaları da beraberinde getirir.

- Bazı durumlarda tüm moleküler iyonların iyon kaynağından ayrılmadan önce parçalanmasından ötürü moleküler iyonların gözlemlenmesi zorlaşır ve bu durum bağıl moleküler kütlelerin saptanmasını zorlaştırır.
- İzomerler arasında ayrım yapmak oldukça zordur.

- Buharlaşma için gereken sıcaklıklardan ötürü bazı moleküller iyonlaşma öncesinde termal bozunmaya uğrayabilir ya da iyonizasyon sonrasında parçalanma eğiliminde olabilir.
- Bazı bileşenler bir spektrum vermek için gereken uçuculuğa sahip olmayabilir.
- Numune basıncının yüksek olduğu durumlarda iyon molekül reaksiyonları moleküler iyonlarınkinden daha yüksek kütle numaralarında pikler üretebilir. Sözde moleküler iyon (quasi molecular ion) olarak da bilinen MH^+ iyonu, moleküler iyondan 1 amu daha yüksek pozisyonlarda gözlemlenebilir (Barker, 1999).

4.4.1.1.1.3. Kimyasal iyonizasyon

Kimyasal iyonizasyon, numune moleküllerinin bombardımanı ve iyonize edilmesinde elektronların kullanılmasındansa pozitif yüklü moleküler iyon huzmesinin kullanılması dışında elektron etki iyonizasyonu ile büyük benzerlikler gösterir. Bombardımanda kullanılan iyonlar genel olarak metan, propan ve amonyak gibi küçük moleküllerdir. Bir elektron ile karşılaştırıldığında moleküler iyonların sayısındaki fazlalık nedeni ile çarpışmalar oldukça etkindir ve genel olarak elektron etki iyonizasyonuna göre daha az moleküler parçalanma gerçekleşir.

Kimyasal iyonizasyon analiz edilecek numune molekülleri ile iyon kaynağında bulunan birincil iyonların çarpışması ile iyonların oluşturulması ilkesine dayanır. Bu nedenle iyon-molekül çarpışmalarının iyon kaynağının belirli bir kesiminde gerçekleşmesi sağlanır. Bunun için; kısmi basıncın sık çarpışmalara izin verecek seviyede tutulması gerekir. Bu tezin de ana araştırma konularından biri olan kimyasal iyonizasyon ile ilgili detaylı bilgiler ilerleyen bölümlerde sunulacaktır.

4.4.1.1.1.4. Alev iyonizasyonu

Bir iyonlaştırma işleminin gerçekleşebilmesi için gerekli olan enerjiyi sağlamanın en kolay yolu molekül ya da atomları bir aleve maruz bırakmaktır ve bu yolla yapılan iyonlaştırma işlemine alev iyonizasyonu denir.

4.4.1.1.1.5. Alan iyonizasyonu

İyonizasyon işlemi bir molekülün yoğun bir elektrik alan içerisine yönlendirilmesi ile de yapılabilir ve bu tekniğe alan iyonizasyonu denir. Bu iyonizasyon için kullanılan iyon kaynağında bulunan elektrotlar arasında 10 kV gibi potansiyel farklar oluşturulur ve buhar fazda bulunan numune molekülleri anotla etkileşime girdiğinde ya da yakınlarından geçtiğinde iyonize olur ve katoda doğru ivmelendirilir. Katot içerisinde bir delik bulunur ve iyonların bir kısmı bu delikten geçebilir. Katot üzerinde bulunan odaklama aparatı iyonları analiz edilebilecek kadar yavaşlatmak ve iyon demetini kütle analiz sistemine doğru odaklamak gibi 2 göreve hizmet eder. Bu iyonlaşma sürecinde EI'ya göre daha az parçalanma gerçekleşir.

4.4.1.2. Parçalanma (fragmentasyon)

Eğer bir nötral molekülden bir tek yüklü moleküler bir iyon oluşturulacaksa molekülün birincil iyonizasyon potansiyeline ulaşılmalıdır. Elektron koparılacak en son orbital olduğu için bu değer işgal edilmiş en yüksek moleküler orbitalin doğasına bağlıdır. Birçok organik molekülün ilk iyonizasyon potansiyeli 8–15 eV arasında değişir. İyonizasyon süreçlerinde çoğunlukla molekülün basit iyonizasyonu için gereken enerjiden daha büyük bir enerji kullanılır. Bu enerji fazlalığı moleküler iyonların oluşturulması sırasında rotasyonal, translasyonal, vibrasyonal ve ya elektronik enerji şekillerinde bu iyonlara aktarılabilir. Son iki aktarım şekli, değişmez yeni bir iyon ve bir nötral parçacık üreten yükseltgenmiş fazların parçalanması olduğu için kütle spektrometrisinde en önemli olanlarıdır.

Molüküler iyon M^{+o}'nın parçalanma iyonu ve nötral parçacık olmak üzere iki yeni ürüne parçalandığını düşünelim. Bu olay aşağıdaki iki parçalanma adımıyla olur.

$$M^{+o} \longrightarrow A^{+} + N^{o} \qquad (4.55)$$

$$M^{+o} \longrightarrow B^{+o} + N \qquad (4.56)$$

Denklem 4.55, bir çift elektron parçalanma katyonuna ve bir tek elektron nötral türe parçalanmayı gösterir. Nötral türler H^o gibi bir atom veya OH^o gibi radikaller olabilir. Denklem 4.56 ise bir tek elektron iyonu ve bir çift elektron nötral türüne parçalanmayı gösterir. Bu gibi durumlarda nötral türler C_2H_4 veya CO gibi stabil moleküller olabilirken CH_2CHOH gibi çift elektron türleri de olabilir. Parçalanma adımları ve buna bağlı ürünler 4 ana faktörden etkilenir:

- Kırılacak bağların gücü,
- Parçalanma ürünü olan iyonlar ve nötral moleküllerin stabilitesi,
- Parçalanmış iyonların iç enerjileri,
- İyon oluşumu ve ölçüm arasında geçen zaman aralığı.

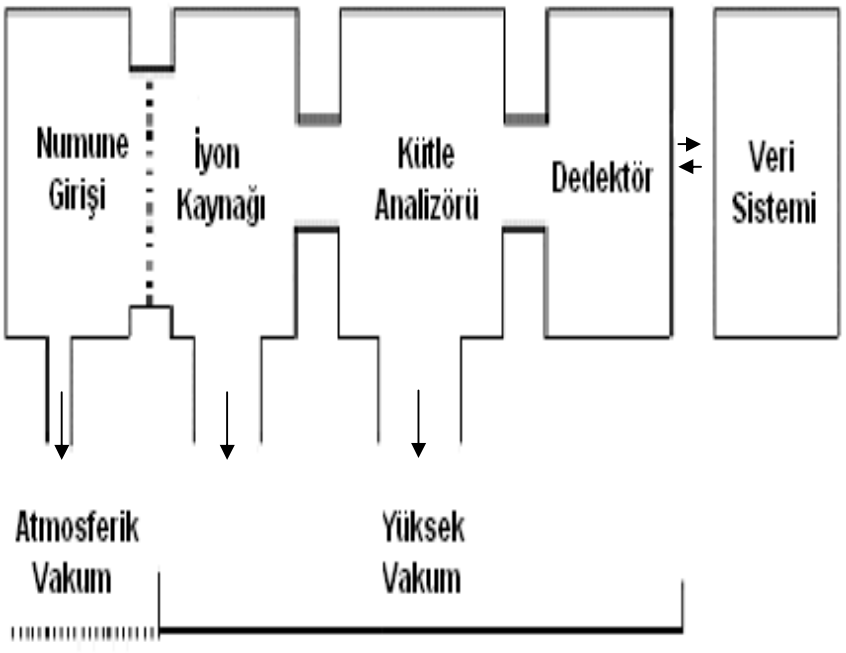
Genel anlamda; bir tek bağın kırılmasından ibaret olan parçalanma adımları hızlı süreçler iken iki bağ kırılması ya da inşasını içeren basamaklar daha yavaş gerçekleşir (Barker, 1999).

4.4.2. Kütle spektrometresinin temel bileşenleri

Temel olarak iyon kaynağı, analizör ve dedektör gibi 3 temel kısımdan oluşan bir kütle spektrometresinin temel bileşenlerini aşağıdaki şekilde sıralamak mümkündür.

- Bir gaz kromatografisi ya da direk ekleme probu gibi analiz edilecek bileşenleri cihaza sokacak bir aygıt,
- Numune moleküllerinden iyonlar üretecek bir kaynak (iyon kaynağı),
- Çeşitli iyonları kütle/yük oranlarına göre ayıracak bir ve ya daha fazla sayıda analizör,
- Son analizörden çıkan iyonları sayacak ve çokluklarını ölçecek bir dedektör,
- Cihazı kontrol eden ve verileri işleyerek uygun bir kütle spektrumu çıkartan bir veri sistemi (bilgisayar).

Sözü edilen bu bileşenlerin bir diyagram üzerindeki gösterimi Şekil 4.6'da verilmiş olup bu bileşenlerden yalnızca taşıdıkları önem nedeniyle iyon kaynağı, analizör ve dedektör kısımları ile ilgili bilgiler sunulacaktır.



Şekil 4.6: Bir kütle spektrometresinin temel bileşenler

4.4.2.1. İyon kaynağı

İyon kaynağı, kütle spektrometresi ile analizi sırasında analitlerin iyonize edilmesini sağlayan bir spektrometre parçasıdır. İyon kaynaklarında iyonizasyon sonucunda elde edilen iyonlar bir manyetik ya da elektrik alanlar yardımıyla kütle analizörüne taşınırlar.

Kütle spekrometrisinde kullanılan iyon kaynaklarında, analiz edilecek numunelerin spektrometrede analizi öncesi iyonize edilmesi sağlanır ve bu amaçla birçok iyonizasyon tekniği kullanılır. Bu tekniklerdeki en önemli etkenler iyonizasyon sürecinde transfer edilen içsel enerji ve iyonize edilecek analitin fizikokimyasal özellikleridir. Bazı iyonizasyon teknikleri çok fazla enerjiktirler ve bu nedenle aşırı parçalanma olayına neden olurlar. Diğer bazı türler ise daha yumuşaktırlar ve

yalnızca moleküler türler üretirler. Elektron iyonizasyonu ve kimyasal iyonizasyon yalnızca gaz faz iyonizasyonu için uygulanabilir tekniklerdir ve bu nedenle uygulanabilirlikleri yeterli derecede uçucu ve termal olarak stabil bileşenlerle sınırlıdır. Ancak birçok bileşen termal olarak kararsız yapıdadır ya da yeteri kadar buhar basıncına sahip değildirler. Bu bileşenlerin iyonları direkt olarak kondense olmuş halden gaz faza çekilmiş olmalıdır. Bu direkt iyon kaynakları sıvı faz ve katı faz iyon kaynakları olarak ikiye ayrılır. Sıvı faz iyon kaynaklarında analit bir çözelti içerisinde bulunur ve analit nebulizasyon ile çeşitli vakum aşamalarından geçirilerek spekrometreye alınır. Elektrosprey, termosprey ve atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon teknikleri bu tür içerisinde yer alır. Katı faz iyon kaynaklarında analit uçucu olmayan bir tortu içerisinde bulunur. Bu tortu katı ya da akışkan bir sıvı olabilecek bir matrisin sık bir şekilde girişini içeren çeşitli hazırlık metotlarıyla oluşturulur. Ardından bu tortu, tortu yüzeyinin yakınında iyonları desorbe eden fotonlar ya da enerjik partüküller tarafından ışınlanır. Bu iyonlar bir elektrik alanla toplanıp analizöre doğru odaklandırılırlar. MALDI (matrix-assisted laser desorption), ikincil iyon kütle spektrometrisi, alan iyonizasyonu ve plazma desorpsiyonu gibi iyonizasyon teknikleri bu prensip ile çalıştırılır.

İyon kaynakları; nötral bir molekülün elektron çıkarma, elektron yakalama, protanasyon, deprotanasyon, ekleme ya da kondense olmuş bir fazdan gaz faza yüklü iyonların transferi gibi işlemlerle iyonize edilmesiyle elde edilen iyonlar üreten aparatlardır.

4.4.2.2. Kütle analizörü

İyonizasyon süreçleri sonucunda üretilen iyonların analiz edilebilmeleri için kütlelerine göre bir ayrıma tabi tutulmaları gerekir ve bu ayrımı yapan pek çok kütle analizör çeşidi mevcuttur. Tarayıcı analizörler belirli bir zaman aralığında farklı kütlelere sahip iyonları başarılı bir şekilde iletirler ve bu tip analizörler organik analizlerde sıkça kullanılırlar. Bu analizörler ya manyetik alanlarında belirli bir zamanda yalnızca belirlenmiş m/z oranına sahip iyonların geçişine izin veren uçuş tüpü bulunan manyetik sektör instrümanları ya da quadrupole instrümanlarıdır. Kütle analizörlerinin çoğu tarayıcı analizörler olmasına rağmen dispersif manyetik

analizör, uçuş zamanı kütle analizörü, iyon tuzağı ya da iyon siklotron rezonans gibi bazı instrümanlar tüm iyonların eş zamanlı olarak iletimine imkan verirler. Uçuş zamanı kütle analizörü bir yığın içerisinde üretilecek iyonların varlığını gerektirir ve bu nedenle darbeli lazer kaynaklar için uygundur. Geçmişte sadece GC/MS sistemlerinde kullanılan iyon tuzağı günümüzde yüksek performanslı kütle spektrometrelerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Fourier dönüşümünün kullanıldığı iyon siklotron rezonans kütle spektrometreleri yüksek kütleler ve yüksek çözünürlüklerde çok duyarlıdır. Bunun yanında günümüzde tandem kütle spektrometreler (MS/MS) gibi çeşitli analizörlerin birlikte kullanıldığı sistemlerde mevcuttur.

Bir analizörün karakteristiğini belirleyen 3 temel unsur; üst kütle sınırı, iletim ve çözünürlüktür. Üst kütle sınırı ölçülebilecek en yüksek m/z değerini tanımlar ve bu değer taşınmakta olan z = 1 gibi temel yük seviyesindeki bir iyon için thomson ya da atomik kütle birimi (u) cinsinden belirtilir. İletim; dedektöre ulaşan iyon sayısı ile iyon kaynağında üretilen iyonların sayısının birbirlerine olan oranıdır. Çözünürlük gücü ise küçük bir kütle farkına sahip iki ayrık sinyali oluşturabilme kapasitesi olarak tanımlanır (Hoffmann and Stroobant, 2002).

4.4.2.2.1 Kütle çözünürlüğü

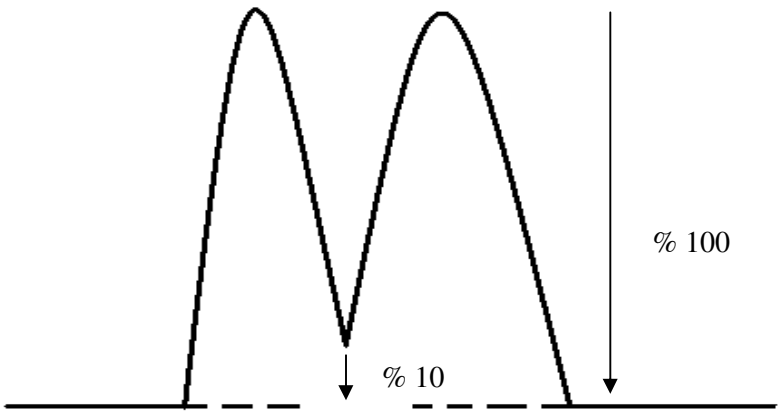
Bir kütle spektrometresinin iyon ayırma gücü kütle çözünürlüğü olarak tanımlanır ve Denklem 4.57'de verilen şekilde saptanır. Bu denklikte R; sistemin çözünürlüğü, m; iyonun kütlesi, Δm ise spektrumdaki çözümlenebilir iki pikin kütle farkı olarak tanımlanır.

$$R = m / \Delta m \qquad (4.57)$$

Kütle analizörünün farklı iyonlara spesifik bir m/z değeri atama yetisi sistemin çözünürlük gücü olarak nitelendirilir. Örneğin 4000 amu bölgesindeki 1 amu farka sahip iki iyonun ayrılabilmesi için gereken çözünürlük gücü (4000/4001-4000) 4000'dir. Tek odaklı kütle analizörleri ve quadrupole kütle analizörlerinin

çözünürlük güçleri 5000 civarındadır. Bu değer çift odaklı kütle spektrometrelerinde daha yüksektir.

Çözünürlüğün standart bir tanımlama olarak uygulanması için pek çok araştırmacı % 10 vadi tanımlama metodunu kullanır. Bu metotta komşu iki pikin yüksekliklerinin (pik tepesinden pik tabanına) , bu iki pikin birleşme noktasından tabana kadar olan yüksekliğin en az 10 katı olması istenir. Bu durumu Şekil 4.7'de verilen şematik gösterim ile daha iyi anlamak mümkündür.



Şekil 4.7: Kütle çözünürlük değerinin saptanması

4.4.2.3. Kütle dedektörü

Kütle spektrometresinde iyonizasyon süreçleri sonunda elde edilen iyon demeti kütle analizörünü geçtikten sonra bir dedektör tarafından ölçülür ve kullanılabilir bir sinyale dönüştürülür. İki genel kategoriye ayrılabilecek farklı tipte dedektörler mevcuttur. Fotografik plakalar ve Faraday silindirleri dedektör tarafından yakalanan yüklerin direkt olarak ölçümünü sağlarken, elektron ya da foton çoğaltıcı dedektörler ve dizi dedektörler sinyalin yoğunluğunu arttırır.

Kullanılan ilk spektrometrelerde analizörün arkasına yerleştirilen fotografik plakalarda ortak bir m/z oranına göre ayrılmış iyonlar, plakayı aynı yerde yakalarlar. Bir kalibrasyon eğrisi m/z oranlarının ve kütlelerin saptanmasına izin verir. Faraday silindirlerinde ise iyonlar yüklerinden kurtuldukları silindirin iç kısmına girer.

Burada oluşan deşarj akımı bir yükseltici tarafından yükseltilerek ölçülür. Günümüzde elektron çoğaltıcılar pozitif ya da negatif iyonları tutan plaka tarafından (çevirme dinotu) çeşitli ikincil partüküllerin oluşmasının sağlandığı bir dedektör şeklinde kullanılır. Bu ikincil partüküller pozitif iyonlar, negatif iyonlar, elektronlar ya da nötral yapıları içerebilir. Bu partüküller ardıl dinot elektron çoğaltıcıya doğru hareketlendirilirler. Partüküller duvarlarla çarpışırken elektronları kopartacak yeterli enerjiyle katoda hareket ederler. Kopan elektronlar elektron çoğaltıcıdan geçer, tekrar duvarlara çarpar ve daha fazla elektron üretilmesini sağlarlar. Oluşturulan bu elektron şelalesi elektron çoğaltıcının sonunda ölçülebilir bir akıma neden olur. Elektron çoğaltıcıları ömrü zayıf vakum ve aşırı yüzey aşınması gibi nedenlerle 1-2 yıl ile sınırlıdır. Foton çoğaltıcılarda pozitif ve negatif iyonların ölçümüne izin veren iki iki ayrı çevirme dinotu mevcuttur ve ömürleri elektron çoğaltıcılardan daha uzundur. Ancak sağladıkları sinyal yükseltme gücü elektron çoğaltıcılardan 100 ila 1000 kat daha azdır (Hoffmann and Stroobant, 2002).

4.4.3. Gaz kromatografisi ve kütle spektrometrisinin ortak kullanımı (GC/MS)

Gaz kromatografisi uçucu ve yarı uçucu bileşenleri yüksek bir çözünürlükte birbirinden ayırmayı sağlayan bir düzenektir ancak bu bileşenleri doğru bir şekilde tanımlayamaz. Kütle spektrometrisi ise birçok bileşen için, bu bileşenlerin doğru bir şekilde tanımlanmasında kullanılan yapısal bilgileri kolayca sağlarken bu bileşiklerin birbirlerinden ayrımını gerçekleştiremez. Dolayısıyla gaz kromatografi sistemlerinin geliştirildiği 1950'lı yıllardan bu yana bu iki sistemin ortak kullanımının yaygın bir şekilde gözlemlenmesi çok doğaldır.

Gaz kromatografisi ve kütle spektrometrisi birçok konuda birbirleri ile uyum gösteren süreçlerdir. Her iki süreçte de numune gaz fazındadır ve yine her iki süreçte de çalışılan numune miktarı aynı düzeydedir (tipik olarak 1 ng'dan daha az). Tüm bunların yanında ne yazık ki bu iki sürecin uyumsuzluk gösterdiği çok önemli bir nokta mevcuttur. Gaz kromatografına giren bileşen 760 torr basınçtaki taşıyıcı gaz içerisinde eser miktarda bulunur. Ancak kütle spektrometresi 10^{-6}–10^{-5} torr vakum altında işletilir. Basınçlar arasındaki bu 8-9 katlık fark oldukça önemli bir problemdir.

GC ve MS instrümanları arasındaki bu önemli basınç problemi çeşitli yollarla giderilebilmektedir. Bu sorunun giderilmesine yönelik olarak gelişen ilk yaklaşım 1950'li yıllarda gaz kromatografik akışın küçük bir kısmını kütle spektrometresine aktaran basit bir yarık şeklindedir. Bu uygulamada spektrometrenin vakum hızına bağlı olarak GC akışının % 1-5 gibi bir oranı MS'in içerisine aktarılırken geri kalan % 95-99'lık kısım atmosfere atılmaktaydı. Sonraları bu uygulamanın iki teknik için hassas bir analiz süreci tesis etmedeki en iyi yol olmadığı keşfedilmiş ve GC/MS ara yüzeyleri geliştirilmiştir. Geliştirilen bu ara yüzeyler GC akışının basıncını 760 torr'dan 10^{-6} – 10^{-5} seviyelerine düşürürken aynı zamanda analit moleküllerinin hepsinin (ya da çoğunun) GC'den MS'e geçişini sağlar. Geliştirilen bu ara yüzeyler sadece GC taşıyıcı gazını dağıtan değil, aynı zamanda taşıyıcı gazı organik analitlerden ayıran ve böylece MS'e gelen taşıyıcı gaz içerisindeki analit konsantrasyonunu arttıran önemli bir aparat halini almıştır. GC/MS uygulamalarında en çok kullanılan ara yüzeyler jet seperatörleridir ve bu ara yüzeyler iki instrüman arasındaki basınç farkının vakum ile ayarlanmasının ardından numunenin MS'e geçişi sırasındaki analit kaybını büyük oranda minimize etmeyi sağlarlar.

Geniş bir kullanım ve uygulama alanına sahip olan GC/MS sistemlerinin genel kullanım şekilleri; bir karışım içerisindeki uçucu ve yarı uçucu organik bileşenlerin tanımlanması ve miktar analizlerinin yapılması, bir karışım içerisinde bulunan bilinmeyen organik bileşenlerin moleküler ağırlıklarının ve bazen elementel kompozisyonlarının belirlenmesi, bir karışım içerisindeki organik bileşenlerin hem kendi spektrumlarının referans bir spektrumla karşılaştırılması hem de öncül bir spektral yorumlama aracılığı ile yapısal saptanmaları gibi bazı uygulamalar olarak özetlenebilir. Bu kullanım şekillerinin uygulama alanı bulduğu bazı konular ise; içme suyu ve atık sularda EPA metotları kullanarak kirleticilerin niceliksel tayini, farmakolojik ve adli tıp gibi alanlarda üre ve kanda uyuşturucu ve metabolitlerinin tayini, tehlikeli atıklarda bilinmeyen organik bileşenlerin tanımlanması, sentetik organik kimya reaksiyon ürünlerinin tanımlanması ve kalite kontrol için endüstriyel ürünlerin analizi şeklindedir.

Prensip olarak GC/MS deneyimleri manyetik sektör instrümanları üzerinden gösterilse de günümüzdeki hemen tüm GC/MS uygulamalarında quadrupole ya da

iyon tuzağı instrümanları kullanılır. Bu instrümanlar nisbeten daha ucuzdurlar ve bir bilgisayar yardımıyla kolayca kontrol edilebilirler. Quadrupole ya da iyon tuzağı temelli GC/MS sistemlerinin maliyetini belirleyen en önemli etken MS'de kullanılan iyonizasyon tekniği ve MS'in kütle aralığıdır. 90'lı yılların sonlarında elektron etki iyonizasyonu kullanan ve 20 – 700 arasında kütle aralığına sahip basit quadrupole ve ya iyon tuzaklı instrümanlar 50000 dolar civarında bir maliyete sahipken negatif kimyasal iyonizasyonun kullanıldığı ve 20–2000 kütle aralığına sahip bir instrüman 200000 dolar maliyete sahiptir. Sistemin işletim maliyetleri; instrümanların bakımı, taşıyıcı gaz ve kolonların yenilenmesi ve yedek parçaları içerir. Birçok laboratuarda bu maliyetlerin yıllık tutarı instrümanın maliyetinin % 5'i civarındadır.

GC/MS sistemlerinde yalnızca buhar basıncı 10^{-10} torr'un üzerindeki bileşenler tayin edilebilir. Kimyasal olarak türetilmiş pek çok düşük basınçlı bileşen bu sistemde tayin edilebilir. Aromatik halkalar üzerindeki yerleşme biçiminin tayini bu sistemle oldukça zordur. Bazı izomerik bileşenler MS tarafından saptanamaz ama GC tarafından ayrımı gerçekleştirilebilir. Sistemde elde edilen sonuçların nitel doğruluğu yukarıda verilen genel sınırlamalar tarafından, nicel doğruluğu ise analitik metot kalibrasyonu tarafından belirlenir. Sistemdeki hassasiyet ve ölçüm limitleri iyonizasyon tekniği ve dilüsyon faktörüne bağlı olarak değişir. GC/MS sistemlerinin hassasiyet problemlerini ortadan kaldırmak için geliştirlen GC/MS/MS tandem sistemleri daha iyi hassasiyet sağlar ancak GC/MS sistemlerine göre oldukça pahalıdır (Setle, 1997).

Pek çok alanda uygulama imkanı bulunan GC/MS sistemlerinin kullanımında çeşitli problemlerden kaynaklanan sınırlamaların bir kısmı gaz kromatografisi ile ilgiliyken bir kısmı da kütle spektrometrisi bölümüyle ilgilidir. GC/MS sistemlerindeki bazı problemler analizin GC adımında gerçekleşen uygunsuz koşullardan kaynaklanabilir. Eğer GC numune bileşenlerini tam olarak ayıramazsa MS'e giden akım saf olmaz ve bu durum genelde kütle spektrumunda arka plan gürültüsüne neden olur. Yine GC sürecindeki taşıyıcı gaz MS girişinden döndürülmezse benzer bir kirlilik meydana gelir. Sistemin MS kısmı da bazı sınırlamalarda başrol oynar ve oluşan problemler kütle spektrumunun yanlış yorumlanmasına neden olur. Bu nedenle analizci

bilgisayar hesaplamaları ile sistem koşulları arasında doğru bir ilişki kurabilecek kapasiteye sahip olmalıdır.

BÖLÜM 5. KİMYASAL İYONİZASYON (CI) VE NEGATİF KİMYASAL İYONİZASYON (NCI) UYGULAMASI

Bir kütle spektrometresinin seçicilik ve hassasiyeti iyon kaynağı ve iyonizasyon çeşidine büyük oranda bağlıdır. Hassasiyet; moleküllerden üretilip iyon kaynağına giren iyonların sayısı olarak kendini gösteren iyonizasyon verimi tarafından belirlenir. Seçicilik iyonizasyon moduna bağlıdır ve bazı durumlarda iyonizasyon verimi farklı türden bileşen sınıfları için büyük farklılıklar gösterebilir.

Sıklıkla kullanım alanı bulan EI gibi elektron iyonizasyon türlerinde çeşitli nedenlerden dolayı oluşan hassasiyet düşüklükleri alternatif iyonizasyon türlerinin geliştirilme ihtiyacını beraberinde getirmiştir ve kimyasal iyonizasyon (CI) bu alternatif türler arasından çok sık kullanılmakta olan bir iyonizasyon türüdür. CI genel olarak analizi yapılmakta olan bileşenlerin nötral molekülleri ve bir ayıraç gazın elektron bombardımanına tutulması ile elde edilen ayıraç gaz iyonları arasındaki iyon-molekül etkileşimleri ile ilerler. Kimyasal iyonizasyonda iyon türlerine yapılan enerji aktarımının ortalama bir düzeyde olması ve çift elektron sayısına sahip iyon türlerinin EI'da üretilen tek numaralılara oranla daha stabil olması gibi nedenlerden ötürü yumuşak bir iyonizasyon tekniği olarak kabul edilir. Bu nedenlere bağlı olarak CI spektrumu moleküler iyonlar içermektedir. Pozitif (PCIMS) ve negatif kimyasal iyonizasyon (NCIMS) olmak üzere iki tür kimyasal iyonizasyon mevcuttur.

PCIMS'in sağladığı hassasiyet pek çok bileşen için düşük çözünürlüklü EIMS ile karşılaştırılabilir düzeydedir. Negatif kimyasal iyonizasyon (NCI) modu organohalojenli bileşenlerin analizi gibi çevresel analizlerde yüksek hassasiyet ve seçiciliğinden ötürü çok sık kullanılır. Bu bileşenler doymuş hidrokarbonların neredeyse hiç iyonize olmadığı bu gibi koşullarda elektron ilavesi ile kolayca iyonize olmaktadır. NCI modunda işletilen düşük çözünürlüklü GC/MS sistemlerinin ölçüm limitleri bazı bileşenler için pikogram–femtogram aralığında olup farklı türden

ayıraç gazların kullanımı ile tekil isomerlerin ayırımı sağlanabilmektedir (Chernetsova et al., 2002).

5.1. Kimyasal İyonizasyon

Kütle spektrometrisi ile ilgilenen araştırmacılar moleküler ağırlıkların saptanmasının yapısal bileşen analizi için kilit bir öneme sahip olduğunun farkına vardıkları andan itibaren EI (electron impact) metodundan daha yumuşak ve hassas metotların arayışı içerisine girmişlerdir. FI (field ionization) metodunun tarihsel olarak CI (chemical ionization) metodundan birkaç yıl evvel keşfedilmiş olması kimyasal iyonizasyon metodunu analitik kütle spektrometrisinde kullanılan ikinci yumuşak iyonizasyon metodu olarak karşımıza çıkartmaktadır. Öte yandan CI metodunun dayandığı temeller daha çok EI ile yakınlık gösterdiğinden CI en fazla EI ile birlikte anılır. Kimyasal iyonizasyon metodunun temelleri ilk olarak 1950'li yılların başında Talrose'nin uygulamaları ile atılmış ve 1960'lı yıllarda Munson ve Field tarafından kütle spektrometresinde kullanılabilir bir analitik teknik olarak geliştirilmiştir. Bu yıllardan sonra kimyasal iyonizasyon tekniği birçok farklı yolla genişletilmiş ve çeşitli şekillerde kullanılmıştır.

Kimyasal iyonizasyon (CI); kütle spektrometresi analizlerinin çeşitli ölçüm işlemlerinde kullanılan iyonların oluşturulması için işletilen bir tekniktir ve bu gibi çalışmalarda en sık kullanım alanına sahip olan iyonlaşma tekniklerinden elektron iyonizasyon (EI) metodu ile arasında bazı önemli farklar mevcuttur. Elektron iyonizasyonunda göreli olarak yüksek enerjiye sahip elektronlar (70 eV), analizi yapılacak olan ve bir taşıyıcı gaz içerisinde hareket eden numune molekülleri ile çarpışır ve bu çarpışma sonucunda pozitif iyonlar üretilir. EI sürecinde enerji, çarpışmalar sonucunda elektronlardan numune moleküllerine aktarılır. CI metodunda ise numune ve taşıyıcı gaza ilave olarak bir ayıraç (reagent) gaz mevcuttur ve bu gazında büyük bir kısmı iyonizasyon odasına akar. Numene miktarına göre çok daha fazla ayıraç gaz bulunduğundan filament tarafından salınan elektronların çoğu ayıraç gaz molekülleri ile çarpışır ve moleküler iyon şekline dönüşür. Tüm bu ayıraç gaz iyonları dengede yürüyen birincil ve ikincil reaksiyon süreçleri çerçevesinde birbirleri ile etkileşirler. Ayrıca numune moleküllerini değişik şekillerde etkileyerek

iyon formuna geçmelerini sağlarlar. CI iyon oluşumu EI iyon oluşumuna göre daha az enerji ihtiva eder, çok daha ince ve hafiftir. Süreç daha az parçalanma (fragmentation) ile sonuçlandığı için CI spektrumu yüksek moleküler iyon çokluğu gösterir. Bu nedenle CI süreci genellikle numune moleküllerinin moleküler ağırlıklarını saptamak için kullanılır.

CI için birçok ayıraç gazın kullanımı mümkün olup her gaz kendine özgü değişik iyonlaşma şablonları ortaya çıkarır. Bu şablonlar bazı numuneler için yüksek hassasiyete neden olurken bazıları için ise hassasiyeti düşürebilir. Metan en çok kullanılan CI ayıraç gazıdır. Metan için başlıca alternatif ayıraç gazlar izobütan ve amonyaktır. Amonyak toksik ve korozif bir gaz olduğundan kullanımı büyük hassasiyet ve güvenlik önlemleri gerektirir. Bu gazlara nazaran kullanımına daha az rastlanan CI ayıraç gazları; karbon dioksit, hidrojen, freon, trimetilsilan, azotoksit ve metilamin olup sözü edilen gazların her biri için farklı iyonlaşma reaksiyonları gerçekleşir.

Ayıraç gaz içerisindeki herhangi bir su kirlenmesi CI metodunun hassasiyetini büyük oranda düşürür. Su kirliliğinin en büyük göstergesi pozitif kimyasal iyonizasyon modunda m/z 19 (H_3O^+) pikinin büyüklüğüdür. Yüksek su konsantrasyonlarında, özellikle kalibrant ile birleştiğinde bu kirlilik iyon kaynağının yüksek oranda kontaminasyonuna neden olur. Su kontaminasyonu özellikle yeni ayıraç gaz tüplerinin takılmasının ya da ayıraç gaz silindirlerinin bağlanmasının ardından meydana gelir. Bu tür bir kirlilik genellikle gazın birkaç saat akıtılmasından sonra sistemden tahliye (purge) edilmesi ile giderilebilir (Agilent Technologies, 1999).

5.1.1. Kimyasal iyonizasyonda iyonların oluşumu

Kimyasal iyonizasyonda gaz molekülleri iyonlarla etkileştiğinde iyonize olmuş yeni iyon çeşitleri oluşur. Bu iyonizasyon türünde; reaksiyona giren reaktantlar arasında elektron, proton ya da başka yüklü türlerin transferi gerçekleşebilmektedir. Sözü edilen bu reaktantlar; nötral analit (M) ve ayıraç gazdan üretilen iyonlar olmak üzere iki çeşittir.

Kimyasal iyonizasyon metodunda, analit iyonların üretilmesi için kütle spektrometrisinde daha önce karşılaştığımız olaylardan farklı olarak biyomoleküler süreçler meydana gelir. Bu tür bir sürecin gerçekleşmesi, yukarıda da sözü edilen tepkenlerin iyon kaynağı içerisinde geçirdikleri süre zarfında (dwelltime) yeterli sayıda iyon-molekül çarpışmasını sağlamalarını gerektirir ve bu gereklilik ayıraç gazın kısmi basıncındaki anlamlı bir artışla yerine getirilebilir. Böyle bir durumu açıklayan bir örnek literatürde tüm çarpışma olasılıklarının dahil edildiği ve iyon kaynağı bekleme süresinin 1 μs kabul edildiği bir durumda her hangi bir molekülün yaklaşık 2.5 x 10^2 Pa iyon kaynağı basıncı altında 30-70 çarpışmaya maruz kalabileceği şeklinde ifade edilmektedir.

Kimyasal iyonizasyon sürecinde moleküllerin iyon formuna dönüşmesini sağlayan 4 genel adım tanımlanmaktadır:

$$M + BH^+ \longrightarrow MH^+ + B \qquad \text{(Proton Transferi)} \qquad (5.1)$$

$$M + X^+ \longrightarrow [M + H]^+ \qquad \text{(Elektrofilik Ekleme)} \qquad (5.2)$$

$$M + X^+ \longrightarrow [M - H]^+ + AX \qquad \text{(Anyon Çıkarımı)} \qquad (5.3)$$

$$M + X^+ \longrightarrow M^{+o} + X \qquad \text{(Yük Değişimi)} \qquad (5.4)$$

Proton transferi genel olarak $[M + H]^+$ gibi protonlanmış analit moleküllerinin üretildiği bir süreç olarak kabul edilse de, asidik analitler başka nötral analitler tarafından protonlanmış baskın $[M - H]^-$ iyon formlarında olabilirler. Elektrofilik ekleme baskın olarak ayıraç iyonların analit molekülüne tamamen ilavesi şeklinde meydana gelir (amonyak ayıraç gazı için $[M + NH_4]^+$ şeklinde). Hidrit çıkarımı olaylarındaki $[M + H]^+$ iyonlarındansa $[M -H]^+$ iyonlarının oluşumu gibi anyon çıkarımı olayları daha baskındır. İlk üç reaksiyonda her türlü elektron iyonu üretilse bile son reaksiyonda yalnızca düşük enerjili elektron iyonizasyonundaki moleküler iyonlarla benzerlik gösteren düşük iç enerjiye sahip radikaller üretilir.

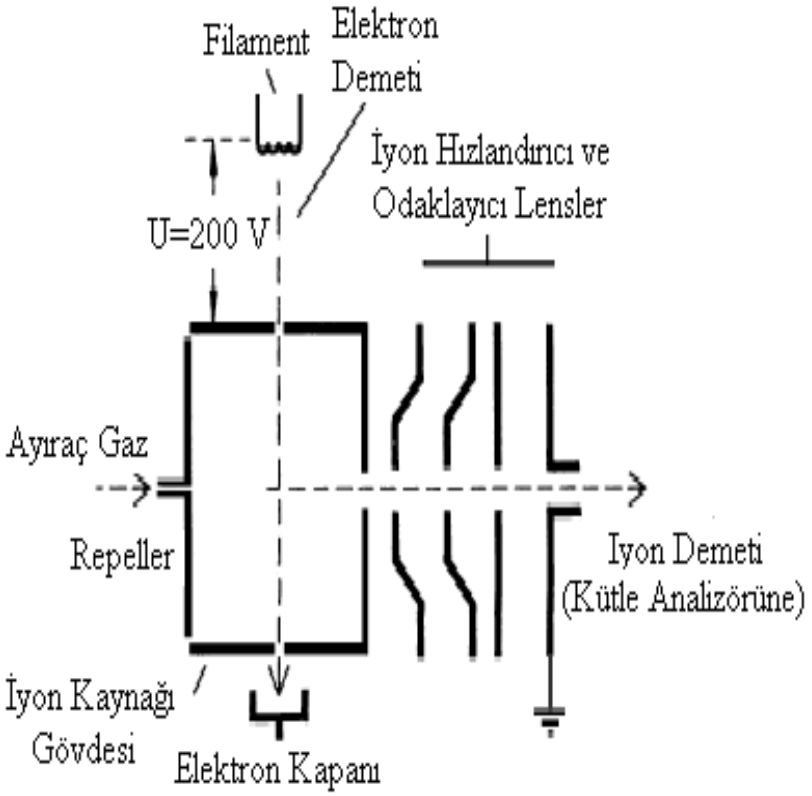
5.1.2. Kimyasal iyonizasyonda iyon kaynağı

CI iyon kaynakları genel anlamda EI iyon kaynakları ile büyük benzerlikler gösterirler. Bu anlamda uygulamada EI iyon kaynakları çoğu zaman birkaç dakika içerisinde CI sürecine adapte edilebilmektedir. Böyle bir kullanımda gerekli olan en önemli şey iyon kaynağının, iyon kaynağı odası içine fazla sızıntının girmemesini sağlayacak şekilde, değişen ihtiyaçlara bağlı olarak 10^2 Pa gibi yüksek ayıraç gaz basınçlarını tutabilecek şekilde modifiye edilmesidir. Bu gereksinim iyon demetinin giriş ve çıkışlarında, iyonize olmuş birincil elektronların geçişine imkan veren, sadece dar boşluklar bırakan iyon hacimlerinin oluşturulmasını sağlayan küçük bir silindirin eksenel olarak yerleştirilmesi ile sağlanabilmektedir. İlk giriş için gaz kromotograf (GC) ve direkt prob (DIP) portlarının bağlantısının operasyon sırasındaki giriş sistemlerine nazaran daha hassas bir şekilde yapılması gereklidir. Ayıraç gaz, iyon kaynağındaki minumum kayıplarda maksimum iç basıncı sağlamak için direkt olarak iyon hacminin içerisine verilir. CI operasyonu sırasında iyon kaynağı içerisindeki basınç cihazın son basıncından 20-50 kat arasında bir artışla $5x10^{-4}$ – 10^{-3} Pa gibi değerlere ulaşır. Bu durumda CI modundaki stabil operasyon koşullarının sağlanması için 200 litre/s değerine eşit ya da daha yüksek pompalama hızları gerekli olur. Kaynağa giriş yapan elektronlardan ilk kısmının elektron enerjisi, düşük enerjiye sahip elektronların ayıraç gaz ile etkileşimlerinde yaşanacak zorluklar nedeniyle 200 eV değerine ayarlanır. Bir CI iyon kaynağının şematik görünümü Şekil 5.1'de verilmiştir.

