

**BAZI PAKETLENMİŞ İÇEÇEK TÜRLERİNDE VE
DOĞAL KAYNAK SUYUNDA RAF ÖMRÜ BOYUNCA
OLASI FİTALAT ESTERİ MİGRASYONU TESPİTİNDE
LC-MS/MS KULLANIMI**

Yağmur ORUÇ



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI PAKETLENMİŞ İÇECEK TÜRLERİNDE VE DOĞAL KAYNAK
SUYUNDA RAF ÖMRÜ BOYUNCA OLASI FİTALAT ESTERİ MİGRASYONU
TESPİTİNDE LC-MS/MS KULLANIMI**

Yağmur ORUÇ
0000-0001-9043-4264

Prof. Dr. Belgin İZGİ
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

BURSA-2020
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Yağmur ORUÇ tarafından hazırlanan “BAZI PAKETLENMİŞ İÇECEK TÜRLERİNDE VE DOĞAL KAYNAK SUYUNDA RAF ÖMRÜ BOYUNCA OLASI FİTALAT ESTERİ MİGRASYONU TESPİTİNDE LC-MS/MS KULLANIMI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof Dr. Belgin İZGİ

- Başkan** : Prof. Dr. Belgin İZGİ
Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Edebiyat
Fakültesi,
Kimya Anabilim Dalı
ORCID 0000-0002-1074-3612
İmza
- Üye** : Doç. Dr. Elif TÜMAY ÖZER
Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Edebiyat
Fakültesi,
Kimya Anabilim Dalı
ORCID 0000-0002-5225-0146
İmza
- Üye** : Dr. Öğr. Üyesi Burçak KAYA ÖZSEL
Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa
Bilimleri Fakültesi,
Kimya Anabilim Dalı
ORCID 0000-0003-2190-3834
İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN
Enstitü Müdürü

.././.....

B.U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

25/02/2020

Yağmur ORUÇ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI PAKETLENMİŞ İÇECEK TÜRLERİNDE VE DOĞAL KAYNAK SUYUNDA
RAF ÖMRÜ BOYUNCA OLASI FİTALAT ESTERİ MİGRASYONU TESPİTİNDE
LC-MS/MS KULLANIMI

Yağmur ORUÇ

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Belgin İZGİ

Plastik malzemeler, içeceklerin ve çeşitli gıda ürünlerinin paketlenmesinde sıklıkla kullanılan ambalaj türlerinden biridir. Kırılmaya karşı dirençli olması, taşınmasının diğer ambalajlara göre daha kolay olması ve maliyetinin düşük olması gibi önemli avantajlara sahiptirler. Ancak her paketlenme materyalinde olduğu gibi plastik malzemelerin de gıda ürününe olası zararlı bileşenlerin migrasyonu gibi çeşitli dezavantajları vardır.

Malzeme içerisindeki zararlı bileşenlerin olası migrasyon miktarının tespiti, gıda ürünlerinde en önemli analiz türlerinden biridir.

Bu tez kapsamında plastik malzemelerden; meyveli içeceğe (Limonata), aromalı gazlı içeceğe (Gazoz) ve doğal kaynak suyuna olası fitalat esterleri geçişleri incelenmiştir. Numuneler zenginleştirme yapılmadan QuEChERS (hızlı, kolay, ucuz, efektif, sağlam ve güvenilir) hazır kitleri ile hazırlanmıştır. Bu çalışmada 6 fitalat esterinin (dimetil fitalat (DMP), dietil fitalat (DEP), benzil bütül fitalat (BBP), dibütül fitalat (DBP), bis(2-etilhekzil) fitalat (DHEP), di-n-oktil fitalat (DnOP)) analizleri sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile analizi yapılmıştır. Standartlar, model çözelti içerisine ilave edilip QuEChERS kiti kullanılarak hazırlanmıştır. Çalışma kapsamında tespit sınırı (LOD) 0,14 ile 2,84 µ/L arasında, tayin limiti (LOQ) ise 0,21 ile 3,52 µ/L arasında bulunmuştur. Geri kazanım çalışmasında ise geri kazanım miktarları %89-105 arasında tespit edilmiştir. Tekrarlanabilirlik için bağıl standart sapma ise %0,25-6,53 arasındadır. Çalışma ile yeni üretilmiş, raf ömrünün ortasına gelmiş ve raf ömrünü tamamlamış numunelerde analiz yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Alkolsüz içecekler, Fitalat Esteri, Gazlı İçecek, Kaynak Suyu, LC-MS/MS, Migrasyon, Meyveli İçecek, Plastik Materyal, QuEChERS

2020, ix + 56 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

RAPID DETERMINATION OF PHTHALATE ESTERS IN SOME BEVERAGES AND INVESTIGATION OF MIGRATION AT SHELF-LIFE BY LC-MS/MS

Yağmur ORUÇ

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Belgin İZGİ

Plastic materials used for packaging of beverages have several advantages like cost-efficient, easy to transport, be resistant to breakage, etc. One of the most important problems with these is the distribution of phthalate migration in the phases. A basic and eco-friendly method which is using Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe (QuEChERS) kits without enrichment is suggested for analyzing six phthalate esters [Dimethyl phthalate (DMP), Diethyl phthalate (DEP), Benzyl butyl phthalate (BBP), Dibutyl phthalate (DBP), Bis(2-Ethylhexyl) phthalate (DHEP), Di-n-octyl phthalate (DNOP)] in still beverages, carbonated beverages and spring water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). After extraction of a sample with QuEChERS SPE, including MgSO₄, PSA, C18 substances are analyzed by LC-MS-MS, which has the LOD's between 0.14 and 2.84 µg/L and LOQ's between 0.21 and 3.52 µg/L. The six phthalate esters above-mentioned have in the range of 0.25-6.53 % RSD, and the recovery percent are between 88.8-107. This is the first study of a remark of the phthalate migration for the shelf life in the mentioned beverages, a national industrial area. The data of the migration ratio throughout the shelf life to initial filling to expiry date was investigated.

Key words: Food packing, LC-MS/MS, Migration, Non-alcoholic beverages, Phthalate esters, Plastic materials, QuEChERS, Shelf-life, Spring water

2020, ix + 56 page.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca görüş ve yönlendirmeleri ile hem maddi hem de manevi olarak destek olan danışman hocam Prof. Dr. Belgin İzgi'ye teşekkürlerimi sunarım.

Öncelikle beni yüksek lisansa başlamak için destekleyen ve cesaretlendiren, yine eğitim sürecimin başından sonuna kadar laboratuvarın alt yapısını kullanmama olanak sağlayan ve süreç boyunca yönlendirmelerini ve desteklerini esirgemeyen, Ar&Ge Merkezi Müdürü Tuğba Şimşek ve Ar&Ge Merkezi Yöneticisi Mustafa Çağlar ERCAN başta olmak üzere tüm Uludağ İçecek Türk A.Ş. Ar&Ge Merkezi ailesine teşekkürlerimi sunarım.

Süreç boyunca manevi destekleri ve cesaretlendirmelerinden dolayı sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Yağmur ORUÇ
25/02/2020

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
2.KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1.Su	4
2.1.Alkolsüz İçecekler	6
2.2.Gıda Güvenliği.....	8
2.3.Gıdaların Paketlenmesi ve Ambalaj.....	9
2.4.Migrasyon	12
2.5.Fitalat Esterleri ve Plastik Malzemeden Migrasyonu	14
2.6.Fitalat Esterlerinin Analiz Yöntemleri.....	18
2.7.Ekstraksiyon Yöntemleri ve QuEChERS	21
2.8.Metot Validasyonu Parametreleri	22
3.MATERYAL ve YÖNTEM.....	25
3.1.Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	25
3.1.1.Sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS)	25
3.1.2.Otomatik pipetler	25
3.1.3.Ultra saf su cihazı.....	25
3.1.4.Azot jeneratörü.....	25
3.1.5.Santrifüj cihazı	26
3.2.Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler.....	26
3.2.1.Kimyasallar	26
3.3.Standart ve Örnek Hazırlama.....	26
3.3.1.Kalibrasyon eğrisi için fitalat esteri standardı hazırlama.....	26
3.3.2.Model çözelti hazırlama.....	26
3.3.3.Numune seçimi	27
3.3.4.QuEChERS metodu ile örnek hazırlama.....	27
3.4.LC/MSMS Şartları	28
4.BULGULAR	30
5.TARTIŞMA ve SONUÇ	40
KAYNAKLAR	45
EKLER.....	50
EK 1	51
EK 2	54
EK 3	56
ÖZGEÇMİŞ	57

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Sb	Antimon
Atm	Atmosfer basıncı
Zn	Çinko
dk	Dakika
°C	Derece Celsius
g	gram
Ge	Germanyum
g/cm ³	Gram / santimetreküp
g/L	Gram / litre
Sn	Kalay
kg	Kilogram
Pb	Kurşun
L/dk	Litre / dakika
Mn	Mangan
Mg	Miligram
MgSO ₄	Magnezyum Sülfat
mg/kg	Miligram / kilogram
mg/L	Miligram
mL	Mililitre
mL/dk	Mililitre / dakika
mM	milimolar
R ²	Regrasyon katsayısı
NaOAC	Sodyum Asetat
Ti	Titanyum

Açıklama

Kısaltmalar

AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AC	Alternatif akım
ACN	Asetonitril
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
APCI	Atmosferik basınçta kimyasal iyonizasyon
APPI	Atmosferik basınçta foto iyonizasyon
BADGE	2,2-Bis(4-hidroksifenil)propan bis(2,3-epoksiyopropil) eter
BBP	Benzil bütül fitalat
BP	Benzofenon
BRC	İngiliz Perakendeciler Derneği
CD	İletkenlik dedektörü
DBP	Dibütül fitalat
DEAB	4,4-bis(diethylamino) benzofenon
DEHP	Di-2-etilhekzil fitalat
DEP	Dietil fitalat
DIDP	Diisodesil fitalat

Kısaltmalar

DINP
DL
DMP
DNOP
DSE
EFSA
EPA
ESI
GC
GC-MS
GC-MS/MS
GHP
GMP
HACCP
HPLC
IARC
IFS
Ion-Trap
ISO
LC
LC-MS
LC-MS/MS
LOD
LOQ
MRM
MS
m/z
NASA
PAA
PE
PEEK
PET
PP
ppb
ppm
PS
psi
PVAL
PVC
PVDC
QuEChERS
RF
RID
rpm
SML
SPE
SPME

Açıklama

Diisonosil fitalat
Desolvasyon hatları
Dimetil fitalat
di-n-oktil fitalat
Dispersiv sıvı ekstraksiyon
Avrupa Gıda Güvenliği Oteritesi
Birleşik Devletler Çevre Koruma Kurumu
Elektron spre yonizasyon
Gaz kromatografisi
Gaz kromatografisi kütle spektrometresi
Gaz kromatografisi tandem kütle spektrometresi
İyi hijyen uygulamaları
İyi üretim uygulamaları
Tehlike analizleri kritik kontrol noktaları
Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
Uluslararası Gıda Standardı
İyon tuzaklı
Uluslararası Standart Örgütü
Sıvı kromatografisi
Sıvı kromatografisi kütle spektrometresi
Sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi
Tespit limiti
Tayin limiti
Multiple reaction monitoring
Kütle spektrometresi
Kütle yük oranı
Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi
Birincil Aromatik Arminler
Polietilen
Polietereterketon
Polietilen tereftalat
Polipropilen
Milyarda bir
Milyonda bir
Polistiren
İnç başına libre
Polivinil alkol
Polivinil klorür
Polivinilden klorür
Hızlı, kolay, ucuz, efektif, sağlam ve güvenilir ekstraksiyon
Radyo frekansı
Refraktif indeks dedektörü
Dakikada devir sayısı
Spesifik migrasyon
Katı faz ekstraksiyon
Katı faz mikro ekstraksiyon

Kısaltmalar

SQF

S.S.

T.C.

TGK

TOF

UV

yy.

%R

%RSD

Açıklama

Güvenli Kalite Gıda

Standart sapma

Türkiye Cumhuriyeti

Türk Gıda Kodeksi

Uçuş zamanlı

Ultraviöle

Yüzyıl

% Geri kazanım

Relatif standart sapma

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Teraftalik asit ve etilen glikol arasındaki polimerizasyon reaksiyonu (Sabagh 2015'ten değiştirilerek alınmıştır.).....	11
Şekil 2.2. PET'in molekül yapısı (Lara 2019'dan değiştirilerek alınmıştır.).....	12
Şekil 2.3. DBP, DEP, DNOP ve DMP fitalatlarının molekül yapısı (Ayala 2013 ve Harunarashid 2017'den değiştirilerek alınmıştır.)	15
Şekil 2.4. BBP ve DEHP fitalatlarının molekül yapıları (Ayala 2013 ve Harunarashid 2017'den değiştirilerek alınmıştır.).....	15
Şekil 2.5. GC-MS cihazının şematik gösterimi (Emwas 2015'ten değiştirilerek alınmıştır.).....	19
Şekil 2.6. LC-MS/MS cihazının şematik gösterimi (Brima 2006 ve Östman 2018'den değiştirilerek alınmıştır.).....	21
Şekil 3.1. Shimadzu marka LC-8040 model LC-MS/MS.....	25
Şekil 3.2. QuEChERS ekstraksiyon basamakları.....	27
Şekil 3.3. QuEChERS temizleme basamakları.....	28
Şekil 4.1. DMP için MRM optimizasyon sonuçları.....	30
Şekil 4.2. 6 mix fitalat standardına ait kromatogram görüntüsü.....	32
Şekil 4.3. Model çözelti içerisinde derişimi bilinen fitalat standartlarının ilave edildiği kromatogram.....	33
Şekil 4.4. Fitalatların kalibrasyon eğrisi görüntüsü	33
Şekil 4.5. Limonata içerisinde fitalat standartlarının kromatogram görüntüleri.....	35
Şekil 4.6. Gazoz içerisinde fitalat standartlarının kromatogram görüntüleri.....	36
Şekil 4.7. Kaynak suyu içerisinde fitalat standartlarının kromatogram görüntüleri	37
Şekil 4.8. Limonatanın kromatogram görüntüsü.....	39
Şekil 5.1. Tekrarlanabilirlik çalışması kapsamında model çözelti içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için %RSD değerleri.....	40
Şekil 5.2. Tekrar üretilebilirlik çalışması kapsamında model çözelti içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için %RSD değerleri.....	40
Şekil 5.3. Model çözelti içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için % geri kazanım değerleri.....	41
Şekil 5.4. Limonata içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için % geri kazanım değerleri.....	41
Şekil 5.5. Gazoz içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için % geri kazanım değerleri.....	42
Şekil 5.6. Kaynak suyu içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için % geri kazanım değerleri.....	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Kaynak suyu mikrobiyolojik parametreleri	5
Çizelge 2.3. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddeleri ile Temasta Bulunan Plastik Madde ve Malzemeler Tebliğinde yer alan bazı migrant örnekleri ve spesifik yasal limitleri (Anonim 2013).....	14
Çizelge 2.4. Türk Gıda Kodeksi Gıda ile Temas Eden Plastik Madde ve Malzemeler Tebliği'nde yer alan kullanımına izin verilen fitalatların spesifik yasal limitleri (Anonim 2013)	17
Çizelge 3.1. LC-MSMS cihazı için gradient program	29
Çizelge 4.1. Analitlerin molekül şekilleri, ana iyon, parçalanma iyonları, collision enerjileri, iyonlaşma türleri, dwell ve duraklama (Pause) zamanları.....	31
Çizelge 4.2. Alıkonma zamanları, m/z ve referans iyonları.....	31
Çizelge 4.3. Her bir analit için lineer aralık, kalibrasyon denklemi, R ² , LOD ve LOQ değerleri	32
Çizelge 4.4. Model çözelti içerisinde tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik sonuçları	34
Çizelge 4.5. Limonata içerisinde % geri kazanım çalışması.....	35
Çizelge 4.6. Gazoz içerisinde % geri kazanım çalışması.....	36
Çizelge 4.7. Kaynak suyu içerisinde % geri kazanım çalışması	37
Çizelge 4.8. Model çözelti içerisinde % geri kazanım çalışması	38
Çizelge 4.9. Gerçek numnelerde fitalat esteri analiz sonuçları (µg/L)	39
Çizelge 5.1. Anova testi F ve F ölçüt değerleri sonuçları	43

1. GİRİŞ

Alkolsüz içecekler günümüzde insanlar tarafından sıklıkla tüketilen gıda ürünleri gurubunda yer almaktadır. Alkolsüz içecekler tebliğine göre, ürün kendine has koku, renk, tat ve görünümde olmalıdır, yabancı koku ve tat içermemelidir. Yine aynı tebliğe göre alkolsüz içeceklerde etil alkol miktarı 3 mg/L'yi geçmemelidir (Anonim 2007).

Bir gıda ürününü tüketiciye sorunsuz bir şekilde ulaştırmak, gıda üreticilerinin en temel görevidir. Tüketiciye sorunsuz ve raf ömrü boyunca tazeliğini koruyan ürünler üretmenin en temel prensibi ise iyi tasarlanmış gıda güvenliği ilkeleridir. Gıda güvenliğini önemli ölçüde etkileyecek parametrelerden biri ise paketlemedir. Genel olarak gıda paketlenmesinde kâğıt, cam, teneke kutu ve plastik olmak üzere 4 temel ambalaj kullanılmaktadır (Altuntaş 2014).

Paketlemeden beklenen en temel özellik, kalite parametrelerinden ödün vermeden raf ömrü boyunca tazeliğini korumasıdır. Gıda endüstrisinde plastik malzemeler sıklıkla kullanılmaktadır. Kırılma ve gerilmeye karşı dirençli, kolay taşınabilir ve düşük maliyetli olması gibi avantajları tercih edilme sebepleri içerisinde yer alır (Kipmen 1998).

Avantajlarının yanı sıra plastik malzemelerin en önemli dezavantajı, malzeme içerisindeki zararlı bileşenlerin zaman içerisinde ürüne migrasyonudur. Migrasyonun tanımı ise, bir bileşenin zaman içerisinde bir yerden bir yere hareketidir (Biricik ve ark. 2015).

Migrasyon analizleri gıda analizleri içerisinde en önemli yere sahip olan analiz türlerinden biridir. Atmosferik koşullar, plastik paket içerisinde bulunan ürünün özelliği ve ürünün paket içerisinde geçirdiği zaman gibi parametreler migrasyon miktarını değiştirmektedir. Gıda ile Temasta Bulunan Plastik Malzemeler yönetmeliğine göre, toplam migrasyon miktarı bir üründe 60 mg/kg'ı geçmemelidir (Anonim 2005).