5.1.3. Kimyasal iyonizasyonda hassasiyet

CI metodunda iyonizasyon bir ve ya birden fazla kimyasal reaksiyonun birbirleri ile çekişmesinin bir sonucudur. Bu açıdan bakıldığında kimyasal iyonizasyon metodunun hassasiyeti büyük oranda işletim koşullarına bağlıdır. Hassasiyet konusunda anlamlı bir karşılaştırma yapabilmek için birincil elektronların enerjileri ve elektron akımına ilave olarak ayıraç gaz, ayıraç gaz basıncı ve iyon kaynağı sıcaklığı değerleri hassasiyet verileri ile birlikte değerlendirilmelidir. Modern manyetik alan cihazlarında m/z değeri 299 olan metilsiteratın moleküler iyon formu için ($[M+H]^+$) çözünürlük R = 1000 değerindeki pozitif iyon CI modunda hassasiyet

değeri yaklaşık olarak 4 x 10^{-8} μg^{-1} olarak standartlaştırılmıştır. EI modu için kabul görmüş hassasiyet verisi bu değerden daha düşüktür (Gross, 2002).



Şekil 5.1: Kimyasal iyonizasyon (CI) iyon kaynağı

5.1.4. Kimyasal iyonizasyonda aşırı gürültü

Bir MS spektrumunda oluşan aşırı gürültü, spektrumda gözlenmekte olan analitlerin piklerini kapatarak ölçüm limitini yani hassasiyeti düşürür. Bu nedenle sistemin arka plan gürültüsünün en aza indirilmesi ölçüm limitinin yüksek tutulması için son derece önemlidir. Bu durum, spektrumdaki piklerin oluşan gürültüye nazaran daha yüksek olması yani büyük S/N oranlarını gerektirir. Bu tezin deneysel kısmında kullanılan CI ile çalıştırılan 5973 A/N kütle spektrometrelerinde oluşan aşırı gürültü yani düşük S/N oranlarının başlıca nedenleri ve bu nedenleri ortadan kaldırmak için kullanıcı tarafından yapılması gerekenler üretici firma Agilent tarafından aşağıdaki şekilde belirtilmiştir:

- GC enjeksiyon bloğu kirlenmiş olabilir – Enjeksiyon bloğunun bakım ve temizliği yapılır.
- CI iyon kaynağı kirlenmiş olabilir – İyon kaynağı uygun temizleme prosedürü kullanılarak temizlenir.
- Sistemdeki vakum zayıftır – Yüksek vakum göstergesinden basınç kontrol edilir.
- Hava kaçağı vardır – PCI modunda metan pretune alınır, m/z 32'de büyük pikler hava kaçağını işaret eder. Kaçaklar kontrol edilir ve doğrulanır.
- Metan gaz temizleyicisi doymuş olabilir - Gaz temizleyicisi değiştirilir.
- Düşük kalitede (saflığı % 99.99'dan daha az) metan kullanılıyor olabilir - Yüksek saflıkta metan eskisiyle değiştirilir. Eğer gerekliyse ayıraç gaz hattı purge edilerek temizlenir, iyon kaynağı temizlenir.
- Ayıraç gaz akışı çok yüksektir – Ayıraç gaz ayarlarının doğruluğu kontrol edilir ve doğru değere ayarlanır.

5.2. Pozitif Kimyasal İyonizasyon (PCI) Teorisi

Pozitif kimyasal iyonizasyon metodu ile elektron etki iyonizasyonu aynı analizör voltaj polaritesinde gerçekleşen süreçlerdir. PCI metodunda; ayıraç gaz üretilen elektronlarla çarpışarak iyonize olur. Oluşan ayıraç gaz iyonları, numune iyonları oluşturmak için numune molekülleri (proton verici) ile kimyasal olarak etkileşir. PCI iyon formasyonu, daha az parçalanma (fragmentation) gerçekleştiği için elektron iyonizasyonuna göre daha incedir. Sözü edilen bu reaksiyon genellikle yüksek çoklukta moleküler iyon oluşturur ve bu nedenle numunelerin moleküler ağırlıklarının saptanmasında sıklıkla kullanılır. İyon kaynağındaki 0.8 – 2.0 Torr basınç aralığındaki pozitif kimyasal iyonizasyon işletiminde gerçekleşen 4 temel iyonizasyon süreci mevcuttur ve bu süreçler şu şekildedir:

- Proton Transferi
- Hidrit Çıkarma
- Ekleme
- Yük Değişimi

Kullanılan ayıraç gaza bağlı olarak, sonuç kütle spektrumunda görüntülenen iyonizasyon ürünlerini açıklamak için bu dört süreçten bir veya birkaçı kullanılabilir. PCI metodu ile çalıştırılan ve özellikle PFDTD (Perflloro-5,8-dimetil-3,6,9-trioksidodekan) kalibrantının kullanıldığı sistemlerde hava veya su mevcudiyeti iyon kaynağının çok hızlı bir şekilde kirlenmesine yol açar (Agilent Technologies, 1999).

5.2.1. Proton transferi

$BH^+ + M \longrightarrow MH^+ + B$ şeklinde tanımlanabilecek bu iyonizasyon sürecinde ayıraç gaz B, protonasyon sonucunda iyonizasyona uğramıştır. Eğer analitin (M) proton ilgisi ayıraç gazınkinden büyük ise protonlanmış olan ayıraç gaz protonunu analit molekülüne aktararak pozitif yüklü bir analit iyonu yaratır. CH_5^+ iyonundan moleküler analite protonlanmış MH^+ molekülünün ortaya çıkmasına neden olan proton transferi bu konuda en sık verilen örnektir.

Ayıraç gaz ve analitin bağıl proton ilgileri proton transfer reaksiyonunu yönetir. Eğer analit ayıraç gazdan daha büyük proton ilgisine sahip ise proton transferi gerçekleşir. Metan (CH_4), proton ilgisinin çok düşük olması nedeniyle en bilinen ayıraç gazdır.

Proton ilgisi; bu değerin kcal/mol olarak kullanıldığı aşağıdaki reaksiyon ile tanımlanır.

$$B + H^+ \longrightarrow BH^+ \qquad (5.5)$$

Metanın proton ilgisi 1127 kcal/mol olarak tanımlanmıştır. Tablo 5.1'de bazı ayıraç gazların ve Tablo 5.2'de çeşitli fonksiyonel gruplara ait organik bileşenlerin proton ilgilerinin sayısal değerleri verilmiştir (Agilent Technologies, 1999).

Bir proton transfer reaksiyonu ile üretilen kütle spektrumu bazı değişkenlere bağlı olarak farklılıklar gösterir. Proton ilgilerindeki farklılık büyük olduğunda (metan gibi) mevcut fazla enerji protonlanmış moleküler iyonda bulunabilir. Bu nedenle bazı analizlerde proton ilgisi 195 kcal/mol olan izobütan metanın yerine tercih edilebilir. Proton ilgisi 207 kcal/mol olan amonyak birçok analitin protonlanması için daha az

uygundur. Proton transferine dayalı kimyasal iyonizasyon genel olarak yumuşak bir metot olarak kabul edilir ancak bu yumuşaklığın ölçüsü iyon kaynağı sıcaklığını da içeren diğer bazı faktörler gibi analit ve ayıraç gazın proton ilgisine de bağlıdır.

Tablo 5.1: Ayıraç gaz proton ilgileri

Molekül	**Proton İlgisi (kcal/mol)**	**Molekül**	**Proton İlgisi (kcal/mol)**
Asetaldehit	185	Metil Amin	211
Asetik Asit	188	Metil Klorür	165
Aseton	202	Metil Siyanit	186
Benzen	178	Metil Sülfit	185
2 – Butanol	197	Metil Siklopropan	180
Siklopropane	179	Nitroetan	185
Dimetil Eter	190	Nitrometan	180
Etan	121	n-Propil Asetat	207
Etil Format	198	Propilen	179
Formik Asit	175	Toluen	187
Hidrobromik Asit	140	Trans-2-Büten	180
Hidroklorik Asit	141	Trifluoroasetik Asit	167
İsopropil Alkol	190	Ksilen	187
Methanol	182		

Tablo 5.2: Bazı organik bileşenlerin PCI için proton ilgileri

Tür	**Proton İlgisi (kcal/mol)**	**Oluşan İyon Formu**
H_2	100	H_3^+ (m/z 3)
CH_4	127	CH_5^+ (m/z 17)
C_2H_4	160	$C_2H_5^+$ (m/z 29)
H_2O	165	H_3O^+ (m/z 19)
H_2S	170	H_3S^+ (m/z 35)
CH_3OH	182	$CH_3OH_2^+$ (m/z 33)
t-C_4H_{10}	195	t-$C_4H_9^+$ (m/z 57)
NH_3	207	NH_4^+ (m/z 18)

5.2.2. Hidrit çıkarma

Ayıraç iyonların oluşumu sırasında yüksek hidrit iyonu [H^-] ilgisine sahip çeşitli tepken iyonlar oluşabilir. Tepken iyonun hidrit iyonu ilgisi, analitin [H^-] kaybetmesiyle oluşan iyonun hidrit iyonu ilgisinden fazla ise oluşacak termodinamik kimyasal iyonizasyon süreci için uygundur. Ayıraç gaz olarak metanın kullanıldığı CI uygulamalarında hem CH_5^+ hem de $C_2H_5^+$ iyonları hidrit çıkarımı yapabilir. Bu iyon türleri büyük hidrit iyon ilgisine sahiptir ve bu ilgi aşağıda verilen genel reaksiyona uygun olarak uzun zincirli alkanların H^- kaybı ile sonuçlanır.

$$R^+ + M \longrightarrow [M–H]^+ + RH \qquad (5.6)$$

Metan için R^+ ifadesi CH_5^+ ve $C_2H_5^+$ iyonlarını, M ifadesi ise uzun zincirli alkan molekülünü simgeler. CH_5^+ olma durumunda reaksiyonun ikinci kısmı $[M–H]^+ + CH_4 + H_2$ şeklinde ilerler. Hidrit çıkarımından kaynaklanan spektrum, H^- kaybından kaynaklanan bir M-1 amu piki verecektir. Oluşan reaksiyonun ekzotermik bir reaksiyon olmasından ötürü $[M-H]^-$ iyonunun fragmentasyonu sıklıkla gözlemlenir.

Çoğunlukla hidrit çıkarımı ve proton transfer iyonizasyonu numune spektrumunda bir arada görülebilmektedir. Hem hidrokarbon halkasından hibrit çıkarımı hem de ester yapısına proton transferinin gerçekleştiği uzun halkalı metil esterlerin metan CI spektrumları bu duruma bir örnek olarak gösterilebilir. Örneğin metil steratın metan PCI spektrumunda; m/z 299 değerli MH^+ piki proton transferi tarafından, m/z 297 değerli $[M-1]^+$ piki hidrit çıkarımı tarafından yaratılır.

5.2.3. Ekleme

Pek çok analit için proton transferi ve hidrit çıkarımı kimyasal iyonizasyon reaksiyonları termodinamik olarak uygun değildir. Bu gibi durumlarda; ayıraç gaz iyonları analit moleküllerle yoğunlaşma ve birleşme (ekleme reaksiyonları) gibi reaksiyonları aracılığı ile bütünleşmek için çoğu zaman yeterince reaktiftirler. Bu tip iyonlara adduct iyonlar denir. Adduct iyonlar, metan kimyasal iyonizasyonunda

M+29 ve M+41 amu kütle piklerine neden olan $[M+C_2H_5]^+$ ve $[M+C_3H_5]^+$ iyonlarının mevcudiyetinde gözlemlenir.

Ekleme reaksiyonları özellikle amonyak CI metodunda önem taşır. Amonyağın yüksek bir proton ilgisine sahip olmasından ötürü, bazı organik bileşenler amonyak ayıraç gazıyla proton transferi gerçekleştirir. Amonyak CI metodunda NH_4^+, $[NH_4NH_3]^+$ ve $[NH_4(NH_3)_2]^+$ gibi iyon oluşumları ile sonuçlanan bir dizi iyon molekül etkileşimi gerçekleşir. Özellikle amonyum iyonu için; hem yoğunlaşma hem de birleşme reaksiyonları aracılığı ile oluşan M+18 amu değerindeki $[M+NH_4]^+$iyonunda büyük bir artış verir. Eğer oluşan bu iyon kararlı değilse sıralı bir parçalanma gözlemlenebilir. Birbirini izleyen 18 ve 17 amu düşüşleri şeklinde gözlemlenen nötr H_2O ve NH_3 kaybı da yaygın bir durumdur.

5.2.4. Yük değişimi

Yük değişim iyonizasyonu; iyonize olmuş ayıraç gazın X^+ ve ilgili analitin M şeklinde tanımlandığı şu reaksiyon ile açıklanabilir:

$$X^{+o} + M \longrightarrow M^{+o} + X \qquad (5.7)$$

Yük değişim iyonizasyonu için kullanılan ayıraç gazlar; soygazlar (helyum, neon, kripton, ksenon ve radon), azot, karbon dioksit, karbon monoksit, hidrojen ve analit ile kimyasal olarak reaksiyona girmeyen diğer gazları içerir. Tüm bu ayıraç gazlarının bir kez iyonize olmuş şekilleri aşağıda gösterildiği gibi bir birleşme enerjisine sahiptir.

$$X^{+o} + e^- \longrightarrow X \qquad (5.8)$$

Eğer söz konusu bu enerji analitten bir elektron uzaklaştırmak için gereken enerjiden daha büyük ise reaksiyon ekzotermiktir ve termodinamik olarak izin verilir. Yük değişimi kimyasal iyonizasyonu genel analitik uygulamalar için geniş bir kullanım alanına sahip değildir. Bunun yanında diğer CI süreçlerinin termodinamik olarak uygun olmadığı durumlarda kullanılabilir bir CI sürecidir.

5.3. Negatif Kimyasal İyonizasyon (NCI) Teorisi

Negatif kimyasal iyonizasyon (NCI) negatif iyonları seçmek için ters çevrilmiş analizör voltaj polariteleri ile uygulanan bir yöntemdir. NCI için geçerli olan birkaç farklı mekanizma mevcuttur. Bu mekanizmaların hepsi NCI ile ilişkilendirilen çarpıcı hassasiyet artışlarına neden olmayabilir. NCI için işleyen en önemli dört mekanizma; Elektron Tutma, Ayırıcı Elektron Tutma, Çift İyon Teşkili ve İyon-Molekül Reaksiyonları şeklinde verilebilir.

İyon–molekül reaksiyonları hariç verilen tüm reaksiyonlarda; ayıraç gaz pozitif kimyasal iyonizasyonda sağladığından farklı bir fonksiyon üstlenir. Negatif kimyasal iyonizasyonda ayıraç gaz çoğu zaman tampon gaz görevi görür. Ayıraç gaz, filamentden saçılan yüksek enerjili elektronlarla bombardımana uğratıldığında aşağıdaki reaksiyon meydana gelir:

$$\text{Ayıraç Gaz} + e^{-}_{(230\,eV)} \longrightarrow \text{Ayıraç İyonlar} + e^{-}_{(thermal)} \qquad (5.9)$$

Eğer ayıraç gaz metan ise reaksiyon Denklem 5.10'da verilen şekilde olur.

$$CH_4 + e^{-}_{(230\,eV)} \longrightarrow CH_4^{+} + 2e^{-}_{(thermal)} \qquad (5.10)$$

Termal elektronlar filamentden saçılan elektronlara nazaran daha düşük enerji seviyelerine sahiptirler ve bu termal elektronlar numune molekülleri ile etkileşime giren elektronlardır.

NCI uygulamasında negatif ayıraç gaz iyonu formu mevcut değildir. Bu durum; PCI modunda gözlemlenen türden bir arka plan gürültüsünün önüne geçer ve NCI modunun çok düşük ölçüm limitleri sağlamasının temel nedeni budur. Negatif kimyasal iyonizasyon ile oluşan ürünler sadece kütle spektrometre dedektörünün negatif iyon modunda işletildiği durumlarda gözlemlenebilir. Bu işletim modu tüm analizör voltajlarının polaritesini ters çevirir. Karbon dioksit NCI için çok sık kullanılan bir ayıraç gazdır. Bu gaz diğer gazlara göre düşük maliyet, ulaşılabilirlik ve güvenlik avantajları gibi bazı üstünlüklere sahiptir.

5.3.1. Elektron tutma

Elektron tutma süreci negatif kimyasal iyonizasyon işleminde süregelen birincil mekanizmadır. Sıklıkla yüksek basınçlı elektron tutma kütle spektrometrisi (HPECMS) olarak adlandırılan bu süreç NCI için yüksek hassasiyet sağlar. İdeal koşullarda bazı örnekler için NCI da kullanılan elektron tutma süreci PCI'da elde edilen değerlerden 10 ila 1000 kat arasında değişen miktarlarda daha iyi hassasiyet sağlamaktadır.

Pozitif kimyasal iyonizasyon süreci ile ilgili reaksiyonlar genelde kirlenmeye bağlı olarak NCI işleminde de gerçekleşir. Ters döndürülmüş lens voltajları nedeniyle pozitif iyon formları iyon kaynağını terk etmez ve bu iyon formlarının varlığı elektron tutma reaksiyonunu bastırabilir. Elektron tutma reaksiyonu aşağıdaki şekilde yürür:

$$MX + e^-_{(thermal)} \longrightarrow MX^{-\,o} \qquad (5.11)$$

Burada MX numune molekülünü, elektron ise ayıraç gaz ve yüksek enerjili elektronlar arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkan termal (yavaş) elektronları simgeler. Bazı durumlarda $MX^{-\,o}$ radikal anyonu durağan bir yapı göstermez. Bu gibi durumlarda yukarıdaki tepkime tersine döner. Bu tersinme tepkimesi oto-ayrılma olarak nitelendirilir ve genellikle çok hızlı bir şekilde gerçekleşir. Bu nedenle, çarpışma ve diğer reaksiyonlar arasında durağan olmayan anyonun durağan bir hale gelmesi için çok az bir süre vardır.

Elektron tutma reaksiyonu azot, oksijen, fosfor, kükürt, silikon ve özellikle halojenler gibi hetero-atomlara sahip moleküller için en uygun reaksiyondur. Oksijen, su ya da diğer herhangi bir kirleticinin varlığı elektron ilave reaksiyonu ile girişim yapar. Kirleticiler daha yavaş iyon-molekül reaksiyonlarının oluşturulduğu negatif iyonlara neden olur ve bu durum genellikle hassasiyetin düşmesine neden olur. Bu nedenle başta hava ve su olmak üzere tüm potansiyel kirletici kaynakları minimize edilmelidir.

5.3.2. Ayırıcı elektron tutma

Ayırıcı rezonans tutma reaksiyonu olarak da bilinen bu reaksiyon elektron tutma sürecine benzeyen bir iyonlaşma işlemidir. İki reaksiyon arasındaki fark bu süreç sırasında numune molekülünün parçalanması ya da ayrılmasıdır ve reaksiyon aşağıdaki şekilde gösterilebilir:

$$MX + e^-_{(thermal)} \longrightarrow M^o + X^- \qquad (5.12)$$

Bu reaksiyon elektron tutma reaksiyonu ile aynı hassasiyetle sonuçlanmaz ve ortaya çıkan spektrumdaki moleküler iyon çoklukları daha düşüktür.

Elektron tutma reaksiyonunda olduğu gibi burada da oluşan ürünler durağan değildir ve bazen bir tersinme tepkimesi oluşur. Asosiyatif çıkarma reaksiyonu olarak bilinen bu tersinme reaksiyonu aşağıdaki şekilde yürür:

$$M^o + X^- \longrightarrow MX + e^- \qquad (5.13)$$

5.3.3. Çift iyon teşkili

$$MX + e^-_{(thermal)} \longrightarrow M^o + X^- + e^- \qquad (5.14)$$

Ayırıcı elektron tutma reaksiyonlarında olduğu gibi bu süreçte de numune molekülleri parçalanır ve bu iki reaksiyon birbirine benzer. Ancak ayırıcı elektron tutmadan farklı olarak elektron, parçalanmış moleküller tarafından tutulmaz. Bunun yerine; elektronlar numune molekül parçaları üzerine düzensiz bir şekilde dağılır ve bu yolla negatif ve pozitif iyonlar üretilir.

5.3.4. İyon-molekül reaksiyonları

İyon-molekül reaksiyonları CI iyon kaynağında oksijen, su ve diğer bazı kirleticilerin varlığında gerçekleşir. Bu reaksiyonlar elektron tutma reaksiyonlarına nazaran 2-4

kat daha yavaştırlar ve yüksek hassasiyet sağlamak gibi bir özellikleri yoktur. İyon-molekül reaksiyonları aşağıdaki şekilde yürür:

$$M + X^- \longrightarrow MX^- \qquad (5.15)$$

Bu reaksiyonda X^- filamentten saçılan elektronlar tarafından kirleticilerin iyonlaştırılması ile ortaya çıkarılan, çoğunlukla bir halojen veya hidroksil grubunu temsil eder. İyon-molekül reaksiyonları ile elektron tutma reaksiyonları bir yarış içerisindedirler. Çok fazla iyon-molekül reaksiyonun olduğu durumlarda az sayıda elektron tutma reaksiyonu oluşur.

5.4. PCDD/F Analizlerinde NCI ile Birikte Ayıraç Gaz Olarak Metan Kullanımı

NCI modunun PCI ve EI metoduyla karşılaştırıldığında en önemli yararı ölçüm limitlerinde daha alt seviyelere inebilmesidir. Ancak PCDD/F analizlerinde NCI kullanımında 2,3,7,8 TCDD konjenerine olan düşük tepki gibi çözülmesi gereken bazı önemli problemler vardır. Sağlanan bilgi çelişkili olabilmektedir ve bu durum NCI spektrumunun düşük tekrarlanabilirliği ile açıklanır. Kütle spektrumunun bileşimi ve ölçüm limitleri; iyon kaynağının tipi, kaynak sıcaklığı ve basıncı, kullanılan ayıraç gaz ve ayıraç gazın saflığı gibi birçok parametreden etkilenir.

NCI metodunda en sık kullanılan ayıraç gaz metandır. Ancak bu yolla yürütülen pek çok çalışma arasında kütle spektrumunun tanımlanması ve ölçüm limitleri konusunda bazı uyuşmazlıklar mevcuttur. Bu uyuşmazlıkların kaynağı deneysel koşullar sonucunda (sıcaklık, iyon kaynağındaki gaz basıncı, numune bileşeninin konsantrasyonu, elektron enerjisi gibi) elde edilen yüksek hassasiyetlerdir. Ayrıca metandan uzaklaştırılması oldukça zor olan eser miktarlardaki oksijen spektrum bileşeninde ciddi değişikliklere yol açmaktadır.

Metan diğer alternatif ayıraç gazlara nazaran pahalı bir gaz olmakla birlikte yüksek hassasiyet vermesinden ötürü çok sık tercih edilir. Chernetsova et al. (2002) tarafından farklı ayıraç gazlarla yürütülen bir çalışma sonucunda elde edilen bazı

ölçüm limiti değerleri ve gazların NCI'daki karakteristik iyonları Tablo 5.3'de sunulmuştur.

Tablo 5.3: Farklı ayıraç gazlarla PCDD/F ve PCB bileşiklerinin ölçüm limitleri ve NCI kütle spektrumundaki karakteristik iyonları (Chernetsova et al., 2002)

AYIRAÇ GAZ	**PCDD'ler İçin**	**PCDF'ler İçin**	**PCB'ler İçin**
CH_4	M^-, Cl^-, $[M\text{-}Cl]^-$, $[M\text{-}2Cl]^-$, $[M\text{-}H]^-$, $[M\text{-}3Cl]^-$, $[M\text{-}4Cl]^-$, $[M\text{-}xCl+xH]^-$, ÖlçümLimiti:10^{-11}-10^{-14} gr (2,3,7,8-TCDD hariç)	M^-, Cl^-,$[M\text{-}2Cl]^-$, $]^-$, $[M\text{-}xCl+xH]^-$, ÖlçümLimiti:10^{-10}-10^{-13} gr	M^-, Cl^-, $[M\text{-}Cl]^-$, $[M\text{-}2Cl]^-$, $[M\text{-}3Cl]^-$, $[M\text{-}4Cl]^-$,$[M\text{-}H]^-$ $[M\text{-}Cl+H]^-$, ÖlçümLimiti:10^{-12}-10^{-14} gr
CH_4/O_2	M^-, $[M\text{-}Cl+O]^-$, $[M+O_2\text{-}C_6H_2Cl_2O_2]^-$ ÖlçümLimiti:10^{-10}-10^{-11} gr	M^-, $[M\text{-}Cl+O]^-$, Cl^-, $[M\text{-}Cl+H]^-$	M^-, $[M\text{-}Cl+O]^-$, $[M\text{-}Cl]^-$, $[M\text{-}H]^-$, Cl^-, $[M\text{-}2Cl]^-$, $[M\text{-}Cl+H]^-$, $[M\text{-}HCl+O_2]^-$,
O_2	M^-, $[M\text{-}Cl+O]^-$, $[M+O_2\text{-}C_6H_2Cl_2O_2]^-$ (m/z 176), $[M\text{-}H+O]^-$, ÖlçümLimiti:10^{-10}-10^{-12} gr	M^-, $[M\text{-}Cl+O]^-$, Cl^-	-
CH_4/N_2O	M^-, $[M+OH]^-$, $[M+OH\text{-}Cl]^-$, $[M+O\text{-}Cl]^-$, $[M\text{-}Cl]^-$, ÖlçümLimiti:10^{-11}gr	-	-
Ar/CH_4	M^-, Cl^-, $[M\text{-}Cl]^-$, $[M\text{-}2Cl]^-$, $[M+H\text{-}Cl]^-$, $[M\text{-}3Cl]^-$, ÖlçümLimiti:10^{-12}-10^{-14} gr	-	-
H_2	M^-, Cl^-, $[M\text{-}Cl]^-$, $[M\text{–}Cl+O]^-$ (oksijen varlığında). ÖlçümLimiti:10^{-12} gr	-	-
NH_3	-	-	M^-, Cl^-, $[M\text{-}Cl]^-$, $[M\text{-}2Cl]^-$, $[M\text{-}3Cl]^-$, $[M\text{-}4Cl]^-$,

BÖLÜM 6. DENEYSEL ÇALIŞMALAR VE BULGULAR

6.1. Çalışmada Kullanılan GC/MS Sistemi

Çalışmada kullanılan HRGC/LRMS sistemi; HP 6890 yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi (HRGC) ve bu cihaza bir ara yüzeyle bağlı olup negatif kimyasal iyonizasyon (NCI) yöntemiyle işletilen HP 5973N düşük çözünürlüklü kütle spektrometresinden (LRMS) oluşmakta olup bu sistem Şekil 6.1'de görülmektedir. Sisteme yapılan tüm enjeksiyonlar 2 µL olarak sabitlenmiştir ve piklerin görüntülenmesinde, metot geliştirme kısmının bazı aşamaları haricinde SIM (Selected Ion Monitoring) modu kullanılmıştır. Sistemin işletimi sırasında, çeşitli kaynakların incelenmesi sonucu tercih edilen ve uygulanan taşıyıcı gaz, ayıraç gaz, akışlar ve yapılan enjeksiyonlar ile ilgili bilgiler aşağıdaki şekildedir.

- Kolon akış türü : Sabit Akış
- MS İyonizasyon Yöntemi : Negatif kimyasal iyonizasyon (NCI)
- Taşıyıcı gaz : Helyum
- Taşıyıcı gaz akış hızı : 1.7 mL/dakika
- Taşıyıcı gaz akış basıncı : 35.9 psi
- Ayıraç gaz : Metan
- Enjeksiyon sistemi : Splitless
- Enjeksiyon sıcaklığı : 270^{o}C
- Enjeksiyon miktarı : 2µL

Sistemin kromatografik ayırma işleminde; 17 adet PCDD/F izomerinin tam olarak ayrımını sağlamak için özel olarak üretilmiş olan ve % 44 metil, % 28 fenil, % 20 siyanopropil ve % 8 polioksietilen (Carbowax) içeren bir polar polisiloksan fazdan oluşan DB(DuraBond)-DIOXIN kolonu kullanılmıştır. DB-Dioxin kolonu, sık kullanıma sahip SP-2331, 007-23, Rtx-2332 ve CP Sil 88 gibi kolonlarla benzer yapıdadır. Agilent J&W Scientific tarafından farklı boyutlarda üretilen bu kolon için verilen sıcaklık limitleri 40 C^0 – 250 C^0 (max 270 C^0) şeklindedir. Sistemimizde kullanılan kolonun katalog numarası 1222462 olup, 60 metre uzunluk, 0.25 mm iç çap ve 0.25 µm film kalınlığına sahiptir.



Şekil 6.1: Çalışmada kullanılan GC/MS sistemi

6.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Madde, Çözelti ve Malzemeler

Çalışmanın kalibrasyon, enjeksiyon ve numune analizleri bölümlerinde kullanılan kimyasal maddeler ve malzemelerin özellikleri aşağıda bir liste halinde sunulmuştur.

- Aluminyum Oksit 90 aktif nötral–MERCK, 1.01077.1000
- Aseton–HPLC, Lab Scan, C01C11X
- Carbopack C–80/100 mesh, 10 gram, SUPELCO, 10258
- Celite 545 (0.02 – 0.1 mm)–MERCK, 1.02693.1000
- Diklorametan–for liquid chromatography, MERCK, 1.06.044.2500
- Ekstraksiyon Kartuşları–ID x Height/33 x 80 mm, Macherey Nagel–050831/10
- Enjeksiyon Şırıngası–Hamilton 1701 RN, 10 µL hacim
- Hidroklorik Asit–% 37 Extra pure, MERCK, 1.00314.2500
- Mikroreaksiyon Vialleri–0.3 mL, SUPELCO, 3,3291
- Mikroreaksiyon Vialleri–0.1 mL, SUPELCO, 3,3289
- Metanol–GR for Analysis, MERCK, 1.06009.2500
- n-Hekzan–GR for Analysis, MERCK, 1.04.367.2500
- n-Nonan–MERCK 1.06833.0005, Referance substance for GC
- Pastör Pipetleri–230 mm, ISOLAB, 108.03.002
- Potasyum Hidroksit Kristalleri–GR for Analysis, MERCK,1.05029.1000
- Santrifüj Tüpleri-Falcon, 50 mL
- Siklohekzan–GR for Analysis, MERCK, 1.09666.2500
- Silikajel 60 (0.063 – 0.200 mm)-MERCK, 11.07734.1000
- Sülfürik Asit-% 95-98, Extra pure, MERCK, 1.00713.2500
- Sodyum Hidroksit Kristalleri–Pure, MERCK, 1.06462.1000
- Sodyum Sülfat–Anhydrous extra pure, MERCK, 1.00314.2500
- Sodyum Klorür Kristalleri–J. T. Baker, 1764
- Toluen-% 99.8, HPLC grade, Sigma Aldrich, 27.037.7

Yukarıda bir liste halinde verilen tüm bu malzemeler, çalışmanın ileride bahsedilecek çeşitli aşamalarında direkt ya da yardımcı malzemeler olarak kullanılmıştır. Bu kimyasal madde ve malzemeler yardımıyla, çalışmanın PCDD/F analizi aşamasında kullanılmak üzere hazırlanan çözeltiler ve hazırlanma şekilleri aşağıda belirtilmiştir.

- Carbopack C/ Celite Karışımı: 5 gram Carbopack C ile 22 gram Celite bir beher içerisinde homojen bir şekilde karıştırılır ve 130 C^0'deki bir etüvde 12 saat kurutulur. Karışım kullanıma kadar desikatörde saklanır.

- Metilen Klorür Metanol Toluen Karışımı (v/v ; 15/4/1): 75 mL Metilen Klorür, 20 mL Metanol ve 5 mL Toluen bir erlen içerisinde karıştırılır.

- Metilen Klorür/Siklohekzan Karışımı (v/v ; 1/1): 25 mL Metilen Klorür ile 25 mL Siklohekzan bir erlen içerisinde karıştırılır.

- Nötral Alumina: Kapalı bir kap içerisinde desikatörde saklanır.

- Silika jel: 150 gr silikajel aluminyum folyo içerisinde, 190 C^0'de sabitlenmiş bir etüvde 24 saat aktive edilir. Eğer silikajel ile yapılacak bir şahit deneyinde girişim gözlemleniyorsa silikajel aktive edilmeden önce metilen klorür ile ekstrakte edilir ve sonra aktifleştirilir. Aktifleştirilmiş silikajel cam bir kap içerisinde saklanır.

- Susuz Sodyum Sülfat: Yaklaşık 250 gr Sodyum Sülfat geniş bir tepsi içerisinde 400 C^0 sıcaklıkta bir etüvde aktif hale getirilir.

- Sülfürik Asit Emdirilmiş Silikajel: Aktifleştirilmiş silikajelin 60 gramı 40 gram konsantre sülfürik asitle karıştırılır ve oda sıcaklığında, cam bir kapta saklanır

- Sodyum Hidroksit Emdirilmiş Silikajel: Aktifleştirilmiş silikajelin 50 gramı 1 Molarlık NaOH çözeltisinin 25 gramı ile karıştırılır ve oluşan topaklar dağılana kadar homojen hale getirilir ve oda sıcaklığında, cam bir kapta saklanır.

- 1:1 Oranında Hekzan-Metilen Klorür Karışımı: 175 mL hekzan ve 175 mL metilenklorür ekstraksiyondan hemen önce ekstraksiyon balonu içerisinde karıştırılır.

- 1 M NaOH Çözeltisi: 40 gr NaOH 1000 mL'lik balon joje içerisinde saf suyla çözülür ve çözelti saf su ile 1000 mL'ye tamamlanır.

- % 5'lik NaCl: 50 gram NaCl 1000 mL'lik bir balon joje içerisinde bir miktar saf suda çözülür ve çözelti saf suyla 1 litreye tamamlanır.

- % 20'lik KOH: 200 gram KOH kristali 1000 mL'lik bir balon joje içerisinde bir miktar saf suda çözülür ve çözelti saf suyla 1 litreye tamamlanır.

- % 60 Oranında Metilen Klorür İçeren Hekzan Çözeltisi: 75 mL hekzan ile 125 mL metilenklorür karıştırılır.

- % 1 Oranında Toluen İçeren Metilen Klorür Çözeltisi: 10 mL Metilen Klorür ile 0.1 mL Toluen bir erlen içerisinde karıştırılır.

6.3. Sistemin Çalıştırılması

NCI modülünün kullanıldığı GC/MS sistemlerine herhangi bir enjeksiyon yapılmadan önce CI yönteminin başlangıç değişkenleri manuel olarak ayarlanmalı ve sistemin doğru çalışıp çalışmadığı TUNE alınarak doğrulanmalıdır. Bu değişkenler için üretici firma tarafından verilen değerler Tablo 6.1'den görülebilir.

Tablo 6.1: CI için başlangıç ayarlama (Tune) parametreleri (Agilent Technologies, 1999)

AYIRAÇ GAZ	**METAN**		**IZOBÜTAN**		**AMONYAK**	
İyon Polaritesi	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
Emisyon	150µA	50µA	150µA	50µA	50µA	50µA
Elektron Enerjisi	150eV	150eV	150eV	150eV	150eV	150eV
Filament	1	1	1	1	1	1
Repeller	3 V	3 V	3 V	3 V	3 V	3 V
İyon Odağı	130V	130V	130V	130V	130V	130V
Giriş Lensleri (gain)	0mV/amu	0mV/amu	0mV/amu	0mV/amu	0mV/amu	0mV/amu
Giriş lensleri ofset	20V	20V	20V	20V	20V	20V
EM Volts	1200	1200	1200	1200	1200	1200
Gas Off	Off	Off	Off	Off	Off	Off
Gaz Belirleme Valfi	A	A	B	B	B	B
Önerilen Akış	% 20	% 40	% 20	% 40	% 20	% 40
Kaynak Sıcaklığı	250 C^0	150 C^0	250 C^0	150 C^0	250 C^0	150 C^0
Quad Sıcaklığı	106 C^0	106 C^0	106 C^0	106 C^0	106 C^0	106 C^0
Ara yüzey sıcaklığı	320 C^0	280 C^0	320 C^0	280 C^0	320 C^0	280 C^0
Autotune	Evet	Evet	Hayır	Evet	Hayır	Evet

GC/MS sistemleri vakum altında çalıştıkları için sistem içerisindeki gazın vent edilerek kontrollü bir şekilde kapatılması dışındaki durumlarda sürekli çalışır ve elektrik kesintileri kesintisiz güç kaynakları ile kontrol edilerek sistemin kapanması önlenir. Öte yandan sistem içerisinde kullanılan gazları bitmesi ya da iyon kaynağının temizlenme gerekliliğinin ortaya çıktığı durumlarda sistemin kapatılması gerekir. Sistem ister ilk kez açılıyor olsun ister söz konusu gerekliliklerden ötürü kapatılmış olsun çalıştırılıp vakum tuttuktan sonra mutlaka tune alınarak (ayıraç gaz

olarak metan kullanıldığı için) ayarlanmalıdır. Ancak bu işlem yapılmadan önce sistem en az 2 saat çalıştırılır. Ardından her defasında ayıraç gazın akışı "methane pre-tune" özelliği yardımıyla kontrol edilir. Akış doğrulandıktan sonra sistem önce PCI modunda, ardından NCI modunda autotune kullanılarak ayarlanır ve sistemin performansı doğrulanır. Performans için herhangi bir kriter yoktur ve tune süreçleri tamamlanırsa doğrulama gerçekleşmiş demektir.

Tune raporlarında 28/27 değerindeki büyüklük (5 ve üzeri) sistemde su ve hava olabileceğine işarettir. Yine NCI tune raporunda elde edilen EMVolts değeri 1200 alt sınır değerine ne kadar yakınsa hassasiyet açısından o kadar iyidir. Bu değer için üst sınır değer ise 3000'dir ve böylesi durumlarda sistem kapatılıp nedenleri araştırılır. Genel olarak kirli iyon kaynağının bu gibi problemlere neden olduğu düşünülmektedir ve NCI sürecinin işletimi sırasında, özellikle hassasiyetin düştüğü yüksek gürültü ve düşük N/S oranlarının gerçekleştiği durumlarda cihaz vent edilip kapatılarak iyon kaynağı temizlenir. Zaman zaman sistem içerisinde bulunan HED (High Energy Dynode) aparatının temizlenmesinin de hassasiyet konusunda iyi sonuçlar verdiği bilinmektedir. Bu nedenle çalışma sırasında, düşük hassasiyet, yüksek gürültü, düzensiz baseline gibi gerekli görüldüğü durumlarda iyon kaynağı ve HED temizlenmiş olup sistem performansı her defasında doğrulanmıştır. EK 1 Şekil 1 ve 2'de sistemin kapatılıp iyon kaynağının ve HED'in temizlenmesinden sonraki tune raporları (tune 1) ve EK 1 Şekil 3 ve 4'de bitmiş helyum tüpünün değiştirilmesi ve bu iki parçanın temizlenmesi sonucunda elde edilen tune raporları (tune 2) görülmektedir. Farklı zamanlarda alınmış bu iki tune raporunda elde edilen EMVolts değerleri NCI sürecinin işletimi için oldukça uygun değerlerdir.

6.4. CI İyon Kaynağının Temizlemesi

GCMS sistemlerinin işletimleri sırasında işletim sürecinin belirli noktalarında iyon kaynaklarının temizlenmesi ve bakıma alınması gerekir. Böyle bir bakımın gerekli olduğu zamanın gelip gelmediği GC inleti ve kolon koşulları tarafından düzeltilemeyen analit yanıtlarındaki kayıplardan, iyon kaynağı ayarlarındaki zayıf kalibrant iyon piki şekillerinden ya da repeller ve ya elektron multiplier voltajılarındaki artışlardan anlaşılabilir.

Doğru bir şekilde temizleme, montaj ve yükleme işlemleri özellikle CI iyon kaynaklarının kullanımında sistemin sağlam ve güvenilir çalışma koşullarını sağlaması açısından son derece önemlidir. Dünyanın hemen her yerinde bulunan laboratuarlarda iyon kaynaklarının temizlenmesi amacıyla kullanılan koruyucu bileşikler, sabunlar ve sert etmenlerin kullanıldığı farklı ve çok sayıda metot mevcuttur. Bu gibi bileşenler genellikle çok sınırlı kullanım aralıklarında işleyen süreçlerdir ve asla kaynağın uzun süreli performansına yönelik kullanımlarda yeterli ve başarılı olamazlar. Örneğin birçok koruyucu madde ve bazı sabunlar arka planı (background) arttırıp tepkiyi düşüren yüksek moleküler ağırlıklı vakslar içerirler. Bu gibi kimyasal etmenler kaynağın yüzey kimyası üzerinde ters etkiler yaratabilir ve yüzey aktifliğini arttırabilirler.

Bu bölümde açıklanacak olan ve Agilent tarafından önerilen iyon kaynağı temizleme prosedürünün uygulanmasına başlamadan önce temizleme esnasında kullanılacak tüm solvent, cam malzeme ve folyoların temiz ve her hangi bir kontaminasyondan uzak olması ve prosedür sırasında gerektiğinde değiştirilebilecek şekilde hazırda bulunması gerekmektedir. Ayrıca filamentler gibi tükenebilir parçalar ve repeller seramikleri gibi yedek parçaların temizleme işlemine başlamadan önce yedekte bulunduğundan emin olunmalıdır.

6.4.1. Temizleme prosedürü

İyon kaynaklarına ait tüm seramiklerin, kaynak girişi ve iyon odak lensleri yalıtkanlarının, kaynak ısıtıcı bloğunun, tüm vidaların ve filamentlerin daima aluminyum folyo gibi temiz ve pamuksuz maddeler üzerinde bekletilmesi son derece önemlidir. Parçaların dikkatli bir şekilde birbirinden ayrılmasından sonra metal olmayan parçalara her hangi bir solventle muamele kesinlikle yapılmamalıdır. Metal parçaların birbirinden ayrılması hem kolaylık hem de en ince noktalara ulaşabilmek açısından önemli bir adımdır.

İyon kaynaklarının yeşil zımpara kağıdı ile temizlenmesi geçmiş yıllarda önerilen ve sık uygulanan bir metottur. Bu uygulama Agilent 5971 ve 5972 MSD cihazları için üretici firma tarafından hala kullanılabilir bir uygulama olarak gösterilmekle birlikte

5973 ve 5975 MSD cihazlarının iyon kaynaklarının bu yolla asla temizlenmemesi belirtilmektedir. Bu gibi cihazlarda iyon kaynağının temizlenmesi için üretici firma tarafından önerilen temizleme prosedürü şu şekilde özetlenebilir:

1- Agilent tarafından enstrümental metotlarla sağlanan alumina MICROGRIT tozunun küçük bir miktarı ile deiyonize su karıştırılarak ince koyulukta bir bulamaç hazırlanır.
2- Metal bileşenlere alumina bulamıcını yaymak için ucu pamuklu temizleme çubukları kullanılır. Sürtünme ve ovma pürüzsüz ve temiz bir yüzeyin sağlanması için yeterli uzaklaştırmayı sağlayacaktır.

EI ve CI iyon kaynaklarının temizlenmesinde filament deliklerinin temizlenmesi de önemli bir husustur. Bu amaçla hem önceki basamakta söz konusu deliklere bulaşma ihtimali olan bulamıcı temizlemek hem de bu bulamaçla herhangi bir kirlenmenin uzaklaştırılmasını sağlamak için filament delikleri tahta kürdan yardımıyla temizlenir. Kaynak gövdesi, repeller ve lensler gibi kirlenmeye çok fazla eğilimi olan parçaların temizlenmesinde ciddi bir hassasiyet gösterilmesi şarttır.

3- Tüm metal parçalar alumina bileşenlerini mümkün olduğunca çok uzaklaştırılabileceği şekilde saf su ile çalkalanır.
4- Tüm çalkalanmış parçalar deiyonize su ile 5 dakika ultrasonik banyoda tutulur. Bu işlem tuzların uzaklaştırılmasını sağlar.
5- Parçalar metal cımbızla dikkatli bir şekilde alınır ve ultrasonik banyoda metanol içerisine batırılarak 5 dakika işleme tabi tutulur. Bu işlem polar etmenlerin uzaklaştırılmasını sağlar.
6- Aynı işlem bir kez de aseton ile gerçekleştirilir. Bu işlem de polar etmenlerin uzaklaştırılmasına yöneliktir.
7- Ultrasonik banyo işlemi bir kez de hekzan ile gerçekleştirilir. Bu işlem non-polar bileşiklerin uzaklaştırılmasına yöneliktir

Bu aşamalarda kullanılan tüm solventler ve özellikle hekzan yüksek saflık ve temizlikte olmalıdır.

8- Hekzan ile banyo işlemi bittikten sonra tüm parçalar metal cımbızla alınır ve temiz bir folyonun üzerine koyulur. İyon kaynağı dikkatli bir şekilde monte edilir. Filamentler kontrol edilir ve yanmış ise yenisiyle değiştirilir. Özellikle repeller seramiklerinin çatlak olup olmadığı kontrol edilir.

9- İyon kaynağı derhal MSD içerisindeki yerine yerleştirilir. Metal parçalar aseton yıkamasından sonra oldukça kuru ve hekzan yıkamasından sonra organik kirleticilerden uzaklaşmış olacağından çözücüler kolaylıkla buharlaştıkları için herhangi bir parça fırında kurutulmaz. Öte yandan kullanılan solventlerin içerisinde kirletici birikimi olacağından temiz solvent gereksinimi ortaya çıkacaktır.

Temizlenip yerine takılmış bir iyon kaynağı hiçbir zaman iyi bir vakum şartı sağlanmadan ısıtılmamalıdır. Bunun anlamı her hangi bir hava kaçağının olup olmadığını ve su miktarının düşürülmüş olduğunu kontrol etmektir. İyon kaynağını hava ya da yüksek su miktarlarının varlığında operasyon sıcaklıklarında ısıtmak kaynağı aktive edebileceği için yapılmış tüm temizleme prosedürünü boşa çıkartır. Bu anlamda en iyi uygulama; iyon kaynağı, quad ve GC alanı sıcaklıklarını (0 C^0) soğuk şekilde pump down etmek, 20 dakika kadar beklemek ve sistemin davranışını kontrol etmektir.

1. Vakum göstergesi; manifold basıncının düştüğüne işaret ediyor mu? (ya da foreline basıncı işletim değerlerine yaklaşıyor mu ?)
2. Eğer basınç iyi görünüyorsa Manuel Tune paneli açılır ve hava ile su değerleri incelenir. Azot 25,000 değerinin altına düşüyorsa sistem hava kaçırmamaktadır. Su değerleri çok daha yavaş düşecektir ve sistemin ısınması gerekir.
3. Hava ve su değerleri doğrulandıktan sonra analitik metot yüklenir.

Sistemin işletilmesi için yukarıdaki prosedürün kullanım amacı herhangi bir kaçak durumunda hala soğuk olan sistemin ısınmadan önce problem yaratmasını önlemektir (Agilent Technologies, 1999). Sözü edilen prosedüre uygun bir şekilde temizlenen iyon kaynağının bu aşamalardan bazılarındaki görüntüsü Şekil 6.2'de görülmektedir.



Şekil 6.2: İyon kaynağının temizlenmesi

6.5. PCDD/F Analizi İçin Uygun Metodun Geliştirilmesi

Sistemin performans doğrulamasının ardından, yapılacak PCDD/F analizlerinde 17 dioksin konjenerini en iyi şekilde ayırmak ve tanımlamak için gerekli olan analitik metot belirlenmeye çalışılmıştır. Bunun için sisteme U.S. EPA Metot 8290 Matrix Spiking Solution EDF 5008 etiketsiz standart çözeltisi enjekte edilerek sistemin 17 PCDD/F konjenerine verdiği tepkiler gözlemlenmiştir. Söz konusu standardın içinde bulunan konjenerler ve miktarları Tablo 6.2'de sunulmuştur.

Tablo 6.2: U.S. EPA Metot 8290 Matrix Spiking Solution EDF 5008 etiketsiz standart çözeltisinde bulunan konjenerlerin molekül ağırlıkları ve konsantrasyonları

KONJENER	**MOLEKÜL AĞIRLIĞI (gr / mol)**	**EDF 5008 STANDART ÇÖZELTİ KONSANTRASYONU (pg/µL)**
2,3,7,8 TCDD	321,97	100
2,3,7,8 TCDF	305,97	100
1,2,3,7,8 PeCDD	356,42	250
1,2,3,7,8 PeCDF	340,42	250
2,3,4,7,8 PeCDF	340,42	250
1,2,3,4,7,8 HxCDD/ 1,2,3,6,7,8 HxCDD[a]	390,86 390,86	500
1,2,3,4,7,8 HxCDF/ 1,2,3,6,7,8 HxCDF[a]	374,86 374,86	500
1,2,3,7,8,9 HxCDD	390,86	250
1,2,3,7,8,9 HxCDF	374,86	250
2,3,4,6,7,8 HxCDF	374,86	250
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	425,31	250
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	409,31	250
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	409,31	250
OCDD	459,75	500
OCDF	443,75	500

[a] : Konsantrasyon her iki bileşenin toplamını ifade etmektedir.

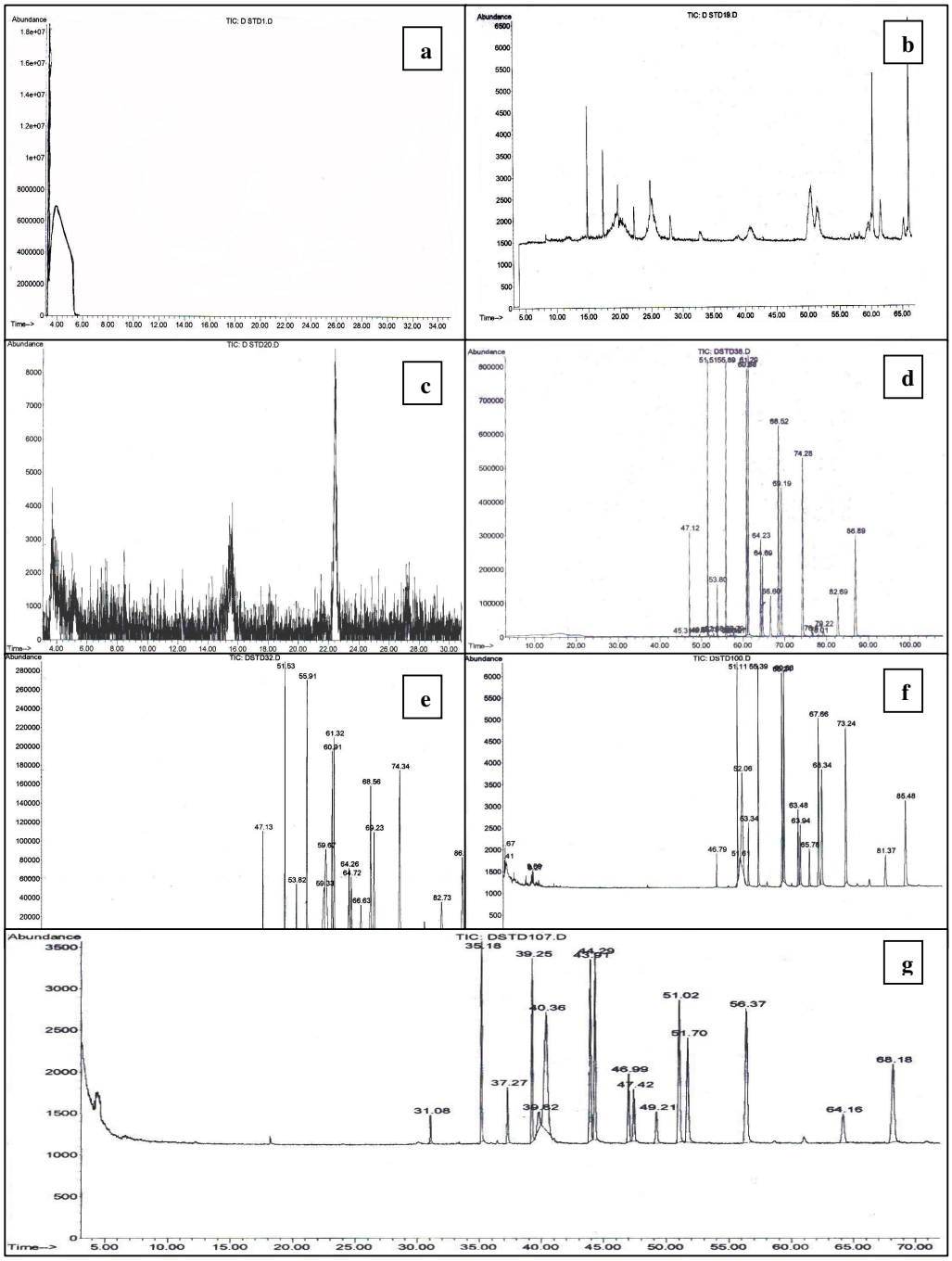
Metot geliştirme çalışmaları sırasında 7 farklı metot denenmiş olup her defasında, dedektörün PCDD/F konjenerlerine yönelik verdiği tepki üzerinde etkili olduğu bilinen ara yüzey sıcaklığı, quadropole sıcaklığı, iyon kaynağı sıcaklığı ve fırın programı gibi değişkenler üzerinde değişiklikler yapılarak en uygun metot bulunmaya çalışılmıştır. Bu değişiklikler yapılırken, literatürde benzer çalışmalarda kullanılan değerler de göz önünde bulundurulmuştur. Söz konusu 7 metot için uygulanan parametreler Tablo 6.3'de özetlenmiştir.

Tablo 6.3: Konjenerlerin tanımlanabilmesi için geliştirilen metotlar

Metot Numarası	İyonizasyon Yöntemi	GC-MS Arayüz Sıcaklığı (°C)	Quadropole Sıcaklığı(°C)	İyon Kaynağı Sıcaklığı (°C)	Tarama Modu	Fırın Sıcaklık Programı
1	Pozitif Kimyasal İyonizasyon (PCI)	320	150	250	Scan	**Başlangıç sıcaklığı :**200°C (2 dakika), **1. sıcaklık artışı :**200°C-220°C'ye 5°C/dakika hızla (16 dakika), **2. sıcaklık artışı :** 220°C-250°C'ye 5°C/dakika hızla (7 dakika), **Toplam tanımlama süresi :** 35 dakika. (EPA METOT 8290'A GÖRE DÜZENLENMİŞTİR)
2	Negatif Kimyasal İyonizasyon (NCI)	280	150	150	Scan	**Başlangıç sıcaklığı :**80°C (2 dakika) **1. sıcaklık artışı :**80°C-180°C'ye 10°C/dakika hızla (2 dakika), **2. sıcaklık artışı :** 180°C-200°C'ye 10°C/dakika hızla (2 dakika), **3. sıcaklık artışı :** 200°C-220°C'ye 5°C/dakika hızla (16 dakika), **4. sıcaklık artışı :** 220°C-235°C'ye 5°C/dakika hızla (7 dakika), **5. sıcaklık artışı :** 235°C-270°C'ye 5°C/dakika hızla (10 dakika), **Toplam tanımlama süresi:** 65 dakika
3	NCI	280	150	150	Scan	**Başlangıç sıcaklığı :**140°C (2 dakika), **1. sıcaklık artışı :**140°C-200°C'ye 40°C/dakika hızla (2 dakika), **2. sıcaklık artışı :** 200°C-270°C'ye 3°C/dakika hızla (2 dakika), **Toplam tanımlama süresi :** 31 dakika
4	NCI	280	150	150	Scan	**Başlangıç sıcaklığı**:140°C (2 dakika), **1. sıcaklık artışı**:140°C-180°C'ye 5°C/dakika hızla (2 dakika), **2. sıcaklık artışı: 1**80°C-270°C'ye 2,5°C/dakika hızla (60 dakika) **Toplam tanımlama süresi** : 108 dakika
5	NCI	280	150	150	SIM	**Başlangıç sıcaklığı**:140°C (2 dakika), **1. sıcaklık artışı**:140°C-180°C'ye 5°C/dakika hızla (2 dakika), **2. sıcaklık artışı: 1**80°C-270°C'ye 2,5°C/dakika hızla (40 dakika) **Toplam tanımlama süresi** : 88 dakika
6	NCI	280	106	150	SIM	**Başlangıç sıcaklığı**:140°C (2 dakika), **1. sıcaklık artışı**:140°C-180°C'ye 5°C/dakika hızla (2 dakika), **2. sıcaklık artışı: 1**80°C-270°C'ye 2,5°C/dakika hızla (45 dakika) **Toplam tanımlama süresi** : 93 dakika
7	NCI	280	106	150	SIM	**Başlangıç sıcaklığı**:180°C (2 dakika), **1. sıcaklık artışı**:180°C-220°C'ye 5°C/dakika hızla (2 dakika), **2. sıcaklık artışı:** 220°C-270°C'ye 2,5°C/dakika hızla (40 dakika) **Toplam tanımlama süresi** : 72 dakika

PCDD/F'lerin GC/MS NCI yöntemiyle tanımlanmasında kullanılacak en uygun yöntemin belirlenmesi amacıyla denenen 7 metot ile elde edilen kromotogram örnekleri Şekil 6.3'de verilmiştir. Metot denemelerinde konjener tutulma zamanlarının doğru olarak belirlenmesi için tarama seçeneği olarak öncelikle SCAN modu, zamanların belirlenmesinden sonra ise seçilen kütle numarasına göre tarama yapabilen SIM (Selective Ion Monitoring) modu kullanılmıştır. Metot 1'de elde edilen kromotogramda (Şekil 6.3 - a) toplam tanımlama süresinin ilk 6 dakikasında geniş bir pik görülmüş daha sonra hiçbir pik elde edilememiştir. Dolayısıyla metot başlangıç sıcaklığının çok yüksek olabileceği düşünülerek, ilk başlangıç sıcaklığı daha düşük olan Metot 2 denenmiştir. Bu metotta ayrıca sıcaklık aralıkları düşük tutularak doğru sıcaklık artış oranları belirlenmeye çalışılmıştır. Metot 2'de elde edilen kromotogramda (Şekil 6.3 - b) ilk pik tanımlanma süresinin 15. dakikasında elde edilmiş, dolayısıyla başlangıç sıcaklığının 180^{o} civarında olacağı düşünülmüştür. Ayrıca bu kromotograma göre işletim sürecinin son anlarında bile pik görülmüştür. Bu bakımdan metodun son sıcaklığında bekleme süresinin daha uzun olması gerektiği düşünülmüştür. Buna dayanarak geliştirilen Metot 3'te başlangıç sıcaklığı, kayıp olmaması için 140^{o} C olarak belirlenmiştir. Ancak bu metotta ilk sıcaklık artışı çok hızlı ve artışlar sonunda bekleme süreleri çok az olduğundan tanımlanamaz bir kromotogram (Şekil 6.3 - c) elde edilmiştir. Metot 4'de başlangıç sıcaklığı 140^{o}C olarak belirlenmiş ve son sıcaklıkta bekleme süresi uzatılarak 60 dakika olarak belirlenmiştir. Burada elde edilen kromotogramda (Şekil 6.3 - d) 14 adet konjenere ait pikler gözlemlenebilmiştir. Dolayısıyla Metot 5'te 17 adet konjenerin molekül ağırlıkları tek tek tanımlanarak SIM modunda çalışılmıştır. Metot 4'te elde edilen kromotogramda son pik 86. dakikada elde edildiğinden dolayı son sıcaklıkta bekleme süresi kısaltılmıştır. Metot 5'te elde edilen kromotogramda (Şekil 6.3 - e), NCI metodunun tepkisinin çok zayıf olduğu literatür verilerinden bilinen 2,3,7,8 TCDD konjeneri haricindeki 16 adet konjenere ait tüm pikler gözlemlenebilmiştir. Burada elde edilen sıcaklıkların uygun olduğu düşünülerek metot hassasiyetin artırılmasına çalışılmıştır. Metot 6'da sıcaklıklar aynı tutulmuş ancak metot değişkeni olarak quadropole sıcaklığı seçilerek 150^{o}C'den 106^{o}C'ye düşürülmüştür. Bu kromotogramda da (Şekil 6.3 - f) 16 adet konjener gözlemlenebilmiştir. Son olarak işletim süresinin çalışmacılar için önemli olduğu düşünülerek daha kısa süreli son bir metot tanımlanmıştır. Metot 6'da elde edilen

kromotogramda konjenerlere ait ilk pik 46. dakikada görüldüğünden Metot 7'de başlangıç sıcaklığı 180^{o}C olarak belirlenmiştir. Bu kromotogramda da 16 konjenere ait tüm pikler gözlemlenmiştir. Analiz çalışmalarında kullanılmasına karar verilen bu metodun tüm parametrelerini içeren bir metot çıktısı EK 2'de sunulmuştur.



Şekil 6.3: Konjenerlerin tanımlanabilmesi için geliştirilen metotların kromatogramları

Tablo 6.4'de Metot 7 kullanarak elde edilmiş alıkonma zamanları ve pik sırası sunulmaktadır. Burada sunulan veriler en son elde edilen değerler olup özellikle alıkonma zamanlarında çalışmanın başından bu yana bazı sapmalar olmuştur. Bu sapmanın ana nedeni kullanılan kolonun boyundaki kısalmalardır. Sistemin kullanımı sırasında gerçekleşen arızalar, iyon kaynağının temizlenmesi ve biten tüplerin değiştirilmesi gibi bazı durumlarda sistem kapatılarak bakım işlemleri uygulanmıştır. Bu işlemler sırasında gerekli görüldüğü durumlarda kullanılan kolon üzerine takılı nut ve ferrrule gibi parçaların değiştirilmesi sırasında kolon, özel seramik kesici yardımıyla her defasında bir miktar kısaltılmıştır. Bu kısalma kalibrasyon çalışmaları arasında elde edilen farklı alıkonma zamanlarının en önemli sebebidir. Kolonda her hangi bir kısaltma işlemi uygulanmadan önce 17 PCDD/F konjeneri için EDF 5008 standardı ile elde edilen bir kromatogram örneği ve raporu (percent report) EK 3'de sunulmuştur.

Tablo 6.4: Metot 7'de elde edilen piklere ait alıkonma zamanları ve PCDD/F konjenerleri

PİK NUMARASI	**ALIKONMA ZAMANI (Retention Time)**	**KONJENER**
1	30,245	2,3,7,8 TCDF
2	33,390	OCDD
3	34,161	1,2,3,7,8 PeCDF
4	35,062	OCDF
5	36,110	1,2,3,7,8 PeCDD
6	37,968	2,3,4,7,8 PeCDF
7	42,289	1,2,3,4,7,8 HxCDF
8	42,657	1,2,3,6,7,8 HxCDF
9	45,121	1,2,3,4,7,8 HxCDD
10	45,525	1,2,3,6,7,8 HxCDD
11	47,217	1,2,3,7,8,9 HxCDD
12	48,909	2,3,4,6,7,8 HxCDF
13	49,552	1,2,3,7,8,9 HxCDF
14	53,818	1,2,3,4,6,7,8 HpCDF
15	60,953	1,2,3,4,6,7,8 HpCDD
16	64,704	1,2,3,4,7,8,9 HpCDF

6.6. Pik Çözünürlüklerinin Doğrulanması

Çalışmanın bu bölümünde kromatogramlarda elde edilen 16 PCDD/F konjenerinin verimli bir biçimde birbirilerinden ayrılabildiğini doğrulamak için, 1/20 oranında seyreltilen EDF 5008 standart çözeltisi sisteme enjekte edilmiş ve piklerin durumu incelenmiştir. Bu incelemede; SIM modunda elde edilen kromatogram üzerinde tetra, penta, hegza, hepta ve okta homolog gruplarına ait kütle numaraları sistemin "Extract Ion Chromatograms" seçeneğine girilerek her bir homolog grubu için ayrı ayrı çıktılar alınmıştır ve bu çıktılar EK 4'de görülmektedir. Bu çıktılar üzerinde yapılan inceleme sonrasında birbrilerine yapışık olarak tanımlanan pikler saptanmıştır ve bu pikler üzerinde, pek çok çalışmacı tarafından önerilen % 10'luk ayrılma kuralı uygulanmıştır. Bu kurala göre bitişik olarak gözlemlenen piklerin tepe noktasından tabana olan yüksekliğin, bu iki pikin birleşme noktasından tabana olan yükseklikten en az 10 kat büyük olması gerekmektedir.

İncelemenin gerçekleştirildiği kromatogramda OCDD/OCDF pikleri dışındaki tüm pikler en yakınlarındaki pik ile herhangi bir temasda bulunmamaktadır. OCDD ve OCDF pikleri için yapılan ölçümde küçük yüksekliğe sahip olan OCDD pikinin kromatogram üzerindeki yüksekliği 25 mm olup, iki pikin birleşme noktası ile taban çizgisi arasındaki yükseklik 2 mm'dir. Bu iki değer arasındaki oran 12,5 olup % 10 değerini sağlamaktadır.

6.7. Kalibrasyon Çalışmaları

Her hangi bir numune tipinin PCDD/F konjener seviyelerinin GC/MS yöntemi ile saptanması sırasında, analizin doğruluk ve güvenilirliğinin ölçülmesi amacıyla çeşitli periyot aralıklarında kalibrasyon çalışmaları gerçekleştirilir. Bu amaçla; çalışmada kullanılan sistemin çeşitli periyotlar ve değişen şartlarda 17 PCDD/F konjenerine verdiği tepkilerin ne şekilde değiştiğinin ve doğrusallığının hangi durumda olduğunun saptanması amacıyla kalibrasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen bu çalışmalardan sadece 3 tanesi bu tez kapsamında değerlendirilmiş olup bunlar 6 aylık eşit periyotlarla gerçekleştirilmiş kalibrasyon çalışmalarıdır. Söz konusu 3 kalibrasyon çalışması için de aynı metot (Metot 7) kullanılmıştır. İlk

kalibrasyon çalışmasının ardından sistem gerekli görüldüğü zamanlarda kapatılıp temizlenmiş olup (iyon kaynağı temizliği, bakım vs.) 2. kalibrasyon öncesi bir kez daha temizlenmiş ve taşıyıcı gaz (helyum) tüpü yenilenmiştir. Bu uygulama 2. ve 3. kalibrasyon çalışmaları arasında da aynı şekilde uygulanmış olup 3. kalibrasyon çalışmasından da hemen önce helyum tüpü değiştirilmiştir. Bu çalışma periyodunda yapılan bakım ve temizleme çalışmaları sırasında kromatografi kolonunda zaman zaman kısaltma işlemi (nut, ferrule değişimi için) gerçekleştirildiği için, pik alıkonma zamanlarında bazı kaymaların olması beklenen bir sonuçtur.

Kalibrasyon çalışmalarının tümünde Tablo 6.2'de içeriği sunulmuş olan ve 17 PCDD/F konjenerinin tamamını içeren EDF 5008 etiketsiz standart çözeltisi kullanılmıştır. Yine çalışmada yapılan tüm enjeksiyonlar EPA tarafından numune ve standart enjeksiyonları için önerilen miktar olan 2 µL enjeksiyon hacmi olarak kullanılmış ve bu şekilde sabitlenmiştir. Tablo 6.2'deki değerler ile 1/1 oranını temsil eden EDF 5008 standart çözeltisi nonan içerisinde, farklı seyreltme oranlarında seyreltilmiş ve sisteme enjekte edilmiştir.

Çalışmanın ilerleyen bölümlerinde yer verilecek bağıl alıkonma zamanları (RRT) ve bağıl tepki faktörlerinin (RRF) değerlendirilmesi çalışmalarında sadece 2 numaralı kalibrasyon çalışması (pilot) kullanılmış olup bu kalibrasyonun detaylı sonuçları bu bölümde sunulacaktır. 1 ve 3 numaralı kalibrasyon çalışmaları ise 2 numaralı kalibrasyon çalışması öncesinde ve sonrasında değişen koşullara karşı sistemin değişimini görmek amacıyla ortak bir değerlendirme yapmak için kullanılmıştır.

2 numaralı kalibrasyon çalışmasında EDF 5008 standart çözeltisi nonan içerisinde 1/200, 1/100, 1/50 ve 1/20 oranlarında seyreltilmiş olup her bir seyreltme oranı için elde edilen standartlar 3'er kez arka arkaya sisteme enjekte edildikten sonra diğer seyreltme oranının enjeksiyonuna geçilmiştir. Her bir enjeksiyonun ardından, enjeksiyonda kullanılan şırınga aseton ile yıkanmıştır. Enjeksiyonlardan elde edilen pik alanları her bir konjener için ayrı ayrı saptandıktan sonra her bir seyreltme oranı için elde edilen pik oranlarının geometrik ortalaması alınarak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Bu enjeksyonlardan elde edilen sonuçlar ve geometrik ortalamaları Tablo 6.5'de sunulmuş olup enjeksiyonların detaylı sonuçları EK 5'de verilmiştir.

Tablo 6.5: 2 numaralı kalibrasyon için yapılan enjeksiyonlar sonucu elde edilen pik alanları ve geometrik ortalamaları

KONJENER	1/200			G.O.	1/100			G.O.	1/50			G.O.	1/20			G.O.
2,3,7,8 TCDF	44796	36995	33265	38059	46151	57086	67980	56368	165194	153615	127815	148026	254115	232660	265797	250477
OCDD	53529	43952	62345	52738	175170	142563	213432	174680	461721	730801	332111	482119	979576	1234121	786577	983360
1,2,3,7,8 PeCDF	493283	355546	349334	394225	434345	584603	808630	589950	1724550	1581508	1384914	1557364	2547305	3310769	2740644	2848530
OCDF	231500	223028	213444	222535	307902	452035	765432	474057	1874309	3170563	1345343	1999571	3712218	4169861	3234565	3685731
1,2,3,7,8 PeCDD	110700	95609	87323	97407	113408	155481	200489	152336	488028	452693	405884	447593	737258	735142	882292	781990
2,3,4,7,8 PeCDF	526804	386720	374912	424286	466361	618468	760238	603017	1825463	1652439	1421974	1624788	2764619	2627440	2887494	2757802
1,2,3,4,7,8 HxCDF	581656	438517	416914	473769	488572	698705	882757	670432	2126918	1929524	1670486	1899684	3257790	3149821	3466806	3288866
1,2,3,6,7,8 HxCDF	646465	460712	443820	509402	514243	748749	974791	721338	2273825	2114500	1825582	2062792	3537838	3484003	3843469	3618373
1,2,3,4,7,8 HxCDD	205327	162071	146018	169376	168318	259652	328892	243141	802053	749579	655816	733276	1289134	1235796	1380905	1300577
1,2,3,6,7,8 HxCDD	148937	119219	102568	122120	118726	200767	248149	180849	617121	583505	502165	565484	1004093	956638	1080239	1012388
1,2,3,7,8,9 HxCDD	88947	76657	68383	77543	66359	113188	150447	104158	368116	331850	302551	333100	601510	576261	654237	609816
2,3,4,6,7,8 HxCDF	540827	424941	396576	450026	422157	651571	850521	616179	2040384	1845579	1615133	1825370	3204166	3069502	3362039	3209681
1,2,3,7,8,9 HxCDF	248273	278255	259573	261744	284458	446620	569846	416778	1432790	1276328	1111345	1266673	2231381	2147043	2448429	2272134
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	498179	408047	391893	430283	318901	632504	883797	562804	2252269	1998661	1759061	1993181	3606474	3613008	3994324	3733633
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	75914	67952	59554	67475	45851	105203	139054	87536	353385	329325	300815	327133	652429	640855	718641	669784
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	273183	242863	219107	244057	179750	372303	512731	324951	1292893	1149420	1061136	1163958	2279204	2275112	2498510	2348672

1 ve 3 numalı kalibrasyon çalışmalarında, 2 numaralı çalışmadan farklı olarak 1/200, 1/100, 1/80, 1/40 ve 1/20 olmak üzere 5 farklı seyreltme oranı kullanılmıştır. 1 ve 2 numaralı kalibrasyonlarda aynı enjeksiyon mantığı kullanılırken, 3 numaralı kalibrasyonda 5 seyreltme oranı sırasıyla birer kez enjekte edilip tüm seyreltme oranları arka arkaya kullanıldıktan sonra bu işlem 2 kez daha tekrarlanmıştır. Üç kalibrasyonda her bir konjener için elde edilen ortalama pik alanları kullanılarak, pik alanlarına karşı her bir konjenerin ilgili seyreltme oranına karşılık gelen konsantrasyonu pg cinsinden grafiğe aktarılmış ve orijinden geçen doğrusal kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir. Bu 3 kalibrasyon çalışmasında PCDD/F konjenerleri için elde edilen kalibrasyon eğrilerinin denklemleri ve R^2 değerleri Tablo 6.6'da sunulmuş olup bu kalibrasyon eğrilerinin şematik gösterimi EK 6'de görülebilmektedir.

Tablo 6.6: Kalibrasyon çalışmalarından elde edilen eğri denklemleri ve eğrilerin R^2 değerleri

KONJENERLER	**KALİBRASYONLAR**					
	1. Kalibrasyon		**2. Kalibrasyon**		**3. Kalibrasyon**	
	Eğri Denklemi	**R^2**	**Eğri Denklemi**	**R^2**	**Eğri Denklemi**	**R^2**
2,3,7,8 TCDF	y = 8273x	0.9960	y = 26840x	0.9261	y = 6380.9x	0.9851
OCDD	y = 3783.8x	0.8069	y = 20106x	0.9809	y = 2376.3x	0.9821
1,2,3,7,8 PeCDF	y = 25188x	0.9974	y=119963x	0.9578	y = 24538x	0.9938
OCDF	y = 28234x	0.9986	y = 76076x	0.9545	y = 13644x	0.9859
1,2,3,7,8 PeCDD	y = 7716.1x	0.9923	y = 33099x	0.9460	y = 6580.6x	0.9839
2,3,4,7,8 PeCDF	y = 26440x	0.9854	y=118041x	0.9275	y = 26819x	0.9871
1,2,3,4,7,8 HxCDF	y = 70273x	0.9987	y=139841x	0.9388	y = 28991x	0.9886
1,2,3,6,7,8 HxCDF	y = 70273x	0.9987	y=153345x	0.9443	y = 31221x	0.9886
1,2,3,4,7,8 HxCDD	y = 23436x	0.9885	y = 54858x	0.9499	y = 9723.9x	0.9887
1,2,3,6,7,8 HxCDD	y = 23436x	0.9885	y = 42544x	0.9537	y = 7830.2x	0.9877
1,2,3,7,8,9 HxCDD	y = 6897.2x	0.9926	y = 25509x	0.9586	y = 4801.2x	0.9910
2,3,4,6,7,8 HxCDF	y = 34386x	0.9949	y=135804x	0.9452	y = 28409x	0.9896
1,2,3,7,8,9 HxCDF	y = 25585x	0.9960	y = 95482x	0.9553	y = 20030x	0.9911
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	y = 37872x	0.9960	y=154925x	0.9631	y = 28505x	0.9904
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	y = 8206.6x	0.9838	y = 27269x	0.9768	y = 4764.7x	0.9873
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	y = 27554x	0.9939	y = 95988x	0.9762	y = 18384x	0.9903

6.8. Konjenerlere Ait Ölçüm Limitlerinin Saptanması

Her bir kalibrasyon çalışması sonunda, o kalibrasyona ait bir ölçüm limiti çalışması yürütülmüştür. Burada; kalibrasyon için kullanılan en küçük seyreltme oranına sahip standart çözeltiden daha düşük seyreltme oranlarına sahip standart çözeltiler hazırlanarak, her bir konjener için sistemin gözlemleyebildiği en küçük konsantrasyon seviyesine kadar inilmiştir. En düşük seviyedeki pikin sistem tarafından güvenilir bir şekilde ölçülebildiğinden emin olmak için o pike ait S/N oranının en az 3 olma koşulu, sistem yazılımında mevcut bulunan Tools menüsü altındaki S/N oranı hesaplama seçeneği (Signal to Noise Check) kullanarak denetlenmiştir. Literatürde önerilen değer olan 3 oranının altında S/N değeri veren pikler geçersiz sayılmıştır. 3'e çok yakın değerler veren pikler için ise daha düşük bir seyreltme oranı kullanılmaya gerek duyulmamış olup, söz konusu konjener için ölçüm limiti bu değer olarak belirlenmiştir.

2 numaralı kalibrasyon için yürütülen çalışmada, 1/200 seyreltme oranına sahip standart çözeltiden sırasıyla 1/2500, 1/5000, 1/10000 ve 1/40000 seyletme oranlarına sahip standart çözeltiler hazırlanarak büyükten küçüğe doğru azaltmak suretiyle enjeksiyonlar yapılmıştır. Burada elde edilen sonuçlar Tablo 6.7'de sunulmuştur.

Tablo 6.7: Ölçüm limitlerinin saptanması için yapılan enjeksiyonlardan elde edilen sonuçlar

Pik No	KONJENER	SEYRELTME ORANLARI							
		1/40000		1/10000		1/5000		1/2500	
		G	Alan	G	Alan	G	Alan	G	Alan
1	2,3,7,8 TCDF	ND	ND	+	671	+	787	+	1671
2	OCDD	ND	ND	+	358	+	1230	+	2831
3	1,2,3,7,8 PeCDF	+	2293	+	7125	+	10987	+	14621
4	OCDF	ND	ND	+	4607	+	9334	+	15599
5	1,2,3,7,8 PeCDD	ND	ND	+	2193	+	2569	+	3855
6	2,3,4,7,8 PeCDF	+	2120	+	6513	+	11480	+	15424
7	1,2,3,4,7,8 HxCDF	+	2313	+	7230	+	11923	+	16303
8	1,2,3,6,7,8 HxCDF	+	3151	+	7507	+	12426	+	18925
9	1,2,3,4,7,8 HxCDD	+	763	+	2955	+	4725	+	6508
10	1,2,3,6,7,8 HxCDD	ND	ND	+	2670	+	4306	+	5654
11	1,2,3,7,8,9 HxCDD	ND	ND	+	1490	+	1511	+	3885
12	2,3,4,6,7,8 HxCDF	+	2147	+	6331	+	10792	+	16588
13	1,2,3,7,8,9 HxCDF	ND	ND	+	4133	+	7743	+	12721
14	1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	+	2161	+	7422	+	10144	+	16914
15	1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	ND	ND	+	1586	+	3100	+	7030
16	1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	ND	ND	+	5075	+	8026	+	15600

* G : Gözlemlenebilirlik
** ND : Enjeksiyon Sonunda Kromatogramda Gözlemlenemeyen Pik
*** + : Enjeksiyon Sonunda Kromatogramda Gözlemlenebilen Pik

Sonuçları yukarıda verilen ölçüm limiti çalışması sırasında en düşük seyreltme oranı olan 1/40000'de gözlemlenebilen konjenerler için sağlanan S/N değerleri 3 değerine oldukça yakın olduğundan daha düşük seviyedeki standartların enjeksiyonuna ihtiyaç duyulmamıştır. Bu seyreltme oranında, sistemin giriş eşik değeri 4,5 olup, yapılan gözlemlere göre bu değer sistemdeki gürültü seviyesinin, bu kalibrasyon çalışmasının yapıldığı dönem için 3'ün üzerindeki S/N oranlarına sahip piklerin gözlemlenmesine izin veren en düşük değer olduğu saptanmıştır. Bu nedenle daha düşük initial treshold değerlerinin S/N oranlarını 3'ün altına çekeceği düşünülmüş ve seyreltme işlemi durdurulmuştur. 2 numaralı kalibrasyon çalışmasında sağlanan ve Tablo 6.7'de görülen en düşük pik gözlemlenebilirlikleri değerlendirilerek elde edilen ölçüm limitleri ve bir önceki kalibrasyonda (1 numaralı kalibrasyon) elde edilen ölçüm limitleri Tablo 6.8'de bir arada sunulmuştur.

Tablo 6.8: 1 ve 2 numaralı kalibrasyon çalışmaları için elde edilen ölçüm limiti değerleri

KONJENER	**Standart Çözelti İçerisindeki Konsantrasyonlar (pg/µL)**	**Gözlemlenebilen En Küçük Seyreltme Oranı**	**Ölçüm Limiti (pg)**	**1 Numaralı Kalibrasyon Çalışması İçin Ölçüm Limiti (pg)**
2,3,7,8 TCDF	100	1/10000	0,02	0,25
OCDD	500	1/10000	0,1	20
1,2,3,7,8 PeCDF	250	1/40000	0,0125	0.0860
OCDF	500	1/10000	0,1	20
1,2,3,7,8 PeCDD	250	1/10000	0,05	0.26
2,3,4,7,8 PeCDF	250	1/40000	0,0125	0.092
1,2,3,4,7,8 HxCDF	250	1/40000	0,0125	0.082
1,2,3,6,7,8 HxCDF	250	1/40000	0,0125	0.088
1,2,3,4,7,8 HxCDD	250	1/40000	0,0125	0.268
1,2,3,6,7,8 HxCDD	250	1/10000	0,05	0.338
1,2,3,7,8,9 HxCDD	250	1/10000	0,05	0.50
2,3,4,6,7,8 HxCDF	250	1/40000	0,0125	0.104
1,2,3,7,8,9 HxCDF	250	1/10000	0,05	0.156
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	250	1/40000	0,0125	0.108
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	250	1/10000	0,05	0.96
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	250	1/10000	0,05	0.192

Bu ölçüm limiti çalışması sırasında her bir pik için sistemin yazılımı aracılığı ile S/N oranlarının kontrolü ayrı ayrı yapılmıştır. Elde edilen tüm çıktılar çok fazla yer teşkil edeceğinden çalışmada sadece bazı piklerin raporları sunulacaktır. Bu amaçla; kromatogramda ilk gözlemlenen pik olan 2,3,7,8 TCDF, son gözlemlenen pik olan 1,2,3,4,7,8,9 HpCDF ve dioksin konjenerleri için bir örnek teşkil etmesi açısından 1,2,3,4,7,8 HxCDD konjenerlerine ait S/N raporları EK 7'de sunulmuştur.