Plastik malzemelerden gıda ürünlerine geçebilecek birçok zararlı bileşen vardır. Fitalat esterleri bu bileşenlerden biridir. Fitalat esterleri, insan yapımı organik bileşenler olup plastik malzemeye esneklik vermesi amacı ile ilave edilir. Fitalat esterleri genel olarak

yüksek molekül kütleli ve düşük molekül kütleli olmak üzere 2'ye ayrılırlar (Yerlikaya 2017).

Fitalatlar, plastik malzemelere fiziksel bağlı oldukları için özellikle yağ içeriği yüksek gıda ürünlerine migrasyona meyillidir (Jia ve ark. 2014). Fitalat esterlerinin insan sağlığına da oldukça fazla zararı vardır. Yapılan çalışmalar ile endokrin bozucu ve kanserojenik ajan oldukları saptanmıştır (Wang ve ark. 2017).

Fitalatların analizlerinde GC-MS (Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi), HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ve LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometresi) cihazları kullanılır (Wu ve ark. 2011, Yang ve ark. 2015). Ancak, HPLC için çok fazla ekstraksiyon parametresi gerektiği ve GC-MS'ler de izomerik karışımları ayırmada LC-MS'ler kadar iyi olmadıkları için LC-MS'ler fitalat analizlerinde daha güçlü cihazlar olarak karşımıza çıkmaktadır (Ateş ve Mittendorf 2013).

Geleneksel numune hazırlama teknikleri, fazla organik çözücü gereksinimi, ekstraksiyon prosedürlerinin uzun olması, bazı durumlarda ek alet teçhizat gerektirmesi (örneğin sıvı-sıvı ekstraksiyon için evaporatör gereksinimi) ve yüksek maliyetli olması gibi dezavantajlara sahiptirler. Bu tür dezavantajlar farklı ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesine sevk etmektedir. Geliştirilen QuEChERS metodu; hızlı, tekrarlanabilirliği yüksek ve ekstra teçhizat gerektirmeyen pH'ya bağlı olarak etkin bir ekstraksiyon imkânı sunan alternatif bir yöntem oluşturmaktadır (Du ve ark. 2015).

Bu çalışmada, plastik ambalaj ile paketlenmiş üç üründe olası fitalat esteri migrasyonu LC-MS/MS ile incelendi. Bu fitalat esterleri ise; DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP, DNOP olarak belirlendi. Örnekler ise, Limonata, Gazoz ve Doğal Kaynak Suyu olarak belirlendi. Her bir örneğin raf ömrü boyunca davranışını incelemek amacıyla farklı üretim tarihlerine sahip numuneler analiz edilmiştir. Bu tarihler ise; yeni üretilmiş, son kullanma tarihinin yarısına yaklaşmış (doğal kaynak suyu ve gazoz için üretiminden sonra 6 ay geçmiş, limonata için 3 ay geçmiş) ve son kullanma tarihini tamamlamış (gazoz ve doğal kaynak suyu için 12 ay, limonata için 6 ay) olarak belirlendi. LC-MS/MS cihazı ve 6 fitalatın metot validasyonu çalışmaları tamamlandı. Ardından gerçek örnekler QuEChERS (*quick*,

easy, cheap, effective, rugged, and safe) yöntemi ile ekstrakte edildikten sonra analizleri tamamlandı.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1.Su

Su, yeryüzündeki canlıların geçmişten günümüze yaşamsal faaliyetlerini yerine getirebilmeleri için gereken en önemli bileşendir (Dedekayaoğulları ve Önal 2009). İnsan vücudunun %65-70'i sudan meydana gelmektedir. İnsanoğlunun yaşamına devam edebilmesi, su kaynaklarına bağlıdır. Çünkü temiz su kaynakları, sosyal ve ekonomik faaliyetlerin yürütülmesinde de önemli bir rol oynar (İstanbuluoğlu ve ark. 2007). Dünya'da toplam su kütlesi 1,4 milyar km³'tür (Anonim 2010). Dünya'daki suyun %3'ünü tatlı su kaynakları oluştururken, yaklaşık %97'sini tuzlu su kaynakları oluşturmaktadır (Vural 2018). Tatlı su kaynaklarının ise %78'i kuzey ve güney buzullarında yer alırken geriye kalan %22'lik kısmı ise diğer tüm dünya ülkeleri ile paylaşılmaktadır (Şirin ve Demir 2007). Bu geriye kalan küçük miktar ise insanlar tarafından hem içmede hem de banyo, mutfak, sanayi gibi alanlarda kullanma suyu olarak tüketilmektedir. Kullanımı mümkün su rezervlerinin, oldukça az olduğu dünyamızda kaliteli su tüketmek tüm canlıların temel gereksinimidir.

Su, dünya üzerinde sürekli bir döngü halindedir. Yerüstü suları buharlaşmanın etkisi ile atmosfere karışır. Atmosfere karışan sular ise kar ve yağmur gibi yağışlar sonrasında yeniden yerüstü ya da yeraltı sularına karışarak bu döngüyü devam ettirirler. Su dünya üzerindeki en önemli çözücülerden birisidir. Su döngüsü esnasında özellikle yeraltı kaynaklarındaki sular, bu çözücü özelliği sayesinde buldukları çevredeki çeşitli bileşenleri çözerek, kaynaklardan yeryüzüne ulaşırlar. İçme suyu olarak kullanılacak suların; renksiz, kokusuz ve berrak olması, yabancı tat içermemesi, mikrobiyolojik ya da kimyasal kalıntıların olmaması gibi çeşitli özelliklere sahip olması istenir. Bu özelliklere sahip olmayan, özellikle kimyasal veya mikrobiyolojik kirliliğe sahip olan sular, kalıcı ya da geçici çeşitli hastalıklara sebep olabilmektedir (Ertaş ve Sarımehtetoğlu 2019).

Kaynak ve içme sularının kalite standartlarının belirlenmesi ve hijyenik şartlara uygun bir şekilde ambalajlı su üretiminin sağlanması için T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Yönetmeliği" yayımlanmaktadır. Yönetmeliğe göre, kaynak suyu, 'Jeolojik koşulları uygun jeolojik birimlerin içinde doğal olarak oluşan, bir veya daha fazla çıkış noktasından yeryüzüne kendiliğinden çıkan veya teknik usullerle çıkartılan ve bu Yönetmeliğin 36. maddesinde izin verilen dışında herhangi bir işleme

tabi tutulmaksızın Ek-1'deki nitelikleri taşıyan, etiketleme gerekliliklerini karşılayan ve satış amacı ile ambalajlanarak piyasaya arz edilen yer altı suları” olarak tanımlanmaktadır. Kaynak ve içme sularının sahip olması gereken özellikler, yine aynı yönetmelik çerçevesinde ayrıntılı bir şekilde verilmektedir.

Yönetmelik kapsamından kaynak suyunun yasal limitleri hakkında mikrobiyolojik ve kimyasal parametreler Çizelge 2.1. ve Çizelge 2.2.'de verilmektedir.

Çizelge 2.1. Kaynak suyu mikrobiyolojik parametreleri

Parametre	Parametrik değer sayı/ mL
Escherichia Coli (E. Coli)	0/250
Enterokok	0/250
Koliform bakteri	0/250
P. aeruginosa	0/250
Fekal koliform bakteri	0/250
Patojen Mikroorganizmalar	0/100
Anaerob sporlu sülfat redükte eden bakteriler	0/50
Patojen Staphylococlar	0/100
Kaynaktan alınan numunede maksimum: 22 °C'de 72 saatte agar-agar veya agar-jelatin karışımında koloni sayısı	20/
37 °C'de 24 saatte agar-agar karışımında koloni sayısı	5/
Ambalajlanmış sularda ambalajlandıktan sonra maksimum: (Numune, Ambalajlanmayı takiben 12 saat içerisinde alınmak ve bu süre içerisinde 4°C ±1 °C 'de saklanmış olmak kaydıyla): 22 °C'de 72 saatte agar-agar veya agar-jelatin karışımında koloni sayısı	100/
37 °C'de 24 saatte agar-agar karışımında koloni sayısı	20/
Parazitler	0/100
Diğer Mikroskobik Canlılar	0/100

Çizelge 2.2. Kaynak suyu kimyasal parametreleri (Anonim 2005).

Parametre	Parametrik Değer	Birim
Akrilamid	0,10	µg/L
Antimon	5,00	µg/L
Arsenik	10,00	µg/L
Benzen	1,00	µg/L
Benzo (a) piren	0,01	µg/L
Bor	1,00	mg/L
Bromat	3,00	µg/L
Kadmiyum	5,00	µg/L
Krom	50,00	µg/L
Bakır	2,00	mg/L
Siyanür	50,00	µg/L
1,2-dikloreten	3,00	µg/L
Epikloridin	0,10	µg/L
Florür	1,50	mg/L
Kurşun	10,00	µg/L
Civa	1,00	µg/L
Nikel	20,00	µg/L
Nitrat	50,00	mg/L
Nitrit	0,50	mg/L
Pestisitler	0,10	µg/L
Toplam pestisitler	0,50	µg/L
Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	0,10	µg/L
Selenyum	10,00	µg/L
Tetrakloreten ve trikloreten	10,00	µg/L
Trihalometanlar-toplam	100,00	µg/L
Vinil Klorür	0,50	µg/L

2.1. Alkolsüz İçecekler

Türk Dil Kurumu'nun tanımına göre "içecek, içilen her şeye verilen addır". İçecekler genel olarak alkollü ve alkolsüz içecekler olarak ikiye ayrılırlar. Alkolsüz içecekler, doğal ya da yapay bir tatlandırıcı ajanı, yenilebilir asit türü, doğal veya yapay aromalar ve tercihe bağlı meyve içeren, alkol içermeyen sıvı gıda ürünüdür (Korab ve Pietka 2019). Son 200 yıl içerisinde susuzluğu gidermek ve serinlemek için içilen alkolsüz içecekler büyük çeşitlilik kazanmıştır (Goetz 1992). Dünya genelinde alkolsüz içecekler, yaş ve cinsiyet fark etmeksizin yüksek miktarda tüketilmektedir. Dünya üzerinde ilk alkolsüz

içecek 17. yy.'da su, limon karıştırılıp bal ile tatlandırılarak pazara sunulmuştur. Alkolsüz içecekler, Türkiye'de ise 19. yy. sonlarında pazara giriş yapmıştır (Benderlioğlu ve Aslan 2013). Alkolsüz içecekler genel olarak gazlı ve gazsız olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Ülkemizde alkolsüz içeceklerin üretimi, T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından yayımlanan 'Alkolsüz İçecekler Tebliği'ne göre düzenlenmektedir. Bu yönetmelik kapsamında; meyveli içecek, aromalı içecek, meyveli şurup, aromalı şurup, meyveli içecek tozu, aromalı içecek tozu, meyveli doğal mineralli içecek, aromalı doğal mineralli içecek, yapay soda, kola, tonik ve aromalı su ürünleri yer almaktadır. İçecek gruplarının tebliğdeki genel tanımlarına bakıldığında aşığıda belirtildiği gibidir.

"Aromalı içecek: Su, aroma maddeleri ve/veya diğer bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre gazlı veya gazsız olarak üretilen veya aromalı şurubun sulandırılması ile hazırlanan içeceği,"

"Aromalı doğal mineralli içecek: Doğal mineralli su, aroma maddeleri ve/veya diğer bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre gazlı veya gazsız olarak üretilen içeceği,"

"Aromalı şurup: Su, aroma maddeleri ve/veya diğer bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre üretilen ve aromalı içecek hazırlanmasında kullanılan koyu kıvamlı ürünü,"

"Aromalı içecek tozu: Aroma maddeleri ve/veya diğer bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre üretilen ve aromalı içecek hazırlanmasında kullanılan toz ürünü,"

"Aromalı su: Su ve aroma maddeleri ile tekniğine göre gazlı veya gazsız olarak üretilen suları,"

"Kola: Su ve kendine özđü aroma maddeleri ve/veya diğer bileşenler ve/veya kafein ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre üretilen ve karbondioksit ile gazlandırılmış olan içeceği,"

“Meyveli içecek: Meyve suyu ve/veya meyve püresi ve/veya bunların konsantresi ve/veya meyve tozu, su ve/veya diğeri bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre gazlı veya gazsız olarak üretilen içeceği,”

“Meyveli doğal mineralli içecek: Meyve suyu ve/veya meyve püresi ve/veya bunların konsantresi ve/veya meyve tozu, doğal mineralli su ve/veya diğeri bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden, tekniğine göre gazlı veya gazsız olarak üretilen içeceği,”

“Meyveli şurup: Meyve suyu ve/veya meyve püresi ve/veya bunların konsantresi ve/veya meyve tozu, su ve/veya diğeri bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre üretilen ve meyveli içecek hazırlanmasında kullanılan koyu kıvamlı ürünü,”

“Meyveli içecek tozu: Meyve suyu ve/veya meyve püresi ve/veya bunların konsantresi ve/veya meyve tozu ve/veya diğeri bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre üretilen ve meyveli içecek hazırlanmasında kullanılan toz ürünü,”

“Tonik: Su, şeker, kinin ve/veya narincin ile tekniğine göre üretilen ve karbondioksit ile gazlandırılmış olan içeceği,”

“Yapay soda: Sulara, sodyum bikarbonat eklemek suretiyle, tekniğine göre hazırlanan karbondioksit ile gazlandırılmış ürünü, belirtmektedir.”

Tebliğe göre alkolsüz içecekler yabancı koku ve tat içermemelidirler. Ayrıca etil alkol miktarı 3 mg/L’yi, laktik asit 0,6 mg/L’yi, uçucu asitler 0,4 mg/L’yi geçmemelidir, gazlı içecekler için en az 2 g/L karbondioksit olmalıdır (Anonim, 2007).

2.2.Gıda Güvenliği

İçecek üreticilerinin bu yönetmeliklerin dışında dikkat etmesi gereken önemli konulardan biri ise gıda güvenliğidir. Tüketiciye problemsiz bir ürün ulaştırılması gıda üreticilerinin en önemli görevleri içerisinde.

Gıda, üretiminden tüketime kadar; fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik olarak birçok tehlikeye maruz kalabilmektedir. Gıdaların maruz kalabileceği tehlikeler arasında pestisit kalıntıları, gıda katkı maddelerinin yanlış kullanılması, mikotoksinler, radyoaktif kirlenme, gıdalarda taklit ve tağşış sayılabilir (Yaralı, 2019). Bu tehlikeleri elimine

edebilmek için, dünya genelinde gıda güvenliği açısından çeşitli mevzuatlar yayımlanmaktadır. Bu mevzuatlardan günümüzde en önemlileri; FSSC 22000-Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri, BRC-Global Gıda Standardı (İngiliz Parakendeciler Birliği), GlobalGAP-Sebze Meyve Yönetmeliği, IFS-Uluslararası Gıda Standardı, SQF-Güvenilir Kaliteli Gıda şeklinde sayılabilir (Başaran 2015).

Son yıllarda kuş gribi, dioksin krizi gibi yaşanan olaylar sonrası özellikle Avrupa Birliği (AB)'nde etkin bir gıda güvenliği denetim mekanizması oluşturuldu. Bu gıda güvenliği mekanizmasında en önemli ilke olarak “tarladan çatala gıda güvenliği” benimsendi (Çapuroğlu 2015). Bu kapsamda gıda işletmeleri, daha kapsamlı bir gıda güvenliği sağlamak adına; ‘İyi Üretim Uygulamaları-GMP’, ‘İyi Hijyen Uygulamaları-GHP’ ve ‘Tehlike Analizi Kritik Kontrol Noktaları-HACCP’ gibi belirli izleme ve kontrol sistemleri kullanmaktadır (Özdemir ve Topsümer, 2017).

HACCP ilk olarak, NASA tarafından uzaya gidecek olan astronotların gıdalarını güvence altına almak adına tehlike analizlerini ve kritik noktalarını belirlemek için 1960’lı yıllarda oluşturulan bir denetim sistemidir. 1993 yılında ise ‘Gıda Maddelerinin Hijyeni’ direktifi ile AB birliğinde gıda sanayisinde uygulanması zorunlu bir sistem haline getirildi (Bucak 2011).

HACCP gibi kontrol sistemleri gıda işletmelerinde, gıda güvenliği ile ilgili bir sistematik oluşturulmasını sağlamaktadır. Gıda güvenliği süreçlerini, kaliteli ve kolay izlenebilir hale getirilmektedir. Bu tür kontrol sistemleri; kaynakların düzgün kullanılması, risk analizlerinin en aza indirilmesi, gıda güvenlik zincirinin en üst düzeyde kontrol edilmesi, tüketicinin gıdaya güvenini arttırarak marka değerinin arttırılması gibi avantajlar sağlamaktadır (Karabal, 2019).

2.3.Gıdaların Paketlenmesi ve Ambalaj

Gıda ürünlerinin, kalite parametrelerinin değişime uğramadan nihai tüketiciye ulaşabilmesi ve gıda güvenliğini sağlayabilmek adına paketleme işlemi yapılmaktadır. Paketleme işlemi ile gıda maddesini, her türlü kirleticiye maruziyetten (kontaminasyondan) uzak tutup, gıdanın tazeliğinin raf ömrü boyunca korunmasının

sağlanması amaçlanmaktadır. Ayrıca paketleme ile gıdanın daha kolay depolanması ve taşınması gibi avantajlar da sağlanır (Yiğit ve Evranoz 1978).

Gıdada ambalajlama ilk olarak yaprak gibi doğal materyallerin kullanımının ardından, çömlek gibi insan yapımı malzemelerle günümüze dek uzanmaktadır. Metal ambalaj Peter Durand tarafından 1882 yılında bulunmasının ardından 1950'li yıllarda plastik materyalinin ambalaj materyali olarak kullanılmasıyla devam edildi (Satouf ve Köten 2019). Gıda paketleme işlemleri 1970'li yıllarda Sanayi Devrimi ile hızla gelişmeye başlamıştır (Kılınç ve Yüce 2014).