6.9. Konjenerlere Ait Bağıl Alıkonma Zamanlarının (RRT) Saptanması

Sistemde kullanılmakta olan DB-DIOXIN kolonunun uygulama sırasında 17 PCDD/F konjenerini alıkoyma zamanlarındaki (RT) sapmaları gözlemlemek için her bir kalibrasyon çalışması sırasında yapılan tüm enjeksiyonlar sonucunda elde edilen alıkonma zamanlarının, söz konusu enjeksiyonun kendi içerisindeki alıkonma zamanlarına bağlı olarak bir değerlendirilmesi yapılmıştır. Bunun için; her bir konjenerin ilgili enjeksiyon sırasındaki alıkonma zamanının, kromatogramda ilk gözlemlenen pik olan 2,3,7,8 TCDF konjenerinin ilgili enjeksiyondaki alıkonma zamanına oranlanması ile o konjenerin söz konusu enjeksiyona ait RRT değeri elde edilmiştir. Buna göre 2,3,7,8 TCDF konjenerinin RRT değeri her defasında 1 olarak kabul edilmiş olup RRT değerinin saptanmasında aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır.

$$RRT_i = RT_i / RT_{2,3,7,8\ TCDF} \qquad (6.1)$$

Burada;

RRT_i : i. Konjenerin Bağıl Alıkonma Zamanı

RT_i : i. Konjenerin Alıkonma Zamanı

$RT_{2,3,7,8\ TCDF}$: 2,3,7,8 TCDF Konjenerinin Alıkonma Zamanı şeklindedir.

Her bir konjener için enjeksiyon bazında RRT değerleri hesaplandıktan sonra, bu değerlerin aynı seyreltme oranlarında yapılan 3 enjeksiyon ve farklı seyreltme oranlarındaki enjeksiyonlarda elde edilen diğer değerlerle karşılaştırılması adına tüm enjeksiyonlar için RRT değerleri ayrı ayrı hesaplanmıştır. Hesaplanan RRT değerlerinin ortak bir standart sapması her bir konjener için hem alıkonma zamanı (RT) bazında hem de bu alıkonma zamanının söz konusu enjeksiyondaki bağıl değeri (RRT) bazında tüm enjeksiyonlar bir arada değerlendirilerek hesaplanmıştır. Pilot kalibrasyon çalışması olarak belirlediğimiz 2 numaralı kalibrasyonda yapılan 1/200, 1/100, 1/50 ve 1/20 seyreltme oranları için, her bir seyreltme oranı içerisinde arka arkaya yapılan 3'er enjeksiyonda elde edilen RT, RRT ve bu değerlerin standart sapmaları Tablo 6.9'da, 3 numaralı kalibrasyon çalışması için elde edilen söz konusu değerler ise EK 8'de görülebilmetedir.

Tablo 6.9: 2 Numaralı (pilot) kalibrasyon çalışması için yapılan enjeksiyonlardan elde edilen bağıl alıkonma zamanları

KONJENER	SEYRELTME ORANLARI																								SD (RT)	SD (RRT)
	1/200						1/100						1/50						1/20							
	1. Enjeksiyon		2. Enjeksiyon		3. Enjeksiyon		1. Enjeksiyon		2. Enjeksiyon		3. Enjeksiyon		1. Enjeksiyon		2. Enjeksiyon		3. Enjeksiyon		1. Enjeksiyon		2. Enjeksiyon		3. Enjeksiyon			
	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT		
2,3,7,8 TCDF	30.263	1,00	30.245	1,00	30.208	1,00	30.208	1,00	30.226	1,00	30.245	1,00	30.318	1,00	30.281	1,00	30.281	1,00	30.263	1,00	30.281	1,00	30.300	1,00	00.035	0,000
OCDD	33.897	1,12	33.925	1,12	33.925	1,12	33.987	1,13	33.987	1,12	33.987	1,12	33.812	1,12	33.954	1,12	33.954	1,12	34.566	1,14	34.566	1,14	34.566	1,14	00.289	0,009
1,2,3,7,8 PeCDF	34.180	1,13	34.161	1,13	34.124	1,13	34.106	1,13	34.143	1,13	34.180	1,13	34.253	1,13	34.216	1,13	34.217	1,13	34.198	1,13	34.216	1,13	34.235	1,13	00.045	0,000
OCDF	34.915	1,15	34.926	1,15	34.926	1,16	34.897	1,16	34.989	1,16	34.989	1,16	35.430	1,17	35.283	1,17	35.283	1,17	35.117	1,14	35.356	1,16	35.356	1,17	00.246	0,007
1,2,3,7,8 PeCDD	36.147	1,19	36.129	1,19	36.092	1,19	36.055	1,19	36.110	1,19	36.129	1,19	36.221	1,19	36.166	1,19	36.184	1,19	36.166	1,20	36.166	1,19	36.202	1,19	00.047	0,000
2,3,4,7,8 PeCDF	38.004	1,26	37.968	1,26	37.931	1,26	37.912	1,26	37.963	1,26	37.986	1,26	38.096	1,26	38.041	1,26	38.041	1,26	38.023	1,26	38.041	1,26	38.078	1,26	00.057	0,000
1,2,3,4,7,8 HxCDF	42.326	1,40	42.289	1,40	42.252	1,40	42.215	1,40	42.270	1,40	42.307	1,40	42.454	1,40	42.362	1,40	42.381	1,40	42.344	1,40	42.381	1,40	42.417	1,40	00.070	0,001
1,2,3,6,7,8 HxCDF	42.693	1,41	42.657	1,41	42.601	1,41	42.565	1,41	42.638	1,41	42.675	1,41	42.804	1,41	42.730	1,41	42.730	1,41	42.712	1,41	42.730	1,41	42.767	1,41	00.069	0,001
1,2,3,4,7,8 HxCDD	45.176	1,49	45.139	1,49	45.084	1,49	45.047	1,49	45.102	1,49	45.157	1,49	45.304	1,49	45.213	1,49	45.231	1,49	45.194	1,49	45.231	1,49	45.268	1,49	00.077	0,001
1,2,3,6,7,8 HxCDD	45.562	1,51	45.544	1,51	45.488	1,51	45.452	1,50	45.507	1,51	45.562	1,51	45.709	1,51	45.617	1,51	45.636	1,51	45.599	1,51	45.635	1,51	45.672	1,51	00.077	0,001
1,2,3,7,8,9 HxCDD	47.254	1,56	47.217	1,56	47.162	1,56	47.125	1,56	47.199	1,56	47.235	1,56	47.401	1,56	47.309	1,56	47.309	1,56	47.290	1,56	47.327	1,56	47.364	1,56	00.082	0,001
2,3,4,6,7,8 HxCDF	48.964	1,62	48.909	1,62	48.872	1,62	48.817	1,62	48.890	1,62	48.945	1,62	49.111	1,62	49.019	1,62	49.019	1,62	48.982	1,62	49.019	1,62	49.074	1,62	00.086	0,001
1,2,3,7,8,9 HxCDF	49.607	1,64	49.571	1,64	49.515	1,64	49.460	1,64	49.552	1,64	49.607	1,64	49.773	1,64	49.681	1,64	49.681	1,64	49.644	1,64	49.681	1,64	49.736	1,64	00.092	0,001
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	53.873	1,78	53.818	1,78	53.763	1,78	53.708	1,78	53.800	1,78	53.873	1,78	54.076	1,78	53.947	1,78	53.947	1,78	53.910	1,78	53.965	1,78	54.002	1,78	00.106	0,002
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	61.008	2,02	60.953	2,02	60.898	2,02	60.824	2,01	60.916	2,02	60.990	2,02	61.265	2,02	61.118	2,02	61.118	2,02	61.063	2,02	61.137	2,02	61.192	2,02	00.131	0,002
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	64.833	2,14	64.741	2,14	64.649	2,14	64.575	2,14	64.686	2,14	64.796	2,14	65.053	2,15	64.906	2,14	64.888	2,14	64.870	2,14	64.925	2,14	64.998	2,15	00.143	0,002

RT : Konjenerin Alıkonma Zamanı, RRT : Konjenere Ait Bağıl Alıkonma Zamanı, SD : Standart Sapma

6.10. Konjenerlere Ait Bağıl Tepki Faktörlerinin (RRF) Saptanması

Sistemde kullanılan NCI tekniğinin mevcut şartlarda 16 PCDD/F konjenerine verdiği tepkinin (response) stabilite ve güvenirliğinin denetlenmesi için, kalibrasyon çalışmalarında yapılan enjeksiyonlar sonucunda elde edilen pik alanlarından yararlanılarak konjenerlerin RRF değerleri saptanmıştır. Bu çalışmada her hangi bir dahili (internal) standart kullanılmamış olup, konjenerlerin RRF değerleri seyreltme oranlarından yararlanılarak bulunmuştur. Bu amaçla kullanılan denklik aşağıdaki gibidir.

$$RRF = \frac{A_{i\,1/X} * C_{i\,1/Y}}{C_{i\,1/X} * A_{i\,1/Y}} \qquad (6.2)$$

Burada;

$A_{i\ 1/X}$: i. Konjener İçin 1/X Seyreltme Oranında Elde Edilen Pik Alanı
$C_{i\ 1/X}$: i. Konjener İçin 1/X Seyreltme Oranına Karşılık Gelen Konsantrasyon
$A_{i\ 1/Y}$: i. Konjener İçin 1/Y Seyreltme Oranında Elde Edilen Pik Alanı
$C_{i\ 1/Y}$: i. Konjener İçin 1/Y Seyreltme Oranına Karşılık Gelen Konsantrasyon olarak kullanılmıştır.

Pilot kalibrasyon olarak seçilen 2 numaralı kalibrasyon çalışmasında 1/200, 1/100, 1/50 ve 1/20 seyreltme oranları için yapılan 3'er enjeksiyondan elde edilen pik alanlarının geometrik ortalaması alınarak bulunan değer, o seyreltme oranı için ortalama pik alanı olarak kabul edilmiştir. 4 seyreltme oranı ve her bir konjenere karşılık elde edilen bu alanlar konjener bazında 12 farklı biçimde eşleştirilerek her bir eşleşmede 16 konjener için ayrı ayrı RRF değerleri saptanmış ve bu RRF değerleri arasından en küçük (min) ve en büyük (max) RRF değerleri belirlenerek konjenerlere ait RRF_{max}/RRF_{min} oranları bulunmuştur. Aynı şekilde 1 numaralı ve 3 numaralı kalibrasyonlar için de bu değerler bulunarak bir karşılaştırma imkanı sağlanmış olup söz konusu tüm bu değerler Tablo 6.10'da sunulmuştur.

Tablo 6.10: 2 numaralı kalibrasyon çalışmasında elde edilen RRF değerleri

Kullanılan Seyreltme Oranları		2,3,7,8 TCDF	OCDD	1,2,3,7,8 PeCDF	OCDF	1,2,3,7,8 PeCDD	2,3,4,7,8 PeCDF	1,2,3,4,7,8 HxCDF	1,2,3,6,7,8 HxCDF	1,2,3,4,7,8 HxCDD	1,2,3,6,7,8 HxCDD	1,2,3,7,8,9 HxCDD	2,3,4,6,7,8 HxCDF	1,2,3,7,8,9 HxCDF	1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	1,2,3,4,7,8,9 HpCDF
1/200 – 1/100		1.35	0.60	1.34	0.94	1.28	1.41	1.41	1.41	1.39	1.35	1.49	1.46	1.26	1.53	1.54	1.50
1/100 – 1/50		0.76	0.72	0.76	0.47	0.68	0.74	0.71	0.70	0.66	0.64	0.63	0.68	0.66	0.56	0.54	0.56
1/50 – 1/20		1.48	1.23	1.37	1.36	1.43	1.47	1.44	1.43	1.41	1.40	1.37	1.42	1.39	1.33	1.22	1.24
1/20 - 1/200		0.66	1.86	0.72	1.66	0.80	0.65	0.69	0.71	0.77	0.83	0.79	0.71	0.87	0.87	0.99	0.96
1/200 – 1/50		1.03	0.44	1.01	0.45	0.87	1.04	1.00	0.99	0.92	0.86	0.93	0.99	0.83	0.86	0.83	0.84
1/50 – 1/100		1.31	1.38	1.32	2.11	1.47	1.35	1.42	1.43	1.51	1.56	1.60	1.48	1.52	1.77	1.87	1.79
1/100 – 1/20		1.13	0.89	1.04	0.64	0.97	1.09	1.02	1.00	0.93	0.89	0.85	0.96	0.92	0.75	0.65	0.69
1/20 – 1/100		0.89	1.13	0.97	1.55	1.03	0.91	0.98	1.00	1.07	1.12	1.17	1.04	1.09	1.33	1.53	1.45
1/100 – 1/200		0.74	1.66	0.75	1.07	0.78	0.71	0.71	0.71	0.72	0.74	0.67	0.68	0.80	0.65	0.65	0.67
1/200 – 1/20		1.52	0.54	1.38	0.60	1.25	1.54	1.44	1.41	1.30	1.21	1.27	1.40	1.15	1.15	1.01	1.04
1/20 – 1/50		0.68	0.82	0.73	0.74	0.70	0.68	0.69	0.70	0.71	0.72	0.73	0.70	0.72	0.75	0.82	0.81
1/50 – 1/200		0.97	2.29	0.99	2.25	1.15	0.96	1.00	1.01	1.08	1.16	1.07	1.01	1.21	1.16	1.21	1.19
RRF_{max}		1.52	2.29	1.38	2.25	1.47	1.54	1.44	1.43	1.51	1.56	1.60	1.48	1.52	1.77	1.87	1.79
RRF_{min}		0.66	0.44	0.72	0.45	0.68	0.65	0.70	0.70	0.66	0.64	0.63	0.68	0.66	0.56	0.54	0.56
Max/min		**2.31**	**5.22**	**1.92**	**5.05**	**2.16**	**2.37**	**2.09**	**2.04**	**2.27**	**2.44**	**2.56**	**2.19**	**2.31**	**3.14**	**3.49**	**3.21**
Kalibrasyon 1	**RRF_{max}**	1.23	1.73	1.26	1.21	1.28	1.38	1.07	1.07	1.23	1.23	1.29	1.33	1.29	1.37	1.44	1.35
	RRF_{min}	0.81	0.58	0.79	0.83	0.78	0.72	0.93	0.93	0.81	0.81	0.77	0.75	0.78	0.73	0.69	0.74
	Max/min	**1.51**	**2.99**	**1.60**	**1.47**	**1.65**	**1.91**	**1.15**	**1.15**	**1.51**	**1.51**	**1.67**	**1.78**	**1.66**	**1.87**	**2.08**	**1.82**
Kalibrasyon 3	**RRF_{max}**	1.46	1.38	1.52	1.20	1.81	1.42	1.40	1.38	1.47	1.57	1.39	1.37	1.39	1.38	2.41	1.52
	RRF_{min}	0.69	0.72	0.66	0.84	0.55	0.70	0.72	0.73	0.68	0.64	0.72	0.73	0.72	0.72	0.41	0.66
	Max/min	**2.12**	**1.90**	**2.32**	**1.43**	**3.27**	**2.01**	**1.95**	**1.90**	**2.16**	**2.47**	**1.93**	**1.86**	**1.93**	**1.91**	**5.83**	**2.30**

Yukarıda sözü edilen şekilde elde edilen 12 farklı RRF değerinin yayılmalarını daha iyi görebilmek için, elde edilen bu 12 değerin standart sapmaları ve aritmetik ortalamaları kullanılarak bağıl standart sapma (RSD) değerleri bulunmuştur. Ölçümlerin her birinin standart sapmalarını ortalama değer üzerine dağıtarak % cinsinden veren bu değer RRF değerlerinin karşılaştırılmasında çok sık kullanılan bir büyüklük olup Denklem 6.3 yardımıyla bulunmaktadır. Kalibrasyon çalışmaları sonucunda her bir enjeksiyonda 16 PCDD/F konjeneri için bulunmuş olan RRF değerlerinin standart sapmaları, aritmetik ortalamaları ve bağıl standart sapma değerleri Tablo 6.11'de sunulmuştur.

$$RSD \quad (\%) \quad = \quad \frac{(100 \quad * \quad SD)}{\overline{X}} \tag{6.3}$$

Burada;

RSD : Bağıl Standart Sapma,

SD : Standart Sapma,

$\overline{X}$: Aritmetik Ortalama olarak kullanılmıştır.

Tablo 6.11: Kalibrasyon çalışmalarında elde edilen RRF değerlerinin standart sapma (SD), aritmetik ortalama (Ort.) ve bağıl standart sapma değerleri (RSD %)

KONJENERLER	1. KALİBRASYON			2. KALİBRASYON			3. KALİBRASYON		
	SD	Ort.	RSD (%)	SD	Ort.	RSD (%)	SD	Ort.	RSD (%)
2,3,7,8 TCDF	0.12	1.01	**11.52**	0.31	1.04	**29.93**	0.20	1.02	**20.02**
OCDD	0.45	1.09	**41.39**	0.58	1.13	**51.06**	0.20	1.01	**19.86**
1,2,3,7,8 PeCDF	0.14	1.01	**13,57**	0.26	1.03	**25.50**	0.26	1.03	**25.02**
OCDF	0.11	1.01	**10.92**	0.63	1.15	**54.35**	0.15	1.01	**15.09**
1,2,3,7,8 PeCDD	0.15	1.01	**14.40**	0.28	1.03	**26.87**	0.34	1.05	**32.40**
2,3,4,7,8 PeCDF	0.17	1.01	**17.14**	0.33	1.05	**31.16**	0.19	1.02	**18.57**
1,2,3,4,7,8 HxCDF	0.39	1.00	**3.89**	0.31	1.04	**29.97**	0.18	1.02	**17.82**
1,2,3,6,7,8 HxCDF	0.39	1.00	**3.89**	0.31	1.04	**29.39**	0.17	1.01	**16.51**
1,2,3,4,7,8 HxCDD	0.12	1.01	**11.58**	0.30	1.04	**29.07**	0.22	1.02	**21.85**
1,2,3,6,7,8 HxCDD	0.12	1.01	**11.58**	0.30	1.04	**28.96**	0.26	1.03	**24.85**
1,2,3,7,8,9 HxCDD	0.14	1.01	**13.86**	0.33	1.05	**31.59**	0.19	1.02	**19.06**
2,3,4,6,7,8 HxCDF	0.16	1.01	**15.80**	0.32	1.05	**30.77**	0.17	1.01	**17.24**
1,2,3,7,8,9 HxCDF	0.14	1.01	**13.81**	0.28	1.03	**26.81**	0.19	1.02	**18.75**
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	0.18	1.02	**18.15**	0.38	1.06	**35.58**	0.19	1.02	**18.78**
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	0.22	1.02	**21.62**	0.41	1.07	**38.64**	0.58	1.13	**51.48**
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	0.17	1.01	**16.58**	0.38	1.06	**35.87**	0.25	1.03	**23.92**

6.11. Numunelerin PCDD/F Analizi

Çalışmanın bu bölümünde, önceki kısımlarda gerçekleştirilen gözlemlenebilme ve hassasiyet çalışmalarının numuneler üzerinde uygulanabilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla seçilen numune grubu, çevresel numuneler arasında en düşük konsantrasyon seviyelerine sahip olan gıda numuneleridir. Pek çok çalışmada son derece düşük seviyelerde bulunan PCDD/F konjenerlerinin seviyeleri HRGC/HRMS sistemleri ile belirlenen bu numune grubunun seçilmesinin ana nedeni, bu grup üzerinde HRGC/LRMS-NCI sisteminin yeterli derecede hassasiyet sağlamasının diğer tüm çevresel numuneler için uygulanabilir olduğunun bir göstergesi olacağıdır. Bu çalışmada analiz amacıyla kullanılan gıda maddeleri Kocaeli ilinde yerel olarak yetiştirilen iki ayrı bölge için inek ve tavuklardan elde edilen 2 adet süt ve 2 adet yumurta numunesidir. İlk bölgeden alınan numunelerin kodlaması yumurta için Y-1, süt için S-1 ve ikinci bölgeden alınan numunelerde yumurta için Y-2, süt için S-2 şeklinde kullanılmıştır ve elde edilen sonuçlar bu kodlarla belirtilecektir. Çalışmada gıda numuneleri için kullanılan analiz yönteminin EPA 1613 Revizyon B ve EPA 8290 PCDD/F konjenerlerinin analiz metotları ile uyumlu bir şekilde yürütülmesine özen gösterilmiştir. Çalışmanın numune analizi kısmında herhangi bir kirlilik sınıflandırması ya da modellemesi amaçlanmayıp, sadece NCI metodunun başta gıda numuneleri olmak suretiyle çevresel numuneler için yeterli hassasiyeti sağlayıp sağlayamadığının denetlenmesi amaç edinildiğinden her hangi bir etiketli standart yardımıyla metot doğrulama çalışması yapılmamıştır. Dioksinlerin geri kazanım (recovery) oranları ise biri dioksin konsantrasyonları belli standart çözeltiyle aşılanmış, diğeri aşılanmamış iki örnekle yapılan paralel çalışmayla belirlenmiş ve sonuçlar buna göre düzeltilmiştir. Uygulanan analiz çalışmalarını her iki numune tipi için de aşağıdaki adımlarla özetlemek mümkündür:

- Numunelerin Toplanması ve Analize Kadar Saklanması
- Numunelerin Ekstraksiyon İçin Hazırlanması
- Numunelerin Ekstraksiyonu ve Ekstraktın Ayırma Öncesi Yoğunlaştırılması
- Numune Ekstraktının Asit Baz Yıkaması ile Ayırma İşlemine Tabi Tutulması
- Clean up Uygulaması ve Son Yoğunlaştırma
- HRGC/LRMS-NCI Analizi

Aşağıda her bir aşamasında yapılan uygulamaların detaylı olarak anlatıldığı analiz sürecinde kullanılan her türlü cam malzemenin analiz sonuçlarını etkileyecek her hangi bir bulaşma ve girişimde bulunmaması için hassas bir temizleme prosedüründen geçirilmesi gerekir. EPA tarafından önerilen ve bu çalışmada da kullanılan temizleme prosedürü süreç boyunca değişmez ve her kullanımdan önce cam malzemelerin temizliği tekrar tekrar yapılır.

Sözü edilen temizleme prosedüründe cam malzemeler ilk olarak ılık ve bol köpüklü deterjanlı bir su içerisinde dikkatlice yıkanır. Yıkanan cam malzeme bol su ile durulandıktan sonra saf su ile yıkanır. Saf su ile yıkanan cam malzeme kurumak üzere 50-60 C^0 deki bir etüv içerisine yerleştirilir. Burada etüvün düşük sıcaklıkta tutulmasının nedeni cam malzemelerde yüksek sıcaklıklarda oluşabilecek aktif bölgelerin oluşumunu engellemek ve bu yolla oluşabilecek konjener kayıplarının önüne geçmektir. Etüvden alınan cam malzemeler soğuduktan sonra ilk olarak aseton ardından da hekzan ile çalkalanarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılır. İçerisindeki tüm solventin uçtuğundan emin olunan cam malzemelerin üzeri kullanılmamış aluminyum folyo ile örtülür ve cam malzeme örtülü kısımları alta gelecek şekilde analize kadar saklanır.

6.11.1. Numunelerin toplanması ve analize kadar saklanması

Analizi yapılan yumurta numuneleri bölgede yaşayan tavukların genel olarak dışarıya çıkartıldığı ve çoğunlukla bölgede yetişen otlar ve bitki örtüsü ile beslendiği zamanlarda toplanmıştır. Bu amaçla yaz mevsiminde numune noktalarına gidilerek köy yumurtası olarak tabir edilen yumurtalardan 10'ar adedi aynı gün içerisinde alınmış ve analize kadar EPA tarafından önerilen yönteme uygun olarak +4 C^0 sıcaklıkta ve karanlıkta saklanmıştır.

Analizi yapılan süt numuneleri yumurta numuneleri ile aynı noktalardan alınmış olup bu numuneler bölgede yetiştirilen hayvanların tam olarak doğal yollarla beslendiği Temmuz ayı içerisinde ve aynı günde alınmıştır. Yumurta numunelerinden farklı olarak süt numuneleri 2 litrelik polipropilen kaplar içerisinde derin dondurucuya koyulup dondurulmak suretiyle analize kadar saklanmıştır.

6.11.2. Numunelerin ekstraksiyon için hazırlanması

Numune noktalarında alınan numuneler analize kadar uygun şekilde saklandıktan sonra en fazla 15 gün içerisinde ekstraksiyona alınmış ve aşağıdaki anlatılan şekillerde işlendikten sonra ekstraksiyon düzeneğine alınmıştır.

Numune noktalarından alınan yumurta numunelerinden 3 tanesi pişirilmeden önce hassas terazide tartılır. Pişmemiş ağırlıkları saptanan bu 3 yumurta kaynar suda yarım saat pişirildikten sonra soğutulur ve kabukları soyularak sarıları ayrılır. Ayrılan yumurta sarıları bir araya alınarak darası önceden saptanmış olan bir beher içerisinde tartılır. Tartım sonucu ile beherin darası arasındaki fark ekstraksiyona alınacak numune miktarını verir. Beher içindeki yumurta sarıları çelik bir spatula yardımıyla ezilip homojen hale getirilerek selülozik ekstraksiyon kartuşlarına doldurulur. Beher içindeki tüm numune kartuşa aktarıldıktan sonra kartuşun üzeri temizlenmiş cam pamuğu ile kapatılır. Analizlerde kullanılan cam pamuğu ve kartuşların tamamı önceden ekstraksiyon düzeneğine koyularak hekzan ve diklorametan karışımı ile ekstrakte edilmek suretiyle temizlenmiştir. Bu temizlik sırasında hem kartuşlar, kartuşların içindeki cam pamukları ve alttaki balona koyulan bir miktar kaynama taşı hem de kullanılan ekstraksiyon düzeneği temizlenerek ekstraksiyona hazır hale getirilmiş olur.

Süt numuneleri için gerçekleştirilen ekstraksiyona hazırlama işleminde ise ortalama 1500 mL süt numunesi 50 mL'lik falcon tüplerde 5900 rpm hızda 10 dakika santrifüjlenmiş ve kreması ayrılmıştır. Ayrılan kremalar bir behere alınarak analize kadar derin dondurucuda saklanmıştır. Yaklaşık 500 mL süt numunesi aynı koşullarda santrifüjlenerek krema yüzdesi gravimetrik olarak saptanmıştır.

6.11.3. Numunelerinin ekstraksiyonu ve ekstraksiyonu yapılan numunelerin ayırma öncesi yoğunlaştırılması

Ekstraksiyona hazırlama aşamasında selülozik kartuşlara doldurulan ve üzeri cam pamuğu ile kapatılan homojen hale getirilmiş yumurta sarısı, ekstraksiyon aşamasında kullanılacak toplam yumurta numunesi ağırlığını verir. Ekstraksiyona

alınan yumurta sarılarının ağırlığı Y-1 numunesi için 18,25 gram, Y-2 numunesi için ise 18,23 gramdır. Yumurta numunelerin ekstraksiyonu aşamasında, ekstraksiyonda kullanılacak olan 175 mL hekzan ve 175 mL diklorametan karışımı ekstraksiyon balonuna alınır. Toplam 350 mL solvent ekstraksiyon balonuna alındıktan sonra balonun içine 5-6 adet kaynama taşı atılır. Balonlara koyulan kaynama taşları önceki aşamalarda kartuş ve cam pamuklarının temizlenmesi sırasında alttaki ekstraksiyon balonu koyularak temizlenmiş kaynama taşları arasından alınır. Önceki bölümde ekstraksiyon için hazırlanmış numune dolu kartuş 250 mL hacimli sokslet ekstraksiyon aparatına koyulur ve bu aparat ekstraksiyon balonuna takılır. Sokslet ekstraksiyon düzeneğinin üzerine soğutucu takıldıktan sonra soğutucu suyu açılır ve sistemin su akışları kısa bir süre kontrol edilir. Sistemin doğru çalıştığından emin olunduğunda ısıtıcı çalıştırılır ve ekstraksiyon başlatılır. Sistem, çalışma periyodu sırasında her hangi bir probleme karşı sürekli olarak gözlemlenir. 24 saat sonra sistem durdurulur ve bir süre soğuması beklenir. Sistemin iyice soğumasının ardından ısıtıcıdan alınan sokslet düzeneği dikkatlice ayrılır. Aparatta kalan solvent alttaki balona aktarılır ve kartuş aparattan çıkarılmadan 2-3 defa 10 mL hekzanla yıkanarak bu yıkama solventi de balona aktarılır.

Ekstraksiyon işleminin ardından altta kalan solvent yağ karışımındaki solventin bir sonraki adım olan asit-baz ayırma işlemi için uçurulması gerekir. Bunun için balondaki tüm çözelti içerisinde bir miktar cam pamuğu üzerine koyulmuş susuz sodyum sülfat içeren bir filtre kağıdından süzülerek 500 mL hacimli bir evaporasyon balonuna alınır. Süzme işlemi bittikten sonra ekstraksiyon balonundaki kalıntıları da almak adına balon sırasıyla 25, 15, 10 mL hekzan ile iyice yıkanır ve bu solventler de evaporasyon balonuna alınır. Bu evaporasyon balonu, su banyosu 45 C^0 de bulunan bir döner evaporatöre alınır ve balonda bulunan solventin tamamına yakını vakum altında uçurulur. Uçurma işlemi evaporatörün soğutucu kısmında yoğunlaşan solventin çok düşük seviyelere indiği bir noktada kesilerek vakum kaldırılır ve evaporasyon balonu sistemden alınır. Balondaki karışım, asit-baz ayırma işleminin başlatılacağı 1000 mL hacimli bir ayırma hunisine 25 mL hekzan ile yıkamak sureti ile aktarılır. Balondaki tüm karışımın ayırma hunisine aktarılmasını sağlamak için evaporasyon balonu 15 mL ve 10 mL hekzan ile iki kez çalkalanır ve bu solventler de ayırma hunisine aktarılır.

Süt numunelerinin ekstraksiyonu için literatürde pek çok farklı yöntem kullanılmaktadır. Bu çalışmada; derin dondurucudaki süt kremaları ekstrasiyon işleminden hemen önce dondurucudan çıkarılarak, donmuş kremanın 75 gramı küçük parçalar halinde 1 litrelik ayırma hunisine aktarılmıştır. Ayırma hunisine, her defasında 150 mL olmak üzere 3 kez hekzan eklenmiş ve kremalar 10'ar dakika çalkamak suretiyle toplam yarım saat ekstrakte edilmiştir. Dipte oluşan çökelti bir süre bekledikten sonra başka bir ayırma hunisine alınmış ve üstdeki sıvı solvent tabakası sodyum sülfatlı filtreden süzülerek 500 ml'lik evaporasyon balonuna alınmıştır. Dipte oluşan çökelti de bir miktar hekzan ile tekrar çalkalandıktan sonra evaporasyon balonuna eklenmiştir ve asit baz ayırma işleminden önce tıpkı yumurta numunelerinde uygulandığı şekliyle yoğunlaştırılmış ve bir ayırma hunisine aktarılmıştır.

Yumurta ve süt numunelerinin yağ yüzdelerinin saptanması için numunelerin analiz aşamasında uygulanan ekstraksiyon işleminin aynısı 1. bölgeden alınan Y-1 ve S-1 numunelerinin önceden ayrılmış olan ayrı kısımlarına uygulanmış olup yağ yüzdeleri gravimetrik olarak saptanmış ve bu değerler her iki bölge numuneleri için ortalama yağ yüzdesi değeri olarak kullanılmıştır. Gravimetrik olarak saptanan ortalama yağ yüzdeleri; Y-1 yumurtalarının kabuklu ve pişmemiş toplam ağırlıkları üzerinden % 9,03, S-1 süt numunesinden izole edilen kremaların ağırlığı üzerinden ortalama % 80 olarak saptanmış ve sonuçların hesaplanmasında her iki numune noktası içinde bu değerler kullanılmıştır.

6.11.4. Numunelerin asit-baz yıkaması ile ayırma işlemine tabi tutulması

Numunelerin ekstrakte edilmesinin ardından kolon kromatografisi yardımı ile yapılacak olan temizleme (clean up) işlemi uygulanmadan önce, yine bu işlemin bir parçası olarak düşünülebilecek asit-baz yıkaması ile ayırma işlemi uygulanır. Bu işlemin ardından yapılan bir yoğunlaştırma adımı numuneyi kolon kromatografisine hazır hale getirir. Yıkama işlemindeki amaç; numunelerin içerisindeki uzun zincirli molekülleri parçalayarak kolon kromatografisine uygun hale getirmektir. Bir adım sonra uygulanacak kolon kromatografsi ile safsızlaştırma işleminden önce uygulanan bu yöntem numune matrisinin yapısına göre tercihe bırakılmış bir uygulama olup

gıda numunesi matrisleri için çoğunlukla uygulanan bir yöntemdir. Bu çalışmada uygulanan ayırma işlemi yumurta ve süt numuneleri için birbirinin aynısıdır.

Yumurta ve süt numuneleri için aynı şekilde uygulanan asit-baz yıkaması ile ayırma basamağında, bir önceki basamaktan gelip hekzan ile 1 litre hacimli dereceli ayırma hunisine aktarılan ekstraktların üzerine 50 mL sülfürik asit ilave edilerek ayırma hunisi 2-3 dakika iyice çalkalanır ve çalkalama işleminin ardından sabit bir standa asılarak faz ayırımının iyi bir şekilde gerçekleşmesi beklenir. Bu aşamadaki faz ayırımı birkaç saat sürebilmekte olup hunideki köpük oluşumu huninin kapağının ara sıra açılması suretiyle engellenmelidir. Ayrılma sonunda altta kalan asitli koyu kısım huniden süzülerek alındıktan sonra üstteki solvent kısmı 250 mL'lik bir ayırma hunisine aktarılır. 1000 mL hacimli hunide yapılan işlemin aynısı 250 mL'lik bir huni içerisinde önce 40 ve sonra da 20 mL sülfürik asit ile tekrarlanır. Asitle yıkanan ekstrakt 40 mL % 5'lik NaCl ile 2-3 dakika karıştırıldıktan sonra alttaki sulu faz atılır. Üstteki ekstrakta 40 mL % 20'lik KOH çözeltisi eklenir ve çalkalanır. Alttaki faz atıldıktan sonra 40 mL % 5'lik NaCl çözeltisi ile tekrar muamele edilen ekstrakt, altta kalan faz atıldıktan sonra içerisinde cam pamuğu ve yeterli miktarda susuz sodyum sülfat bulunan bir filtre kağıdından süzülerek 250 mL hacimli bir evaporasyon balonuna aktarılır. Evaporasyon balonundaki solvent 45 C^0 sıcak su banyosu içerisindeki döner evaporatörde kuruluğa yakın bir ana kadar uçurulur ve ekstrakt konsantre edilir. Uçurma işleminin ardından balonda kalan konsentre haldeki numune temiz bir pastör pipeti ile 10 mL'lik bir cam tüpe aktarılır. Evaporasyon balonu 1-2 mL hekzan ile güzelce yıkanır ve bu solvent de tüpe aktarılır. Tüpteki konsentratın üzerine önceden hazırlanmış bir düzenek yardımı ile saf azot üflenir ve konsentrat yaklaşık olarak 100 µL'ye kadar yoğunlaştırılır. Konsentratın üzerine 2-3 mL daha hekzan eklenerek azotla uçurma işlemi tekrarlanır. Son olarak konsentrat hekzan ile 2 mL'ye tamamlanır ve numune kolon kromotografisi ile yapılacak clean up uygulamasına hazır hale getirilir.

Yumurta ve süt numunulerinin ekstraksiyona hazırlanma aşamasından başlayıp clean up uygulamasına kadar geçirdiği sürece ait bazı görüntüler Şekil 6.4 ve Şekil 6.5'de görülmektedir. Şekil 6.4'de numunelerin hazırlanma ve ekstraksiyonu ait, Şekil 6.5'de ise yoğunlaştırılma ve ayırma işlemine ait bazı görüntüler sunulmuştur.



Şekil 6.4: Numunelerin hazırlanma ve ekstraksiyonuna ait bazı görüntüler



Şekil 6.5: Numunelerin yoğunlaştırılması ve ayrılmasına ait bazı görüntüler

6.11.5. Clean up uygulaması ve son yoğunlaştırma

Numune ekstraktının konsantre hale getirilip GC/MS sistemine enjekte edilmeden önce temizlenip PCDD/F türevleri haricindeki safsızlıklardan arındırılması için uygulanan bu prosedür kolon kromatografisi aracılığı ile gerçekleştirilir. Yumurta ve süt numuneleri için aynı şekilde uygulanan ve EPA 8280 ve 8290 tarafından sunulan prosedüre uygun olarak kullanılan kolonlar sırası ile silikajel kolonu, alumina kolonu ve karbon kolonu olup bu kolonların uygulamadan hemen önce gerçekleştirilen hazırlanma prosedürü şu şekilde özetlenebilir:

- Silikajel Kolonunun Hazırlanması: Teflon vanalı 30 cm uzunluğunda 15 mm çapında bir cam kolonun tabanına ekstraksiyon kartuşlarının solventle yıkanması aşamasında kartuşun içerisine yerleştirilmek suretiyle temizlenen cam pamuklarından bir miktar sıkıştırılır. Cam pamuğunun üzerine önceden hazırlanmış ve uygun koşullarda saklanmakta olan, sırasıyla 1 gr silikajel, 2 gr bazik (sodyum hidroksit emdirilmiş) silikajel, 4 gr asidik (sülfürik asit emdirilmiş) silikajel ve en üste de yine 2 gr silikajel koyulur. Her bir maddenin cam pamuğunun üzerine koyulmasının ardından kolonun kenarlarına yavaşça vurularak adsorbentin tabana iyice oturması sağlanır ve ortaya çıkması muhtemel yatay ya da dikey kanalların oluşması engellenir. Tüm adsorbentlerin eklenmesinin ardından kolonun üzeri temiz bir folyo ile örtülür.
- Alumina Kolonu Hazırlanması: Silikajel kolonunun hazırlanmasında uygulanan prosedürün aynısını burada da uygulamak koşulu ile kolonun içerisine yerleştirilen cam pamuğunun üzerine sırasıyla 4 gram susuz sodyum sülfat, 4 gram nötral alumina ve en üste de yine 4 gram susuz sodyum sülfat koyularak kolonun üzeri aliminyum folyo ile örtülür.
- Karbon Kolonu Hazırlanması: İki ucu dikkatli bir şekilde kesilmiş 30 cm uzunluğundaki 15 mm çapındaki cam boruların içerisine önceden temizlenmiş olan bir miktar cam pamuğu yerleştirilir ve kolonun orta noktalarına denk gelecek bir yerde iyici sıkıştırılır. Önceden hazırlanmış ve desikatörde saklanmakta olan Carbopack C/Celite karışımından 0.55 gram alınarak kolona yerleştirilir. Kolonun yanlarına vurmak suretiyle tabana iyice oturması sağlanan

adsorbentin üzerine cam pamuğu sıkıştırılarak çift yönlü bir kolon oluşumu sağlanır. Kolonun her iki ucu da folyo ile kapatılarak saklanır.

Çalışmanın bu aşamasında; asit-baz yıkaması ile ayırma işleminde elde edilen son konsentratın GC/MS sistemine enjekte edilmeden önce PCDD/F türevleri haricindeki safsızlıklardan arındırılabilmesi için yapılan kolon kromotografisi çalışmaları ve bu çalışmalar sonucunda elde edilen konsentratın analiz edilmesinden önceki son yoğunlaştırma işlemleri anlatılmıştır. Bu aşamada anlatılan kolon kromatografi çalışmalarında kullanılan tüm kolonlar uygulamadan hemen önce ve yukarıda verilen kolon hazırlama prosedürlerine uygun olarak hazırlanmıştır.

6.11.5.1. Silikajel kolonu clean up prosedürü

- İşlemden hemen önce yukarıda açıklanan hazırlama prosedürüne uygun olarak hazırlanan silikajel kolonundan 10 mL hekzan geçirilerek kolon yıkanır. Bu yıkama sırasında her hangi bir kanal oluşumu gözleniyorsa kolon yenisi ile değiştirilir.
- Kanal oluşumunun gözlemlenmediği kolonlarda yıkama solventi en üstte kalan adsorbent maddenin tepesine 1-2 mm kadar yaklaştığında kolonun vanası kapatılır ve altına 250 mL'lik bir evaporasyon balonu yerleştirilir.
- Asit-baz ayırma işleminden elde edilen son konsentrat temiz bir pastör pipeti aracılığı ile kolona bırakılır. Tüpteki kalıntılar 3-4 mL hekzan ile kolona aktarılır.
- Konsentrat ve kalıntılarının tam olarak kolona aktarılmasının ardından kolona 90 mL hekzan bırakılır ve kolonun vanası açılır. Numune 250 mL'lik balona elue edilir.
- Elutrasyonun tamamlanmasının ardından balondaki konsentrat 35 C^0 su banyosundaki bir döner evaporatörde yaklaşık 1 mL'ye kadar yoğunlaştırılır.

6.11.5.2. Alumina kolonu clean up prosedürü

- Silikajel kolonunun 10 mL hekzan ile yıkanması işleminin aynısı alumina kolonu için de eş zamanlı olarak gerçekleştirilir. Solvent, adsorbentin 1-2 mm kadar üzerinde iken kolonun vanası kapatılır ve silikajel kolonundan elde edilen

konsentratın evaporatörde yoğunlaştırılmasının ardından konsentrat alumina kolonuna bırakılır. Balon 2 mL hekzan ile yıkanarak kalıntılar da kolona aktarılır.

- Evaporasyon balonundaki tüm konsentrat ve kalıntılar alumina kolonuna aktarıldıktan sonra kolona 20 mL hekzan eklenir ve kolonun vanası açılır.
- Kolondan bir behere elue edilen solvent üstteki sodyum sülfat seviyesinin altında düştüğünde elutrasyon durdurulur ve beherdeki eluat atılır.
- Kolonun altına 50 mL'lik bir evaporasyon balonu yerleştirilir. % 60 oranında metilen klorür içeren hekzan çözeltisinden 15 mL kolona bırakılarak elutrasyon başlatılır.
- Eluatın 50 mL'lik evaporatör balonunda tam olarak toplanmasından sonra balondaki eluat 35 C^0 su banyosundaki bir döner evaporatörde 2 mL'ye kadar yoğunlaştırılır.

6.11.5.3. Karbon kolonu clean up prosedürü

- Analizden hemen önce hazırlanmış olan karbon kolonu herhangi bir tarafından boşaltmak suretiyle 5 mL toluen ile yıkanır. Ardından kolon sırasıyla; 2 mL metilenklorür / metanol / toluen karışımı (v/v; 15/4/1), 1 mL metilenklorür / siklo hekzan karışımı (v/v; 1/1) ve 5 mL hekzan ile yıkanır.
- Son yıkama solventi olan hekzan adsorbent tabakasının 1-2 mm üzerinde iken alumina clean up aşamasında elde edilip evaporatörde yoğunlaştırılan konsentrat kolona bırakılır. Evaporasyon balonu da 2 defa 1 mL hekzan ile yıkanır ve kolona aktarılır.
- PCDD/F analizlerinde girişim yapan maddelerin kolondan alınması için kolon sırasıyla 3 mL hekzan, 2 mL metilenklorür / siklo hekzan karışımı (v/v; 1/1) ve 2 mL metilenklorür / metanol / toluen karışımı (v/v; 15/4/1) ile yıkanır. Bu yıkama sonucunda elde edilen eluat atılabileceği gibi numunenin PCB analizi için de kullanılabilir.
- Tam olarak yıkandığından emin olunan kolon ters çevrilir ve altına 50 mL'lik bir evaporasyon balonu yerleştirilir.
- 20 mL toluen kolondan geçirilerek eluat 50 mL'lik balonda toplanır.

6.11.5.4. Son yoğunlaştırma

Bu aşamada; ekstraksiyonu ve clean up uygulamaları tamamlanan numunenin GC/MS analizi için yapılacak enjeksiyon öncesi yoğunlaştırılıp analize hazır hale getirilmesi sağlanır. Bu amaçla yapılan işlemleri şu şekilde sıralamak mümkündür:

- Karbon kolonundan elue edilip 50 mL'lik evaporasyon balonuna alınan son konsentrat 50 C^0 su banyosundaki evaporatörde 1 mL'ye kadar konsantre edilir.
- Balondaki kalıntı bir pastör pipeti yardımı ile temiz bir tüpe aktarılır ve tüpteki kalıntı saf azot üflemek suretiyle 100 µL'ye kadar konsantre edilir. Evaporatör balonundaki son kalıntılar da 3 defa % 1 oranında toluen içeren metilen klorür çözeltisi ile yıkandıktan sonra tüpün içine aktarılır ve tüpteki kalıntı tekrar 100 µL'ye kadar konsantre edilir.
- 0.3 mL hacimli bir mikro vial boşken tartılır. Tüpte bulunan ve yaklaşık olarak 100 µL'ye kadar konsantre edilmiş son konsentrat tartılan vialin içine dikkatli bir şekilde aktarılır. Konsentratın alındığı tüp hekzanla yıkanarak yıkama çözeltisi de viale aktarılır.
- Vialin içerisine bir mikro şırınga yardımı ile 20 µL nonan eklenir ve vialdeki tüm konsentrat saf azot üfleyerek 100 µL'ye kadar yoğunlaştırılır.
- Son yoğunlaştırmanın ardından vialin içindeki konsentrat hacmi 250 µL'lik bir mikro şırınga yardımı ile belirlenir.
- Hacmin belirlenmesinin ardından konsentrat tekrar viale enjekte edilir ve vial tartılır. Vialin içindeki konsentratın hacmi ve ağırlığı aracılığı yoğunluğu bulunur ve sonuçların değerlendirilmesi aşamasında kullanılmak üzere not edilir.

6.11.6. HRGC/LRMS-NCI analizi

Numunelerin toplanması ve analize kadar saklanması, ekstraksiyona hazırlanması, ekstraksiyonu ve ekstraktın ayırma öncesi yoğunlaştırılması, numune ekstraktının asit baz yıkaması ile ayırma işlemine tabi tutulması, clean up uygulaması ve son yoğunlaştırma işlemlerinin ardından enstrümental analize hazır hale gelen numuneler sırayla HRGC/LRMS-NCI sistemine enjekte edilmiştir. Numunelerin cihaza enjeksiyonundan önce homojenliği sağlamak için numunelerin içinde bulunduğu

vialler otomatik bir çalkalayıcı yardımıyla karıştırılmıştır. Tüm numune enjeksiyonlarının miktarı standart metotlarda önerilen ve bu çalışmadaki kalibrasyon uygulamalarında da olduğu gibi 2 µL olarak sabitlenmiştir. Enjeksiyonu yapılan numunelerin analizi için kullanılan metoda ait tüm değişkenler ve parametreler önceki bölümlerde detayları sunulan ve kalibrasyon çalışmalarında da kullanılan metot ile aynıdır.

Yumurta ve süt numuneleri için elde edilen analiz sonuçları, kullanılan kalibrasyon eğrileri, ölçüm limitleri ve düzeltme (recovery) oranlarına ilişkin bilgiler Tablo 6.12'de sunulmuştur. Numunelere ait analiz sonuçların elde edilmesinde numunelerin analiz edildiği döneme ait kalibrasyon eğrileri kullanılmış olup bu eğriler çalışmanın önceki bölümlerinde incelenen 1,2 ve 3 numaralı kalibrasyon eğrilerinden farklıdır. Söz konusu dönemde numune enjeksiyonları için ayrı bir kalibrasyon çalışması yürütülmüş olup bu kalibrasyona ait ölçüm limitleri önceki bölümlerde anlatılan ölçüm limiti belirleme çalışmalarına benzer şekilde yürütülmüş ve bu kalibrasyon için yeniden bulunmuştur. Numune analizleri sırasında sisteme yapılan 2 µL'lik numune enjeksiyonu sonucunda spektrumda gözlemlenemeyen konjenerlerin konsantrasyon değerleri için o konjenere ait ölçüm limitinin yarısı (LOQ/2) alınmıştır.

Numunelerde aranan 17 PCDD/F konjenerinin toplam toksisite eşdeğerini bulmak için 2005 yılında dünya sağlık örgütü tarafından yayınlanan WHO-TEF toksisite eşdeğerlik faktörleri kullanılmış olup bu değerler Tablo 6.12'deki ilgili konjenerin karşısında belirtilmiştir.

Konjenerlerin analiz sırasındaki kayıplarına bağlı konsantrasyon düşüşlerinden kaynaklanan hataları analiz sonucunda elde edilen konsantrasyonlara ilave ederek minimize etmek için kullanılan düzeltme (recovery) çalışmasında etiketsiz bir standart olan EDF 5008 standart çözeltisi kullanılmıştır. Bu standardın numunenin ayrı bir kısmına (duplicate) enjekte edilip bu kısmın tüm analiz işlemlerine aynı şekilde tabi tutulması ile elde edilen sonuçlar ile normal numuneden elde edilen sonuçların karşılaştırılması sonucu elde edilen kayıp oranları sonuçlara düzeltme oranları olarak yansıtılmıştır.

Tablo 6.12: Yumurta ve süt numuneleri için elde edilen analiz sonuçları

KONJENER	WHO-TEF	Eğri Denklemi	Ölçüm Limiti (pg)	Düzeltme Oranları (%)	NUMUNELERDEKİ KONSANTRASYONLAR (pg/gr yağ)			
					Y-1	Y-2	S-1	S-2
2,3,7,8 TCDF	**0.1**	y = 16636x	0.032	77,93	2.191	0.278	0.032*	0.034*
OCDD	**0.0003**	y=7630.1x	0.2	91,19	1.422	0.738*	0.215*	0.228*
1,2,3,7,8 PeCDF	**0.03**	y = 50673x	0.013	89,96	1.647	0.295	0.675	0.222
OCDF	**0.0003**	y = 56495x	0.4	76,07	0.887*	1.358*	0.396*	0.420*
1,2,3,7,8 PeCDD	**1**	y = 15586x	0.043	90.02	0.982	0.157*	0.046*	0.048*
2,3,4,7,8 PeCDF	**0.3**	y = 52938x	0.014	89,31	1.351	0.305	2.235	0.758
1,2,3,4,7,8 HxCDF	**0.1**	y = 70701x	0.026	88,32	1.531	0.123	0.812	0.263
1,2,3,6,7,8 HxCDF	**0.1**	y = 70701x	0.026	88,32	1.531	0.123	0.812	0.263
1,2,3,4,7,8 HxCDD	**0.1**	y = 23532x	0.08	88,04	1.967	0.145*	0.043*	0.045*
1,2,3,6,7,8 HxCDD	**0.1**	y = 23532x	0.08	88,04	1.967	0.145*	0.043*	0.045*
1,2,3,7,8,9 HxCDD	**0.1**	y=13,836x	0.08	87,64	1.073	0.290	0.084*	0.089*
2,3,4,6,7,8 HxCDF	**0.1**	y = 69207x	0.02	88,37	1.053	0.073	0.727	0.280
1,2,3,7,8,9 HxCDF	**0.1**	y = 51467x	0.022	88,65	0.294	0.080*	0.023*	0.025*
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	**0.01**	y = 76387x	0.02	88,91	2.027	0.550	0.346	0.197
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	**0.01**	y = 16444x	0.08	83,55	6.912	0.283*	0.083*	0.087*
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	**0.01**	y = 55499x	0.04	88,67	0.594	0.146*	0.042*	0.045*
pgTEQ/gr ürün					**0.306**	**0.035**	**0.047**	**0.025**
pgTEQ/gr yağ					**2.895**	**0.393**	**0.999**	**0.390**
pg ΣPCDD/gr yağ					**14.32**	**1.757**	**0.512**	**0.543**
pg ΣPCDF/gr yağ					**13.11**	**3.331**	**6.100**	**2.506**
ΣPCDD/ΣPCDF					**1.092**	**0.527**	**0.084**	**0.213**

Y-1 : Birinci bölgeye ait yumurta numunesi
Y-2 : İkinci bölgeye ait yumurta numunesi
S-1 : Birinci bölgeye ait süt numunesi
S-1 : İkinci bölgeye ait süt numunesi
* : Kromatogramda gözlemlenemeyip ölçüm limitinin yarısı alınmıştır.

BÖLÜM 7. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

Çalışmanın ilk bölümünde çeşitli fiziksel ve kimyasal özellikleri hakkında detaylı bilgiler sunulan PCDD/F bileşikleri kaynaklardan atmosfere bırakıldıktan sonra söz konusu özelliklerinin bir sonucu olarak çeşitli çevresel ortamlarda birikme potansiyeli gösterirler. Bu çevresel ortamlarla etkileşim içerisinde bulunan insanların vücudunda da birikime yol açan bu bileşiklerin kanser yapıcılık gibi bilinen önemli olumsuz sağlık etkileri, bu birikimin hangi mekanizmalarla ve ne kadar olduğunun saptanması ve gerekli önlemlerin alınmasını mutlak suretle gerekli kılar. Bu açıdan bakıldığında dioksin bileşenlerinin çevresel ortamlardaki konsantrasyonlarının doğru ve etkin bir şekilde belirlenebilmesi bu konuda yapılacak analiz çalışmalarının önemini arttırmaktadır.

Bölüm 2'de de detaylı bir biçimde anlatıldığı gibi gıda maddeleri, dioksin bileşenlerinin birikim potansiyeli gösterdiği hava, su, toprak, bitki örtüsü ve sedimentler gibi çevresel ortamlar ile etkileşimin bir sonucu olarak PCDD/F bileşiklerinin birikiminden büyük oranda etkilenir. PCDD/F bileşiklerinin çok düşük seviyelerde (pg/gr ve daha az) birikim gösterdiği gıda maddelerinin insanların dioksin alımına katkıda bulunan en önemli bileşen olması (toplam alımın % 90-95 gibi bir oranı) bu numune matrisindeki dioksin miktarlarının hassas bir şekilde saptanmasının gerekliliğini ortaya çıkarır. Birikimin çok düşük seviyelerde olması, numunelerdeki yağ oranlarının fazlalığı nedeniyle ekstraksiyonda karşılaşılan zorluklar ve kayıpların fazlalığı, diğer klorlu organik bileşiklerin girişimi ve mevcut analiz sistemlerinde yaşanan bazı hassasiyet problemleri gibi nedenlerden ötürü gıda maddelerindeki PCDD/F konjenerlerinin güvenilir bir biçimde tespit edilmesi oldukça titiz bir analiz sürecini gerektirir. Bu nedenle dioksin kirliliğinin saptanmasında çevresel numune matrisleri arasından gıda numuneleri çok büyük bir öneme sahiptir. Temel konusu çevresel numunelerdeki PCDD/F miktarlarının GC/MS-NCI metoduyla tayini olan bu çalışmanın numune analizi bölümünde gıda numunesi matrisinin seçilmesinin de ana nedeni budur.

Son yıllarda analiz çalışmalarında sağlanan pek çok gelişme yukarıda sözü edilen analiz zorluklarının aşılmasını büyük oranda sağlamıştır. Çevresel numunelerdeki PCDD/F seviyelerinin belirlenmesinde genel olarak yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi ve yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRGC/HRMS) sistemlerinin birlikte kullanıldığı enstrümental analiz metotları tercih edilmektedir. Sözü edilen bu sistemin çok büyük yatırım, işletim ve bakım maliyetlerini gerektiriyor olması zaman zaman bu sisteme göre çok daha ucuz olan başka sistemlerin kullanımını teşvik etmiştir. Bu sistemler arasından en ucuzu ve en çok kullanılanı ise HRGC/LRMS sistemidir. Bu sistemin diğerinden temel farkı kullanılan kütle spektrometresinin düşük çözünürlüklü olmasıdır ve bu nedenle sistemin hassasiyeti diğerini göre daha azdır. Hassasiyetteki bu azalma özellikle gıda numunelerinin analizini imkansız kılmaktadır. Bu sorunu ortadan kaldırmak için ihtiyaç duyulan yüksek hassasiyet, HRGC/LRMS sisteminin kütle spektrometresinde kullanılan iyon kaynağının NCI (negatif kimyasal iyonizasyon) iyon kaynağı ile değiştirilmesiyle sağlanabilmektedir. Bu iyonlaşma sürecinde diğer iyonlaşma süreçlerine göre çok daha az moleküler parçalanma gerçekleştiği için yüksek hassasiyet seviyelerine çıkılabilmektedir. Ancak bu süreç sonunda sağlanan kütle spektrumları çok kararlı değildir ve zaman zaman tutarsız sonuçlar vermektedir. Gıda numunelerindeki PCDD/F seviyelerini dahi gözlemleyebilen bu sistemin en büyük problemi kararsızlıktır ve bu kararsızlık mutlak suretle üstesinden gelinmesi gereken önemli bir sorundur.

NCI iyon kaynağının kullanıldığı HRGC/LRMS sistemlerinin 17 PCDD/F konjenerine verdiği tepkilerin gözlemlenebilmesi adına KOU Çevre Mühendisliği laboratuarlarında gerçekleştirilen bu çalışmada elde edilen sonuçları değerlendirmeden önce belirtilmesi gereken en önemli nokta sağlıklı bir analiz süreci için, sistemin kurulu bulunduğu ortamın sürekli olarak kontrol altında tutulmasının gerektiğidir. Sisteme gelen elektrik akımlarındaki küçük değişimler ve ortamdaki nem miktarı sistemin çalışmasını büyük oranda etkileyebileceğinden çalışma ortamının sistemin çalışması için gerekli olan en uygun koşullarda tutulması son derece önemlidir. Yine iyon kaynağının kirlenmesi, taşıyıcı ve ayıraç gazlardaki safsızlıklar sistemin olumsuz etkilenmesine neden olduğu için bu değişkenler de kontrol altında tutulmalıdır.

Literatür bilgilerine göre; NCI kullanılan sistemlerin stabilitesini bozan en önemli etmenler iyon kaynağında hava ve su gibi etmenlerin varlığı, taşıyıcı ve ayıraç gazlardaki safsızlıklar ve bu gazların basınçlarında gerçekleşen farklılıklar olarak gösterilmekte olup bu değişkenler mutlaka kontrol altında tutulmalıdır. EK 1 Şekil 1, 2, 3 ve 4'te görülebilen NCI autotune raporlarındaki 28/27 Ratio (6.2 ve 4.2) ve EMVolts değerleri (1576 ve 1906) oldukça iyi değerler olup EMVolts için bu değerlerin 3000 civarındaki değerlere çıkması stabilite ve hassasiyeti olumsuz yönde etkiler. Sistemdeki su ve hava kaçaklarının bir göstergesi olan 28/27 Ratio değerinin 5 ve üzeri olması problem yaratırken elde ettiğimiz değerler yeni açılan bir sistem için oldukça iyidir. EMVolts değerlerinde sağlanan bu iyileşme temel olarak iyon kaynağının gerekli görüldüğünde prosedüre uygun olarak temizlenmesi ve çalışma ortamının sistemi etkileyebilecek değişkenlerinin (nem ve voltaj gibi) sürekli olarak kontrol altında tutulmasıyla açıklanabilir.

Çalışma sırasında sistemde kullanılan metot (Metot 7) değişkenleri (ara yüzey, quadrupole ve iyon kaynağı sıcaklıkları) literatür verilerinin değerlendirilmesi sonucunda belirlenen değerler olup bu değişkenlerin çeşitli modifikasyonlarını denemek mümkündür. Çeşitli denemeler sonucunda sistemimiz için en uygun metot olduğuna karar verilen bu metot ile 17 PCDD/F konjeneri için sağlanan kromatogramda 2,3,7,8 TCDD bileşeninin hiçbir suretle gözlemlenememiş olması, literatür verilerine göre HRGC/LRMS-NCI metodunun bu konjenere olan düşük tepkisi göz önüne alındığında beklenen bir sonuçtur.

Çalışmada kullanılan sistem değişkenleri ve kolonun çözünürlük anlamında sağladığı ayırma gücü OCDD ve OCDF bileşenleri dışında oldukça iyidir. Bu iki bileşen için verilen çözünürlük problemleri bu yöntemle yapılan başka çalışmalarda da gözlemlenmiştir. Örneğin Nagayanagi (2001) tarafından aynı sistem ve kolonla yapılan bir çalışmada OCDD ve OCDF pikleri arasında benzer biçimde bir girişim gözlemlenmiş olup bu iki piki birbirinden ayırmak için 12000 gibi bir değerde kütle çözünürlüğüne ihtiyaç duyulduğu ve bu çözünürlüğün böyle bir sistemde her zaman sağlanamayabileceği vurgulanmıştır. Çalışmamızın kalibrasyon bölümünde elde edilen kromatogramlarda OCDD ve OCDF konjenerleri için elde edilen çözünürlük değeri % 10 ayrılma kuralı için kabul edilebilir bir düzeydedir ancak bu iki bileşen

için kromatogramda zaman zaman ortaya çıkan kararsızlık çeşitli problemler doğurabilir ve bu nedenle sürekli olarak denetim altında tutulmalıdır. Sistemimizde kullanılan DB-Dioxin kolonunun maksimum sıcaklığı üretici firma tarafından 270 C^0 olarak belirtilmiş olup işletim sırasında bu sıcaklığın üzerine çıkmak çeşitli problemlere neden olabilir. Bu açıdan bakıldığında mevcut sistemde maksimum sıcaklığı daha yüksek olan başka kolonların kullanımının okta homologlarının çözünürlüğüne yapacağı katkıların araştırılması iyi sonuçlar verebilir.

Kalibrasyon çalışmaları sırasında 16 PCDD/F konjeneri için en düşük seyreltme oranlarında gözlemlenen piklerin S/N oranlarının 3 değerinin altına düşmeyecek şekilde kontrol edilmesi sonucu elde edilen konjener bazlı ölçüm limitlerinin literatürdeki değerlerle karşılaştırılması sonucunda, çalışmada elde edilen değerlerin HRGC/HRMS sistemleri ile elde edilen değerlere oldukça yakın olduğu ve dolayısıyla gıda numunelerindeki konjener seviyelerini gözlemleyebilecek kadar düşük seviyede olduğu söylenebilir. 1 ve 2 numaralı kalibrasyon çalışmaları için elde edilen ölçüm limitleri karşılaştırıldığında 2 numaralı kalibrasyonda elde edilen değerler 1 numaralı kalibrasyona göre daha düşüktür. Bu düşüş 2,3,7,8 TCDF konjeneri için 12,5 kat, penta homologları için 5,2-7,36 kat aralığında, hekza homologları için 3,1–21,44 kat aralığında, hepta homologları için 3,84–19,2 kat aralığında ve oktalar için 200 kat şeklindedir. 1 nolu kalibrasyondan önce yapılan çok sayıda enjeksiyon iyon kaynağının aşırı derecede kirlenmesini sağlamıştır. 2 numaralı kalibrasyondan hemen önce ise iyon kaynağı önceki bölümlerde sunulan temizleme prosedürüne uygun bir biçimde temizlenmiş ve kalibrasyon çalışması bu işlemin ardından yapılmıştır. Buna göre iki kalibrasyon arasında ölçüm limiti değerleri için elde edilen bu iyileşmenin temel nedeni kirlenmiş iyon kaynağının temizlenmesi ve bu yolla sistemin gürültü düzeyinin düşürülerek sağlanan hassasiyet artışı olarak gösterilebilir. Bu bilgi ışığında böyle bir sistemle yapılan çalışmalarda belirli periyodlarla iyon kaynağının temizlenmesinin hassasiyet ve dolayısıyla ölçüm limitleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olacağı söylenebilir. Ancak bu tip durumlarda sistemin stabilitesi ve tepkileri kalibrasyon çalışmaları ile her dafasında mutlaka kontrol edilmelidir. PCDD/F konjenerlerinin sistemdeki gözlemlenebilirliğinin yani konjener piklerinin S/N değerlerinin arttırılması; gürültü düzeyinin düşürülmesi ve/ve ya sinyalin arttırılması ile mümkündür. Sistemdeki

gürültü düzeyinin düşürülmesi yukarıda da sözü edilen iyon kaynağının belirli periyodlarla temizlenmesi ile sağlanabilirken; taşıyıcı gaz, ayıraç gaz ve kullanılan solventlerin safsızlıklarından emin olmak, güçlü bir clean up uygulaması kullanmak ve her enjeksiyondan sonra sisteme temiz ve güçlü bir solventin enjeksiyonu ile de sağlanabilmektedir. Elde edilen sinyallerin arttırılması ise enjeksiyon hacmini arttırmak ve sabit bir alanda pik genişliğini azaltmak ile mümkün kılınabilmektedir. PCDD/F bileşenlerinin analizi için literatürde önerilen enjeksiyon hacmi 2 mikrolitre olduğundan literatürle uyum sağlamak adına bu çalışmada yapılan tüm enjeksiyonlar bu değerde sabitlenmiştir olup bu yolla bir pik iyileştirmesi yoluna gidilmemiştir.

Sistem stabilitesini kontrol etmek için yürütülen 2 ve 3 numaralı kalibrasyon çalışmalarında yapılan enjeksiyonlardan elde edilen alıkonma zamanlarının (RT) 2,3,7,8 TCDF konjeneri baz alınarak değerlendirildiği konjenerlere ait RRT değerlerinin saptanması çalışmasından elde edilen sonuçlara göre; 2 numaralı kalibrasyonda farklı seyreltme oranları için elde edilen RRT değerlerinin standart sapması 0.000–0.009 aralığında değişirken, bu aralık 3 numaralı kalibrasyon için 0.000–0.003 şeklindedir. Bu değerler göz önünde bulundurulduğunda kalibrasyon çalışmaları sırasında kolondaki ayırma işleminin stabil koşullar altında gerçekleştirildiği söylenebilir.

Lundgren et al. (2004) tarafından EI ve NCI kullanımlarının stabilite üzerine etkilerini karşılaştırmak için yapılan çalışmada HRGC-LRMS sistemleri ile birlikte EI kullanımında furan bileşiklerinin tepkilerinin NCI kullanımındakine göre çok daha stabil olduğu belirtilmiştir. Çalışmada elde ettikleri bulgulara göre EI kullanımı sırasında elde edilen en yüksek RRF_{max}/RRF_{min} değeri 2.3 iken NCI kullanımında 26 olarak belirtilmiş olup bu büyük farklılık NCI uygulamasının EI uygulamasına göre çok daha az stabil bir metot olduğunun göstergesi olarak vurgulanmıştır. Elde ettikleri RSD değerleri ise tetra homologları için en yüksek değerde olup, hepta, hegza ve penta şeklinde azalmaktadır ve tepkinin klor sayısına bağlı olarak değiştiği vurgulanmıştır. Çalışmamızda kullandığımız sistemin PCDD/F konjenerlerine verdiği tepkilerin stabilitesini değerlendirmek için yürütülen RRF saptama çalışmaları sırasında 1 numaralı kalibrasyon için bulunan RRF_{max}/RRF_{min} oranları 1.15 (1,2,3,4,7,8 HxCDF ve 1,2,3,6,7,8 HxCDF) – 2.99 (OCDD) aralığında

değişirken, bu değerler 2 numaralı kalibrasyon için 1.92 (1,2,3,7,8 PeCDF) - 5.22 (OCDD) ve 3 numaralı kalibrasyon için 1.43 (OCDF) – 5.83 (1,2,3,4,6,7,8 HpCDD) aralığındadır. Bu profil, elde edilen RSD değerlerinde % cinsinden daha net görülebilmektedir. Çalışmamızda elde edilen en yüksek RRF_{max}/RRF_{min} değeri 5.83 olup bu değer 1,2,3,4,6,7,8 HpCDD konjeneri için saptanmıştır. Her 3 kalibrasyon için elde edilen değerlere bakıldığında sistemin tepkilerinin klor atom sayılarına bağlı olarak değiştiğini söylemek oldukça güçtür. 3 kalibrasyon çalışması için elde edilen sonuçların ortak bir özelliği; en büyük RRF_{max}/RRF_{min} oranlarının dioksin konjenerleri, en küçük RRF_{max}/RRF_{min} oranlarının ise furan konjenerleri için elde edilmesidir. Buna göre sistemimizin furan bileşiklerine daha iyi tepki verdiğini söylemek mümkündür. Stabilitenin EI kullanımına göre ne şekilde değiştiğinin belirlenmesi ise ayrı bir uygulamayı gerektirdiğinden mevcut bilgilerle mümkün değildir. Ancak 3 kalibrasyon çalışmasında elde edilen RRF değerlerinin çok büyük salınımlar göstermemiş olması uygulama sırasında stabilitenin nispeten sağlanmış olduğunun bir işareti olarak değerlendirilebilir.

Çalışmanın numune analizi bölümünde çevresel numuneler arasından en büyük alım oranına sahip olması ve analiz çalışmalarında çok sık problemlerle karşılaşılması sebebiyle büyük öneme sahip olan gıda numuneleri seçilmiştir. Bu numune grubuna örnek teşkil etmesi için seçilen 2 adet inek sütü ve 2 adet tavuk yumurtası numunesinin analizi sonucunda elde edilen verilere göre bu tip numunelerin GC/MS-NCI metoduyla analizinin mümkün olabileceğini göstermiştir. Çalışmanın temel amacının da gıda numuneleri özelinde diğer tüm çevresel numuneler için bu yöntemin uygulanabilirliğinin gösterilmesi olduğundan çalışmanın amacına ulaştığı söylenilebilir.

Gıda numuneleri üzerinde yapılan analiz çalışmalarında her hangi bir kirlilik değerlendirilmesinin yapılması amaç edinilmemiş olmakla birlikte elde edilen verilerden (Y-1: 2.895 pg WHO-TEQ/g yağ, Y-2: 0.393 pg WHO-TEQ/g yağ, S-1: 0.999 pg WHO-TEQ/g yağ, S-2: 0.390 pg WHO-TEQ/g yağ) yola çıkarak bazı sonuçların altını çizmek faydalı olabilir. Süt, süt ürünleri ve yumurtalar için PCDD/F seviyelerinin maksimum değeri Avrupa Birliği Komisyonu EC tarafından 3 pg WHO-TEQ/g yağ PCDD/F ve PCB toplamı için 6pg WHO-TEQ/g yağ olarak kabul

edilmektedir. Çalışmada kullanılan 4 numune için de elde edilen değerler bu sınır değerin altındadır. Öte yandan Almanya'da yerel olarak üretilen süt ürünleri için mutlak suretle sağlanması istenen hedef sınır değerin <0.9 pg I-TEQ/gr süt yağı olduğu göz önünde bulundurulduğunda S-1 süt numunesi için elde edilen değer olan 0.999 pg-TEQ/gr süt yağı değerinin bu hedefi sağlayamadığı söylenebilir. Ancak European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General (2000)'e göre Avrupa Birliği üye ülkelerinin endüstrileşmiş bölgelerinde süt numuneleri için elde edilen değer aralığının 0.32 – 2.1 pg I-TEQ/gr süt yağı olduğu düşünülürse elde ettiğimiz değerler bu verilerle oldukça uyumludur. İngiltere'nin 2006 yılın a ait tarım yasalarında ise yumurta yağındaki dioksin seviyesi 2 pg TEQ/gr ile sınırlandırılmış olup bu değer çalışmamızda kullanılan Y-1 numunesi için sağlanamamaktadır.

Yapılan bu değerlendirmeler ışığında; uygun çalışma şartlarının sağlanması koşulu ile GC/MS-NCI yönteminin çevresel tüm numune matrisleri için PCDD/F analizinde uygulanabilir bir metot olduğu söylenebilir. Ancak sistemin stabilite sorunu ve 2,3,7,8 TCDD konjenerine verdiği düşük tepkiler en büyük sınırlayıcılar olup mutlak suretle üstesinden gelinmesi gereken önemli problemlerdir.

KAYNAKLAR

Agency for Toxic Substances and Diseases Registry (ATSDR), "Toxicological Profile for Chlorinated Dibenzo-p-Dioxins (CDDs), ***Department of Health and Human Services***, Public Health Service, U.S. Atlanta, (1998).

Agilent Technologies, "5973Network Mass Selective Dedector Hardware Manual", First Edition, **Publication Number: G2589-90001**, USA, (1999).

Bakoglu, M., Karademir, A., Durmusoglu, E., "Evaluation of PCDD/F Levels in Ambient Air and Soils and Estimation of Deposition Rates in Kocaeli, Turkey", ***Chemosphere*** , 59, 1373-1385, (2005).

Barker, J., "Mass Spectrometry", ***University of Greenwich***, Second Edition, England, (1999).

Bellucci, L. G., Frignani, M., Raccanelli, S., Carraro, C., "Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans in Surficial Sediments of the Venice Lagoon (Italy)", ***Marine Pollution Bulletin***, 40, 65-76, (2000).

Bocio, A., Domingo, J., L., "Daily Intake of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins/Polychlorinated Dibenzofurans (PCDD/PCDFs) in Foodstuffs Consumed in Tarragona, Spain: A Review of Recent Studies (2001 – 2003) on Human PCDD/PCDF Exposure through the Diet", ***Environmental Research***, 97,1-9, (2005).

Caserini, S., Cernuschi, S., Giugliana, M., Grosso,M., Giovanni, L., Mattaini, Paola., "Air and Soil Dioxin Levels at Three Sites in Italy in Proximity to MSW Incineration Plants" , ***Chemosphere***, 54, 1279-1287, (2004).

Cheng, P.,S., Hsu, M., S., Ma, Edward, Chou, U., Ling, Y., C., "Levels of PCDD/Fs in Ambient Air and Soil in the Vicinity of a Municipal Solid Waste Incinerator in Hsinchu", ***Chemosphere***, 52, 1389-1396, (2003).

Chernetsova, S., E., Revelsky, A., I., Revelsky I.,A., Mikhasenko, I., A., Sobolevsky, T., G., "Determination of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins, Dibenzofurans and Biphenyls by Gas Chromatography/Mass Spectrometry in the Negative Chemical İonization Mode with Different Reagent Gases", ***Mass Spectrometry Reviews,*** 21, 373-387, (2002).

Choi, D., Hu, S., Jeong, J., won, K., Song, I., "Determining Dioxin-like Compounds in Selected Korean Food", ***Chemosphere***, 46, 1423-1427, (2002).

Correa, O., Rifai, H., Raun, L., Suarez, M., Koenig, L., "Concentrations and Vapor-Particle Partitioning of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans in Ambient Air of Houston, TX", ***Atmospheric Environment*** , 38, 6687-6699, (2004).

Darnerud, P., O., Atuma, S., Aune, M., Bjerselius, R., Glynn, A., Petersson Grawe, K., Becker, W., "Dietary Intake Estimations of Organohalogen Contaminants (Dioxins, PCB, PBDE and Chlorinated Pesticides, e.g. DDT) Based on Swedish Market Basket Data", ***Food and Chemical Toxicology***, 44, 1597-1606, (2006).

Diletti, G., Creati, B., Annunziata, L., Ripani, A., Scortichini, G., "Dioxin in Meat, Milk and Dairy Products : Dietary Intake in Italy", ***Organohalogen Compounds***, 66, 2750 - 2754, (2004).

Domingo, J.L., Schuhmacher, M., Granero, S., Llobet, J.M., de KOK, H. A. M., "PCDD/F Levels in the Vicinity of an Old Municipal Solid Waste Insiniretor: Temporal Variation in Soils", ***Environmental Contamination and Toxicology***, 36, 377–383, (1999).

Domingo, J.L., Schuhmacher, M., Müller, L., Rivera, J., Granero, S., Llobet, J., M., "Evaluating the Environmental Impact of an Old Municipal Waste Incinerator: PCDD/F Levels in Soil and Vegetation Samples", ***Journal of Hazardous Materials***, A76, 1-12, (2000)

Domingo, J., L., Schuhmacher, M., Llobet, J., M., Müller, L., Rivera, J., "PCDD/F Concentrations in Soil and Vegatation in the Vicinity of a Municipal Waste Incinerator After a Pronounced Decrease in the Emissions of PCDD/Fs from the Facility", ***Chemosphere***, 43, 217-226, (2001).

Durand, B., Dufour, B., Vindel, E., Fraisse, D., "A Survey of PCDD and PCDF in French Long-life Half-Skimmed Drinking Milk", ***Chemosphere*** , 41, 865-869, (2000).

Eljarrat, E., Caixach, J., Rivera, J., "Determination of PCDDs and PCDFs in Different Animal Feed Ingredients", ***Chemosphere***, 46, 1403-1407, (2002).

Eppe, G., Focant, J. F., Pirard, C., De Pauw, E., "PTV-LV-GC/MS/MS As Screening and Complemantary Method to HRMS for the Monitoring of Dioxin Levels in Food and Feed", ***Talanta***, 63, 1135-1146, (2004).

Erdik, E., Obalı, M., Öktemer, A., Pekel, T., Yüksekışık, N., İhsanoğlu, E., "Denel Organik Kimya", ***Ankara Üniversitesi Basımevi***, Ankara, (1980).

European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General, "Assessment of Dietary Intake of Dioxins and related PCBs by the Population of EU Member States", ***Reports on Tasks for Scientific Cooperation***, Final Report 3.2.5, (2000).

Focant, J., F., Eppe, G., Pirard, C., Massart, A., C., Andre, J., E., De Pauw, E., "Levels and Congener Distributions of PCDDs, PCDFs and non-ortho PCBs in Belgian Foodstuffs Assessment of Dietary Intake", ***Chemosphere***, 48, 167-179, (2002).

Focant, J., F., Pirard, C., Massart, A., C., De Pauw, E., "Survey of Commercial Pasteurised Cows' Milk in Wallonia (Belgium) fort he Occurrence of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins, Dibenzofurans and Coplanar Polychlorinated Biphenyls", ***Chemosphere*** , 52, 725–733, (2003).

Fries, G., F., "A Review of the Significance of Animal Food Products as Potential Pathways of Human Exposures to Dioxins", ***Journal of Animal Science***, 73, 1639-1650, (1995).

Gündüz, T., "İnstrümental Analiz", ***Gazi Kitabevi***, 5. Baskı, (1999).

Gross, J., H., "Mass Spectrometry, A Text Book",First Edition, ***Springer-Verlag***, (2002).

Guruge, K. S., Seike, N., Yamanaka, N., Miyazaki, S., "Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins, -Dibenzofurans and Biphenyls in Domestic Animal Food Stuff and Their Fat" ***Chemosphere***, 58, 883-889, (2005).

Hamm, S., Grümping, R., Schwietering, J., "Levels of Polychlorinated Dibenzo(p)dioxins, Dibenzofurans and Dioxin-like PCBs in Milk, Milk Products and Eggs from West European Countries", ***Organohalogen Compounds***, 67, 1406-1408, (2005).

Hass, J. R., Friesen, M. D., Havran, D. J., Parker, C. E., "Determination of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins in Biological Samples by Negative Chemical Ionization Mass Spectrometry", ***Analytical Chemistry***, 50, 11, (1978).

Hays, S. M., Aylward, L., L., "Dioxin Risks in Perspective : Past, Present and Future", ***Regulatory Toxicology and Pharmacology***, 37, 202-217, (2003).

Hoffmann, E., D., Stroobant, V., "Mass Spectrometry : Principles and Applications", ***John Wiley & Sons***, Second Edition, England, (2002).

Her Majesty's Inspectorate of Pollution, "Risk Assessment of Dioxin Releases from Municipal Waste Incineration Processes", ***HMIP–3264***, (1996).

Im, S., H., Kanan, K., Giesy, J., P., Matsuda, M., Wakimoto, T., "Concentrations and Profiles of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans in Soils from Korea", ***Environmental Science and Technology***, 36, 3700-3705, (2002).

International Programme on Chemical Safety, "Environmental Health Criteria 88– Polychlorinated Dibenzo-para-dioxins and Dibenzofurans", ***IPCS***, (1989).

Jensen, E., Bolger, P., M., "Exposure Assesment of Dioxins/Furans Consumed in Dairy Foods and Fish", ***Food Additives and Contaminants***, 18, 395-403, (2001).

Karademir, A., "Tehlikeli Atık Yakma Tesisi Dioksin Emisyonlarının Doğadaki Dağılımlarının Modellenmesi ve Risk Değerlendirmesi", Doktora Tezi, ***Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, İzmit, (2002).

Kiviranta, H., Ovaskainen, M., L., Vartiainen, T., "Market Basket Study on Dietary Intake of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in Finland", ***Environment International***, 30, 923-932, (2004).

Laramee, J. A., Arbogast, B. C., Deinzer, M. L., "Electron Capture Negative Ion Chemical Ionization Mass Spectrometry of 1,2,3,4-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin", **Analytical Chemistry**, 58, 2907–2912, (1986).

Littlewood, V., A., B., "Gas Chromatography, Principles, Techniques and Applications", **Academic Press**, Second Edition, New York, (1970).

Llobet, J., M., Domingo, J., L., Bocio, A., Casas, C., Teixido, A., Müller, L., "Human Exposure to Dioxins through the Diet in Catalonia, Spain: Carcinogenic and Non-carcinogenic Risk", ***Chemosphere***, 50, 1193-1200, (2003).

Lohmann, R., Jones, K., C., "Dioxins and Furans in Air and Deposition : A Review of Levels, Behaviour and Processes", ***The Science of the Total Environment***, 219, 53-81, (1998).

Loutfy, N., Fuerhacker, M., Tundo, P., Raccanelli, S., El Dien, A., G., Tawfic Ahmed, M., "Dietary Intake of Dioxins and Dioxin-like PCBs, due to the Consumption of Dairy Products, Fish/Seafood and Meat from Ismailia City, Egypt", **The *Science of the Total Environment***, 370, 1-8, (2006).

Loutfy, N., Fuerhacker, M., Tundo, P., Raccanelli, S., Tawfic Ahmed, M., "Monitoring of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans, Dioxin-like PCBs and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food and Feed Samples from Ismailia City, Egypt", ***Chemosphere***, 66, 1962-1970, (2007).

Lundgren, K., Rappe, C., Tysklind, M., "Low-resolution Mass Spectrometric Relative Response Factors (RRFs) and Relative Retention Times (RRTs) on Two Common Gas Chromatographic Stationary Phases for 87 Polychlorinated Dibenzofurans", ***Chemosphere***, 55, 983-995, (2004).

Mai, T. A., "Sources and Fate of PCDDs and PCDFs In Rural and Urban Ecosystems and Food Chain in Southern Vietnam", Master Thesis, ***Ho Chi Minh University of Technology,*** Vietnam, (2005).

Malisch, R., "Update of PCDD/PCDF Intake from Food in Germany", ***Chemosphere***, 37, 1687-1698, (1998).

Meneses, M., Schuhmacher, M., Domingo, J., L., "A Design of Two Simple Models to Predict PCDD/F Concentrations in Vegatation and Soils", ***Chemosphere***, 46, 1393–402, (2002).

Moon, H., B., Lee, S., J., Choi, H., G., Ok, G., "Atmospheric Deposition of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and Dibenzofurans (PCDFs) in Urban and Suburban Areas of Korea", ***Chemosphere***, 58, 1525-1534, (2005).