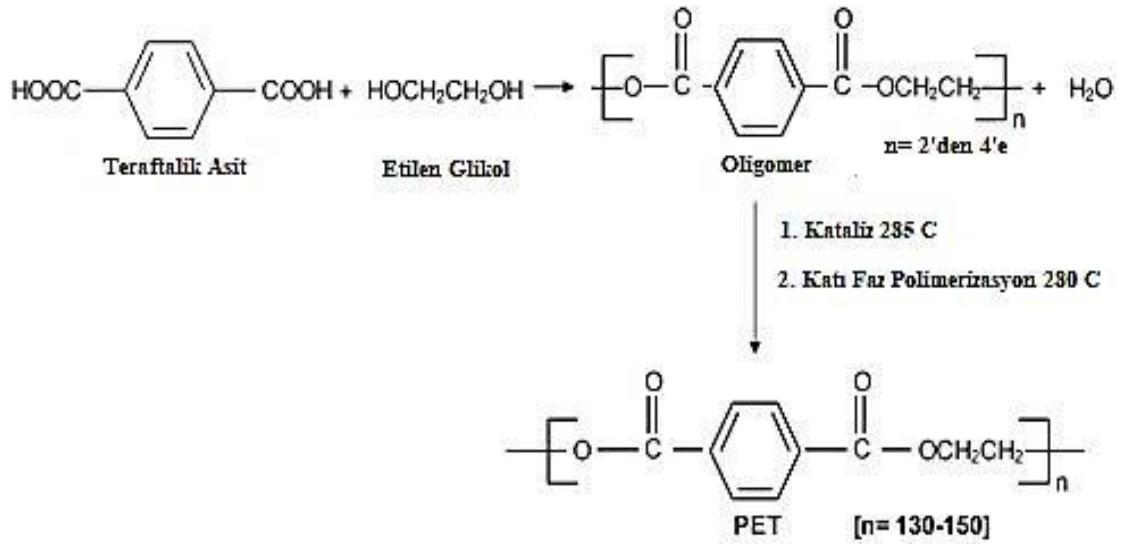
Günümüzde paketleme işlemi için çeşitli ambalaj materyalleri (kâğıt, plastik, cam ve metal kutu) kullanılmaktadır (Dilber ve ark. 2012). Bu ambalaj türleri et ve et ürünlerinden meyve-sebzeye, meyve suyundan süt ve süt ürünlerine, su ve maden suyuna kadar tüm gıda maddelerinin ambalajlanmasında sıklıkla kullanılırlar.

Darbelere karşı dayanıklı olması, maliyetinin düşük olması gibi birçok avantajı sebebi ile plastik materyaller gıda ambalajlamasında sıklıkla kullanılmaktadır. İlk defa İngiliz Kimyager Alexander Parkes tarafından 1862 yılında 'Parkenise' isimli plastik malzeme geliştirilmesi ile temelleri ortaya atılmıştır. ABD'li matbaacı Jhon Wesley Hyatt, fotoğraf filminde kullanmak üzere 1870 yılında selüloiti geliştirildi. Bu gelişmenin ardından selüloit malzemesi fotoğraf filmi dışında, gözlük çerçevesi, bıçak sapı, tarak gibi birçok çeşitli üründe de kullanıldı. 1889'da nitro selülozdan ilk sentetik lif geliştirdi. ABD'li Kimyager Leo Baekeland fenol ve formaldehiti karıştırarak 1909 yılında ilk plastik malzemeyi keşfetti. Gıda ambalajlamasında ise, 2. Dünya Savaşı sırasında sıklıkla kullanılan polietilenin 1950'li yıllar sonrası sektöre geçmesi ile kullanımına başlandı (Tayar 2011).

Plastik ambalajlar çok geniş hammadde çeşidine sahiptir. Gıda sanayiinde kullanılan bazı plastik malzemeler ise; polietilen (PE), polipropilen (PP), polistiren (PS), poliester, poliamitler (nylon), polivinilklorür (PVC), polivinildenklorür (PVDC) ve polivinilalkol (PVAL)'dür (Çinibulak 2010).

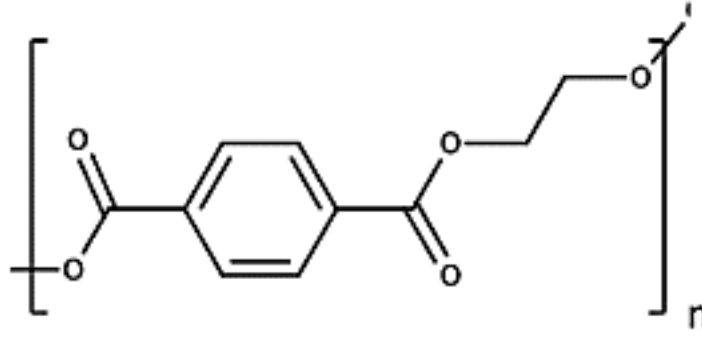
Polietilen tereftalat bilinen adı ile PET, geri dönüştürülebilir, poliester ailesinden termoplastik bir malzemedir. PET, teraftalik asit ve etilen glikol arasında gerçekleşen

esterifikasyon reaksiyonu ile oluşur. Bu reaksiyon esnasında bir asit katalizörü kullanılarak ısıtılmaktadır. PET'in polimerizasyonunda Ge, Mn, Pb, Ti, Zn, Sb, Sn gibi katalizörler kullanılır. Bunlar içerisinde ise yaygın olarak Sb katalizörü tercih edilmektedir. Sb katalizörünün en çok kullanılma sebebi ise; yan reaksiyonları daha az katalizleme eğiliminde olması, PET polimerizasyonunda yüksek katalitik aktivitesi, diğer katalizörlerin uç gruplara zarar verirken Sb katalizörünün vermemesi, reaksiyon esnasında renk değişimine sebep olmaması gibi avantajlar sayılabilir. Teraftalik asit ve etilen glikol arasında geçen reaksiyon Şekil 2.1.'deki gibidir (Atakan 2014, Gül 2018).



Şekil 2.1. Teraftalik asit ve etilen glikol arasındaki polimerizasyon reaksiyonu (Sabagh 2015'ten değiştirilerek alınmıştır.)

PET'ler genellikle orta sertliğe sahiptirler. Yoğunlukları 1,30-1,38 g/cm³ arasında değişmektedir. Renkleri yarı saydam ya da saydamdır. Erime sıcaklıkları 250 °C'dir. PET'ler zincir içerisinde kovalent bağa sahipken, zincirler arasında Van der Waals bağına sahiptirler. Bu yüzden ısıtıldığında yumuşarlar, soğutulduğunda ise yine sertleşirler. Şekil 2.2.'de PET molekülü görülmektedir (Atakan 2014, Gül 2018).



Şekil 2.2. PET'in molekül yapısı (Lara 2019'dan değiştirilerek alınmıştır.)

PET malzemeler, su ve içecekler başta olmak üzere birçok gıda ürününün paketlenmesinde kullanılmaktadır. Bu kadar çok kullanılmasının sebepleri arasında; darbelere karşı dirençli olması, düşük maliyetli olmaları, şeffaf olmaları, ambalajın depolanması esnasında çok fazla yer kaplamaması, taşıma kolaylığı, farklı tasarımlarda şekillenebilmesi gibi avantajlar sayılabilir (Kipmen 1978, Atakan 2014).

PET'in gerilme dayanımı 8.000 psi'dır, bu değer 30.000 psi'yi kadar çıkarılabilir. Ayrıca PET, ambalaj gaz geçirgenliği konusunda birçok plastiğe göre çok daha iyi performans gösterir. Bu yüzden de gazlı içeceklerin paketlenmesinde oldukça fazla kullanılır (Kılınç ve Yüce 2014).

PET şişelerin avantajları kadar dezavantajları da bulunmaktadır. En önemli dezavantajı ise paketleme malzemesinden oluşabilecek olası migrasyon tehlikesidir.

2.4.Migrasyon

Plastik ambalajlarda analizler genel olarak iki grupta gerçekleştirilmektedir. Ya plastik malzeme çeşitli işlem basamakları ile çözdürülüp yapısı hakkında bilgi edinilmek için analizler yapılır ya da plastik malzemedен olası organik ya da inorganik herhangi bir bileşen türü ve miktarının geçişini tespit edebilmek için migrasyon analizleri gerçekleştirilir.

Migrasyon Gıda ile etkileşim halinde bulunan ambalaj materyalinden gıdalara doğru ya da gıda maddesinden ambalaja doğru gerçekleşen bulaşmalara verilen ad olarak bilinir. 'Migrasyon' kelimesi İngilizce kökenli bir kelime olup Türkçe karşılığı 'göç' olarak ifade edilir (Altuntaş 2014). Migrant ise, migrasyona uğramış bileşene verilen isimdir.

Migrasyon olayında paketlenme materyalindeki herhangi bir organik ya da inorganik bileşen direkt gıdaya geçişi söz konusudur. Bu gıdayı tüketen tüketici ise gıda ile migrasyonu olmuş zararlı bileşeni de vücuduna almış olacaktır. Migrasyon analizleri bu sebepten dolayı gıda analizleri içerisinde önemli bir yere sahiptir ve çok dikkatli yapılması gereken bir analiz türüdür.

Migrasyon ve miktarı; gıda maddesinin fiziksel durumu, gıdanın özelliği, gıdanın migranta olan afinitesi, ambalaj materyalinin fiziksel ve kimyasal özellikleri, ambalaj materyalindeki migrantın çeşidi ve derişimi, gıda ile ambalaj materyalinin temas alanı, temas süresi ve sıcaklık gibi etkenlere göre değişiklik gösterir (Ormancı 2007).

Migrasyon genel olarak toplam migrasyon ve spesifik migrasyon olarak ikiye ayrılır. Toplam migrasyon, ambalaj malzemesinden gıdaya geçen tüm kimyasal bileşenlerin toplamıdır. Spesifik migrasyon (SML) ise, ambalaj malzemesinde özellikler toksikolojik olarak önemli olan öğelerinden birinin ya da daha fazlasının gıdaya geçmesini verilen isimdir (Tural 2013).

Plastik ambalajlardan gıdalara olası migrasyonun kontrolü, T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'na oluşturulan 'Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddeleri ile Temasta Bulunan Plastik Madde ve Malzemeler Tebliği'ne göre yapılmaktadır. Tebliğe göre, plastik malzeme ve bileşenlerinin toplam migrasyonu gıda ve benzeri ürünlere geçişi her kg başına 60 mg'ı geçmemelidir. Yine aynı tebliğde organik ve inorganik bileşenler için SML verilmektedir. Tebliğ kapsamında çok fazla bileşenin migrasyonu kontrol edilmektedir. Bu amaçla kullanılan bazı migrant örnekler Çizelge 2.3.'te gösterilmektedir (Anonim 2013).

Çizelge 2.3. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddeleri ile Temasta Bulunan Plastik Madde ve Malzemeler Tebliğinde yer alan bazı migrant örnekleri ve spesifik yasal limitleri (Anonim 2013)

Migrant	SML (mg/kg)
Melamin	30
Birincil Aromatik Aminler (PAA)	<0,01
Formaldehit	15
Asetaldehit	6
Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar	0,01
4,4-bis(diethylamino) benzofenon (DEAB)	0,01
Benzofenon (BP)	0,6
2,2-Bis(4-hidroksifenil) propan bis(2,3-epoksipropil) eter (BADGE)	9
2,2-Bis(4-hidroksifenil) propan (Bisfenol A)	0,6

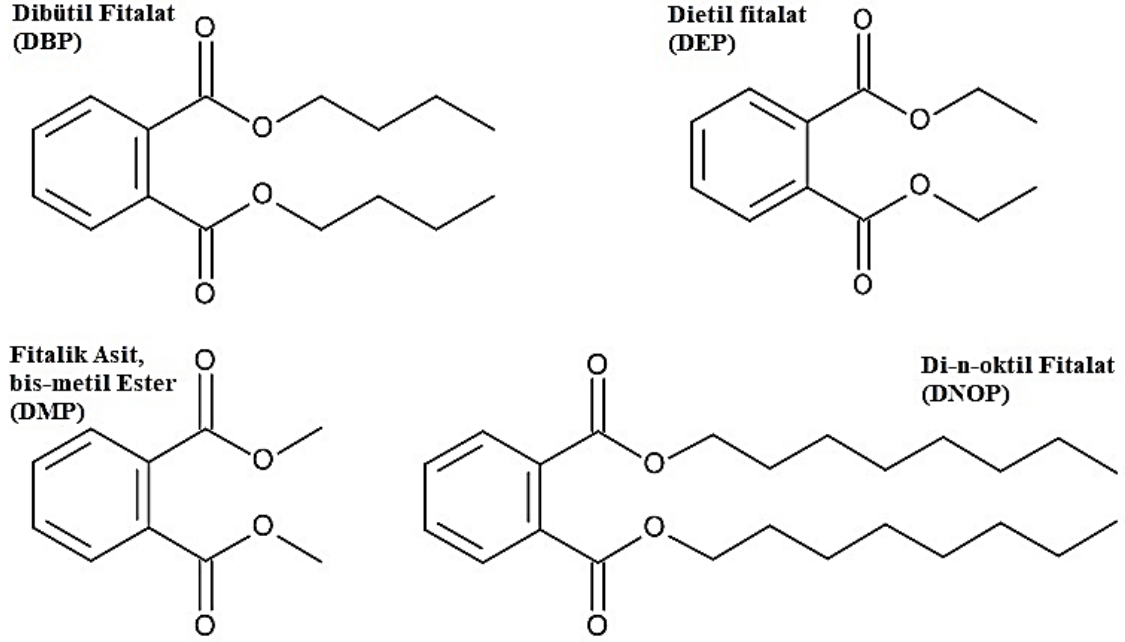
2.5.Fitalat Esterleri ve Plastik Malzemedden Migrasyonu

Plastik malzemelerden migrasyonu olabilecek bileşenlerden başka bir grup ise fitalat esterleridir. Fitalat esterleri ya da daha bilinen ismi ile fitalatlar petrolden imal edilen, insan yapımı organik maddelerdir (Montevicchi ve ark. 2016). Fitalatlar, katıldıkları materyale esneklik kazandırdıkları için plastikleştirici olarak da isimlendirilir (Luo ve ark. 2012). Ayrıca ilave edildikleri ürüne şeffaflık verme amacı ile de kullanılabilirler (Hayasaka 2014). Genel olarak ilave edildikleri malzemeye plastikleştirici özellik kazandırırken, bazı fitalatlar uzun süre renkli kalmaları, hoş kokmaları ve ilave edildikleri malzemeye parlak bir film tabakası etkisi verdikleri için kozmetik ürünlerinde de kullanılabilirler (Farooqi ve ark. 2018). Fitalatlar bunun dışında ısı ve havaya karşı dirençli oldukları için yalıtım malzemesi olarak da kullanılabilirler (Chen ve Zhang 2013). Bazı formülasyonları pestisitlerde ve boya malzemelerinde kullanılır (Penalver ve ark. 2001).

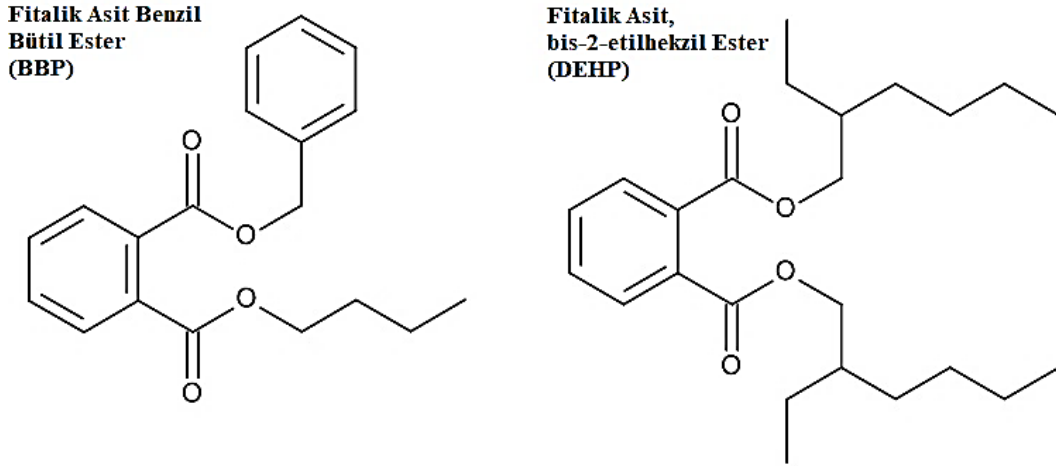
Fitalat esterlerinin kullanım alanları içerisinde, gıda paketlenmesi için kullanılan malzemeler, inşaat malzemeleri, tıbbi malzemeler, oyuncaklar, kozmetik ve bebek bakım ürünleri bulunmaktadır (Guo ve ark. 2019).

Fitalatlar kimyasal özellik olarak birbirlerine benzer olsalar da kendilerine özgü fiziksel, kimyasal özellikler ile canlı metabolizmasına farklı etkiler gösterirler. Çok fazla çeşitleri vardır fakat kabaca, molekül kütlelerine göre yüksek ve düşük olarak 2'ye ayrılırlar

(Yerlikaya 2018). Aşağıda en çok kullanılan ftalatların molekül yapıları Şekil 2.3 ve Şekil 2.4.'teki gibidir.



Şekil 2.3. DBP, DEP, DNOP ve DMP ftalatlarının molekül yapısı (Ayala 2013 ve Harunarashid 2017'den değiştirilerek alınmıştır.)



Şekil 2.4. BBP ve DEHP ftalatlarının molekül yapıları (Ayala 2013 ve Harunarashid 2017'den değiştirilerek alınmıştır.)

Fitalatların avantajlarının yanı sıra çeşitli dezavantajları da vardır. Fitalat esterlerinin yarı ömürleri oldukça kısadır, polimerlere kovalent bağlarla bağlı olmadıkları için içerisinde buldukları polimeri terk etme eğilimleri yüksektir. Özellikle yağ bazlı matrikslere migrasyonu daha fazladır (Du ve ark. 2015, Wu ve ark. 2013). Migrasyon eğilimleri

sebebi ile ekolojik çevreyi olumsuz etkilerler. Doğal sulardaki birikimleri sebebi ile de göller, nehirler ve denizlere kolaylıkla karışabilirler (Ye ve ark. 2013).

Fitalat esterlerinin insan sağlığına olumsuz etkileri de bulunmaktadır. Hayvanlar üzerinde yapılan toksikolojik çalışmalar, fitalatların insan sağlığına olumsuz etkileri ile alakalı endişeleri arttırmaktadır. En bilindik insan sağlığına zararı ise endokrin bozucu ajanlar olmalarıdır (Ateş ve Mittendorf, 2013). Fitalatlar, 1970'li yıllarda endokrin bozucu ajanlar sınıfına dahil edildiler. Yapılan bazı çalışmalarda cilt yolu ile kolaylıkla emilebilen bu bileşiklerin, testiküler disgenez sendromu ya da endometriyozis gibi çeşitli hastalıklara sebep oldukları gösterildi (Dong ve ark. 2019). Ayrıca düşük doğum ağırlıklarına ya da ölü doğumlara da sebep olabilirler. Fitalatların bunun dışında kansorejenik bileşenler olarak kabul edilerek, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından 2B ve 3 listelerine alınmaktadır (Cacho ve ark. 2014). Fitalatlar ve metabolitleri karaciğer, böbrek, akciğer, kalp gibi çeşitli organ sistemlerinde toksik etkilere neden olabildikleri kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalarla desteklenmektedir. (Cinelli ve ark. 2013, Wang ve ark. 2016).