Nagayanagi, Y., "Determination of Dioxins and Related Compounds with Low Resolution Masss Spectrometry", ***Analytical Sciences***, Vol. 17, 555-558, (2001).

Oh, J., E., Choi, J., S., Chang, Y., S., "Gas/Particle Partitioning of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans in Atmosphere; Evaluation of Predicting Models", ***Atmospheric Environment***, 35, 4125-4134, (2001).

Oh, J.E., Choi, S.D., Lee, S.J., Chang, Y.S., "Influence of a Municipal Solid Waste Incinerator on Ambient Air and Soil PCDD/Fs Levels", ***Chemosphere***, 64, 579-587, (2006).

Öztürk, T., "Toprakta Poliklorlu Bifenillerin Belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, ***Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, İzmit, (2000).

Papadopoulos, A., Vassiliadou, I., Costopoulou, D., Papanicolaou, C., Leondiadis, L., "Levels of Dioxins and Dioxin-like PCBs in Food Samples on the Greek Market", ***Chemosphere***, 57, 413-419, (2004).

Pirard, C., De Pauw, E., "Uptake of Polychlorodibenzo-p-dioxins, Polychlorodibenzofurans and Coplanar Polychlorobiphenyls in Chickens", ***Environment International***, 31, 585-591,(2005).

Rada, E. C., Ragazzi, M., Panaitescu, V., Apostal, T., "The Role of Bio-mechanical Treatments of Waste in the Dioxin Emission İnventories", ***Chemosphere,*** 62, 404-410, (2006).

Reiner, E. J., Schellenberg, D. H., Taguchi, V. Y., "Environmental Applications fort he Analysis of Chlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans Using Mass Spectrometry/Mass Spectrometry", ***Environmental Science and Technology,*** 25, 110-117, (1991).

Roots, O., Henkelmann, B., Schramm, K.W., "Concentration of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Polychlorinated Dibenzofurans in Soil in the Vicinity of a Landfill", ***Chemosphere***, 57, 337-342, (2004).

Sasamoto, T., Ushio, F., Kikutani, N., Saitoh, Y., Yamaki, Y., Hashimoto, T., Horii, S., Nakagawa, J., Ibe, A., "Estimation of 1999-2004 Dietary Daily Intake of PCDDs, PCDFs and Dioxin-like PCBs by a Total Diet Study in Metropolitan Tokyo, Japan", ***Chemosphere***, 64, 634-641, (2006).

Schecter, A., Cramer, P., Boggess, K., Stanley, J., Papke, O., Olson, J., Silver, A., Schmitz, M., "Intake of Dioxins and Related Compounds from Food in the U.S. Population", ***Journal of Toxicology and Environmental Health***, 63, 1-18, (2001).

Schmid, P., Gujer, E., Zennegg, M., Studer, C., "Temporal and Local Trends of PCDD/F Levels in Cow's Milk in Switzerland", ***Chemosphere*** , 53, 129-136, (2003).

Schröder, J., Welsch-Pausch, K., McLachlan, M., S., "Measurement of Atmospheric Deposition of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and Dibenzofurans (PCDFs) to a Soil", ***Atmospheric Environment***, 31, 2983-2989, (1997).

Schuhmacher, M., Domingho, J.L., Llobet, J.M., Sünderhauf, W., Müler, L., "Temporal Variation of PCDD/F Concentrations in Vegatation Samples Collected in the Vicinity of a Municipal Waste Incinerator (1996-1997)", ***The Science of the Total Environment***, 218, 175-183, (1998).

Schuhmacher, M., Granero, S., Rivera, J., Müller, L., Llobet, J.M., Domingo, J.L., "Atmospheric Deposition of PCDD/Fs Near an Old Municipal Solid Waste Incinerator : Levels in Soil and Vegatation", ***Chemosphere,*** 40, 593–600, (2000).

Schuhmacher, M., Agramunt, M., C., Rodriguez-Larena, M. C., Diaz-Ferrero, J., Domingo, J. L., "Baseline Levels of PCDD/F in Soil and Herbage Samples Collected in the Vicinity of a New Hazardous Waste Incinerator in Catolania, Spain", ***Chemosphere,*** 46, 1343–1350, (2002a).

Schuhmacher, M., Bocio, A., Agramunt, M.C., Domingo, J.L., De Kok H.A.M., "PCDD/F and Metal Concentrations in Soil and Herbage Samples Collected in the Vicinity of a Cement Plant", ***Chemosphere,*** 48, 209-217, (2002b).

Schuhmacher, M., Domingo, J. L., "Long-Term Study of Environmental Levels of Dioxins and Furans in the Vicinity of a Municipal Solid Waste Incinerator", ***Environment International***, 32, 397–404, (2006).

Scott, R., P., W., "Principles and Practice of Chromatography", ***Library for Science***, Chrom-Ed Book Series, Book 1, (2003).

Setle, F., A., "Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry", ***Prentice Hall***, 01311773380, (1997).

Singh, S. B., Kulshrestha,G., "Gas Chromotographic Analysis of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans",***Journal of Chromotography A,*** 774, 97-109, (1997).

Taioli, E., Marabelli, R., Scortichini, G., Migliorati, G., Pedotti, P., Cigliano, A., Caporale, V., on behalf of GLEV, "Human Exposure to Dioxins Throught Diet in Italy", ***Chemosphere*** , 61, 1672–1676, (2005).

Travis, C.C., Hattemer-Frey, H.A., "Human Exposure to Dioxin", ***The Science of the Total Environment***, 104, 97-127, (1991).

Tsutsumi, T., Yanagi, T., Nakamura, M., Kono, Y., Uchibe, H., Iida, T., Hori, T., Nakagawa, R., Tobiishi, K., Matsuda, R., Sasaki, K., Toyoda, M., "Update of Daily Intake of PCDDs, PCDFs and Dioxin-like PCBs from Food in Japan", ***Chemosphere***, 45, 1129-1137, (2001).

United States Environmental Protection Agency, Office of the Science Advisor, "Guidance: A Toxicity Equivalency Factor Procedure for Estimating 2,3,7,8-Tetrachloro Dibenzo-p-dioxin Equivalents in Mixtures of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Polychlorinated Dibenzofurans", Chapter 9, ***US EPA,OSA***, (1992).

United States Environmental Protection Agency, "Exposure and Human Health Reassessment of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-Dioxin (TCDD) and Related Compounds**,** Part I,II , II " , ***US EPA,*** 600/P-00/001Cb, (2003).

Van den Berg, M., Birnbaum, L., S., Denison, M., De Vito, M., Farland,W., Feeley, M., Fiedler, H., Hakansson, H., Hanberg, A.,Haws, L.,Rose,M., Safe, S., Schrenk, D., Tohyama, C., Tritscher, A., Tuomisto, J., Tysklind, M., Walker, N., Peterson, R.E., "The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds", ***Toxicological Sciences***, 93, 223-241,(2006).

Van Leeuwen, F. X. R., Feeley, M., Schrenk, D., Larsen, J. C., Farland, W., Younes, M., "Dioxins: WHO's Tolerable Daily Intake (TDI) Revisited", ***Chemosphere***, 40, 1095-1101, (2000).

Vizard, C.G., Rimmer, D.L., Pless-Mulloli, T., Singleton, I., Air, V.S., "Identifying Contemporary and Historic Sources of Soil Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Polychlorinated Dibenzofurans in an Industrial Urban Setting", ***The Science of the Total Environment,*** (2006).

Weber, L.,W., D., Greim, H., "The Toxicity of Brominated and Mixed-Halogenated Dibenzo-p-Dioxins and Dibenzofurans : An Overview", ***Journal of Toxicology and Environmental Health***, 50, 195 – 215, (1997).

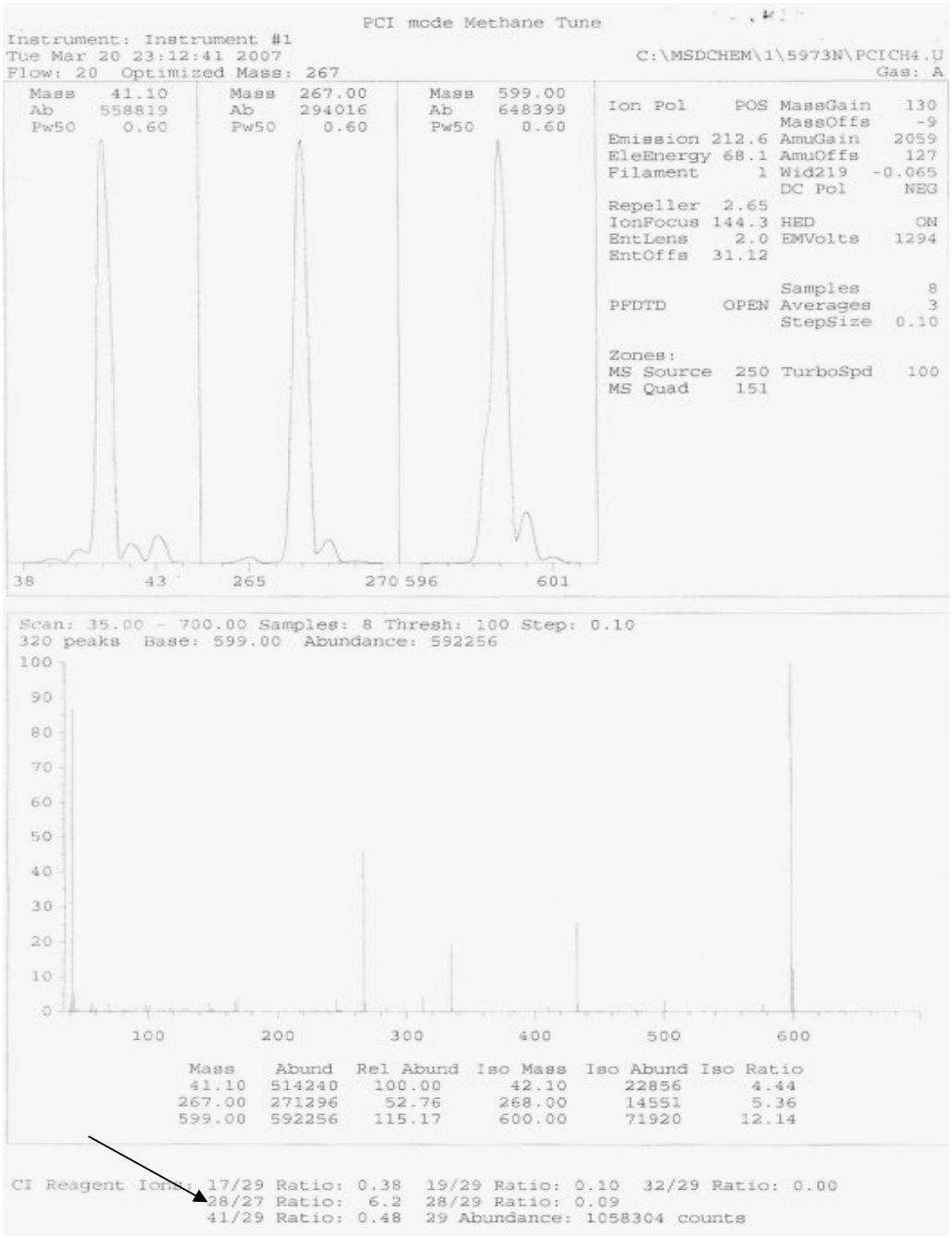
World Health Organization International Agency for Research on Cancer, "Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans,Volume 69: Polychlorinated Dibenzo-para-Dioxins and Polychlorinated Dibenzofurans", ***WHO-IARC,*** 1746-01-6, (1997).

World Health Organization Consultation, "Assessment of the Health Risk of Dioxins: Re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI)", ***WHO-IPCS***,(1998).

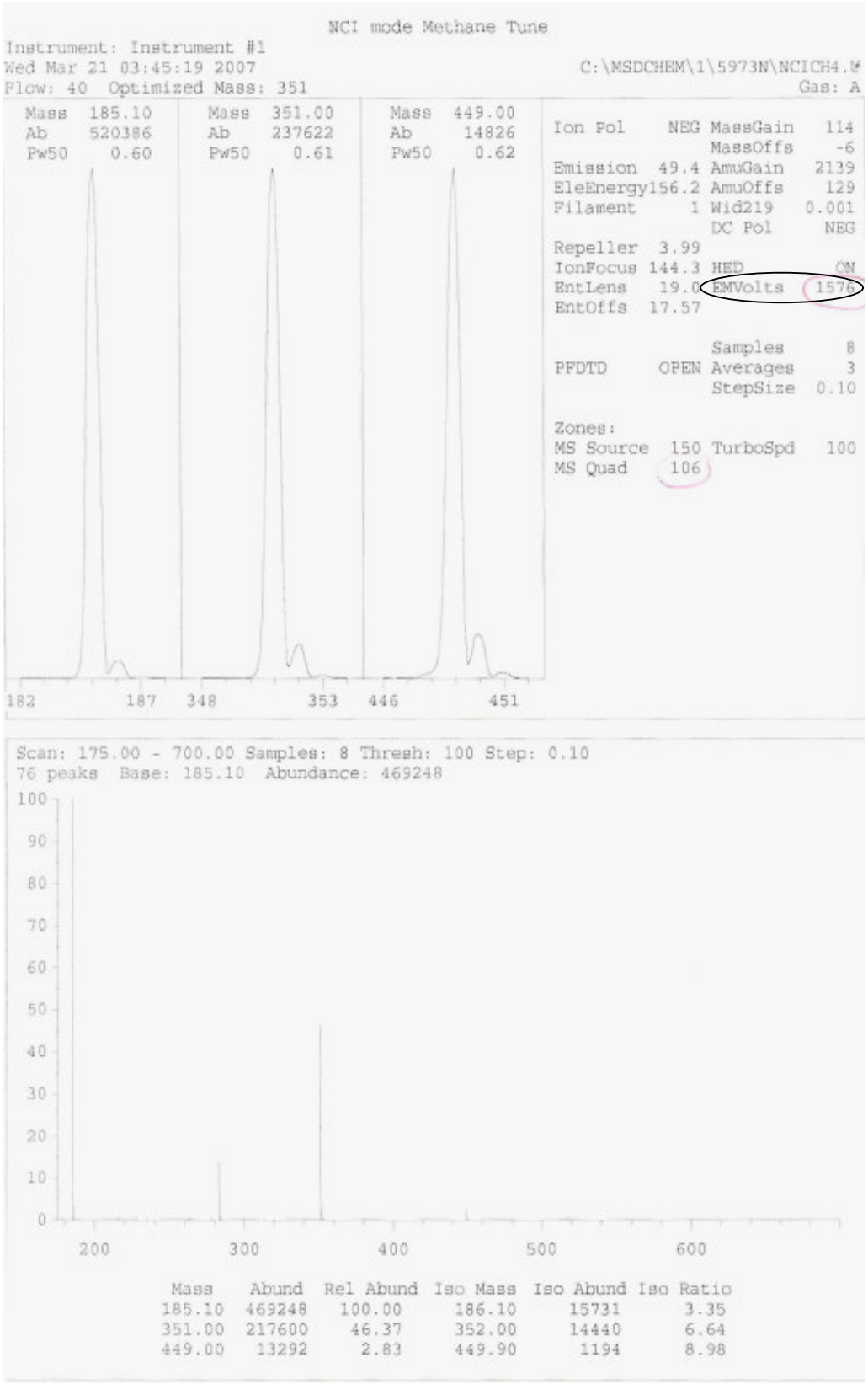
World Health Organization Regional Office for Europe, "Air Quality Guidelines for Europe", Second Edition, ***WHO-Regional Publications,European Series,*** *91,* (2000).

EKLER

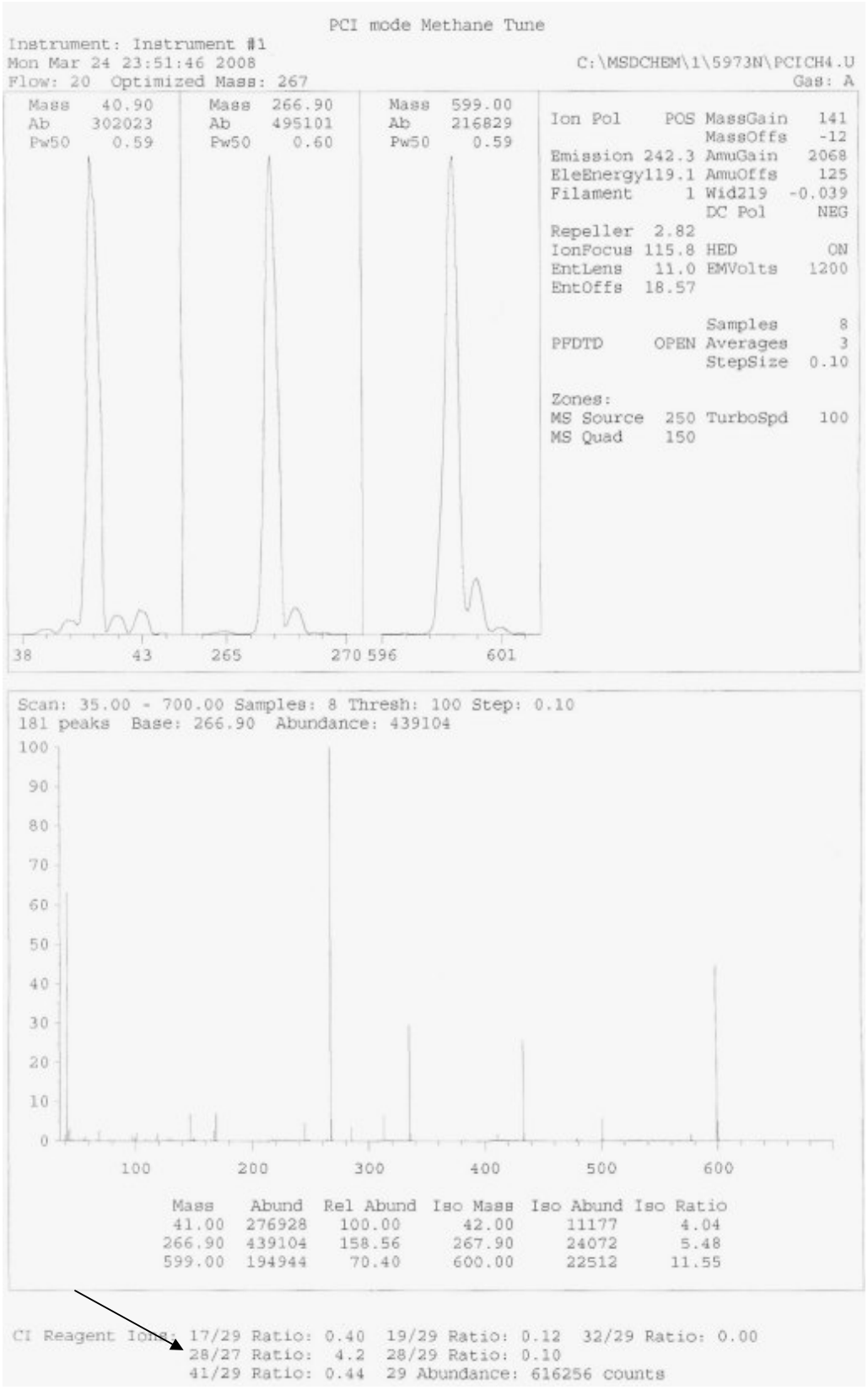
EK 1



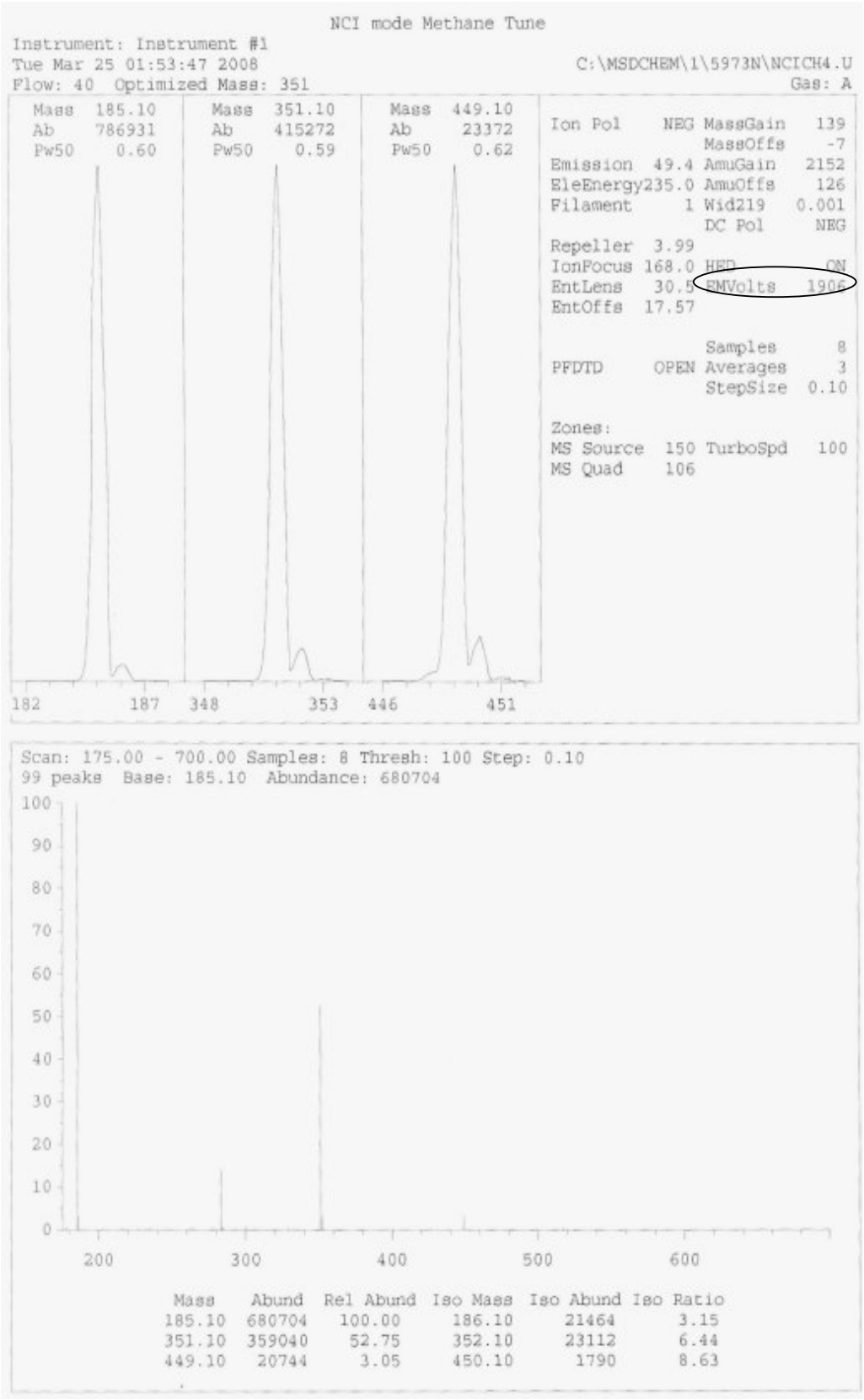
Şekil 1: Tune 1 için PCI modunda alınan autotune raporu



Şekil 2: Tune 1 için NCI modunda alınan autotune raporu



Şekil 3: Tune 2 için PCI modunda alınan autotune raporu



Şekil 4: Tune 2 için NCI modunda alınan autotune raporu

EK 2



```
                              TOPLEVEL PARAMETERS
                              -------------------

Method Information For: C:\MSDCHEM\1\METHODS\DIOXIN FURAN7SIM.M

Method Sections To Run:

  (X) Save Copy of Method With Data
  ( ) Pre-Run Cmd/Macro  =
  (X) Data Acquisition
  (X) Data Analysis
  ( ) Post-Run Cmd/Macro =

Method Comments:
  This is a CHEMICAL IONIZATION method.

                              END OF TOPLEVEL PARAMETERS
                              --------------------------

                              INSTRUMENT CONTROL PARAMETERS
                              -----------------------------

Sample Inlet:       GC
Injection Source:   Manual
Injection Location: Front
Mass Spectrometer:  Enabled

------------------------------------------------------------------------------
                              HP6890 GC METHOD
------------------------------------------------------------------------------

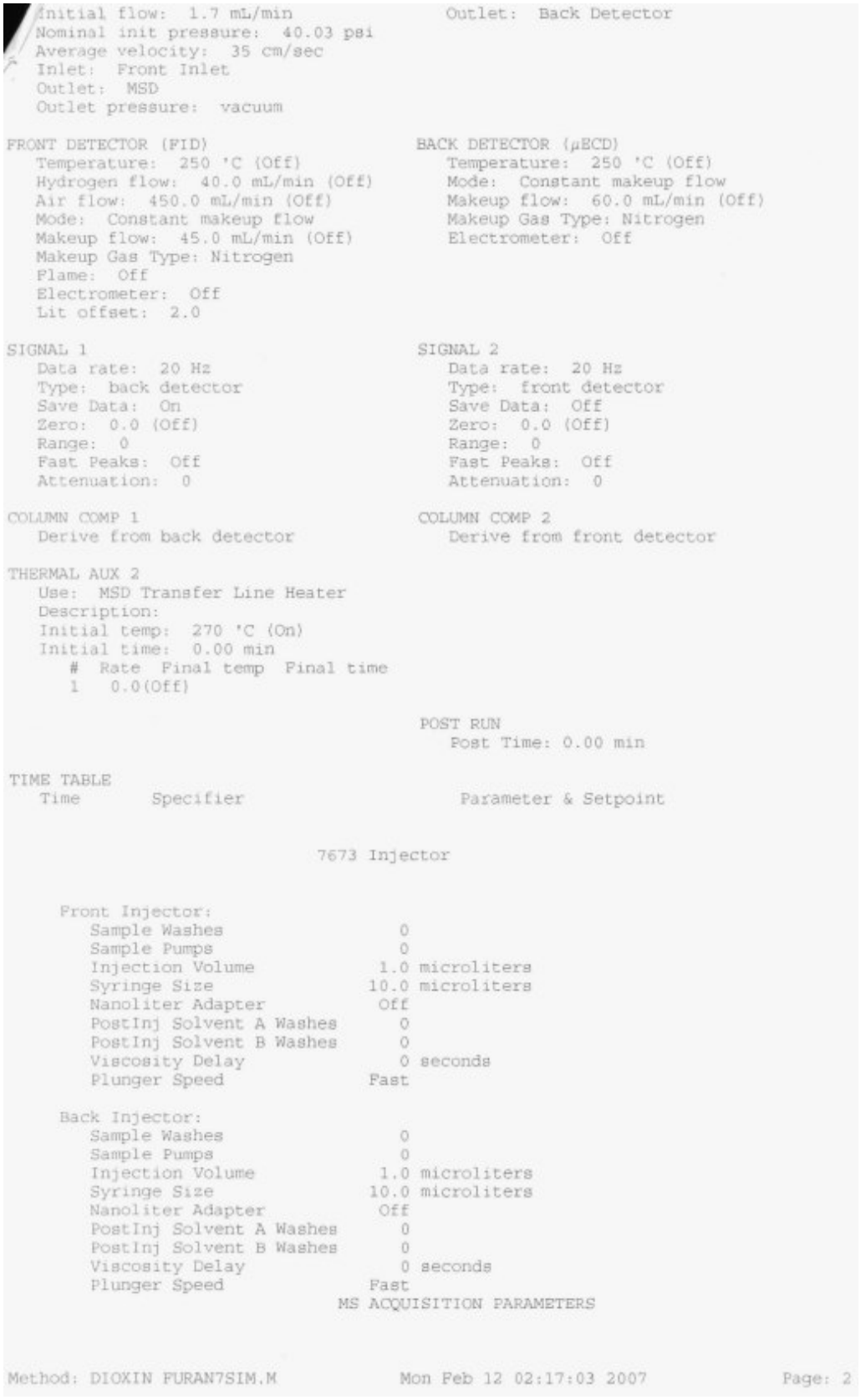
OVEN
   Initial temp:  180 'C (On)              Maximum temp:  270 'C
   Initial time:  2.00 min                 Equilibration time:  0.50 min
   Ramps:
      #  Rate  Final temp  Final time
      1  5.00      220        2.00
      2  2.50      270       40.00
      3   0.0(Off)
   Post temp:  0 'C
   Post time:  0.00 min
   Run time:  72.00 min

FRONT INLET (UNKNOWN)                   BACK INLET ()
   Mode:  Splitless
   Initial temp:  270 'C (On)
   Pressure:  40.03 psi (On)
   Purge flow:  0.8 mL/min
   Purge time:  2.00 min
   Total flow:  4.8 mL/min
   Gas saver:  On
   Saver flow:  20.0 mL/min
   Saver time:  2.00 min
   Gas type:  Helium

COLUMN 1                                COLUMN 2
   Capillary Column                        Capillary Column
   Model Number:  JW 122-2462              Model Number:  JW 122-2462
   DB DIOXIN                               DB DIOXIN
   Max temperature:  270 'C                Max temperature:  270 'C
   Nominal length:  60.0 m                 Nominal length:  60.0 m
   Nominal diameter:  250.00 um            Nominal diameter:  250.00 um
   Nominal film thickness:  0.30 um        Nominal film thickness:  0.30 um
   Mode:  constant flow                    Inlet:  (unspecified)

Method: DIOXIN FURAN7SIM.M          Mon Feb 12 02:17:03 2007          Page: 1
```

Şekil 1: Çalışmada kullanılan metoda (Metot 7) ait parametreleri gösteren çıktılar (1)



```
   Initial flow:  1.7 mL/min                    Outlet:  Back Detector
   Nominal init pressure:  40.03 psi
   Average velocity:  35 cm/sec
   Inlet:  Front Inlet
   Outlet:  MSD
   Outlet pressure:  vacuum

FRONT DETECTOR (FID)                        BACK DETECTOR (μECD)
   Temperature:  250 'C (Off)                   Temperature:  250 'C (Off)
   Hydrogen flow:  40.0 mL/min (Off)            Mode:  Constant makeup flow
   Air flow:  450.0 mL/min (Off)                Makeup flow:  60.0 mL/min (Off)
   Mode:  Constant makeup flow                  Makeup Gas Type: Nitrogen
   Makeup flow:  45.0 mL/min (Off)              Electrometer:  Off
   Makeup Gas Type: Nitrogen
   Flame:  Off
   Electrometer:  Off
   Lit offset:  2.0

SIGNAL 1                                    SIGNAL 2
   Data rate:  20 Hz                            Data rate:  20 Hz
   Type:  back detector                         Type:  front detector
   Save Data:  On                               Save Data:  Off
   Zero:  0.0 (Off)                             Zero:  0.0 (Off)
   Range:  0                                    Range:  0
   Fast Peaks:  Off                             Fast Peaks:  Off
   Attenuation:  0                              Attenuation:  0

COLUMN COMP 1                               COLUMN COMP 2
   Derive from back detector                    Derive from front detector

THERMAL AUX 2
   Use:  MSD Transfer Line Heater
   Description:
   Initial temp:  270 'C (On)
   Initial time:  0.00 min
      #  Rate  Final temp  Final time
      1   0.0(Off)

                                            POST RUN
                                               Post Time: 0.00 min

TIME TABLE
   Time       Specifier                         Parameter & Setpoint

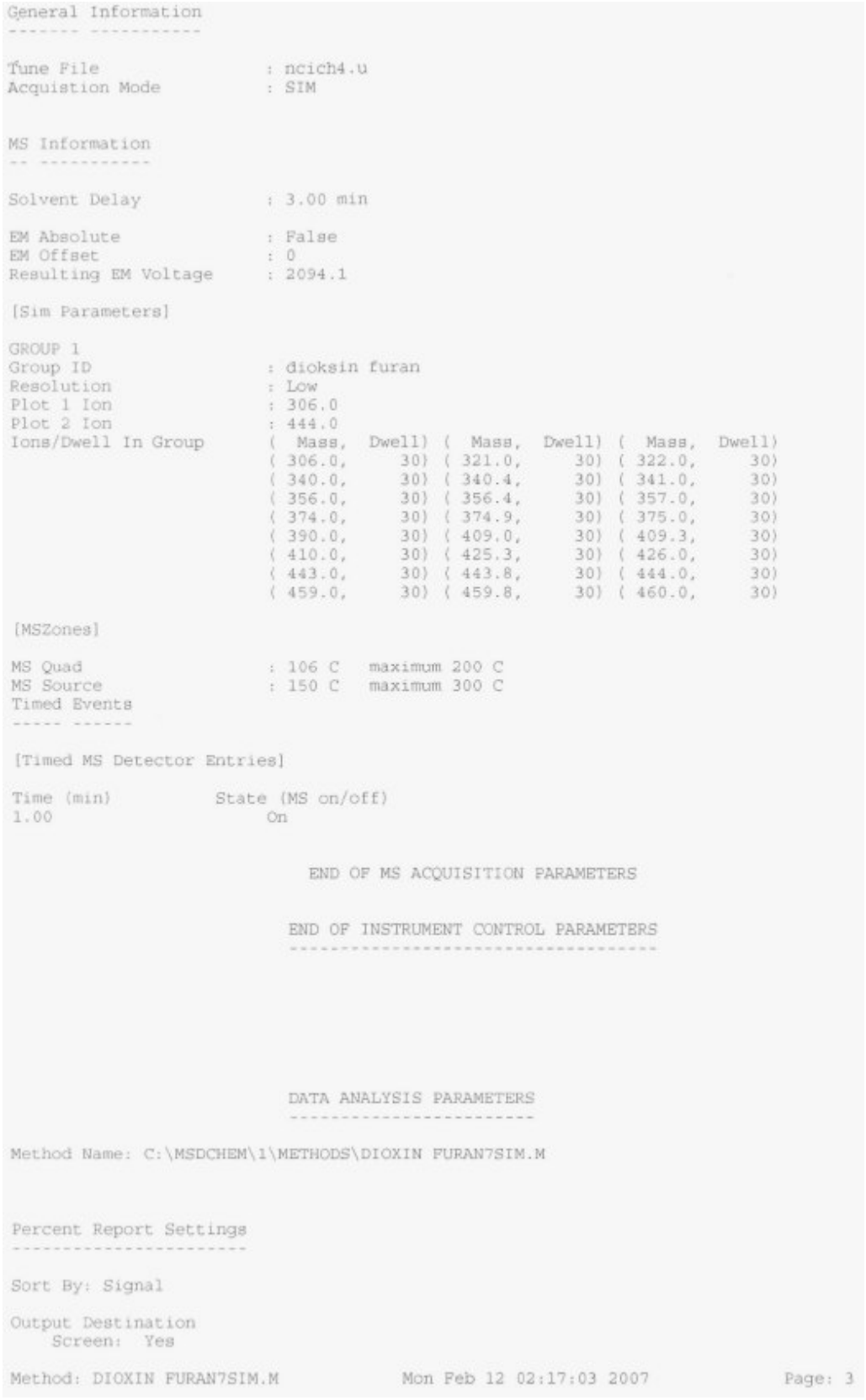
                              7673 Injector

     Front Injector:
        Sample Washes                 0
        Sample Pumps                  0
        Injection Volume            1.0 microliters
        Syringe Size               10.0 microliters
        Nanoliter Adapter           Off
        PostInj Solvent A Washes      0
        PostInj Solvent B Washes      0
        Viscosity Delay               0 seconds
        Plunger Speed              Fast

     Back Injector:
        Sample Washes                 0
        Sample Pumps                  0
        Injection Volume            1.0 microliters
        Syringe Size               10.0 microliters
        Nanoliter Adapter           Off
        PostInj Solvent A Washes      0
        PostInj Solvent B Washes      0
        Viscosity Delay               0 seconds
        Plunger Speed              Fast
                              MS ACQUISITION PARAMETERS


Method: DIOXIN FURAN7SIM.M          Mon Feb 12 02:17:03 2007          Page: 2
```

Şekil 2: Çalışmada kullanılan metoda (Metot 7) ait parametreleri gösteren çıktılar (2)



```
General Information
------- -----------

Tune File                : ncich4.u
Acquistion Mode          : SIM


MS Information
-- -----------

Solvent Delay            : 3.00 min

EM Absolute              : False
EM Offset                : 0
Resulting EM Voltage     : 2094.1

[Sim Parameters]

GROUP 1
Group ID                 : dioksin furan
Resolution               : Low
Plot 1 Ion               : 306.0
Plot 2 Ion               : 444.0
Ions/Dwell In Group      (  Mass,  Dwell) (  Mass,  Dwell) (  Mass,  Dwell)
                         ( 306.0,     30) ( 321.0,     30) ( 322.0,     30)
                         ( 340.0,     30) ( 340.4,     30) ( 341.0,     30)
                         ( 356.0,     30) ( 356.4,     30) ( 357.0,     30)
                         ( 374.0,     30) ( 374.9,     30) ( 375.0,     30)
                         ( 390.0,     30) ( 409.0,     30) ( 409.3,     30)
                         ( 410.0,     30) ( 425.3,     30) ( 426.0,     30)
                         ( 443.0,     30) ( 443.8,     30) ( 444.0,     30)
                         ( 459.0,     30) ( 459.8,     30) ( 460.0,     30)

[MSZones]

MS Quad                  : 106 C   maximum 200 C
MS Source                : 150 C   maximum 300 C
Timed Events
----- ------

[Timed MS Detector Entries]

Time (min)          State (MS on/off)
1.00                     On

                           END OF MS ACQUISITION PARAMETERS

                          END OF INSTRUMENT CONTROL PARAMETERS
                          -----------------------------------







                          DATA ANALYSIS PARAMETERS
                          ------------------------

Method Name: C:\MSDCHEM\1\METHODS\DIOXIN FURAN7SIM.M


Percent Report Settings
-----------------------

Sort By: Signal

Output Destination
    Screen:  Yes

Method: DIOXIN FURAN7SIM.M           Mon Feb 12 02:17:03 2007           Page: 3
```

Şekil 3: Çalışmada kullanılan metoda (Metot 7) ait parametreleri gösteren çıktılar (3)



```
   Printer: No
   File:    No

Integration Events: AutoIntegrate

Generate Report During Run Method:  Yes

Signal Correlation Window: 0.020


Qualitative Report Settings
---------------------------

Peak Location of Unknown: Apex

Library to Search      Minimum Quality
C:\Database\DIOXIN FURAN.L 0

Integration Events: AutoIntegrate

Report Type: Summary

Output Destination
    Screen:  Yes
    Printer: No
    File:    No

Generate Report During Run Method:  Yes


Quantitative Report Settings
----------------------------

Report Type: Summary

Output Destination
    Screen:  Yes
    Printer: No
    File:    No

Generate Report During Run Method:  No



Calibration Last Updated:


Reference Window: 10.00 Percent
Non-Reference Window: 5.00 Percent
Correlation Window: 0.02 minutes
Default Multiplier: 1.00
Default Sample Concentration: 0.00

Compound Information
--------------------

------------------------------------------------------------------------------
*** Empty Quantitation Database ***


                  END OF DATA ANALYSIS PARAMETERS
                  -------------------------------

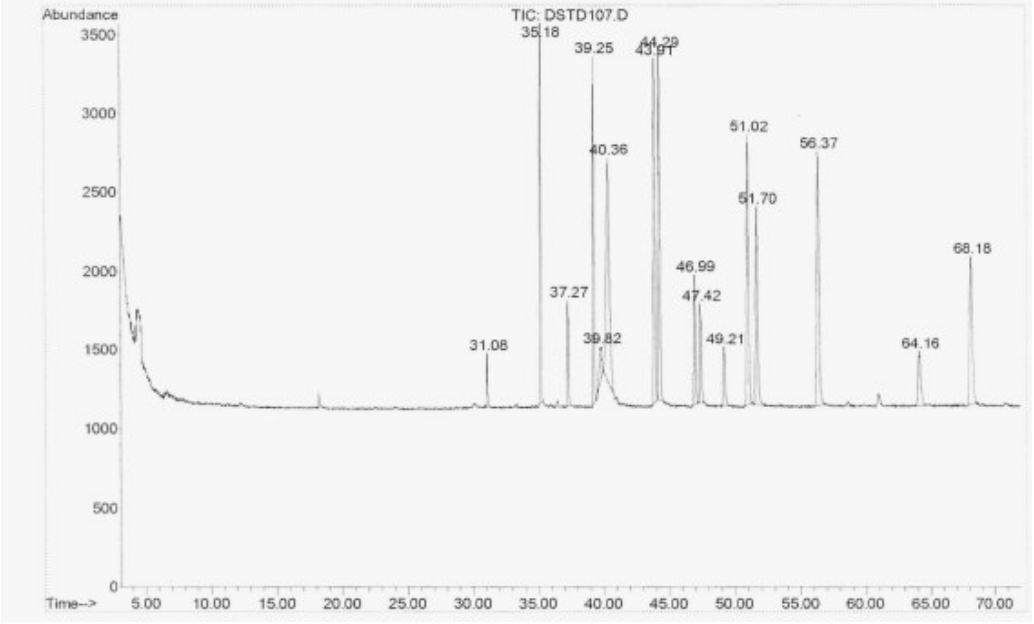
                        Mon Feb 12 02:17:03 2007


Method: DIOXIN FURAN7SIM.M          Mon Feb 12 02:17:03 2007          Page: 4
```

Şekil 4: Çalışmada kullanılan metoda (Metot 7) ait parametreleri gösteren çıktılar (4)