2007 yılında ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından 6 fitalat (DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP ve DNOP) potansiyel sağlık riskleri sebebi ile çevre kirleticisi olarak sınıflandırıldı. 16 Ocak 2007 itibari ile 2005/84/EC sayılı AB direktifinde potansiyel DEHP, DBP ve BBP'ın PVC'lerde DINP (Diisonosil fitalat), DIDP (Diisodesil fitalat) ve DNOP 'ın her türlü çocuk ürünü kişisel bakım ürünü gibi malzemelerde kullanılması yasaklandı. Yapılan çalışmalar sonucunda fitalatların sadece yukarıda bahsedilen ürünlerden değil çeşitli plastik gıda materyallerinden gıdaya olası kontaminasyonu ve yayılımı sonucu çevreden de alınabileceği belirtildi. Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (EFSA) tarafından DBP, BBP ve DEHP için günlük tolere edilebilir limitler belirlendi. Bu limitler ağırlık ve gün için sırası ile 0,01 mg/kg, 0,5 mg/kg ve 0,15 mg/kg'dır (Dong ve ark. 2019, Gallart-Ayala ve ark. 2013, Anonim 2008). Yapılan bir çalışmada likörde 0,3 mg/kg DBP tespit edildiği ve çeşitli alkolsüz içeceklerde yapılan çalışmalarda ise BBP ve diğer fitalatların tespit edildiği rapor edildi (Wang ve ark. 2016).

Türk Gıda Kodeksi Gıda ile Temas Eden Plastik Madde ve Malzemeler Tebliği'nde plastik gıda paketlerinde kullanımına izin verilen fitalatların SML limitleri Çizelge 2.4.'te verilmiştir (Anonim 2013).

Çizelge 2.4. Türk Gıda Kodeksi Gıda ile Temas Eden Plastik Madde ve Malzemeler Tebliği'nde yer alan kullanımına izin verilen fitalatların spesifik yasal limitleri (Anonim 2013)

Fitalat Esterleri	Kullanım Alanları	SML
DEHP Bis(2-etilhekzil) fitalat $C_{24}H_{38}O_4$	a) Kullanımı tekrarlanan ve yağsız gıdalarla temas eden madde ve malzemelerde plastikleştirici olarak. b) Son ürünlerde %0,1'e kadar teknik yardımcı madde olarak kullanılır.	1,5 mg/kg gıda benzeri
DBP Dibütil Fitalat $C_{16}H_{22}O_4$	a) Kullanımı tekrarlanan ve yağsız gıdalarla temas eden madde ve malzemelerde plastikleştirici olarak. b) Son ürünlerde %0,05'e kadar teknik yardımcı madde olarak kullanılır.	0,3 mg/kg gıda benzeri
BBP Benzil Bütil Fitalat $C_{19}H_{20}O_4$	a) Kullanımı tekrarlanan madde ve malzemelerde plastikleştirici olarak b) TGK-Bebek Formülleri, TGK-Devam Formülleri ve TGK-Bebek ve Küçük Çocuk Ek Gıdaları tebliğlerinde tanımlanmış olanlar hariç yağsız gıdalarla temas eden tek kullanımlık madde ve malzemelerde plastikleştirici olarak. c) Son üründe %0,1'e kadar teknik yardımcı madde olarak kullanılır.	30mg/kg gıda benzeri
DiDP Diizodesil Fitalat $C_{28}H_{46}O_4$ birincil doymuş C8-C10 alkollerle. %60'tan fazla C9'lu		9 mg/kg gıda benzeri
DinP Diizononil Fitalat $C_{26}H_{42}O_4$ birincil doymuş C9-C11 alkollerle. %90'dan fazla C10'lu		9 mg/kg gıda benzeri

2.6.Fitalat Esterlerinin Analiz Yöntemleri

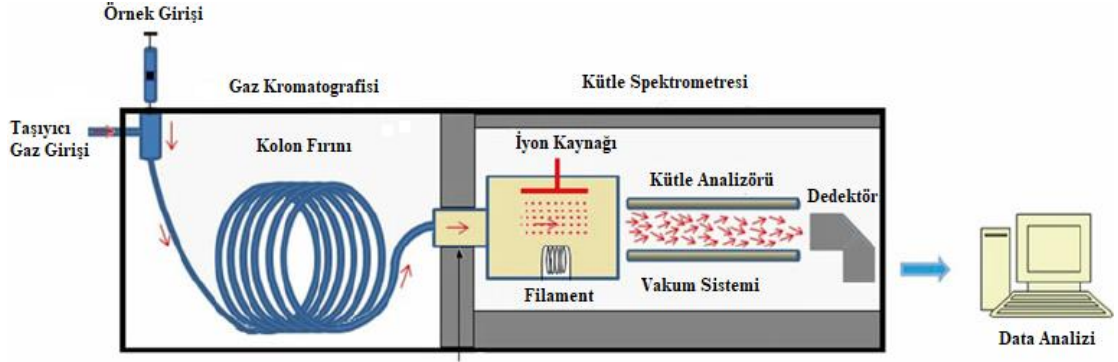
Fitalat esterleri günümüzde Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi / Tandem Kütle Spektroskopisi (GC-MS / GC-MSMS), Sıvı kromatografisi-Kütle Spektroskopisi / Tandem Kütle Spektroskopisi (LC-MS / LC-MSMS), HPLC gibi çeşitli cihazlarla ekstraksiyon sonrası çeşitli yöntemlerle analiz edilmektedir.

Yüksek tekrarlanabilir olması, düşük limitlerde doğru sonuçlar vermesi gibi birçok sebep nedeniyle dedektörü kütle spektroskopisi olan cihazlar bu alanda oldukça güçlü cihazlardır.

GC-MS'ler fitalat esterlerinin analizlerinde yaygın olarak kullanılan cihazların başında gelirler. GC'ler, bozunmadan uçucu hale geçebilen, ısıya dayanıklı organik ve inorganik bileşiklerin bir kolonda farklı hızlarla ilerleyerek ayrılması ve tayininde kullanılan bir tekniktir.

GC-MS'lerin kısaca çalışma prensibi ise, örnek uçucu hale geçirilip ısıtılmış bir kromatografik kolona gönderilir. Örnek bileşenlerinin kolondan elüsyonu inert bir taşıyıcı gaz ile sağlanır. Örnek kromatografi kolonundan çıktıktan sonra bir transfer hattından geçerek kütle spektrometrenin girişine gelir. Burada bir iyon kaynağı tarafından iyonlaştırılır ve fragmentlere ayrılır. Kütle analizörüne giren iyonlar burada m/z (kütle-yük oranı) değerlerine göre sıralanırlar.

Taşıyıcı gaz olarak en sık helyum kullanılır. Bunun dışında hidrojen ve argon gazları da kullanılabilir. MS kısmında ise iyonlaştırma genelde elektron-impakt veya kimyasal iyonlaştırma ile yapılır. Kütle analizörü olarak ise kuadrupol, iyon tuzaklı ve uçuş zamanlı sistemlerinden biri kullanılır. Şekil 2.5.'te GC-MS'in basit bir şematik gösterimi bulunmaktadır (Orhun 1968, Tuncay 2019).



Şekil 2.5. GC-MS cihazının şematik gösterimi (Emwas 2015'ten değiştirilerek alınmıştır.)

LC-MS/MS teknikleri sıvı kromatografisi ve tandem kütle spektrumunu bir araya getiren çok güçlü sistemlerdir. Bu sistemlerde; analitler öncelikle kromatografik kısımda fizikokimyasal özelliklerine göre ayrılır. Ayrılan analitler kütle spektrometre kısmında m/z oranlarına göre tespit edilirler.

Sıvı kromatografisi kısmında, bir sabit faz ve bir hareketli faz yardımı ile analitlerin ayrımı gerçekleştirilir. Sabit faz olarak kullanılan ticari kolonlar, genel olarak çelik, cam ve PEEK'(Polietereeterketon) den tasarlanırken iç dolgu malzemeleri silika ya da polimerik malzeme ile doldurulur. Kolonlar dolgu malzemesinin çeşidine, partikül boyutuna veya kolonun çapına, uzunluğuna göre farklı ayırım gücüne sahiptirler. Kolonlar dolgu malzemesinin türüne göre; polar, apolar ya da iyon değiştirici gibi çeşitli yapılarda olabilirler. Hareketli faz diğer adı ile mobil faz ise analitlerin kromatografik sistem boyunca hareket etmesini sağlayan fazdır. Genellikle su ve metanol, asetonitril gibi organik çözücülerin farklı oranlardaki karışımları ile elde edilirler. Yapılan analizin pH değişimlerinden etkilenmemesi için su içerisine tampon etkisi gösterecek kimyasallar da eklenebilir. Basit bir kromatografik sistemde analitlerin sabit faza olan afinitesine göre ayırım gerçekleştirilir. Sabit faza afinitesi az olan analit kolonu çabuk terk ederken, sabit faza afinitesi fazla olan analit ise kolonu geç terk eder. Her bir analitin kolondan ayrılma süresine ise alıkonma zamanı denir. Ve her bir analitin alıkonma zamanı kolona olan afinitesine, ortamın sıcaklığına, mobil fazın akış hızına, pH'ına göre değişkenlik gösterir. Basit bir sıvı kromatografisi sistemi; mobil faz, gaz giderme (degaze) ünitesi, pompa sistemi, otomatik örnekleme, kolon / kolon fırını ve dedektörden oluşmaktadır. Analizlerin tekrarlanabilir olması için sistem üzerinde aynı şartları sağlamak önemli bir

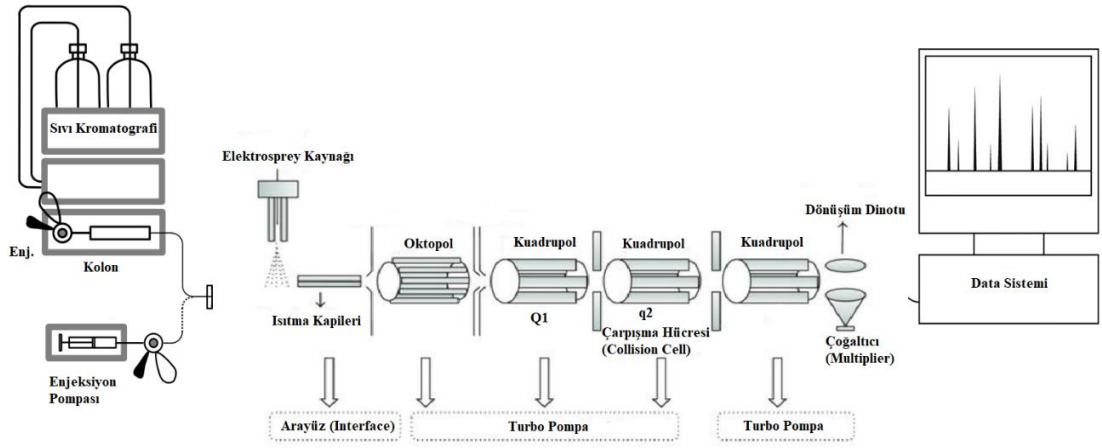
konudur. Sistem üzerinde sürekli aynı akış hızı, sıcaklık gibi parametreleri sağlayabilmek için pompa ve kolon fırını gibi üniteler yer almaktadır.

Sistem akışı, mobil fazdan başlayıp kolonda analitlerin ayrılması ile devam eder ve dedektörde son bulur. Kromatografik yöntemlerde; ters faz, normal faz, iyon değiştirme, boyut eleme, kiral ayırma gibi çeşitli yöntemler vardır. Bunların dışında sıvı kromatografileri kullanılan dedektörlere göre de değişiklik göstermektedir. Sıklıkla kullanılan dedektörler arasında; Ultra viole (UV), iletkenlik (CD), kırılma indeksi (RID), Floresans, kütle spektrometresi (MS), gibi türler bulunmaktadır.

Kromatografik sistemde ayrılan analitler MS/MS'den önce bir ara yüze gelirler. Burada elektron sprey iyonizasyon (ESI), atmosferik basınçta kimyasal iyonizasyon (APCI), atmosferik basınçta foto iyonizasyon (APPI) gibi iyonlaştırma yöntemlerinden biri ile analitler çözücülerinden uzaklaştırılıp pozitif veya negatif olmak üzere iyonik hale geçirilir.

ESI'nin çalışma prensibine bakıldığında; kromatografi sisteminde gelen analitler, elektriksel bir alana püskürtülerek yüklenir. Yüklenen analitlerin azot gazı yardımı ile çözücülerini uzaklaştırılır. İyonik haldeki analitler buradan tanımlanmak üzere kütle analizörüne girerler. Quadrupole, İyon tuzaklı (Ion-trap) ve uçuş zamanlı (Time of Flight-TOF) gibi çeşitli kütle analizörleri mevcuttur.

Quadrupole sistemlerinde, yüklü iyonik haldeki analitler vakum ortamına alınırlar. Burada alternatif akım (AC) ve radyo frekansı (RF) uygulanan 4 adet çubuk bulunur. Bu çubuklar karşılıklı olacak şekilde negatif ve pozitif yüklüdürler. Sürekli voltaj değiştirilerek elektrik ve manyetik alan meydana getirirler. Analitler ilk olarak quadrupole-1'de m/z oranlarına göre ayrılır. Burada ayrılan ilk bileşenlere ana iyon denir. Ayrılan ana iyonlar ardından quadrupole-2'ye geçerler burada argon gazı varlığında tekrar parçalanırlar. Parçalanmış iyonlara parçalanma iyonları adı verilir. Quadrupole-3'e gelen Parçalanma iyonları quadrupole-1'de olduğu gibi yine m/z oranlarına göre ayrılırlar. Burada elde edilen ikincil iyonlar dedektöre ulaşarak tespit edilirler. Şekil 2.6.'da LC-MS/MS'in basit bir şematik gösterimi bulunmaktadır. (Elmastaş 2018, Koyutürk 2019, Temel 2019, Tuncay 2019).



Şekil 2.6. LC-MS/MS cihazının şematik gösterimi (Brima 2006 ve Östman 2018'den değiştirilerek alınmıştır.)

2.7. Ekstraksiyon Yöntemleri ve QuEChERS

Karışık matriksi bulunan ve/veya az miktarda analit içeren numunelerin analizlerinde daha doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar için ekstraksiyon yöntemlerine sıklıkla başvurulur. Ekstraksiyon işlemi ile hem analit matriks etkisinden olabildiğince uzaklaştırılır hem de az miktardaki bileşenler daha az çözücü içerisinde alınarak zenginleştirilebilir.

Günümüzde ekstraksiyon yöntemlerine baktığımızda sıvı-sıvı ve katı faz ekstraksiyonlar en eski ve en sık kullanılan yöntemlerdir. Bunların dışında katı faz mikro ekstraksiyon (SPME), dispersiv sıvı ekstraksiyon (DSE), QuEChERS gibi özelleştirilmiş yöntemler de vardır.

Katı faz ekstraksiyonu (SPE) basit olarak, katı bir materyal olan kolondan analitlerin geçirilmesi ve bu materyalde tutulması ardından bir çözücü yardımı ile kolondan alınması yöntemine dayanır. Analitlerin kolonda tutunması kolona olan afinitesine göre gerçekleştirilir. Genelde tek kullanımlık olan bu kolonlar çeşitli özelliklere sahip olup, ayrıştırılması istenilen analitin türüne göre değişiklik göstermektedir. Normal faz, ters faz, iyon değişirme gibi çeşitli yöntemleri bulunmaktadır. Ekstraksiyon esnasında hem analit matriks etkisinden uzaklaştırılır. Hem de daha az hacimde bir çözücüye alınarak analit zenginleştirilmiş olur (Yıldız 2014).

QuEChERS metodu ise SPE'nin biraz daha geliştirilip ve özelleştirilmiş halidir. Bu yöntem genel olarak ekstraksiyon ve yıkama olmak üzere iki basamakta gerçekleştirilir.

İlk aşama olan ekstraksiyon basamağında, belirli bir miktarda matriks organik çözücü ve ekstraksiyon tuzları ile karıştırılarak analitlerin organik çözücüye geçmesi sağlanır. Ardından organik çözücüye geçmiş analitlerin matriks karışımından alınması için santrifüjleme işlemi gerçekleştirilir. İkinci aşama olan temizleme basamağı ise, organik çözücüye geçmiş analitlerin olası matriks etkisinden ve sudan daha iyi uzaklaşmaları için uygulanır. Bu basamakta matriks türüne uygun yine ekstraksiyon tuzları ile ekstra bir organik çözücü olmadan ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilir. 2 defa ekstraksiyon yapılmış olan analitler olabildiğince matriks etkisinden uzaklaştırılmış olurlar. 2. Basamakta kullanılan ekstraksiyon tuzları ise matriksin bünyesindeki yağ, şeker gibi analizi etkileyecek olan bileşenlerin özelliğine göre çeşitlilik gösterir.

Yöntem ticari olarak satın alındığında her bir ekstraksiyon için ayrı paketlerde gelmektedir. Bu da her ekstraksiyonda ayrı malzeme kullanılması ile kirlilikten uzak bir ekstraksiyon yöntemi sağlarken ayrıca paketlerden tüm ekstraksiyon tuzlarının tek kullanımlık gramajlanması ile de her ekstraksiyonda yüksek tekrarlanabilirlik sağlamaktadır. Sıvı-sıvı ekstraksiyona göre daha az organik çözücü kullanıldığı için çevre dostudur. Numune tartımı ve az miktarda organik çözücü ilavesi dışında herhangi bir hacim ölçme ya da tartım prosedürlerini bulundurmamasından dolayı da kullanıcı dostu bir yöntemdir. QuEChERS metodu ayrıca AOAC' (Association of Official Analytical Chemists) nin standart metodlarına da girmiş bir ekstraksiyon yöntemidir (Durmaz 2016, Sun ve ark. 2018, Kowalski 2014).

2.8. Metot Validasyonu Parametreleri

Analitik metotlar; ortam şartları, cihaz farklılıkları, analizi yapan kişi, kullanılan kimyasalların ve standartların saflığı vb. gibi durumlarda değişiklik gösterebilir. Bir analitik metottan beklenen ise, yukarıda bahsedilen şartlar altında en az değişiklik göstermesidir. Metodun doğru ve kesin ölçüm yapabildiğini belirlemek için metot validasyonu ya da verifikasyonu çalışmaları yapılır.

Metot validasyonu (geçerli kılma), uluslararası ve ulusal olarak bir metodun performans kriterlerinin incelenip uygunluğunun saptanmasıdır.

Metot verifikasyonu (doğrulama) ise, çalışma kriterlerinin daha önceden belirlenip onaylanmış bir metodun laboratuvar şartlarında çalışabilirliğinin incelenen kriterler ile saptanmasıdır.

Bu çalışmalar kapsamında; LOD, LOQ, lineerlik, doğruluk, kesinlik, (tekrarlanabilirlik, tekrar üretilebilirlik), gerçeklik (Bias, geri kazanım) validasyon/verifikasyon için ortak incelenen parametrelerdir. Ancak metot validasyonunda bunlardan farklı olarak, seçicilik/spesifiklik ve sağlamlık parametreleri de belirlenmektedir.

LOD, analitin metot şartları altında tespit edilebilen en küçük limittir aşağıdaki eşitlikte verildiği gibi hesaplanmaktadır.

$$LOD=SS \times 3 \quad (2.1.)$$

LOQ ise, analitin metot şartları altında güvenilir bir şekilde ölçülebildiği, en düşük konsantrasyon seviyesidir. LOQ aşağıdaki eşitlikte verildiği gibi hesaplanmaktadır.

$$LOQ=SS \times 10 \quad (2.2.)$$

SS: standart sapma

Lineer aralık ya da doğrusallık, ölçülen konsantrasyon değeri ile dedektörün ölçüm aldığı değerler arasında orantılı olarak arttığı aralıktır.

Doğruluk; iki ana bileşenden meydana gelmektedir. Bunlar kesinlik ve gerçekliktir.

Kesinlik; optimize edilen metot şartları altında alınan sonuçların birbirlerine yakınlığıdır. İki şekilde verilir tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik. Tekrarlanabilirlik oldukça kısa zaman içerisinde, aynı donanım ve aynı analist tarafından yapılan analizlerin sonuçlarının birbirine yakınlığının değerlendirilmesidir. Tekrar üretilebilirlik ise farklı zaman içerisinde, aynı/farklı donanım ve aynı/farklı analist tarafından yapılan analizlerin sonuçlarının birbirine yakınlığının değerlendirilmesidir.

Gerçeklik; aynı metot şartları altında yapılan analizlerin gerçek sonuca olan yakınlığı olarak ifade edilir. Bias veya % geri kazanım sonucu ile verilebilir.

% geri kazanım için hesaplama 2.3'teki eşitliğe göre yapılır.

$$\%R = \frac{Q_z - Q_o}{Q_{zk}} \times 100 \quad (2.3.)$$

%R: % geri kazanım

Qz: Zenginleştirilmiş örnek

Qo: Orijinal örnek derişimi

Qzk: Zenginleştirilmiş konsantrasyon (Anonim 2018, Yılmaz 2013).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1.Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

3.1.1. Sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS)

Analizlerde Shimadzu marka LC-8040 model LC-MS/MS cihazı kullanıldı. MS cihazının vakumunu sağlamak için Edwards marka E2M28 model vakum pompası kullanıldı. Cihaz, Şekil 3.1.'de görülmektedir.



Şekil 3.1. Shimadzu marka LC-8040 model LC-MS/MS

3.1.2. Otomatik pipetler

Eppendorf marka 10-100 μL 'lik mikro pipet ile Rainin (Mettler Toledo) marka 100-1000 μL , 0,2-10 mL'lik otomatik pipetler kullanıldı.

3.1.3. Ultra saf su cihazı

DeneySEL çalışmada kullanılan saf su Millipore Direct Q3 sisteminden temin edildi.

3.1.4. Azot jeneratörü

Azot gazı Peak Scientific Azot Jeneratörü sisteminden temin edildi.

3.1.5. Santrifüj cihazı

Hermle marka Z 206 A santrifüj cihazı kullanıldı.

3.2.Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler

3.2.1. Kimyasallar

Dr. Ethenstorfer 2000 µg/mL mix fitalat standardı, içerisinde; DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP, DNOP (LOT: 40317ME)

Merck Asetonitril LC-MS için LiChrosolv® (LOT: I0905358 733)

Merck Formik asit kütle spektroskopisi için (LOT: Z0485102 812)

Sigma-Aldrich Amonyum Format tuzu kütle spektrometresi için (LOT: BCBV9434)

RESTEK Q-sep QuEChERS ekstraksiyon tuzu, içerisinde; 6.0 g MgSO₄, 1.5 g NaOAC bulunan (LOT: 1102361)

RESTEK Q-sep QuEChERS dSPE, içerisinde; 1200 mg MgSO₄, 400 mg PSA, 400 mg C18 bulunan (LOT: 1112921-5823597)

Merck Asetik Asit (Glasiel) %100 analiz için (LOT: K45178030 349)

%99,999 saflıkta Argon Gazı (ORSEZ SN: FT505358)

GL Science Inc. InertSustain C18 ayırıcı kolon (3 µm 3,0 X 10 mm) (S/N: 8CR55158)

3.3.Standart ve Örnek Hazırlama

3.3.1. Model çözelti hazırlama

Limonatanın ve gazozun şeker oranlarına göre ortalama bir gramajda şeker yine limonatanın meyve oranına göre belirli miktarda limon konsantresi ultra saf su ile karıştırılarak hazırlandı.

3.3.2. Kalibrasyon eğrisi için fitalat esteri standardı hazırlama

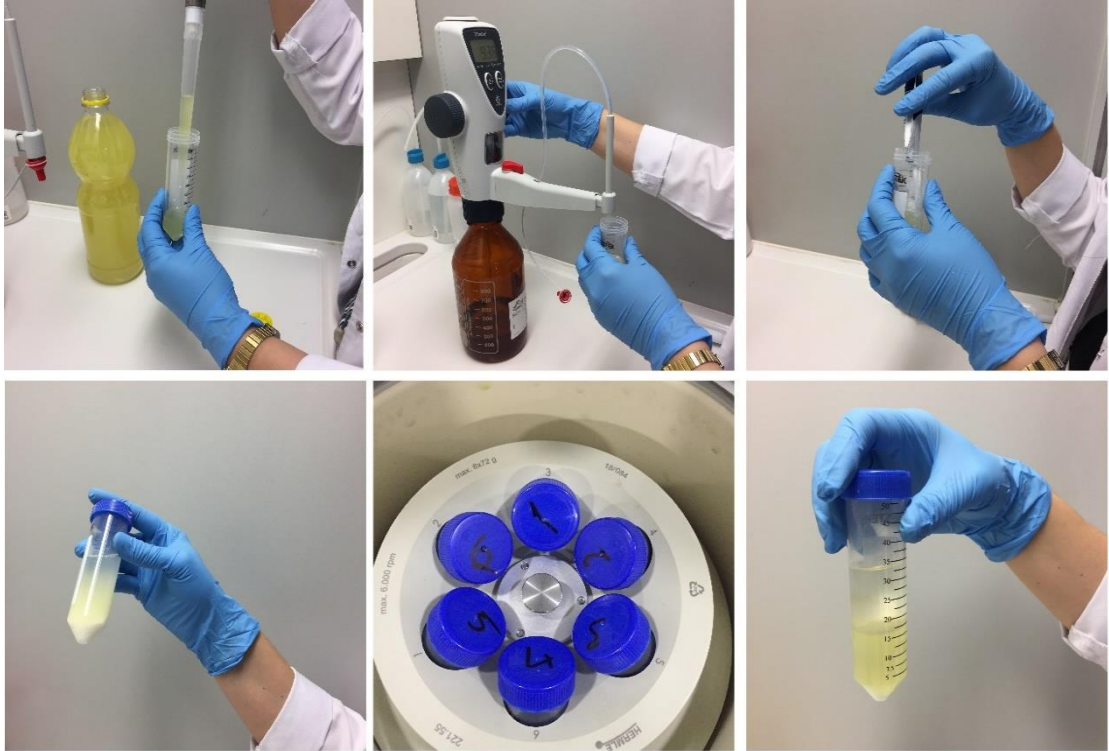
Metil alkol içerisinde bulunan mix haldeki ana stok çözeltisinden öncelikle asetonitril (ACN) ile seyreltilerek 1 ppm ara stok çözeltisi hazırlandı. Ara stok çözeltisinde ACN ile seyreltilerek 5-50 ppb'lik kalibrasyon çözeltileri hazırlandı. Bunun dışında matriks etkisini görebilmek için ise yine hazırlanan 1 ppm'lik ara stoktan 5-50 ppb olacak şekilde model çözelti içerisine ilave edildi ve QuEChERS ekstraksiyonu ile hazırlandı. Hazırlanan standart çözeltileri analiz sırasına kadar +4 °C'ye kadar muhafaza edildi.

3.3.3. Numune seçimi

Örnek olarak; limonlu içecek (Limonata), karışık meyve aromalı gazlı içecek (Gazoz) ve doğal kaynak suyu olmak üzere üç çeşit ve 1 L'lik hacimlerdeki PET ambalajda bulunanlar seçildi. Raf ömrü boyunca olası fitalat migrasyonundaki değişimi gözlemlemek amacı ile her bir örnek için üç farklı tarihte üretilmiş numuneler ile analiz yapıldı. Numuneler yeni üretilmiş, son tüketim tarihini yarımış (gazoz ve kaynak suyu için 6 ay, limonata için 3 ay tamamlamış örnekler) ve son tüketim tarihini doldurmuş olmak üzere belirlendi.

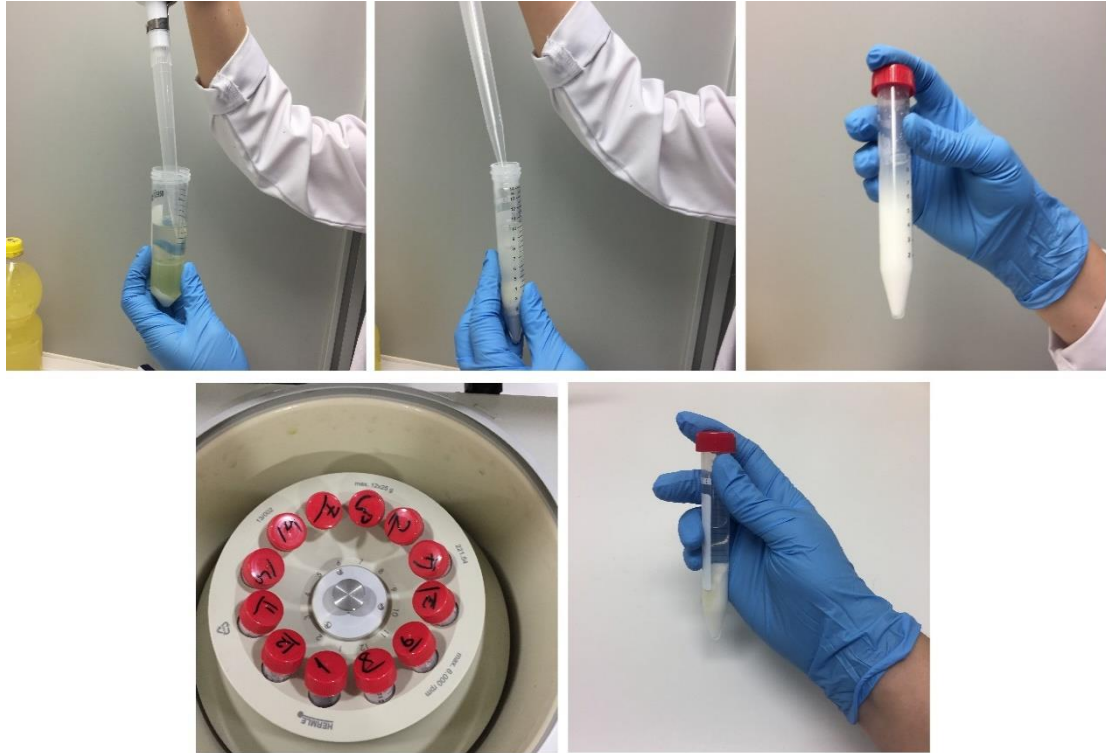
3.3.4. QuEChERS metodu ile örnek hazırlama

15 mL içecek numunesi 50 mL'lik falcona alınır. Üzerine içerisinde %1 oranında asetik asit bulunan 15 mL asetonitril çözeltisi ilave edilip 1 dakika karıştırılır. Bu işlemin ardından falcon içerisine QuEChERS'in birinci basamağı olan ekstraksiyon tuzu (6,0 g MgSO₄, 1,5 g NaOAC) ilave edilir. 60 saniye karışım iyice çalkalanır. Ardından 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi yapılır. İşlem basamakları Şekil 3.2.'dedir.



Şekil 3.2. QuEChERS ekstraksiyon basamakları.

Santrifüj işleminin ardından üstte toplanan fazdan (ACN fazı) 8 mL alınarak QuEChERS'in ikinci basamağı olan temizleme basamağı işlemi için dSPE (1200 mg MgSO₄, 400 mg PSA, 400 mg C18) içerisine alınır. 30 saniye çalkalandıktan sonra yine 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi yapılır. Bu işlemin ardından üstte toplanan fazdan 1,5 mL'lik viale alınarak analiz süresine kadar +4 °C'de bekletilir. İşlem basamakları Şekil 3.3.'te özetlenmektedir.



Şekil 3.3. QuEChERS temizleme basamakları.

3.4. LC/MSMS Şartları

Kromatografik şartlar; C18 ayırıcı kolon, kolon sıcaklığı 37 °C, mobil faz akış hızı ise 0,3 mL/dk, mobil faz A olarak 5 mM amonyum format ve %0,1 formik asit içeren su ile hazırlanmış çözelti, mobil faz B'de %100 asetonitril kullanıldı. Analiz süresi sistemin tekrar analiz yapar duruma gelmesi ile beraber 16 dakikadır. Gradient programı ise Çizelge 3.1.'de verilmektedir.

MS şartları ise; nebulize gaz akışı 3 L/dk. kurutucu gaz akışı 15 L/dk. DL sıcaklığı 250 °C, ısı bloğu sıcaklığı ise 400 °C'dir.

Çizelge 3.1. LC-MSMS cihazı için gradient program

Gradient Programı		
<i>Dk.</i>	<i>Çözelti</i>	<i>Hacim (%)</i>
0,00	ACN	40
4,00	ACN	75
8,00	ACN	90
12,00	ACN	100
14,00	ACN	75
15,00	ACN	40

4. BULGULAR

6 standardın (DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP, DNOP) içerisinde bulunduğu 1 ppm'lik hazırlanan ara stok standardı ile MRM (Multiple Reaction Monitoring) çalışması yapıldı. MRM çalışması kapsamında literatürden de destek alınarak her analit için, bir ana iyon ve analitik performans kriterlerine göre en az iki tane olacak şekilde parçalanma iyonları belirlendi. (Xu ve ark. 2013, Fan ve ark. 2014, Net ve ark. 2015). Belirlenen parametreler Çizelge 4.1.'de verilmiş olup, tüm analizler bu parametrelerle gerçekleştirildi.

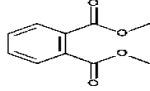
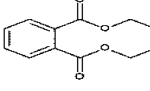
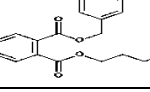
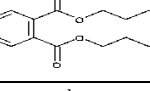
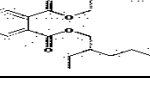
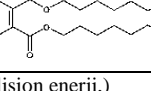
Analitler için ana iyonlar, parçalanma iyonları, iyonlaşma türleri, iyonlaşma için gerekli enerji (collision enerji), bekleme (dwell) zamanı değerleri belirlendi. Bu değerler belirlenirken analizde kullanılan aynı mobil faz 0,5 mL/dk. akış hızında ve mobil faz A: mobil faz B (50:50) (%:%) olacak şekilde kolonsuz çalışıldı. Belirleme işlemi her bir analitin parçalanma iyonları için bir dakika, toplamda 12 dakikadır. 6 fitalat için MS/MS değerleri de Çizelge 4.1.'deki gibidir. DMP için MRM optimizasyonu sonuçları Şekil 4.1.'de örnek olarak verildiği gibidir. Diğer bileşenlerin MRM optimizasyonu sonuçları ek kısmında EK-1'de verildi.

Type	Event#	+/-	Compound Name	m/z	Time (0,000 min - 14,000 min)
MRM	1	+	DMP	195,00>163,00, 195,00>77,10	
MRM	2	+	DEP	223,20>149,00, 223,00>121,00	
MRM	3	+	BBP	313,20>149,00, 313,20>91,00	
MRM	4	+	DBP	279,25>149,00, 279,25>57,30	
MRM	5	+	DEHP	391,10>149,00, 391,10>167,00	
MRM	6	+	DNOP	391,10>149,00, 391,10>57,30	

Ch	Precursor m/z	Product m/z	Pause Time (msec)	Dwell Time (msec)	Q1 Pre Bias (V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
Ch1	195,00	163,00	1,0	249,0	-12,0	-9,0	-18,0
Ch2	195,00	77,10	1,0	249,0	-23,0	-36,0	-30,0
Ch3							

Şekil 4.1. DMP için MRM optimizasyon sonuçları.

Çizelge 4.1. Analitlerin molekül şekilleri, ana iyon, parçalanma iyonları, collision enerjileri, iyonlaşma türleri, dwell ve duraklama (Pause) zamanları

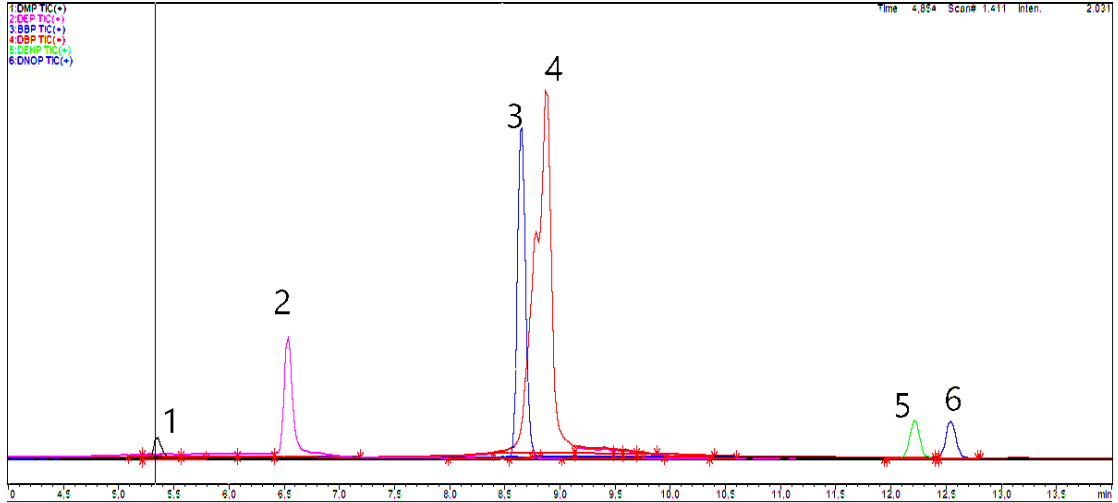
Analit	Molekül Şekli	Ana İyon	Pi	C.E.	İyon. Türü	Dwell Zamanı	Pause Zamanı
<i>DMP</i>		195,00	163,00	-9	+	249	1
			77,10	-36			
<i>DEP</i>		223,00	149,00	-16	+	249	1
			121,00	-32			
<i>BBP</i>		313,00	149,00	-13	+	124	1
			91,00	-20			
<i>DBP</i>		279,30	149,00	-14	+	124	1
			57,30	-24			
<i>DEHP</i>		391,10	149,00	-18	+	124	1
			167,00	-13			
<i>DNOP</i>		391,10	149,00	-10	+	124	1
			57,30	-18			

(Pi: Parçalanma iyonu, C.E.: collision enerji.)