EK 3

```
File       : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD107.D
Operator   : SEDA ASLAN
Acquired   : 27 Dec 2006   2:50     using AcqMethod DIOXIN F
Instrument :    Instrumen
Sample Name: EDF 5008 MAT.SPI. SOL.
Misc Info  : 1/100
Vial Number: 1
```



NCI Peak Area Percent Report

```
Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD107.D                    Vial: 1
Acq On    : 27 Dec 2006    2:50                        Operator: SEDA ASLAN
Sample    : EDF 5008 MAT.SPI. SOL.                      Inst    : Instrumen
Misc      : 1/100                                     Multiplr: 1.00
                                                   Sample Amount: 0.00

MS Integration Params: RTEINT.P

Method    : C:\MSDCHEM\1\METHODS\DIOXIN FURAN7SIM.M (RTE Integrator)
Title     :
Smoothing : ON                                    Filtering: 5
Sampling  : 1                                      Min Area: 3 % of largest Peak
Start Thrs: 0.2                                   Max Peaks: 100
Stop Thrs : 0                                Peak Location: TOP

If leading or trailing edge < 100 prefer < Baseline drop else tangent >
Peak separation: 5

Signal    : TIC
```

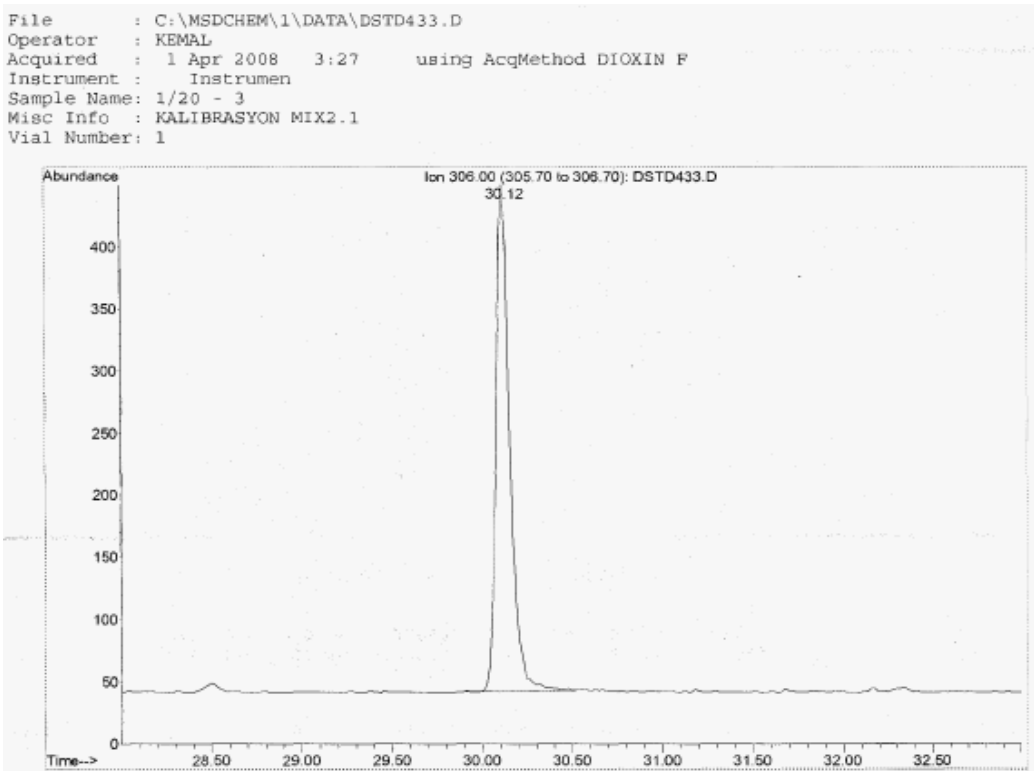
peak #	R.T. min	M.W. (1)	max Scan	Peak Wid.	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	31.058	306	1464	13	rVB	342	1732	5.50%	0.885%
2	35.168	340	1679	32	rBV	2443	14020	44.53%	7.166%
3	37.271	356	1789	26	rBV	684	4318	13.72%	2.207%
	39.241	340	1892	19	rBV	2233	14986	47.60%	7.660%
5	39.757	460	1919	16	rBV	326	3004	9.54%	1.535%
6	40.350	444	1950	47	rVB2	1535	31482	100.00%	16.092%
7	43.906	374	2136	21	rBV	2214	17979	57.11%	9.190%
8	44.288	374	2156	28	rVB	2241	18287	58.09%	9.347%
9	46.984	390	2297	22	rBV2	837	7347	23.34%	3.755%
10	47.405	390	2319	22	rVV	631	5523	17.54%	2.823%
11	49.202	390	2413	27	rBV2	384	3894	12.37%	1.990%
12	51.018	374	2508	36	rBV	1731	18381	58.39%	9.395%
13	51.688	374	2543	36	rVV3	1257	13188	41.89%	6.741%
14	56.353	410	2787	38	rBV3	1625	20142	63.98%	10.295%
15	60.999	410	3030	27	rBV7	89	1209	3.84%	0.618%
16	64.154	391	3195	39	rBV2	350	5132	16.30%	2.623%
17	68.169	410	3405	48	rBV3	956	15018	47.70%	7.676%

Sum of corrected areas: 195642

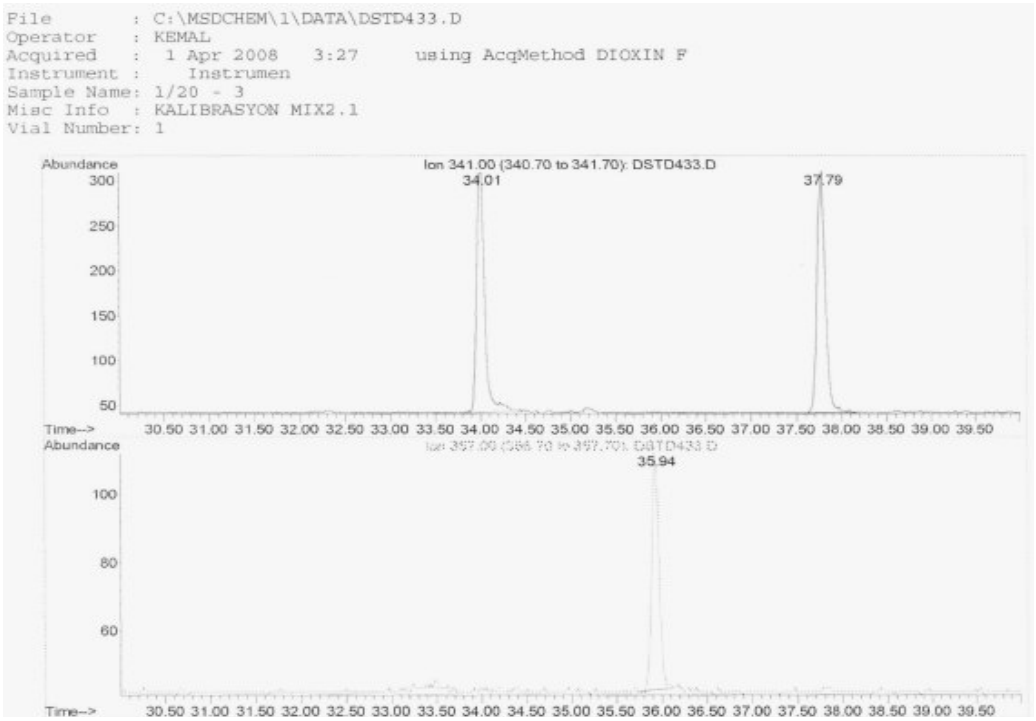
ssible Molecular Weights assume that the base peak is M. Fragmentation, derivatization, or mixtures may invalidate that assumption.

Şekil 1: EDF 5008 için elde edilmiş örnek bir kromatogram ve pik yüzdelerinin raporu

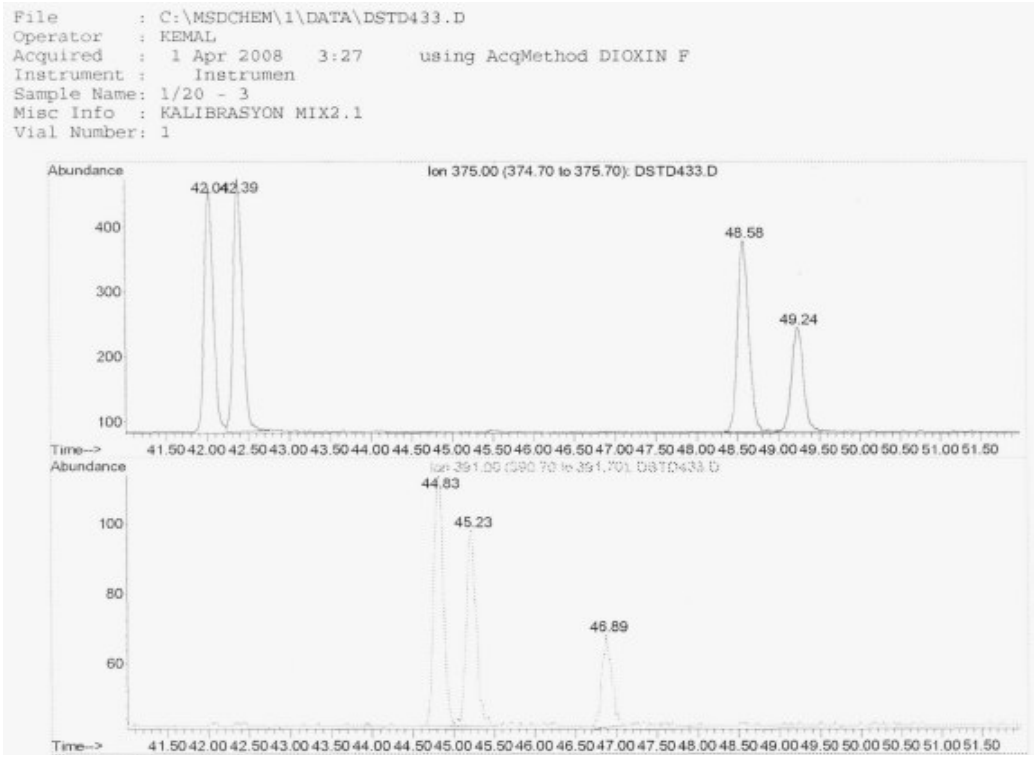
EK 4



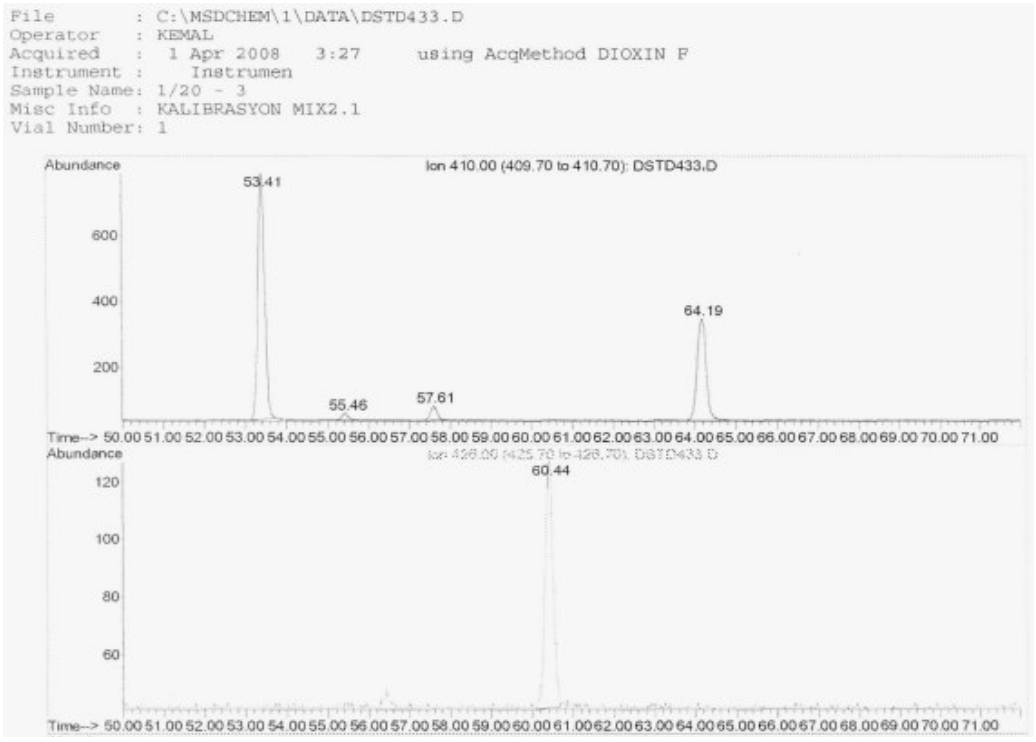
Şekil 1: 2,3,7,8 TCDF konjeneri için alınmış kromatogram



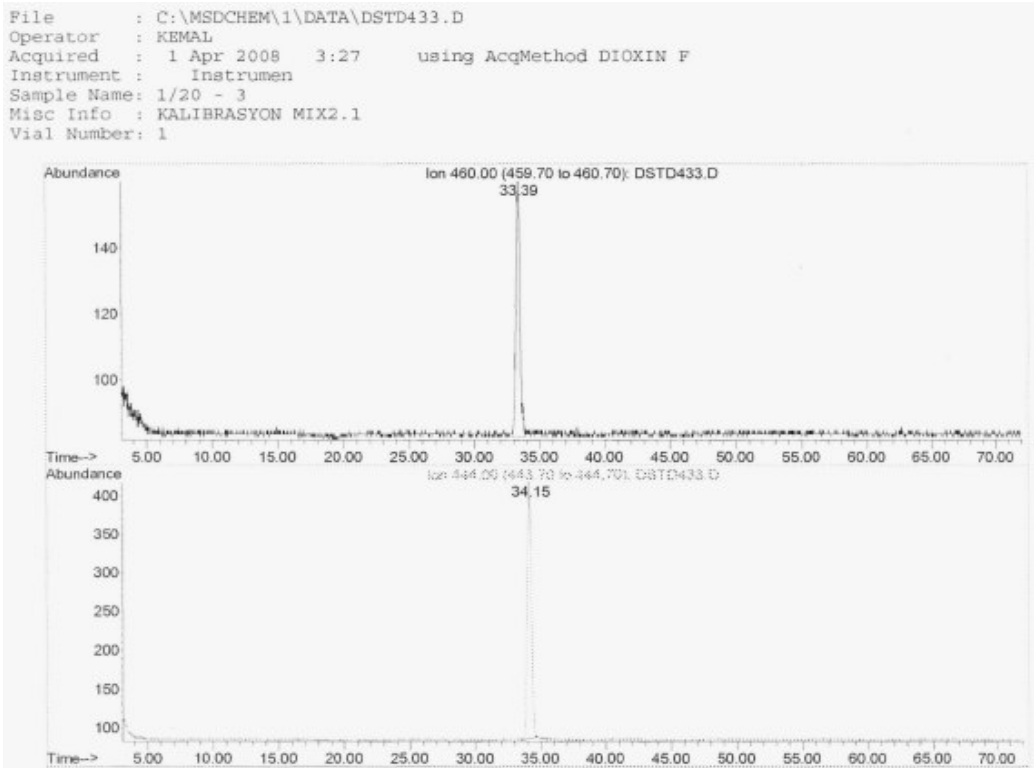
Şekil 2: 1,2,3,7,8 PeCDF, 1,2,3,7,8 PeCDD, 2,3,4,7,8 PeCDF konjenerleri için alınmış kromatogram



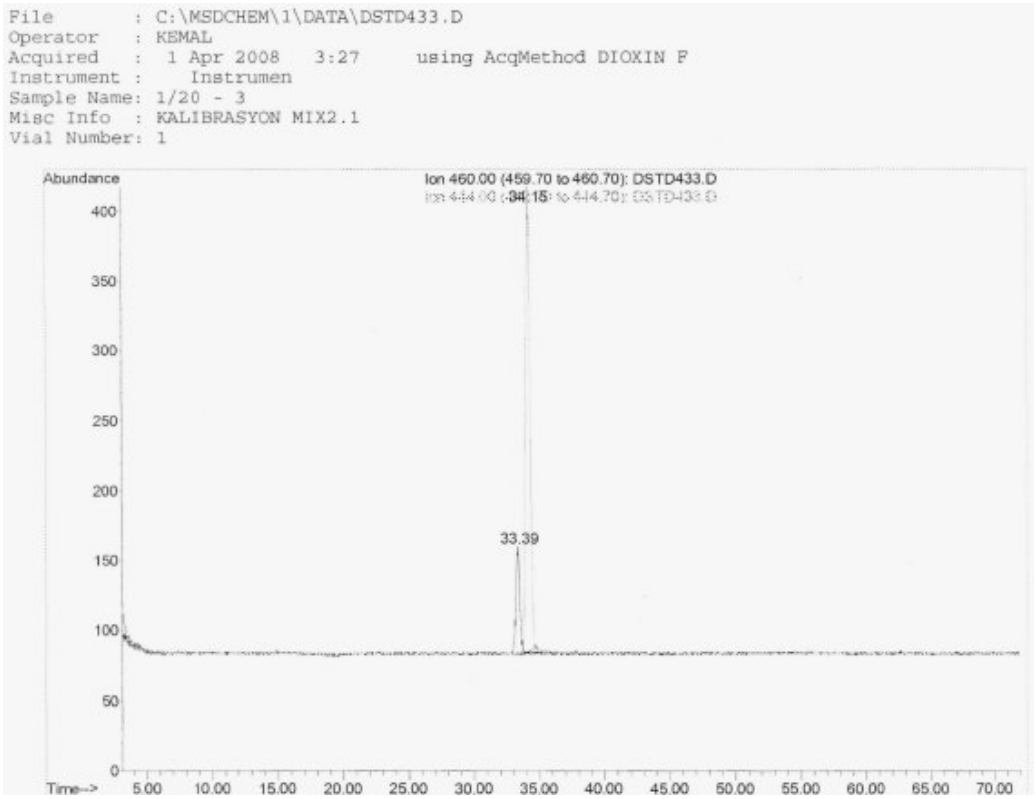
Şekil 3: 1,2,3,4,7,8 HxCDF, 1,2,3,6,7,8 HxCDF, 1,2,3,4,7,8 HxCDD, 1,2,3,6,7,8 HxCDD, 1,2,3,7,8,9 HxCDD, 2,3,4,6,7,8 HxCDF ve 1,2,3,7,8,9 HxCDF konjenerleri için alınmış kromatogram



Şekil 4: 1,2,3,4,6,7,8 HpCDF, 1,2,3,4,6,7,8 HpCDD ve 1,2,3,4,7,8,9 HpCDF konjenerleri için alınmış kromatogram



Şekil 5: OCDD ve OCDF konjenerleri için alınmış kromatogram



Şekil 6: OCDD ve OCDF konjenerleri için alınmış kromatogram

EK 5

Tablo 1: Pilot kalibrasyon çalışmasında 1/20 seyreltme oranı için elde edilen enjeksiyon verileri

Pik No	KONJENER	ALIKONMA ZAMANLARI (dakika)			PİK YÜKSEKLİKLERİ			PİK ALANLARI		
		ENJEKSİYONLAR			ENJEKSİYONLAR			ENJEKSİYONLAR		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	**2,3,7,8 TCDF**	30,263	30,281	30,300	4843	4629	5435	254115	232660	265797
2	**OCDD**	34,566	34,566	34,566	4865	5467	3897	979576	1234121	786577
3	**1,2,3,7,8 PeCDF**	34,198	34,216	34,235	45844	46764	48676	2547305	3310769	2740644
4	**OCDF**	35,117	35,356	35,356	16382	18202	15876	3712218	4169861	3234565
5	**1,2,3,7,8 PeCDD**	36,166	36,166	36,202	12617	11876	13567	737258	735142	882292
6	**2,3,4,7,8 PeCDF**	38,023	38,041	38,078	42275	40242	44133	2764619	2627440	2887494
7	**1,2,3,4,7,8 HxCDF**	42,344	42,381	42,417	42640	39569	44777	3257790	3149821	3466806
8	**1,2,3,6,7,8 HxCDF**	42,712	42,730	42,767	43479	41389	46564	3537838	3484003	3843469
9	**1,2,3,4,7,8 HxCDD**	45,194	45,231	45,268	14995	14550	16192	1289134	1235796	1380905
10	**1,2,3,6,7,8 HxCDD**	45,599	45,635	45,672	11165	10849	12372	1004093	956638	1080239
11	**1,2,3,7,8,9 HxCDD**	47,290	47,327	47,364	6402	6244	6893	601510	576261	654237
12	**2,3,4,6,7,8 HxCDF**	48,982	49,019	49,074	31651	30931	33435	3204166	3069502	3362039
13	**1,2,3,7,8,9 HxCDF**	49,644	49,681	49,736	21317	20459	23255	2231381	2147043	2448429
14	**1,2,3,4,6,7,8 HpCDF**	53,910	53,965	54,002	30716	29901	32933	3606474	3613008	3994324
15	**1,2,3,4,6,7,8 HpCDD**	61,063	61,137	61,192	4806	4605	4999	652429	640855	718641
16	**1,2,3,4,7,8,9 HpCDF**	64,870	64,925	64,998	14137	14602	16036	2279204	2275112	2498510

Tablo 2: Pilot kalibrasyon çalışmasında 1/50 seyreltme oranı için elde edilen enjeksiyon verileri

Pik No	KONJENER	ALIKONMA ZAMANLARI (dakika)			PİK YÜKSEKLİKLERİ			PİK ALANLARI		
		ENJEKSİYONLAR			ENJEKSİYONLAR			ENJEKSİYONLAR		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	**2,3,7,8 TCDF**	30,318	30,281	30,281	3163	2882	2498	165194	153615	127815
2	**OCDD**	33,812	33,954	33,954	2150	3605	1987	461721	730801	332111
3	**1,2,3,7,8 PeCDF**	34,253	34,216	34,217	30967	27712	23433	1724550	1581508	1384914
4	**OCDF**	35,430	35,283	35,283	8631	13585	8234	1874309	3170563	1345343
5	**1,2,3,7,8 PeCDD**	36,221	36,166	36,184	8042	7559	6436	488028	452693	405884
6	**2,3,4,7,8 PeCDF**	38,096	38,041	38,041	28234	25274	21301	1825463	1652439	1421974
7	**1,2,3,4,7,8 HxCDF**	42,454	42,362	42,381	27102	24275	20832	2126918	1929524	1670486
8	**1,2,3,6,7,8 HxCDF**	42,804	42,730	42,730	27892	25326	21432	2273825	2114500	1825582
9	**1,2,3,4,7,8 HxCDD**	45,304	45,213	45,231	9745	8411	7605	802053	749579	655816
10	**1,2,3,6,7,8 HxCDD**	45,709	45,617	45,636	6785	6508	5697	617121	583505	502165
11	**1,2,3,7,8,9 HxCDD**	47,401	47,309	47,309	3865	3478	3274	368116	331850	302551
12	**2,3,4,6,7,8 HxCDF**	49,111	49,019	49,019	20644	19004	15925	2040384	1845579	1615133
13	**1,2,3,7,8,9 HxCDF**	49,773	49,681	49,681	13338	11933	10384	1432790	1276328	1111345
14	**1,2,3,4,6,7,8 HpCDF**	54,076	53,947	53,947	18303	16978	15253	2252269	1998661	1759061
15	**1,2,3,4,6,7,8 HpCDD**	61,265	61,118	61,118	2535	2432	2176	353385	329325	300815
16	**1,2,3,4,7,8,9 HpCDF**	65,053	64,906	64,888	8243	7161	6896	1292893	1149420	1061136

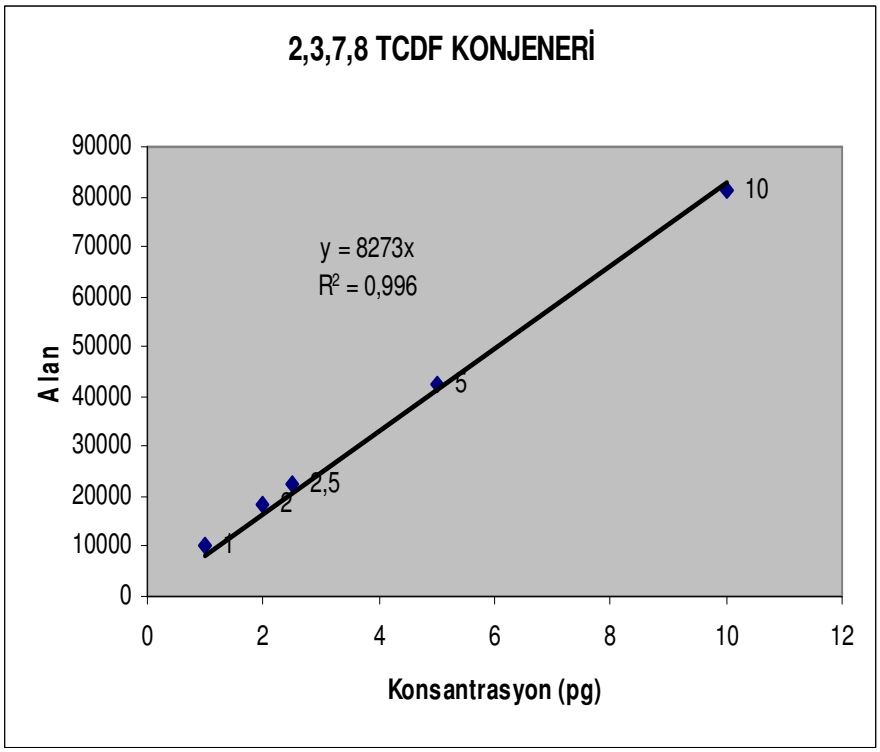
Tablo 3: Pilot kalibrasyon çalışmasında 1/100 seyreltme oranı için elde edilen enjeksiyon verileri

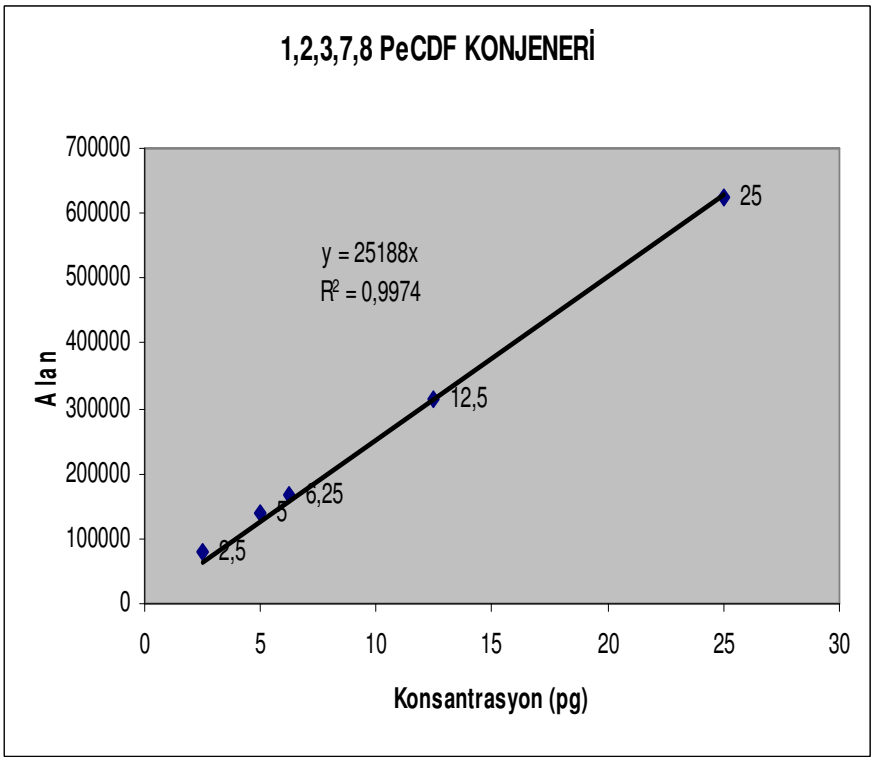
Pik No	KONJENER	ALIKONMA ZAMANLARI (dakika)			PİK YÜKSEKLİKLERİ			PİK ALANLARI		
		ENJEKSİYONLAR			ENJEKSİYONLAR			ENJEKSİYONLAR		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	**2,3,7,8 TCDF**	30,208	30,226	30,245	855	1025	1313	46151	57086	67980
2	**OCDD**	33,987	33,987	33,987	100	89	167	175170	142563	213432
3	**1,2,3,7,8 PeCDF**	34,106	34,143	34,180	7627	9933	12382	434345	584603	808630
4	**OCDF**	34,897	34,989	34,989	562	3162	6567	307902	452035	765432
5	**1,2,3,7,8 PeCDD**	36,055	36,110	36,129	2017	2512	3205	113408	155481	200489
6	**2,3,4,7,8 PeCDF**	37,912	37,963	37,986	7152	8993	11542	466361	618468	760238
7	**1,2,3,4,7,8 HxCDF**	42,215	42,270	42,307	6166	8771	11171	488572	698705	882757
8	**1,2,3,6,7,8 HxCDF**	42,565	42,638	42,675	6330	8902	11888	514243	748749	974791
9	**1,2,3,4,7,8 HxCDD**	45,047	45,102	45,157	2041	3066	3820	168318	259652	328892
10	**1,2,3,6,7,8 HxCDD**	45,452	45,507	45,562	1414	2194	2652	118726	200767	248149
11	**1,2,3,7,8,9 HxCDD**	47,125	47,199	47,235	716	1238	1567	66359	113188	150447
12	**2,3,4,6,7,8 HxCDF**	48,817	48,890	48,945	4199	6456	8504	422157	651571	850521
13	**1,2,3,7,8,9 HxCDF**	49,460	49,552	49,607	2631	4125	5345	284458	446620	569846
14	**1,2,3,4,6,7,8 HpCDF**	53,708	53,800	53,873	2598	5364	7338	318901	632504	883797
15	**1,2,3,4,6,7,8 HpCDD**	60,824	60,916	60,990	363	705	1017	45851	105203	139054
16	**1,2,3,4,7,8,9 HpCDF**	64,575	64,686	64,796	1193	2280	3256	179750	372303	512731

Tablo 4: Pilot kalibrasyon çalışmasında 1/200 seyreltme oranı için elde edilen enjeksiyon verileri

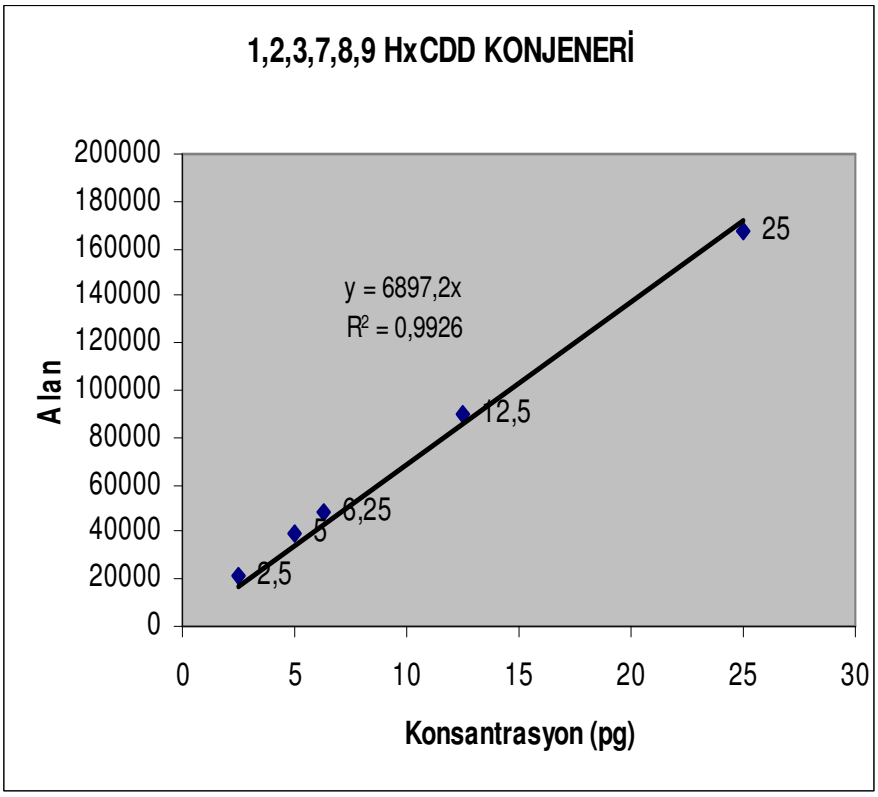
Pik No	KONJENER	ALIKONMA ZAMANLARI (dakika)			PİK YÜKSEKLİKLERİ			PİK ALANLARI		
		ENJEKSİYONLAR			ENJEKSİYONLAR			ENJEKSİYONLAR		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	**2,3,7,8 TCDF**	30,263	30,245	30,208	862	669	660	44796	36995	33265
2	**OCDD**	33,897	33,925	33,925	415	454	423	53529	43952	62345
3	**1,2,3,7,8 PeCDF**	34,180	34,161	34,124	8420	6192	5933	493283	355546	349334
4	**OCDF**	34,915	34,926	34,926	1117	1707	1698	231500	223028	213444
5	**1,2,3,7,8 PeCDD**	36,147	36,129	36,092	1820	1454	1424	110700	95609	87323
6	**2,3,4,7,8 PeCDF**	38,004	37,968	37,931	7777	5993	5645	526804	386720	374912
7	**1,2,3,4,7,8 HxCDF**	42,326	42,289	42,252	7396	5659	5355	581656	438517	416914
8	**1,2,3,6,7,8 HxCDF**	42,693	42,657	42,601	7346	5687	5357	646465	460712	443820
9	**1,2,3,4,7,8 HxCDD**	45,176	45,139	45,084	2348	1873	1758	205327	162071	146018
10	**1,2,3,6,7,8 HxCDD**	45,562	45,544	45,488	1618	1327	1207	148937	119219	102568
11	**1,2,3,7,8,9 HxCDD**	47,254	47,217	47,162	902	743	725	88947	76657	68383
12	**2,3,4,6,7,8 HxCDF**	48,964	48,909	48,872	5331	4150	3938	540827	424941	396576
13	**1,2,3,7,8,9 HxCDF**	49,607	49,571	49,515	3356	2618	2535	248273	278255	259573
14	**1,2,3,4,6,7,8 HpCDF**	53,873	53,818	53,763	4142	3351	3121	498179	408047	391893
15	**1,2,3,4,6,7,8 HpCDD**	61,008	60,953	60,898	540	463	419	75914	67952	59554
16	**1,2,3,4,7,8,9 HpCDF**	64,833	64,741	64,649	1776	1540	1389	273183	242863	219107

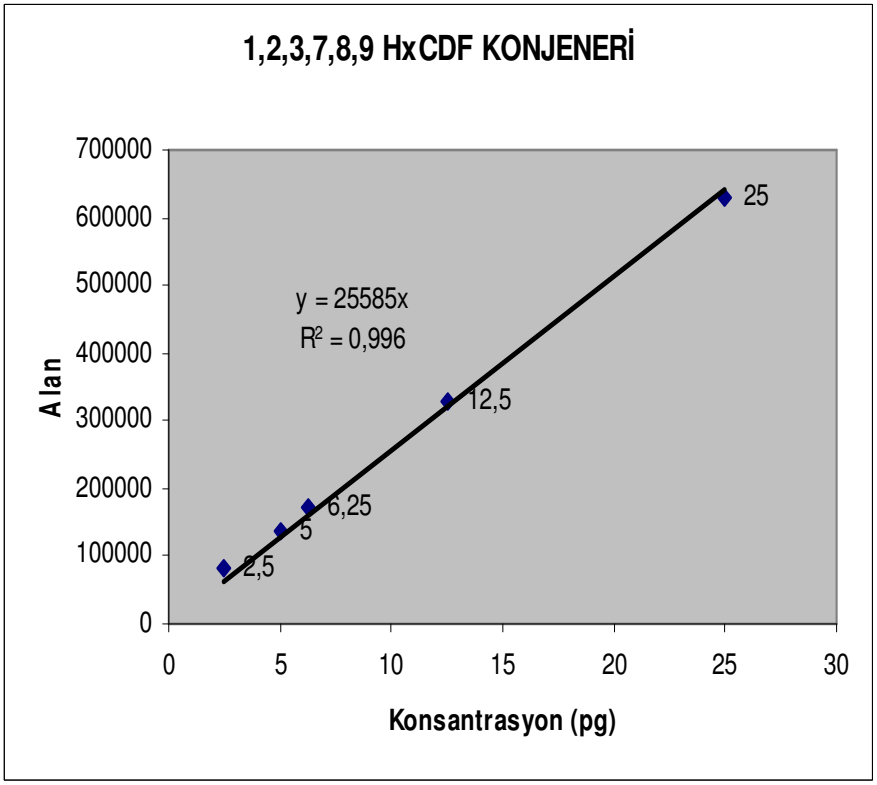
EK 6



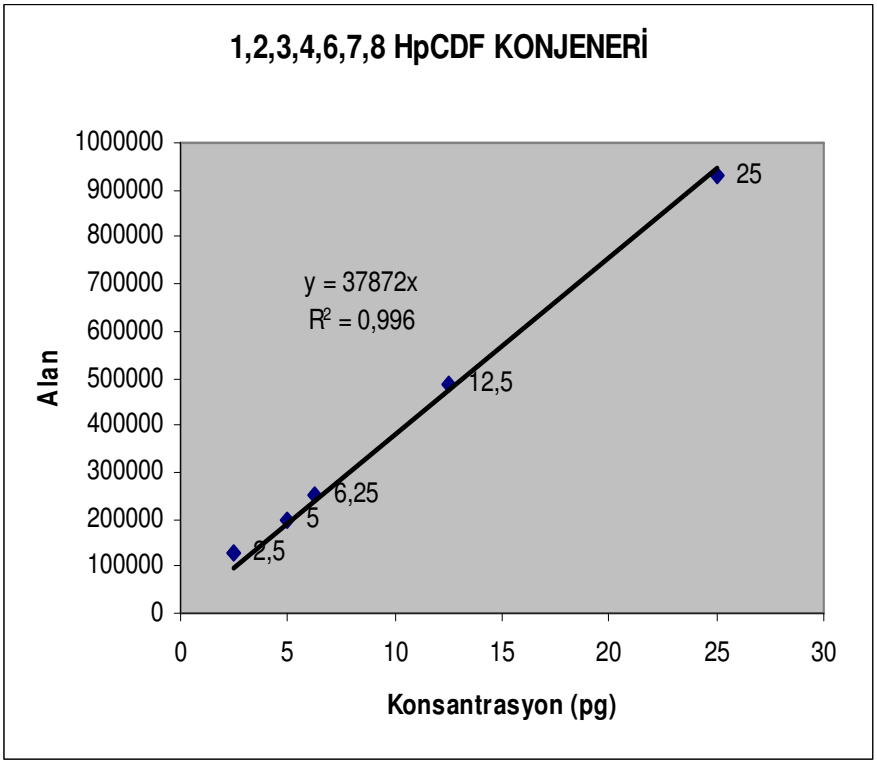


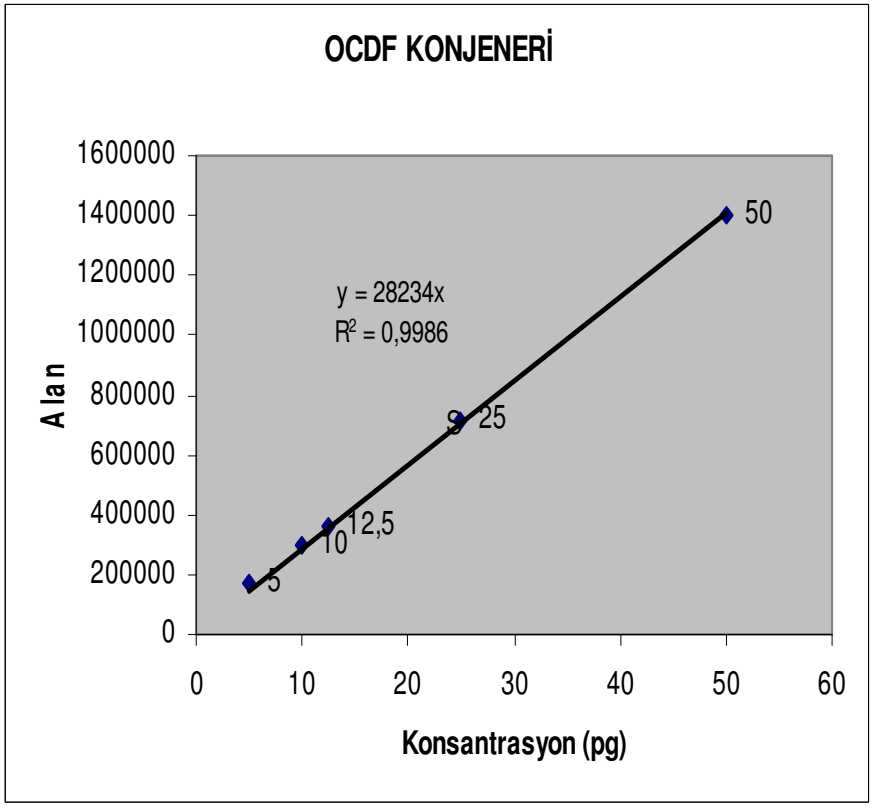
Şekil 1: 1 numaralı kalibrasyon için elde edilen kalibrasyon eğrilerinden bazıları