MS/MS parametrelerinin belirlenmesinin ardından kolonlu çalışmaya geçildi. Kolonlu çalışmada öncelikli olarak akış hızının ve gradient programının belirlenmesi için çeşitli denemeler yapılarak, analitlerin ayırım durumlarına göre alıkonma zamanları, optimum gradient program ve akış hızı belirlendi. Her bir analit için alıkonma zamanları, m/z ve referans iyonları Çizelge 4.2.'de verildiği gibidir. Ayrıca Şekil 4.2.'de 6 mix fitalat standardının optimize edilmiş koşullardaki kromatogramı görülmektedir.

Çizelge 4.2. Alıkonma zamanları, m/z ve referans iyonları

Analit	Alıkonma Zamanı	m/z	Referans iyon
<i>DMP</i>	5,33	195,00>163,00	195,00>77,10
<i>DEP</i>	6,52	223,20>149,00	223,20>121,00
<i>BBP</i>	8,69	313,20>149,00	313,20>91,00
<i>DBP</i>	8,79	279,25>149,00	279,25>57,30
<i>DHEP</i>	12,18	391,10>149,00	391,10>167,00
<i>DNOP</i>	12,51	391,10>149,00	391,10>57,30



Şekil 4.2. 6 mix ftalat standardına ait kromatogram görüntüsü.
(1=DMP, 2=DEP, 3=BBP, 4=DBP, 5=DEHP, 6=DNOP)

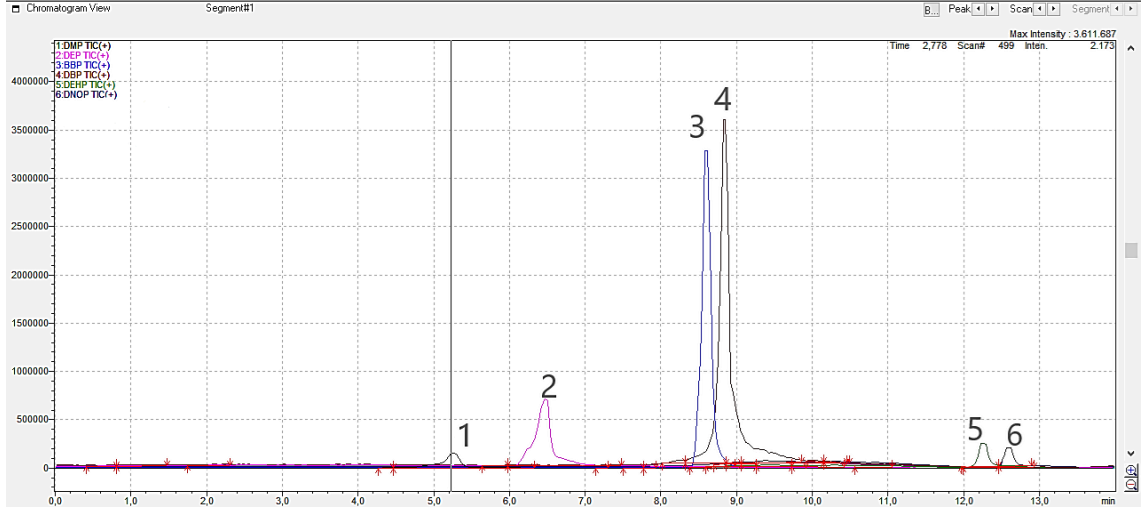
Analitik performans değerlendirme kriterleri için metot validasyonu çalışması yapıldı. Validasyon çalışması için, model çözelti içerisine derişimi bilinen standartların ilavesinin ardında, QuEChERS ekstraksiyonu ile validasyon ekstratları hazırlandı. Bu çalışmadaki metot validasyonu parametreleri, 2. Kuramsal Temeller bölümünde bahsedildiği gibi yapıldı. Ayrıca tüm hesaplamalar için yine aynı bölümde yer alan Eşitlik 2.1., Eşitlik 2.2. ve Eşitlik 2.3. kullanıldı. Bu kapsamda öncelikli olarak LOD ve LOQ değerleri ve kalibrasyon eğrisi çizilerek regresyon katsayıları (R^2) belirlendi.

Çizelge 4.3.'te dinamik çalışma aralığı, kalibrasyon denklemi, R^2 , LOD ve LOQ değerleri görülmektedir. Model çözelti içerisindeki standartların kromatogramları ise şekil 4.3.'teki gibidir.

Çizelge 4.3. Her bir analit için lineer aralık, kalibrasyon denklemi, R^2 , LOD ve LOQ değerleri

Dinamik Çalışma Aralığı ($\mu\text{g/L}$)		Kalibrasyon Denklemi	R^2	LOD *n ($\mu\text{g/L}$)	LOQ *n ($\mu\text{g/L}$)
DMP	5,00-50,00	$y = 37,000x + 45,85890$	0,9993	2,56	2,30
DEP	5,00-50,00	$y = 156,008x + 338,799$	0,9994	2,84	3,52
BBP	5,00-50,00	$y = 338,872x + 615,818$	0,9993	0,14	0,21
DBP	5,00-50,00	$y = 2,41635e^{+006}x + 4,63050e^{+007}$	0,9972	0,15	0,21
DHEP	5,00-50,00	$y = 16,5089x + 617,732$	0,9973	0,14	0,22
DNOP	5,00-50,00	$y = 13,0706x + 11,1844$	0,9987	2,30	2,66

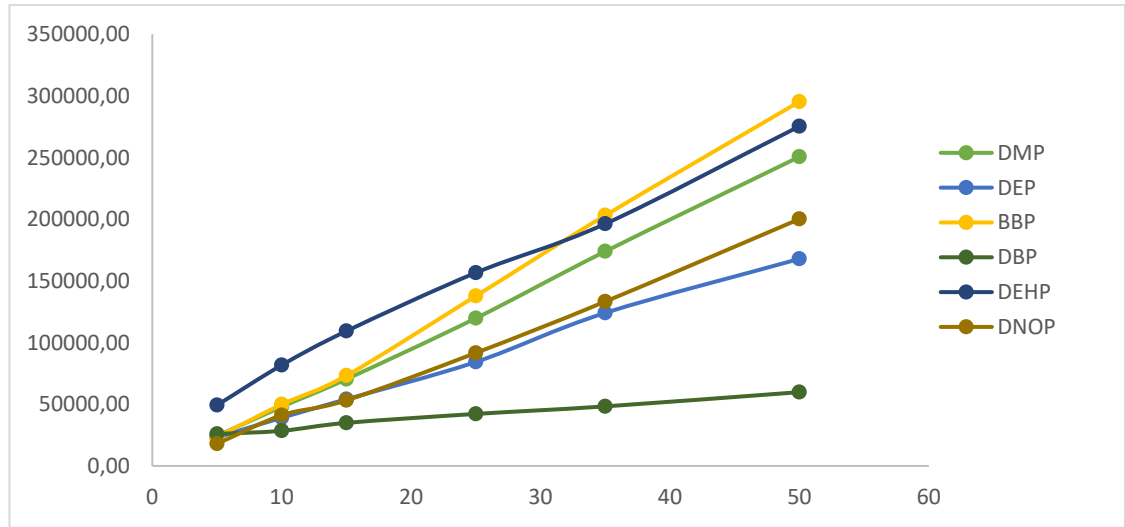
(*n: 10 tekrar)



Şekil 4.3. Model çözelti içerisinde derişimi bilinen fitalat standartlarının ilave edildiği kromatogram.

(1=DMP, 2=DEP, 3=BBP, 4=DBP, 5=DEHP, 6=DNOP)

Her bir bileşen için kalibrasyon eğrisi Şekil 4.4.’teki gibidir. Her bileşenin ayrı ayrı kalibrasyon eğrileri ve kromatogramları Ek-2’de verildiği gibidir.



Şekil 4.4. Fitalatların kalibrasyon eğrisi görüntüsü

Kesinlik kapsamında model çözelti içerisinde ilave edilen standartlar QuEChERS ekstraksiyonu ile analiz edilerek tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik çalışması yapıldı. Tekrarlanabilirlik çalışmaları aynı gün aynı cihaz aynı analist ve 3 tekrarlı olacak şekilde yapılırken. Tekrar üretilebilirlik çalışması ise farklı günlerde (3 ayrı günde), aynı cihaz ve aynı analist ile her bir gün için 3’er tekrarlı olmak üzere toplam 9 tekrarlı yapıldı. Yapılan tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik çalışmaları Çizelge 4.4’teki gibidir.

Çizelge 4.4. Model çözelti içerisinde tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik sonuçları

Analit	Eklenen ($\mu\text{g/L}$)	Tekrarlanabilirlik *n		Tekrar üretilebilirlik *n ₂	
		Analiz sonucu ($\mu\text{g/L}$)	%RSD	Analiz sonucu ($\mu\text{g/L}$)	%RSD
DMP	5,00	4,44	6,53	4,85	10,51
	15,00	15,22	2,10	15,03	3,26
	35,00	34,65	0,78	35,02	1,48
DEP	5,00	5,10	1,76	5,20	10,19
	15,00	14,99	2,27	15,10	4,11
	35,00	35,61	1,71	35,50	1,52
BBP	5,00	4,62	2,38	4,50	4,44
	15,00	15,75	0,25	15,40	0,65
	35,00	35,27	2,49	35,40	2,32
DBP	5,00	4,77	5,24	4,82	6,44
	15,00	14,68	3,20	14,59	3,63
	35,00	34,81	1,49	35,03	1,31
DEHP	5,00	5,12	2,15	5,30	2,26
	15,00	14,50	0,97	14,40	0,90
	35,00	34,09	0,35	34,11	0,41
DNOP	5,00	4,90	2,86	4,91	3,46
	15,00	15,54	1,99	15,73	2,60
	35,00	34,65	2,28	35,13	2,59

(*n: 3 tekrar *n₂: 3 ayrı gün için toplam 9 tekrar)

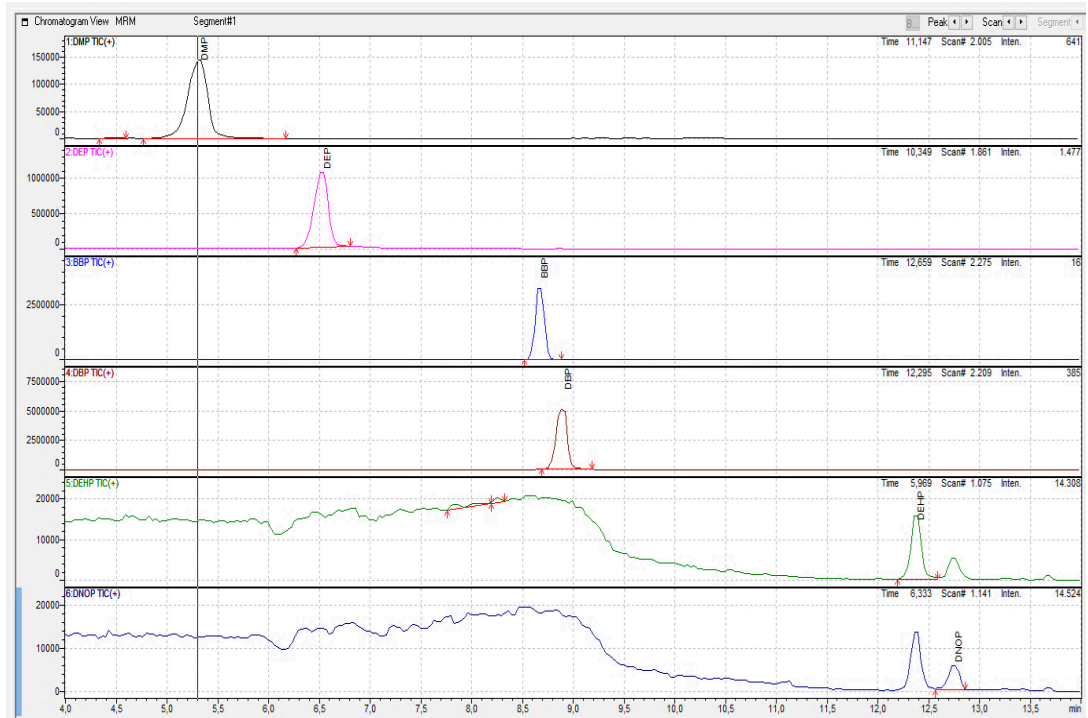
Gerçeklik kapsamında, model çözeltisi, limonata matriksi, gazoz matriksi ve kaynak suyu matriksi olmak üzere 4 farklı matrikste analizler gerçekleştirildi. Her bir matrikse derişimi bilinen standartlar ilave edilerek QuEChERS ekstraksiyonu uygulandı. Her bir analiz 3'er tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi. Her bir matriks için % geri kazanım değerleri Çizelge 4.5., Çizelge 4.6. ve Çizelge 4.7.'de verildiği gibidir. Ayrıca 35 ppb'lik ilave edilen standartlar için, limonata, gazoz ve kaynak suyu matrikslerinde Şekil 4.5., Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.'de kromatogramlar verildi.

Ekstraksiyon sonrasında gerçek örneklerde kullanılan metotla ilgili verimlilik çalışmaları her bir örnek matriksine göre sertifikalı standart referans madde olmadığından geri kazanım testleri ile değerlendirilmiştir. Bu bağlamda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8.'de verilmektedir.

Çizelge 4.5. Limonata içerisinde % geri kazanım çalışması

Analit	Eklenen (µg/L)	Analiz Sonucu (µg/L) *n	% Geri kazanım
DMP	5,00	6,07±0,27	120%
	15,00	14,73±0,34	98%
	35,00	34,40±0,33	98%
DEP	5,00	5,15±0,18	103%
	15,00	14,55±0,29	97%
	35,00	35,69±0,65	102%
BBP	5,00	4,05±0,14	81%
	15,00	14,55±0,15	97%
	35,00	33,95±0,82	97%
DBP	5,00	4,75±0,25	95%
	15,00	15,61±0,48	104%
	35,00	36,75±0,54	105%
DEHP	5,00	4,85±0,03	97%
	15,00	15,64±0,05	104%
	35,00	33,25±0,09	95%
DNOP	5,00	4,48±0,17	87%
	15,00	15,00±0,31	100%
	35,00	33,95±0,65	97%

(*n: 3 tekrar)

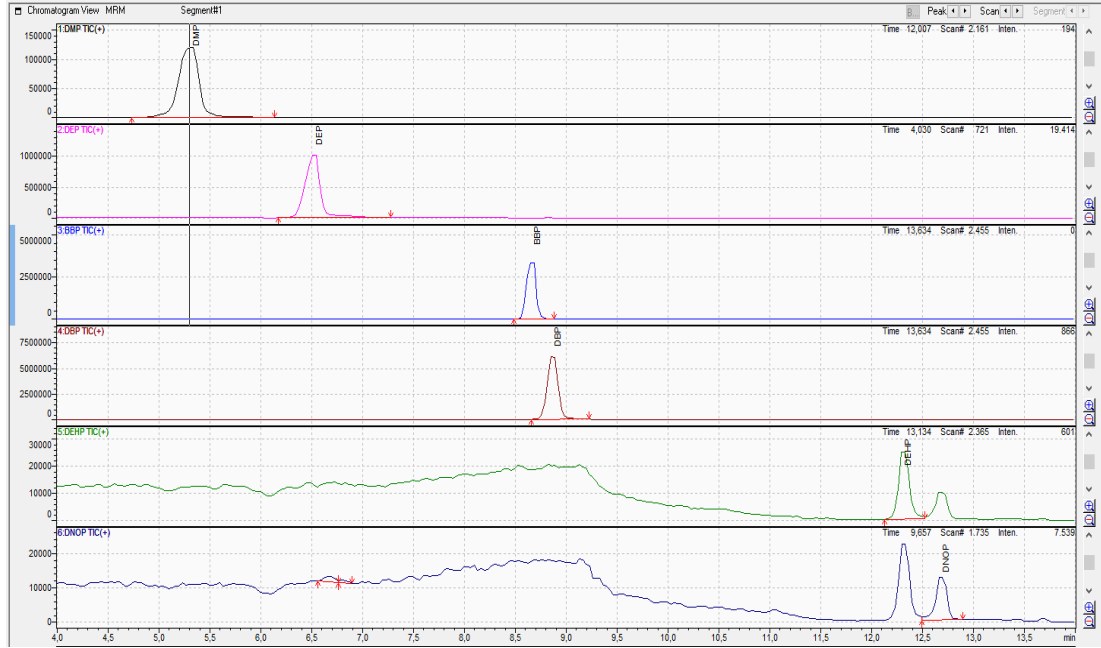


Şekil 4.5. Limonata içerisinde fitalat standartlarının kromatogram görüntüleri

Çizelge 4.6. Gazoz içerisinde % geri kazanım çalışması

Analit	Eklenen (µg/L)	Analiz Sonucu (µg/L) *n	%Geri kazanım
DMP	5,00	4,85±0,31	97%
	15,00	14,16±0,28	94%
	35,00	34,65±0,32	99%
DEP	5,00	5,50±0,10	110%
	15,00	15,24±0,36	100%
	35,00	34,68±0,59	99%
BBP	5,00	5,46±0,12	109%
	15,00	15,11±0,05	100%
	35,00	34,33±0,72	98%
DBP	5,00	5,80±0,31	116%
	15,00	16,50±0,51	110%
	35,00	36,06±0,47	103%
DEHP	5,00	4,95±0,06	99%
	15,00	14,12±0,08	94%
	35,00	34,30±0,16	98%
DNOP	5,00	4,71±0,15	94%
	15,00	14,12±0,29	94%
	35,00	34,34±0,82	98%

(*n: 3 tekrar)

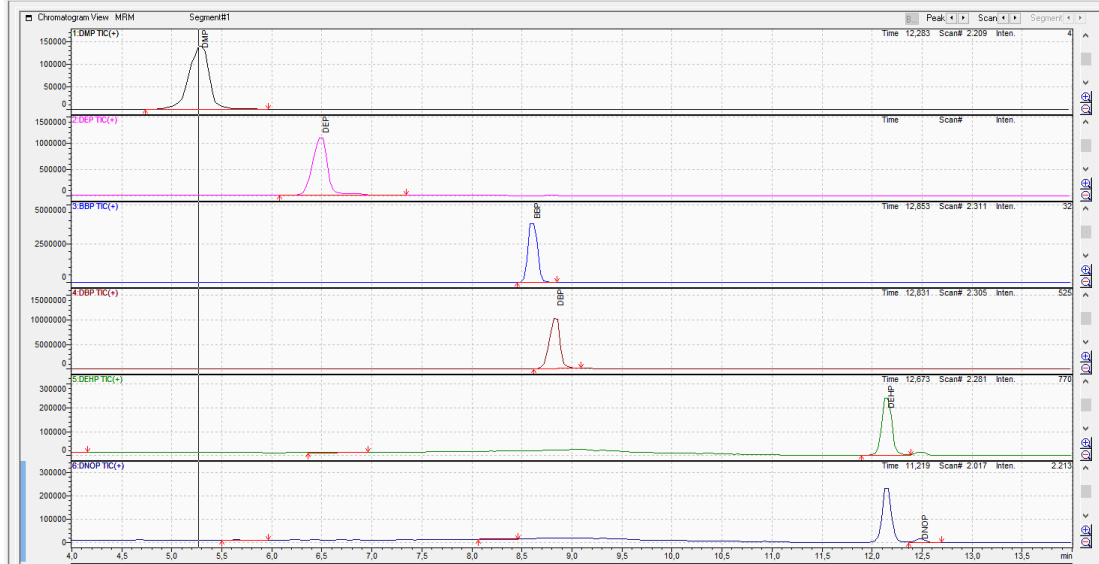


Şekil 4.6. Gazoz içerisinde ftalat standartlarının kromatogram görüntüleri

Çizelge 4.7. Kaynak suyu içerisinde % geri kazanım çalışması

Analit	Eklenen ($\mu\text{g/L}$)	Analiz Sonucu ($\mu\text{g/L}$) *n	%Geri kazanım
DMP	5,00	5,10 \pm 0,19	102%
	15,00	14,11 \pm 0,41	94%
	35,00	33,95 \pm 0,36	97%
DEP	5,00	5,65 \pm 0,23	112%
	15,00	13,35 \pm 0,15	89%
	35,00	33,93 \pm 0,31	97%
BBP	5,00	5,04 \pm 0,61	101%
	15,00	13,63 \pm 0,52	91%
	35,00	35,07 \pm 0,17	100%
DBP	5,00	5,72 \pm 0,22	114%
	15,00	16,01 \pm 0,61	107%
	35,00	35,37 \pm 0,47	101%
DEHP	5,00	4,93 \pm 0,06	99%
	15,00	16,06 \pm 0,14	107%
	35,00	33,99 \pm 0,07	97%
DNOP	5,00	4,63 \pm 0,21	93%
	15,00	13,62 \pm 0,41	91%
	35,00	33,26 \pm 0,29	95%

(*n: 3 tekrar)



Şekil 4.7. Kaynak suyu içerisinde ftalat standartlarının kromatogram görüntüleri

Çizelge 4.8. Model çözelti içerisinde % geri kazanım çalışması

Analit	Eklenen (µg/L)	Analiz Sonucu (µg/L) *n	% Geri kazanım
DMP	5,00	4,44±0,29	89%
	15,00	15,22±0,32	101%
	35,00	34,65±0,27	99%
DEP	5,00	5,10±0,09	102%
	15,00	14,99±0,34	100%
	35,00	35,61±0,61	102%
BBP	5,00	4,62±0,11	92%
	15,00	15,75±0,04	105%
	35,00	35,27±0,88	101%
DBP	5,00	4,72±0,25	95%
	15,00	14,69±0,47	98%
	35,00	34,80±0,52	99%
DEHP	5,00	5,13±0,11	102%
	15,00	14,52±0,14	97%
	35,00	34,09±0,12	97%
DNOP	5,00	4,86±0,14	98%
	15,00	15,54±0,31	104%
	35,00	34,65±0,79	99%

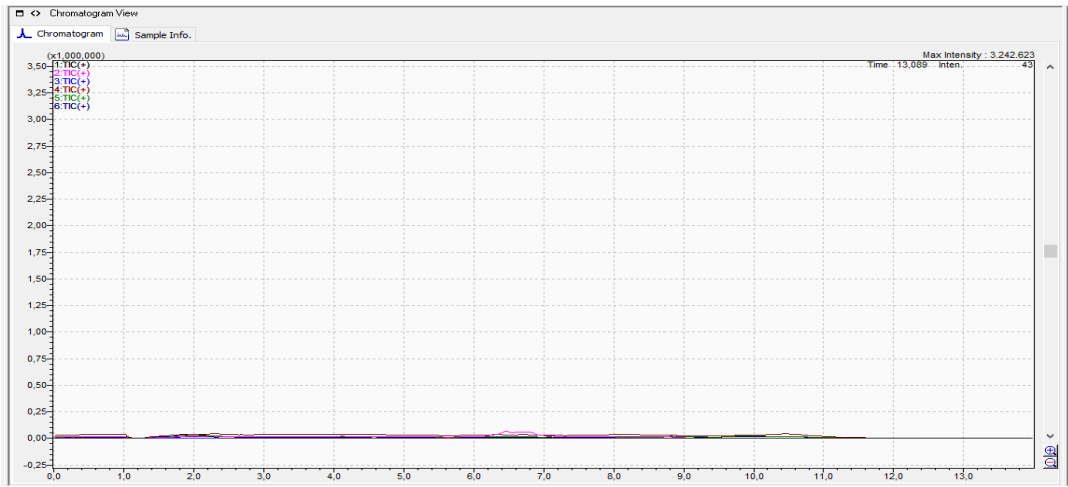
(*n: 3 tekrar)

Analitik performans değerlendirme çalışmaları sonrasında model çözelti çalışmalarından elde edilen en uygun sonuçlar gerçek örneklerin analizlerinde kullanıldı. Numunelerin hepsi analiz tarihine kadar oda koşullarında (23 °C, 1atm basınç) saklandı. Her numunede 3 tekrarlı olmak üzere QuEChERS ekstraksiyonu yapılmış ve her bir ekstraksiyonun da 3 tekrarlı olacak şekilde LC-MS/MS’de analizi gerçekleştirildi. Firma gizliliği kapsamında numune sonuçlarının isimleri verilmeyip kodlama şeklinde verildi. Gerçek numunelerde analiz sonuçları Çizelge 4.9.’daki gibidir. Gerçek örneklerden limonatanın kromatogram görüntüsü ise Şekil 4.8.’deki gibidir. Gazoz ve kaynak suyu için kromatogram görüntüleri Ek-3’teki gibidir.

Çizelge 4.9. Gerçek numnelerde ftalat esteri analiz sonuçları (µg/L)

Örnek Kodu	DMP	DEP	BBP	DBP	DHEP	DNOP	
Yeni Üretim Tarihli	A254	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
	K447	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
	X684	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
SKT'sini Yarıl原因	A528	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
	K947	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
	X742	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
SKT'sini Tamamlayan	A865	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
	K253	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
	X195	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.

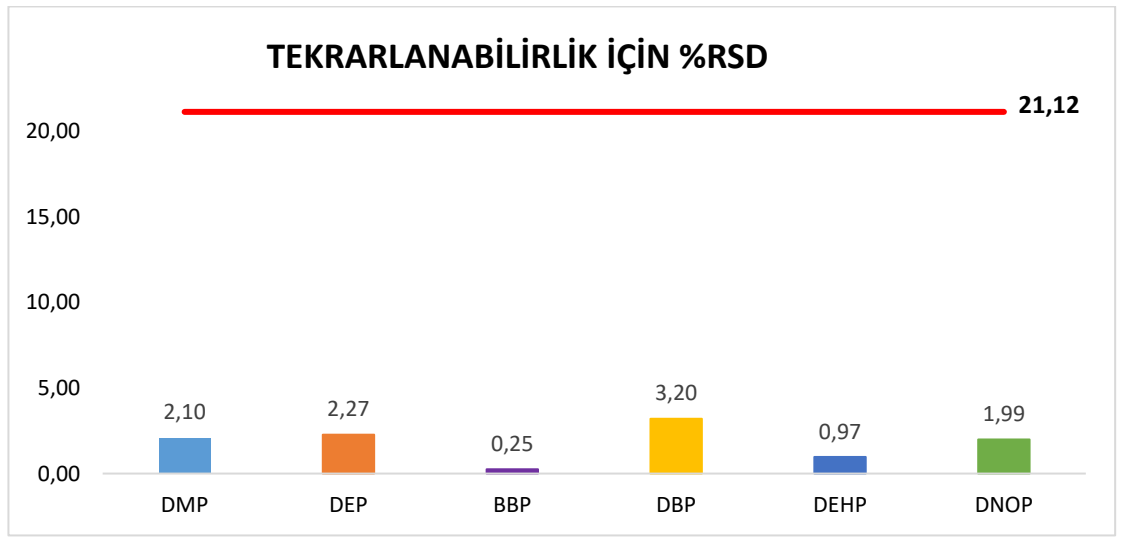
* T.E.; Tayin Limitinin altında



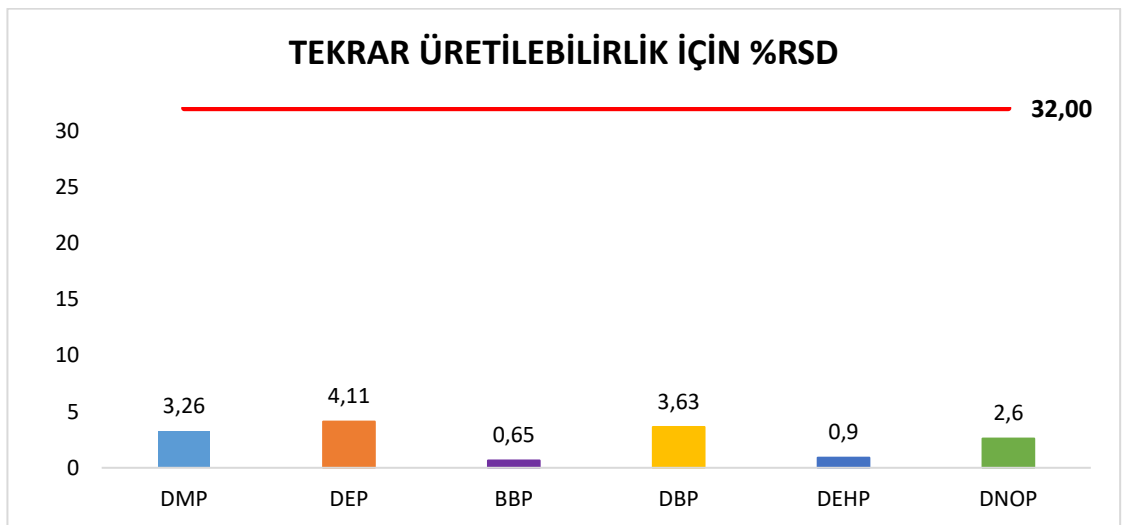
Şekil 4.8. Limonatanın kromatogram görüntüsü

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Metot validasyonu çalışması kapsamında yapılan çalışmalar incelendiğinde, her bir fitalat esteri için kalibrasyon eğrisine ait R^2 değerlerinin 0,997 ve üzerinde olduğu görülmüştür. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik çalışmalarındaki kıyaslamalar, her bir fitalat esteri için 15 ppb'lik konsantrasyon değerleri baz alınmıştır. %RSD değerlerinin kıyaslamaları ise Şekil 5.1 ve Şekil 5.2'deki gibidir. Kırmızı çizgiler %RSD için optimum değerleri göstermektedir. Tekrarlanabilirlik için %21,12 tekrar üretilebilirlik için ise %32,00'dir.



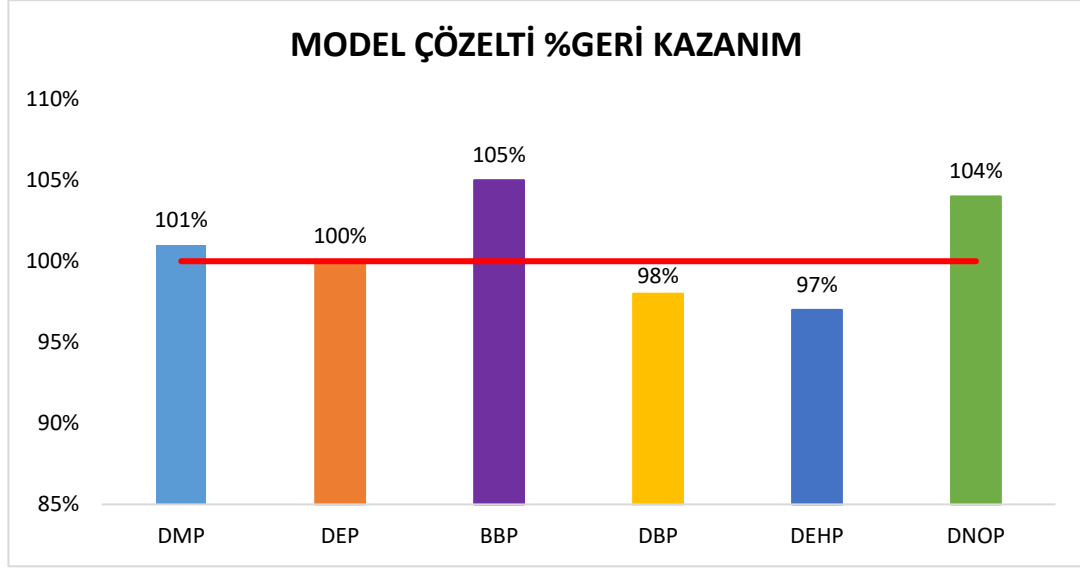
Şekil 5.1. Tekrarlanabilirlik çalışması kapsamında model çözelti içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için %RSD değerleri.



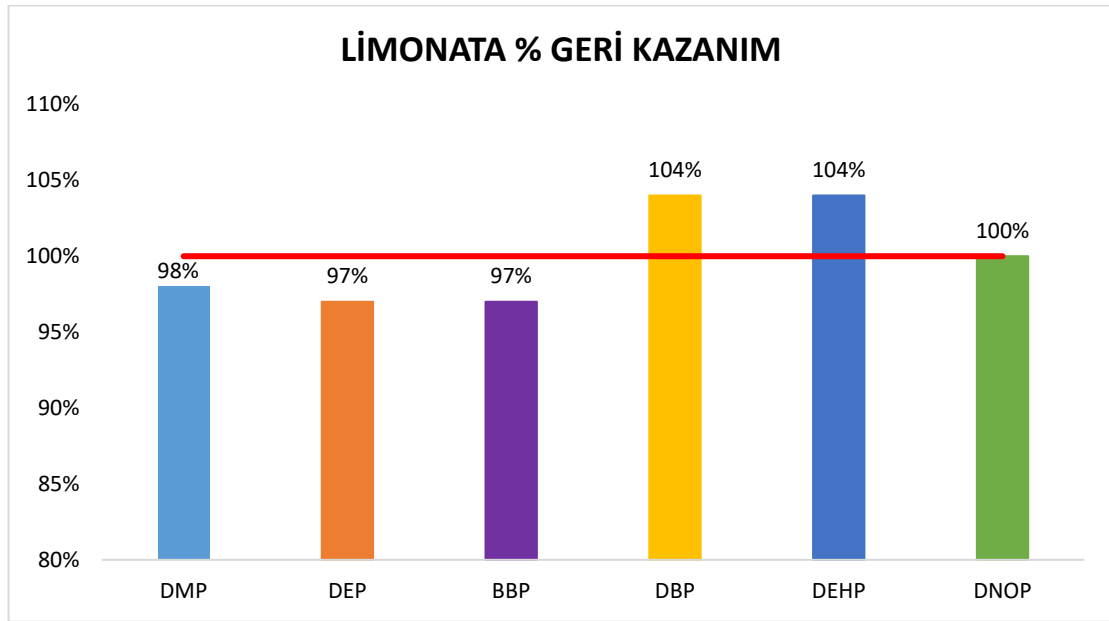
Şekil 5.2. Tekrar üretilebilirlik çalışması kapsamında model çözelti içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için %RSD değerleri.

Sonuçlar karşılaştırıldığında model çözelti içerisindeki her bir fitalatın %RSD değerlerinin kabul limitleri içerisinde olduğu görülmektedir.

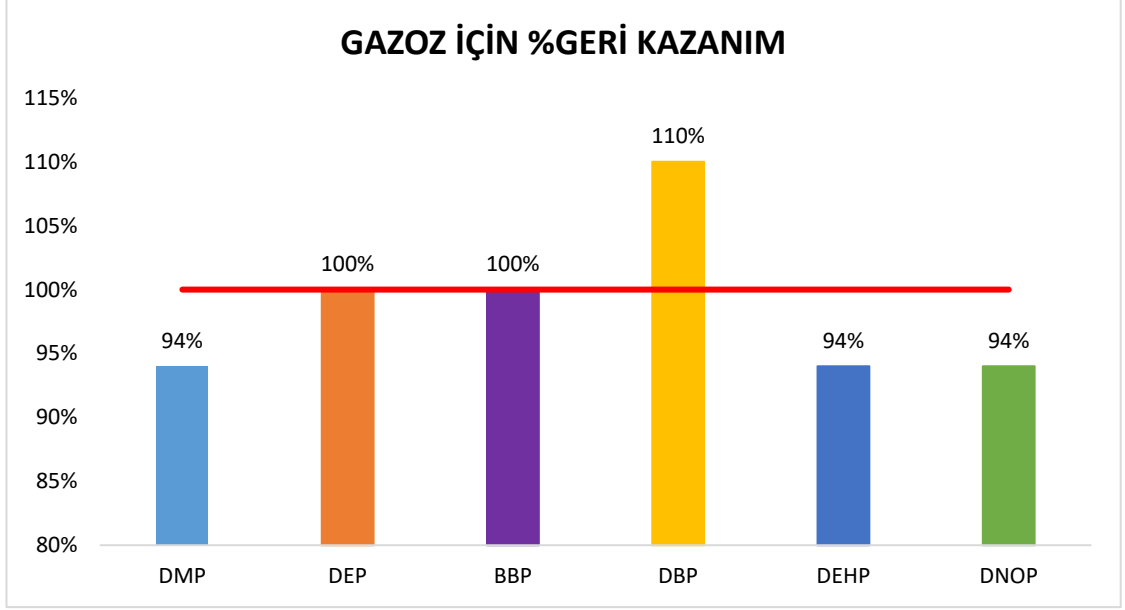
İçerisinde 15 ppb fitalat analitleri bulunan matrikslerin (model çözelti, limonata, gazoz, kaynak suyu) % geri kazanım çalışmaları kendi aralarında kıyaslanmıştır. Kıyaslamaların bulunduğu grafikler Şekil 5.3, Şekil 5.4, Şekil 5.5 ve Şekil 5.6'daki gibidir. Kırmızı çizgi ise, optimum değer olan %100'ü göstermektedir.