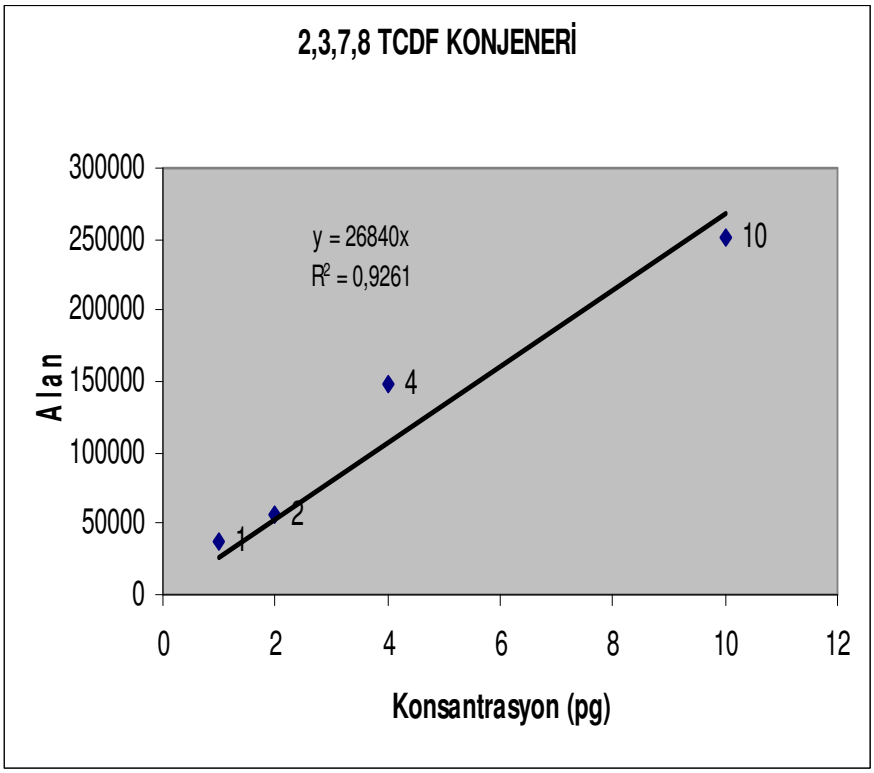


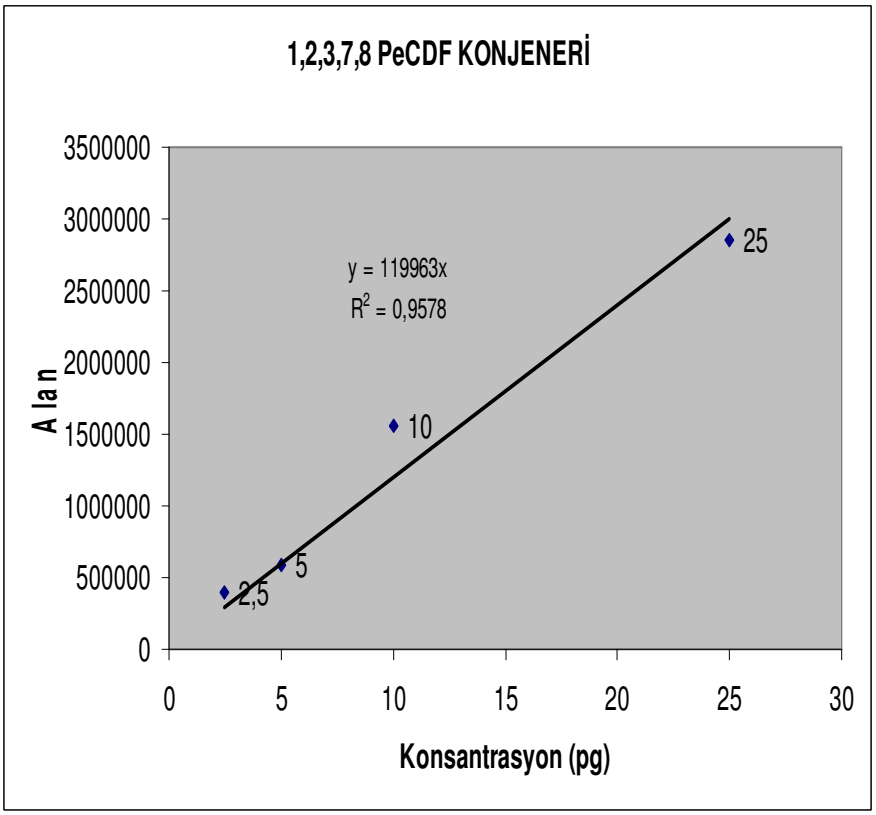
Şekil 2: 1 numaralı kalibrasyon için elde edilen kalibrasyon eğrilerinden bazıları



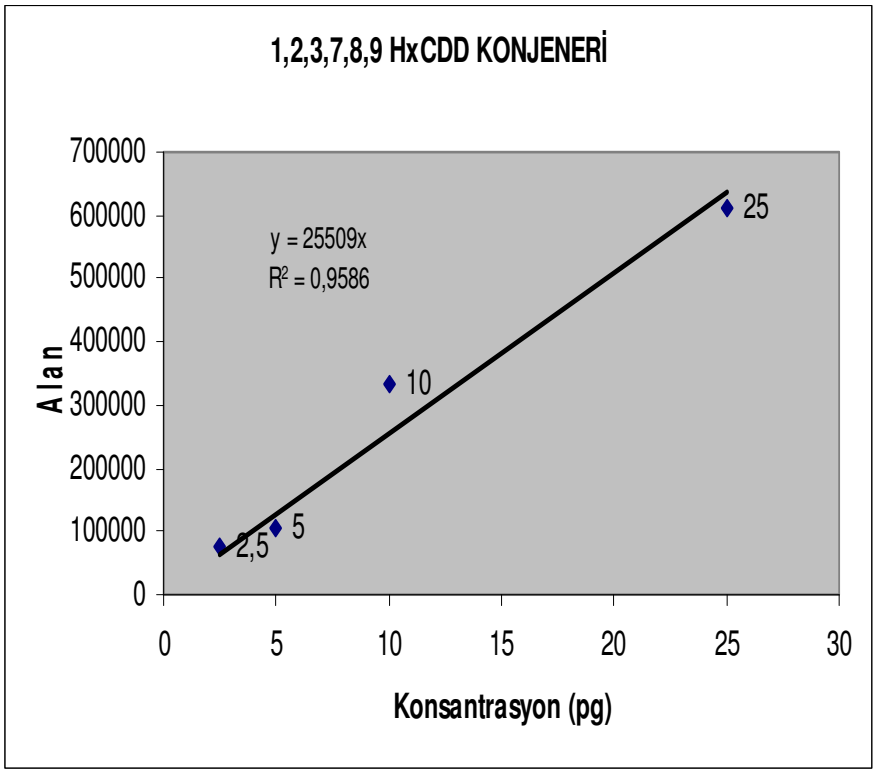


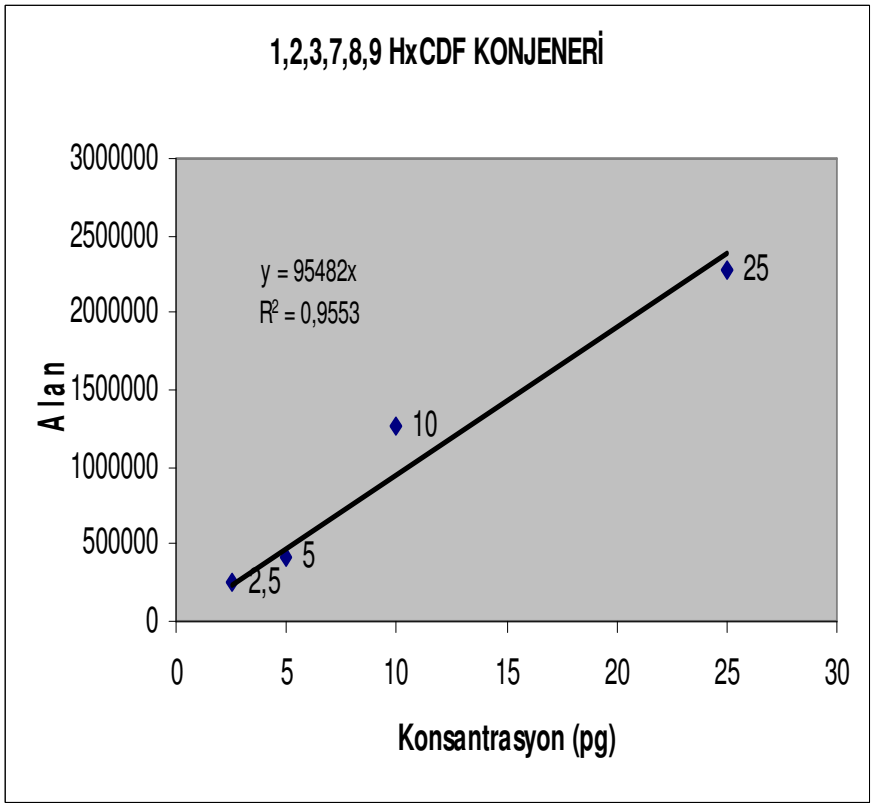
Şekil 3: 1 numaralı kalibrasyon için elde edilen kalibrasyon eğrilerinden bazıları



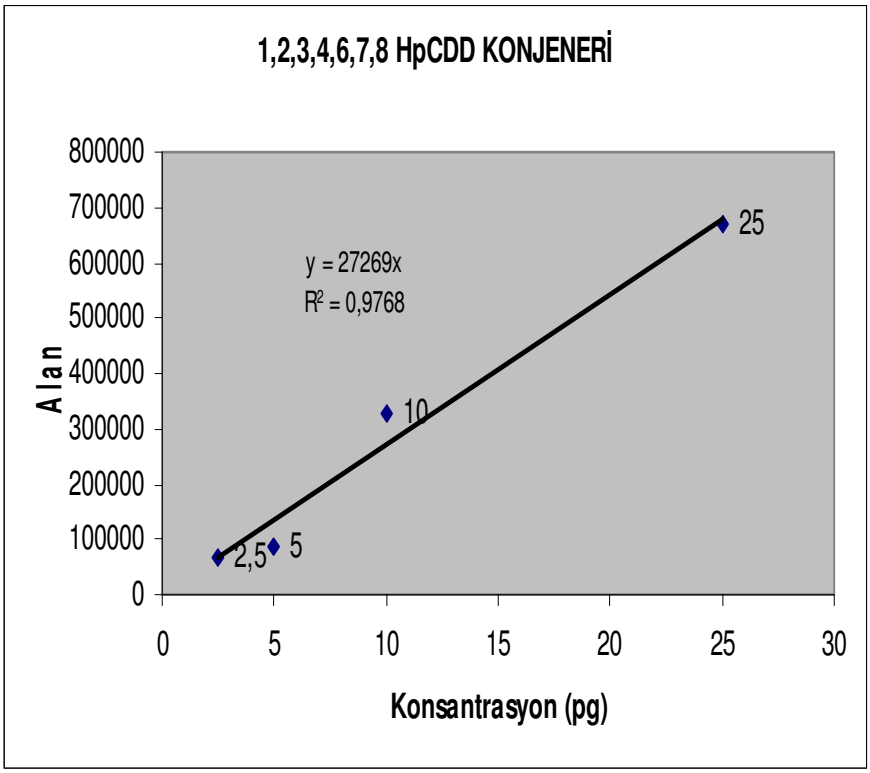


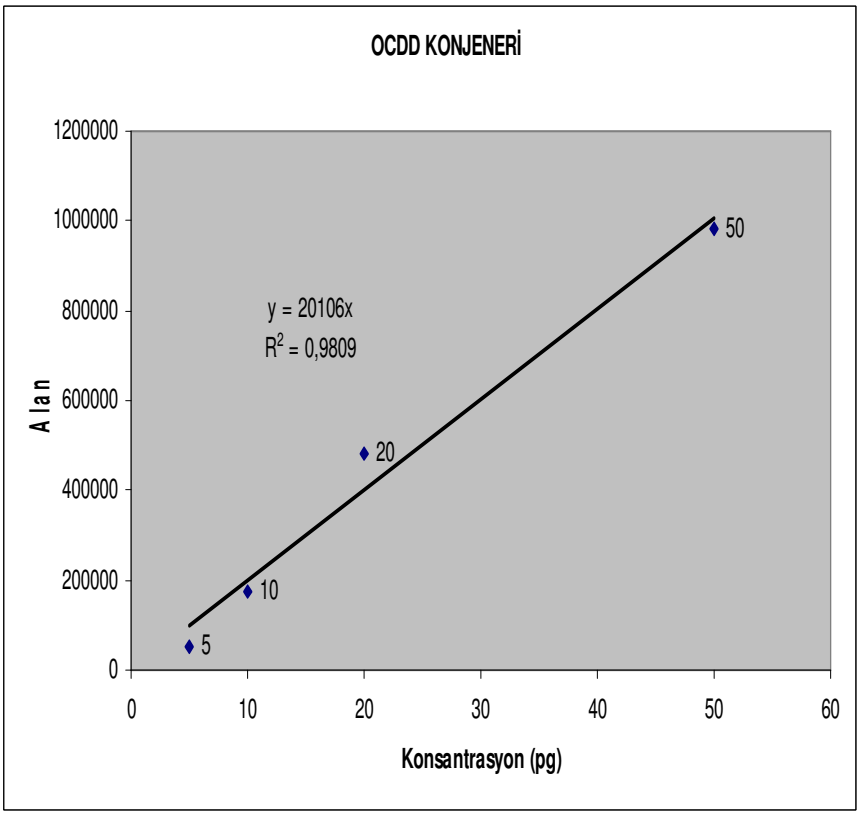
Şekil 4: 2 numaralı kalibrasyon için elde edilen kalibrasyon eğrilerinden bazıları



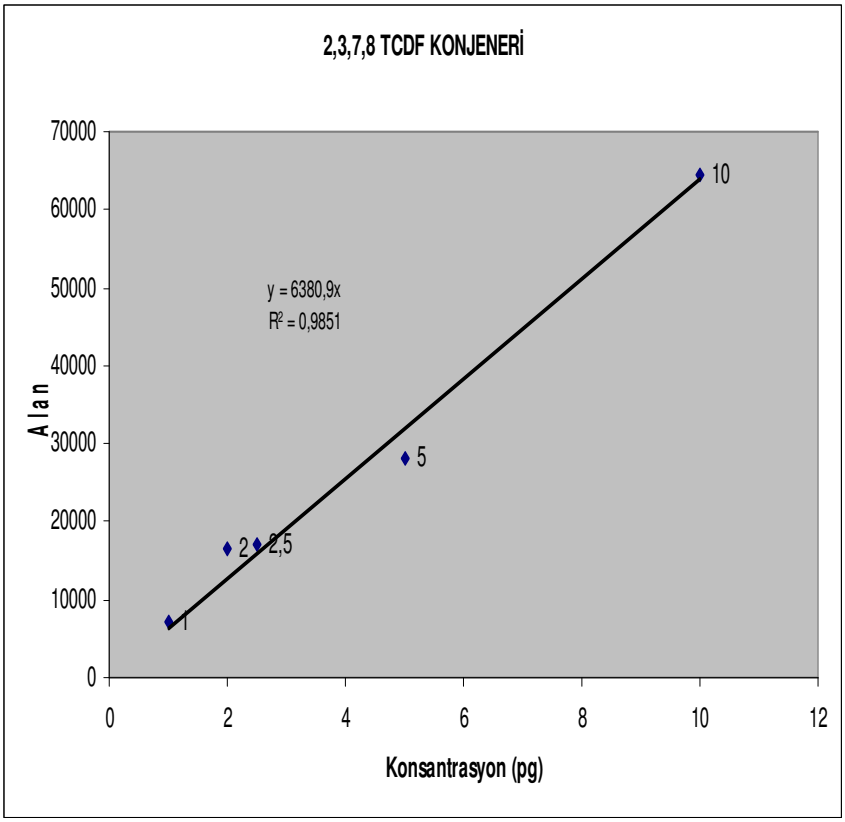


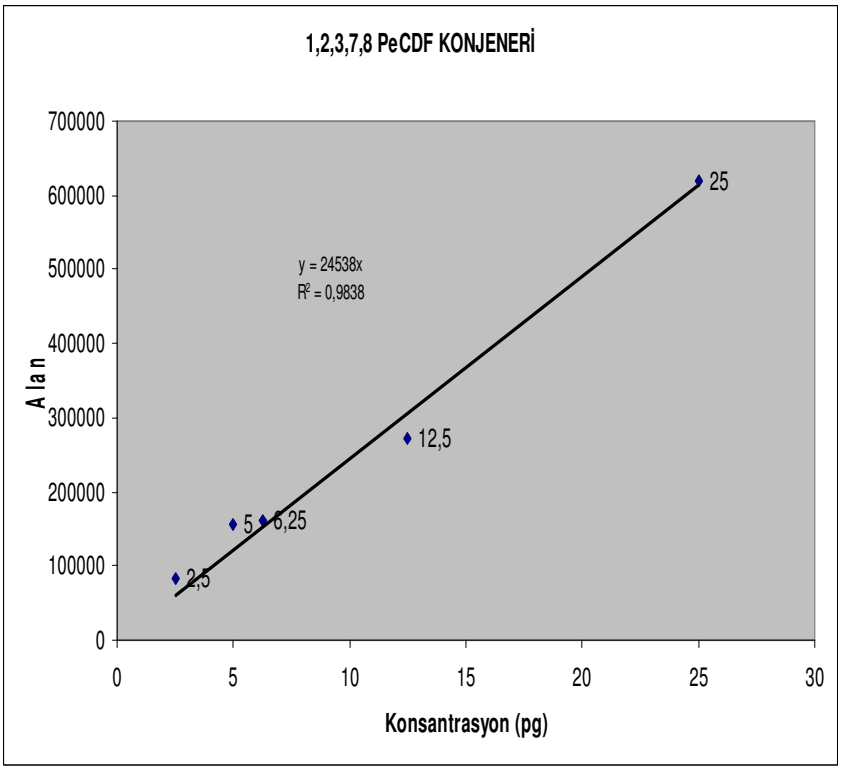
Şekil 5: 2 numaralı kalibrasyon için elde edilen kalibrasyon eğrilerinden bazıları



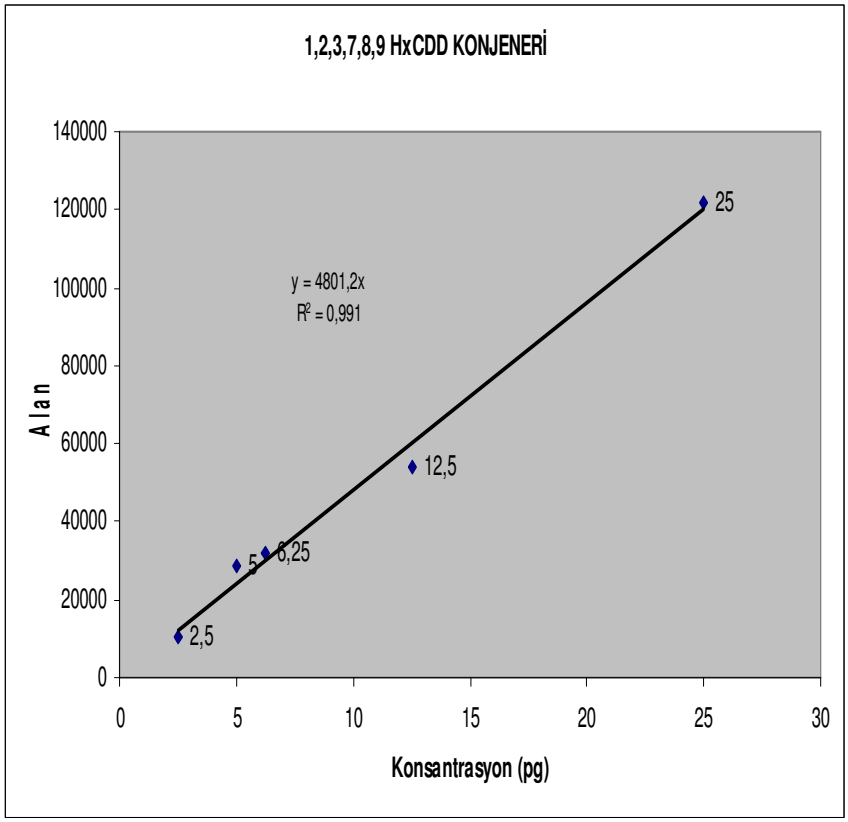


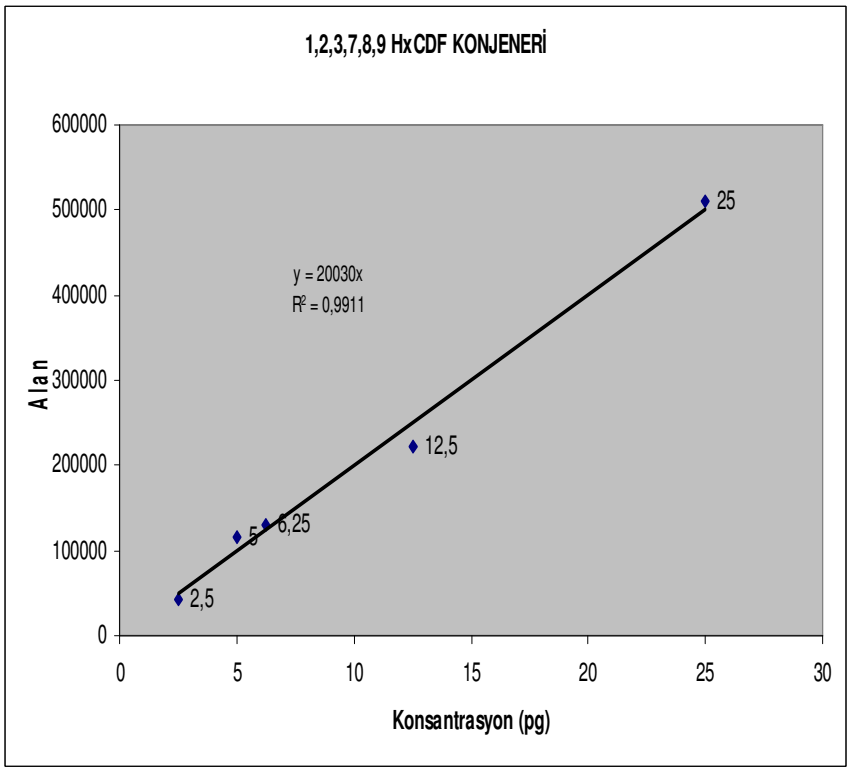
Şekil 6: 2 numaralı kalibrasyon için elde edilen kalibrasyon eğrilerinden bazıları



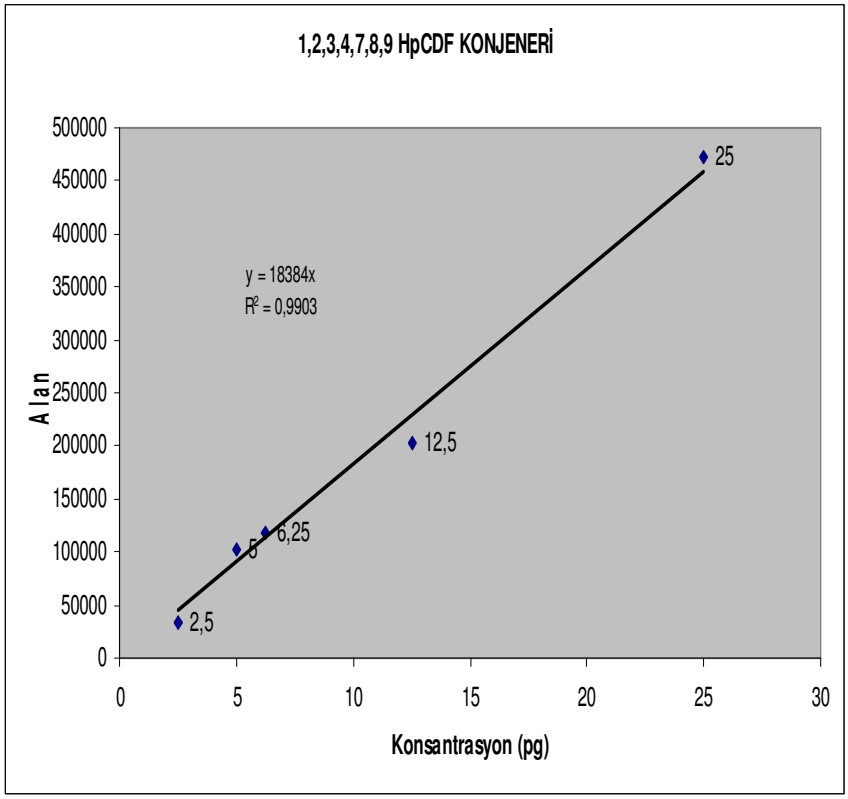


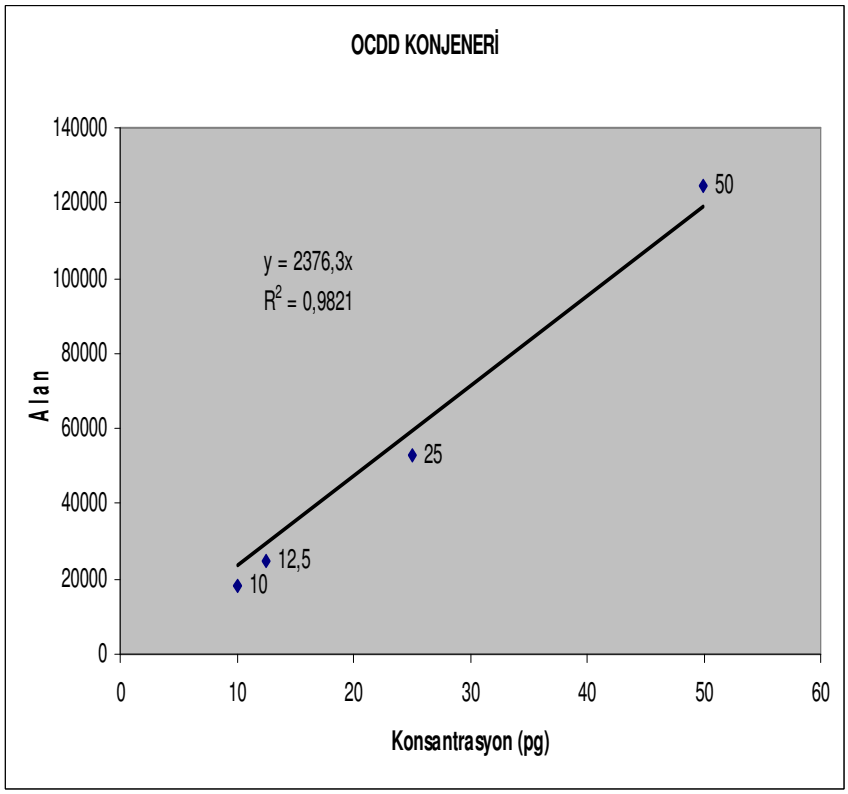
Şekil 7: 3 numaralı kalibrasyon için elde edilen kalibrasyon eğrilerinden bazıları





Şekil 8: 3 numaralı kalibrasyon için elde edilen kalibrasyon eğrilerinden bazıları





Şekil 9: 3 numaralı kalibrasyon için elde edilen kalibrasyon eğrilerinden bazıları

EK 7



Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD379.D
Acq On : 18 Feb 2008 22:09
Sample : 1/40000
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00

MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 306

Signal region: 29.12 to 31.47 min; height: 47
Noise region : 30.01 to 30.17 min; Max noise 47.0, Min noise 42.0

Calculations	Value
Noise Points used	9
Average noise = (sum of noise)/points	44.1
Corrected Signal = height/Average noise	2.9
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	5.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	0.6
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	1.8
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	1.6

DSTD379.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:14:28 2008 CHEMSTATION



Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD381.D
Acq On : 19 Feb 2008 2:21
Sample : 1/10000
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00

MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 306

Signal region: 29.97 to 30.36 min; height: 53
Noise region : 29.09 to 29.92 min; Max noise 44.0, Min noise 42.0

Calculations	Value
Noise Points used	45
Average noise = (sum of noise)/points	42.6
Corrected Signal = height/Average noise	10.4
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	2.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	5.2
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	0.6
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	18.0

DSTD381.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:12:21 2008 CHEMSTATION



Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD383.D
Acq On : 20 Feb 2008 22:26
Sample : 1/5000
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00

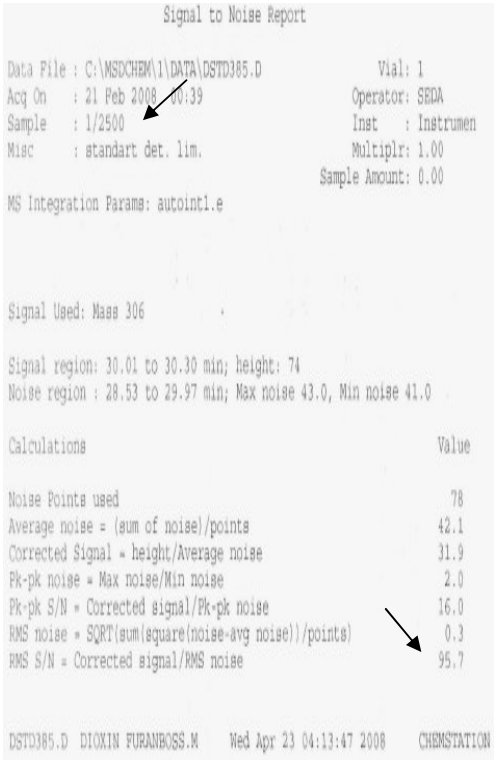
MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 306

Signal region: 30.01 to 30.26 min; height: 59
Noise region : 29.09 to 29.96 min; Max noise 43.0, Min noise 41.0

Calculations	Value
Noise Points used	48
Average noise = (sum of noise)/points	42.1
Corrected Signal = height/Average noise	16.9
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	2.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	8.4
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	0.5
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	37.0

DSTD383.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:13:09 2008 CHEMSTATION



Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD385.D
Acq On : 21 Feb 2008 10:39
Sample : 1/2500
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00

MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 306

Signal region: 30.01 to 30.30 min; height: 74
Noise region : 28.53 to 29.97 min; Max noise 43.0, Min noise 41.0

Calculations	Value
Noise Points used	78
Average noise = (sum of noise)/points	42.1
Corrected Signal = height/Average noise	31.9
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	2.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	16.0
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	0.3
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	95.7

DSTD385.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:13:47 2008 CHEMSTATION

Şekil 1: 2,3,7,8 TCDF konjeneri için 2 numaralı kalibrasyonda elde edilen S/N oranları



Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD379.D
Acq On : 18 Feb 2008 22:09
Sample : 1/40000
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00
MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 390

Signal region: 43.03 to 45.08 min; height: 48
Noise region : 44.83 to 44.87 min; Max noise 47.0, Min noise 46.0

Calculations	Value
Noise Points used	2
Average noise = (sum of noise)/points	46.5
Corrected Signal = height/Average noise	1.5
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	1.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	1.5
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	0.5
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	3.0

DSTD379.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:38:04 2008 CHEMSTATION

Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD381.D
Acq On : 19 Feb 2008 2:21
Sample : 1/10000
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00
MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 390

Signal region: 44.59 to 45.03 min; height: 70
Noise region : 43.61 to 44.56 min; Max noise 44.0, Min noise 41.0

Calculations	Value
Noise Points used	52
Average noise = (sum of noise)/points	42.2
Corrected Signal = height/Average noise	27.8
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	3.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	9.3
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	0.5
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	51.3

DSTD381.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:38:44 2008 CHEMSTATION

Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD383.D
Acq On : 20 Feb 2008 22:26
Sample : 1/5000
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00
MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 390

Signal region: 44.73 to 45.06 min; height: 77
Noise region : 44.13 to 44.70 min; Max noise 43.0, Min noise 42.0

Calculations	Value
Noise Points used	31
Average noise = (sum of noise)/points	42.1
Corrected Signal = height/Average noise	34.9
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	1.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	34.9
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	0.3
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	118.1

DSTD383.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:40:56 2008 CHEMSTATION

Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD385.D
Acq On : 21 Feb 2008 00:39
Sample : 1/2500
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00
MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 390

Signal region: 44.74 to 45.10 min; height: 89
Noise region : 44.02 to 44.66 min; Max noise 43.0, Min noise 41.0

Calculations	Value
Noise Points used	35
Average noise = (sum of noise)/points	41.9
Corrected Signal = height/Average noise	47.1
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	2.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	23.5
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	0.4
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	127.9

DSTD385.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:41:34 2008 CHEMSTATION

Şekil 2: 1,2,3,4,7,8 HxCDD konjeneri için 2 numaralı kalibrasyonda elde edilen S/N oranları



Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD379.D
Acq On : 18 Feb 2008 22:09
Sample : 1/40000
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00
MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 410

Signal region: 64.02 to 64.36 min; height: 50
Noise region : 64.13 to 64.31 min; Max noise 50.0, Min noise 44.0

Calculations	Value
Noise Points used	10
Average noise = (sum of noise)/points	45.9
Corrected Signal = height/Average noise	4.1
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	6.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	0.7
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	1.6
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	2.5

DSTD379.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:46:37 2008 CHEMSTATION

Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD381.D
Acq On : 19 Feb 2008 2:21
Sample : 1/10000
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00
MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 410

Signal region: 64.13 to 64.32 min; height: 57
Noise region : 63.53 to 63.87 min; Max noise 42.0, Min noise 42.0

Calculations	Value
Noise Points used	19
Average noise = (sum of noise)/points	42.0
Corrected Signal = height/Average noise	15.0

Signal/Noise cannot be calculated; no noise present in selected range.

DSTD381.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:48:55 2008 CHEMSTATION

Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD383.D
Acq On : 20 Feb 2008 22:26
Sample : 1/5000
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00
MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 410

Signal region: 64.05 to 64.48 min; height: 68
Noise region : 63.47 to 63.95 min; Max noise 44.0, Min noise 41.0

Calculations	Value
Noise Points used	26
Average noise = (sum of noise)/points	42.0
Corrected Signal = height/Average noise	26.0
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	3.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	8.7
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	0.5
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	50.2

DSTD383.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:49:20 2008 CHEMSTATION

Signal to Noise Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\DSTD385.D
Acq On : 21 Feb 2008 0:39
Sample : 1/2500
Misc : standart det. lim.
Vial: 1
Operator: SEDA
Inst : Instrumen
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00
MS Integration Params: autoint1.e

Signal Used: Mass 410

Signal region: 64.16 to 64.54 min; height: 77
Noise region : 63.67 to 64.03 min; Max noise 43.0, Min noise 41.0

Calculations	Value
Noise Points used	19
Average noise = (sum of noise)/points	41.9
Corrected Signal = height/Average noise	35.1
Pk-pk noise = Max noise/Min noise	2.0
Pk-pk S/N = Corrected signal/Pk-pk noise	17.6
RMS noise = SQRT(sum(square(noise-avg noise))/points)	0.3
RMS S/N = Corrected signal/RMS noise	114.4

DSTD385.D DIOXIN FURANBOSS.M Wed Apr 23 04:49:42 2008 CHEMSTATION

Şekil 3: 1,2,3,4,7,8,9 HpCDF konjeneri için 2 numaralı kalibrasyonda elde edilen S/N oranları

EK 8

Tablo 1: 3 Numaralı kalibrasyon çalışması için yapılan enjeksiyonlardan elde edilen bağıl alıkonma zamanları

PİK NO	SEYRELTME ORANLARI																												SD (Değer)	SD (RRT)
	1/200						1/100						1/80						1/40						1/20					
	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT	RT	RRT		
1	30,097	1,00	30,097	1,00	30,061	1,00	30,097	1,00	30,097	1,00	30,079	1,00	30,116	1,00	30,097	1,00	30,097	1,00	30,116	1,00	30,098	1,00	30,098	1,00	30,116	1,00	30,098	1,00	30,098	1,00	0,0139	0,000
2	33,567	1,12	33,456	1,11	33,345	1,11	33,521	1,11	33,436	1,11	33,355	1,11	33,567	1,11	33,432	1,11	33,345	1,11	33,532	1,11	33,456	1,11	33,335	1,11	33,457	1,11	33,456	1,11	33,325	1,11	0,0836	0,003
3	33,977	1,13	33,996	1,13	33,959	1,13	33,996	1,13	33,996	1,13	33,977	1,13	34,014	1,13	33,977	1,13	33,977	1,13	33,996	1,13	33,996	1,13	33,977	1,13	33,996	1,13	33,978	1,13	33,978	1,13	0,0137	0,000
4	34,143	1,13	34,088	1,13	33,996	1,13	34,113	1,13	34,188	1,14	33,999	1,13	34,133	1,13	34,123	1,13	34,108	1,13	34,161	1,13	34,122	1,13	34,033	1,13	34,143	1,13	34,088	1,13	33,996	1,13	0,0620	0,002
5	35,908	1,19	35,927	1,19	35,890	1,19	35,927	1,19	35,926	1,19	35,890	1,19	35,927	1,19	35,908	1,19	35,908	1,19	35,927	1,19	35,927	1,19	35,890	1,19	35,926	1,19	35,908	1,19	35,908	1,19	0,0147	0,000
6	37,747	1,25	37,765	1,25	37,728	1,26	37,765	1,25	37,765	1,25	37,728	1,25	37,784	1,25	37,747	1,25	37,747	1,25	37,784	1,25	37,766	1,25	37,747	1,25	37,765	1,25	37,747	1,25	37,747	1,25	0,0170	0,000
7	42,013	1,40	42,031	1,40	41,976	1,40	42,013	1,40	42,013	1,40	41,976	1,40	42,031	1,40	42,013	1,40	41,995	1,40	42,032	1,40	42,013	1,40	41,976	1,39	42,013	1,40	41,995	1,40	41,995	1,40	0,0194	0,001
8	42,381	1,41	42,381	1,41	42,326	1,41	42,381	1,41	42,362	1,41	42,326	1,41	42,399	1,41	42,362	1,41	42,344	1,41	42,381	1,41	42,381	1,41	42,344	1,41	42,381	1,41	42,344	1,41	42,344	1,41	0,0230	0,001
9	44,790	1,49	44,808	1,49	44,753	1,49	44,808	1,49	44,790	1,49	44,753	1,49	44,826	1,49	44,790	1,49	44,790	1,49	44,827	1,49	44,808	1,49	44,771	1,49	44,808	1,49	44,790	1,49	44,790	1,49	0,0222	0,000
10	45,194	1,50	45,213	1,50	45,157	1,50	45,213	1,50	45,212	1,50	45,157	1,50	45,231	1,50	45,194	1,50	45,176	1,50	45,231	1,50	45,194	1,50	45,176	1,50	45,213	1,50	45,194	1,50	45,194	1,50	0,0230	0,000
11	46,867	1,56	46,867	1,56	46,831	1,56	46,886	1,56	46,867	1,56	46,831	1,56	46,904	1,56	46,867	1,56	46,849	1,56	46,904	1,56	46,868	1,56	46,849	1,56	46,886	1,56	46,849	1,56	46,849	1,56	0,0228	0,000
12	48,541	1,61	48,578	1,61	48,504	1,61	48,578	1,61	48,559	1,61	48,522	1,61	48,596	1,61	48,541	1,61	48,541	1,61	48,596	1,61	48,559	1,61	48,522	1,61	48,578	1,61	48,541	1,61	48,541	1,61	0,0276	0,001
13	49,221	1,64	49,221	1,64	49,148	1,63	49,240	1,64	49,221	1,64	49,166	1,63	49,258	1,64	49,203	1,63	49,184	1,63	49,240	1,64	49,221	1,64	49,166	1,63	49,221	1,63	49,203	1,63	49,203	1,63	0,0307	0,001
14	53,377	1,77	53,414	1,77	53,303	1,77	53,395	1,77	53,377	1,77	53,322	1,77	53,414	1,77	53,358	1,77	53,322	1,77	53,414	1,77	53,377	1,77	53,322	1,77	53,395	1,77	53,340	1,77	53,340	1,77	0,0379	0,001
15	60,383	2,01	60,383	2,01	60,328	2,01	60,383	2,01	60,383	2,01	60,238	2,00	60,438	2,01	60,383	2,01	60,328	2,00	60,438	2,01	60,383	2,01	60,309	2,00	60,401	2,01	60,346	2,00	60,346	2,00	0,0511	0,001
16	64,152	2,13	64,186	2,13	64,060	2,13	64,152	2,13	64,134	2,13	64,060	2,13	64,208	2,13	64,116	2,13	64,116	2,13	64,189	2,13	64,134	2,13	64,079	2,13	64,171	2,13	64,116	2,13	64,116	2,13	0,0451	0,001

RT : Konjenerin Alıkonma Zamanı, RRT : Konjenere Ait Bağıl Alıkonma Zamanı, SD : Standart Sapma

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Akçakale'de doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İzmit'te tamamladı. 2000 yılında girdiği Kocaeli Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümünde 1 yıl İngilizce hazırlık ve 4 yıl lisans eğitimi aldıktan sonra 2005 yılı Haziran ayında mezun oldu. 2005 yılının Eylül ayında aynı bölümde yüksek lisans eğitimine başladı. 2005 yılı Aralık ayında Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalında başladığı araştırma görevliliğine halen devam etmektedir.