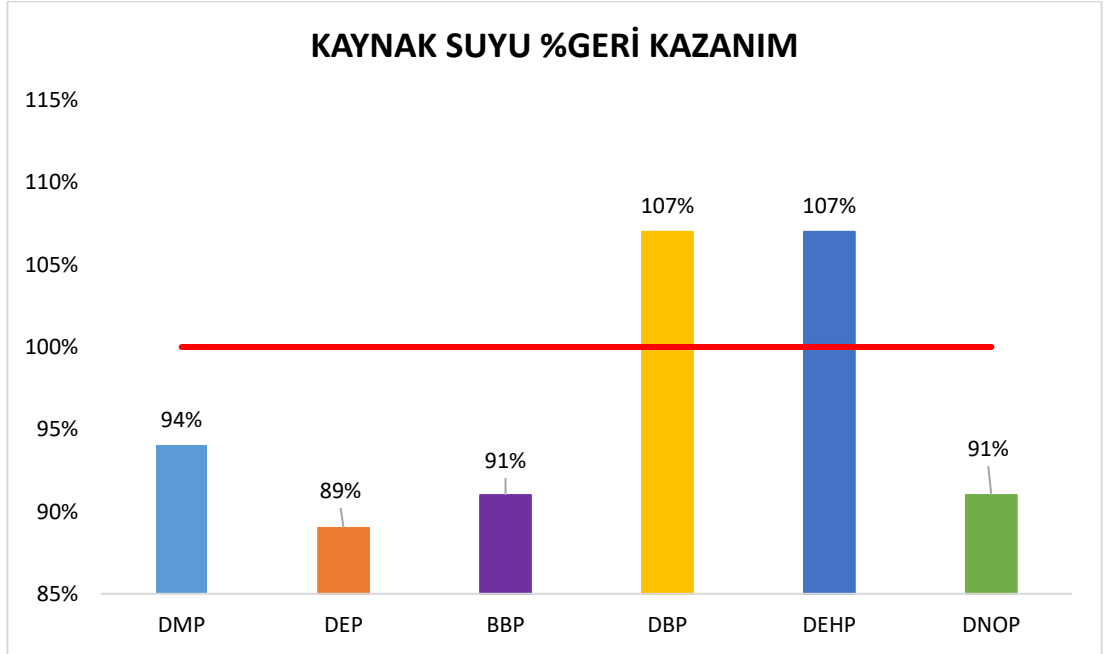
Şekil 5.3. Model çözelti içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için % geri kazanım değerleri.



Şekil 5.4. Limonata içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için % geri kazanım değerleri.



Şekil 5.5. Gazoz içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için % geri kazanım değerleri.



Şekil 5.6. Kaynak suyu içerisinde DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP ve DNOP için % geri kazanım değerleri.

Her matriks için %geri kazanım miktarları;

- Model çözelti için % geri kazanım %97 ile %105 arasında
- Limonata için % geri kazanım %97 ile %104 arasında
- Gazoz için % geri kazanım %94 ile %110 arasında
- Kaynak Suyu için % geri kazanım %89 ile %107 arasında değişkenlik göstermektedir.

Bütün matrikslerde % geri kazanım karşılaştırıldığında metot validasyonu parametrelerinde 10 ppb'lik bir çözelti için kabul edilen % Geri kazanım miktarı olan %60-115 değerleri içerisinde kaldığı görülmektedir.

Model Çözelti, limonta ve gazoz matrikslerinde yapılan % geri kazanım çalışmalarının birbiri ile uyumluluğunu kontrol etmek için bu üç matrikse 'ANOVA' testi uygulandı. Anova testi 'Microsoft Office 360 / Excel' programı, 'Veri-veri çözümleme-avona Tek etken' üzerinden otomatik gerçekleştirildi. Sonuçların değerlendirilmesinde is F ölçüt değerinin F değerleri karşılaştırıldı. F değeri F ölçüt değerinden küçük ise sonuçlar doğrudur. Anova testi sonuçları Çizelge 5.1.'de verildiği gibidir. Sonuçlara göre DMP, DEP ve BBP için matriks etkili kalibrasyon eğrisinde model çözelti her numunede kullanılabilmekte. Ancak BBP, DEHP ve DNOP için matriks etkili kalibrasyon eğrisi her numune için özel olması gerekmektedir.

Çizelge 5.1. Anova testi F ve F ölçüt değerleri sonuçları

Analit	F	F ölçüt
DMP	0,43	5,14
DEP	1,64	5,14
BBP	1,42	5,14
DBP	9,59	5,14
DEHP	6,46	5,14
DNOP	11,22	5,14

Bu çalışmada numuneler nokta atışlı olarak rastgele seçilerek, tüm numuneler analiz esnasına kadar oda koşulları (23 °C, 1atm basınç) altında muhafaza edildi. Yeni üretilen, son tüketim tarihini yarıl原因 ve son tüketim tarihini tamamlayan numunelerde yapılan analiz sonuçlarında fitalat esteri bileşenlerinin tayin limiti altında kaldığı görülmektedir.

Sonuçlara genel olarak bakıldığında numunelerin temiz olduğu söylenilebilir. Migrasyon olayının tam yorumlanabilmesi için elde edilen LOD ve LOQ değerlerinin daha da aşağıya çekilerek dinamik çalışma aralığının düşürülmesi gerekmektedir. Düşürülen dinamik çalışma aralığı ile tekrar çalışılıp o çerçeveden değerlendirilmesi migrasyon olayının açıklanması noktasında daha yol gösterici olacaktır.

Her bir analitin ekstraksiyonu için QuEChERS hazır kiti kullanılmıştır. Kitlerin kullanımı hem kolay hem de numune ve organik çözücü hacimleri dışında herhangi bir hacim ya da ağırlık ölçümü gerektirmediği için tekrarlanabilirliği yüksek bir ekstraksiyon imkânı sağlar. Kullanılan QuEChERS kitleri herhangi bir zenginleştirme işlemi yapmadan matriks içerisindeki bileşenleri, içerisinde %1 oranında askorbik asit bulunan asetonitril içerisinde almaktadır. LOD ve LOQ değerlerinin daha da düşürölmesi için; QuEChERS ekstraksiyonunda numune miktarı artırımı veya organik çözücü miktarının azaltılması gibi çeşitli basamaklarda değişiklik yapılabilir. Veya farklı ekstraksiyon yöntemleri ile de LOQ değeri daha aşağı çekilebilir.

Çeşitli plastik materyallerden migrasyon testi ile alakalı günümüzde yapılan çok sayıda çalışma vardır. Ancak polimerlerin gün geçtikçe çeşidi artmakta ve/veya içerikleri geliştirilmektedir. Gıdaların paketlenmesinde kullanılan plastik malzemelerin güvenilirliğinin daha iyi anlaşılması için içeriği geliştirilen ve/veya çeşidi arttırılan polimerik malzemelerin içeriği iyi anlaşılmalı ve migrasyon testleri bu çerçeve dahilinde gerçekteştirilmelidir.

KAYNAKLAR

- Altuntaş, Ü. 2014.** Türkiye’de satışı sunulan bazı gıdalarda ambalaj materyallerinden migrasyonun ölçülmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul.
- Anonim, 2005.** Gıda Maddeleri ile Temasta Bulunan Plastik Madde ve Malzemelerin Bileşenlerin Migrasyon Testi İçin Temel Kurallar Tebliği, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, 2005/34, Ankara.
- Anonim, 2005.** İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik, Sağlık Bakanlığı, 25730, Ankara.
- Anonim, 2007.** Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, 2007/26, Ankara.
- Anonim, 2008.** Scientific Committee on Helath and Environmental Risks, European Commission, Brüksel/Belçika.
- Anonim, 2010.** Dünyadaki toplam su miktarı 1,4 milyar km³ tür. https://www.ankaratb.org.tr/lib_upload/79_D%C3%BCnyadaki%20toplam%20su%20miktari%C4%B1%20_09_03_2010doc.pdf- (Erişim tarihi: 02.02.2020).
- Anonim, 2018.** Kimyasal ve fiziksel analizlerde metot validasyonu/verifikasyonu rehberi. https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Gida_Kont/Kimyasal_Fiziksel_Val_Ver_Rehberi.pdf-(Erişim tarihi: 02.02.2020).
- Atakan, D. 2014.** PET şişelerden içme suyuna geçen antimon miktarının belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, HÜ, Fen bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
- Ates, E., Mittendorf, K. 2013.** An automated online TurbaFlow™ cleanup LC/MS/MS method for the determination of 11 plasticizers in beverages and milk. *Journal of AOAC International*, 96(5): 1092-1100.
- Ayala, H.G., Nunez, O., Lucci, P. 2013.** Recent advances in LC-MS analysis of food packaging contaminants. *Trends in Analytical Chemistry*, 42: 99-124.
- Başaran, B. 2015.** ISO 22000 gıda güvenliği yönetim sistemi. *Journal of Food and Health Science*, 2(1): 9-26.
- Benderlioğlu, E., Aslan, D. 2013.** Gazlı içecekler: Sağlık açısından değerlendirmeler. *Sürekli Tıp Eğitim Dergisi*, 22(1): 20-27.
- Biricik, G.F., Çöplü, N., Dağdelen, A.F. 2015.** Gıda ile temas eden madde ve malzemelerden gıdaya geçebilecek alüminyum miktarı ve bunun riskleri. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 15: 1-8.
- Brima, E.I., Jenkins, R.O., Haris, P.I. 2006.** Understanding arsenic metabolism through spectroscopic determination of arsenic in human urine. *Journal of Spectroscopy*, 20: 125-151.
- Bucak, T. 2011.** Yiyecek içecek işletmelerinde ISO 22000 gıda güvenliği yönetim sistemi (GGYS): bir literatür taraması. *Aksaray Üniversitesi İBBF Dergisi*, 3(1): 1-20.
- Cacho, J.I., Vinas, C.P., Cordoba, M.H. 2015.** Direct sample introduction gas chromatography and mass spectrometry for the determination of phthalate esters in cleaning products. *Journal of Chromatography A*, 1380: 156-161.
- Chen, B., Zhang, L. 2013.** An easy and sensitive analytical method of determination of phthalate esters in children’s toys by UPLCMS/MS. *Polymer Testing*, 32: 681-685.
- Cinelli, G., Avino, P., Notardonato I., Centola, A., Russo M.V. 2013.** Rapid analysis of six phthalate esters in wine by ultrasound-vortex-assited dispersive liquid-liquid micro-

- extraction coupled with gas chromatography-flame ionization detector or gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 769: 72-78.
- Çinibulak, P. 2010.** Gıda ambalajlarında migrasyon. *Yüksek Lisans Tezi*, NKÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Çopuroğlu, G., Kasımoğlu, A., Ayaz, N.D. 2015.** Türk gıda mevzuatında risk analizi. *Etik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 26(1): 23-28.
- Dedekayaoğulları, H., Önal, A.E., 2009.** Çevre-insan sağlığı ilişkisi açısından su ve su analizinin önemi. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 72: 65-70.
- Dilber, F., Dilber, A., Karakaya, M. 2012.** Gıdalarda ambalajın önemi ve tüketicilerin satın alma davranışlarına etkisi (Karaman ili örneği). *Gümüşhane Üniversitesi İletişim Fakültesi Elektronik Dergisi*, 3: 159-190.
- Dong, W., Guo, R., Sun, X., Li, H., Zhao, M., Zheng, F., Sun, J., Huang, M., Wu, J. 2019.** Assesment of phthalate ester residues and distribution patterns in Baijiu raw materials and Baijiu. *Food Chemistry*, 283: 508-516.
- Du, L., Ma, L., Qiao, Y., Lu, Y., Xiao, D. 2016.** Determination of phthalate esters in teas infusions by gas chromatography-mas spectrometry. *Food Chemistry*, 197: 1200-1206.
- Du, L., Ma, L., Qiao, Y., Lu, Y., Xiao, D. 2016.** Determination of phthalate esters in teas and tea infusions by gaz chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 197: 1200-1206.
- Durmaz, A. 2016.** Elmalarda QuEChERS yöntemi ile chlorpyrifos analizi için metot validasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, ÇOMÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Çanakkale.
- Elmastaş, A. 2018.** Yaş meyve sebze ürünlerinin çeşitli koşullarda pestisit kalıntılarının LC-MS/MS ve GC-MS/MS ile analizlerinin kantitatif tayini. *Doktora Tezi*, DÜ, Kimya Anabilim Dalı, Diyarbakır.
- Emwas, A.H.M., Al-Talla, Z.A., Yang, Y., Kharbatia, N.M. 2015.** Gas Chromatography-Mass Spectrometry of biofluids and extracts. *Metabonomics*, 1277: 91-112.
- Ertaş. S. Sarımeahmetoğlu, B. 2019.** Su güvenliği. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 162(2): 141-146.
- Fan, J.C., Jin, Q., Zhang, L., Huang, X.H., Ren, R., Yang, Z.Q. 2014.** Simultaneous determination of 20 phthalate esters in iol-free food by UPLC/MS/MS. *Journal of AOAC International*, 97(4): 1151-1158.
- Farooqi, S., Rajendran, K., Khanam, R. 2018.** Analysis of phthalate esters in two different baby care products available in United Arab Emirates. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(1): 60-66.
- Guo, Z., Feng, Y.L., Wang, J. 2019.** A new strategy for non-targeted screening of phthalate metabolites using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 443: 46-52.
- Gül, M. 2018.** Hafif beton agregası olarak atık plastiklerin ve PET'in kullanımının araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, FÜ, Fen bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Elâzığ.
- Harunarashid, N.Z.I.H., Lim, L.H., Harunsani, M.H. 2017.** Phtahalate sample Preparation methods and analysis in food and food packaging: a review. *Food Analytical Methods*, 1014(8):3790-3814.
- Hayasaka, Y. 2014.** Analysis of phthalates in wine using liquid chromatography tandem mass spectrometry combined with a hold-back column: chromatographic strategy to

avoid the influence of pre-existing phthalate contamination in a liquid chromatography system. *Journal of Chromatography A*, 1372: 120-127.

İstanbuluoğlu, A., Konukcu, F., Kocaman, İ., Göçmen E. 2007. Trakya bölgesi içme ve kullanma suyu ihtiyacının belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(2): 187-194.

Jia, W., Chi, X., Ling, Y., Huang, J. Chang, J. 2014. Analysis of phthalates in milk and milk products by liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap high-resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1362: 110-118.

Karabal, A. 2019. Gıda mevzuatı ve gıda güvenliği. *International Journal of Social and Humanities Sciences*, 3(1): 179-198.

Kılıç, M., Yüce, E. 2014. OVC ve PET atıkların seçimli flotasyonu bölüm:1 plastikler; çevresel etkiler, geri dönüşüm. *Çukurova Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 29(2): 79-93.

Kipmen, T. 1978. Plastik Ambalaj Malzemesinin Gıdalara Etkisi. *Gıda*, 3 (4/5): 187-195.

Korab, H.E., Pietka, M.J. 2019. Soft Drink. <https://www.britannica.com/topic/soft-drink> - (Erişim tarihi: 02.02.2020).

Koyutürk, S. 2019. Vazoaktif intestinal polipeptid (vıp) ve hipofiz adenilat siklaz aktive edici polipeptid (pacap)'in LC-MS/MS yöntemi ile karakterizasyonu. *Doktora Tezi*, AÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Eskişehir.

Kowalski J. 2014. Shortcut: AOAC QuEChERS protocol. <https://blog.restek.com/?p=12160> –(Erişim tarihi: 02.02.2020).

Luo, Y.B., Yu, Q.W., Yuan, B.F., Feng, Y.Q. 2012. Fast microextraction of phthalate acid esters from beverage, environmental water and perfume samples by magnetic multi-walled carbon nanotubes. *Talanta*, 90: 123-131.

Montevecchi, G., Masino, F., Zanasi, L., Antonelli, A. 2017. Determination of phthalate esters in distillates by ultrasound-vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction (USVADLLME) coupled with gas chromatography/mass spectrometry. *Food Chemistry*, 221: 1354-1360.

Net. S, Delmont, An., Sempere R., Paluselli, A., Ouddane, B. 2015. Reliable quantification of phthalates in environmental matrices (air, water, sediment and soil): A review. *Science of the Total Environment*, 515-516: 162-180.

Orhun, F. 1968. Gaz kromatografisi, taşıyıcı gazın akış hızının tesirleri üzerinde tecrübi araştırmalar ve metodun Türkiye'deki bazı tabii gazların hidrokarbon analizlerine tatbiki. *Maden Tetkik ve Arama Dergisi*, 70(70): 106-141.

Ormancı, F.S. 2006. Süt ürünlerinin ambalajlanmasında PVC malzemenin kullanımı ve migrasyon. *Gıda*, 32(4): 187-193.

Özdemir, E., Topsümer, F. 2017. Güvenilir gıda konusunda tüketici farkındalığının geliştirilmesinde iletişim stratejilerinin rolü. *Egemia*, 1: 57-84.

Östman, M. 2018. Antimicrobials in sewage treatment plants. https://www.researchgate.net/publication/328980854_Antimicrobials_in_sewage_treatment_plants (Erişim tarihi: 02.20.2020).

Penalver, A., Pcurull, E., Borrull, F., Marce, R.M. 2001. Comparison of different fibers for the solid-phase microextraction of phthalate esters from water. *Journal of Chromatography A*, 922: 377-384.

Sabagh, A.M., El-Metwally, A.E. 2016. Greener routes for recycling of polyethylene terephthalate. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25(1): 53-64.

- Salvador, M., Abdulmutalib, U., Gonzalez, J., Kim, J., Smith, A.A., Fatulon, J.L., Wei, R., Zimmermann, W., Jimenez, J.I. 2019.** Microbial genes for a circular and sustainable Bio-PET economy. *Genes*, 373(10): 1-15.
- Satouf, M., Köten, M. 2019.** Gıda üretim sektöründe kullanılan ambalajlara genel bir bakış. 3. International Conference on Agriculture, Food, Veterinary and Pharmacy Sciences, 16-18 Nisan, Trabzon, Türkiye.
- Sun, X., Liu, W.D.M., Shen, C., Zhang, Y., Sun, J., Sun, B., Li, H., Chen F. 2018.** Valisation of a QuEChERS-based gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method for analysis of phthalate esters in Grain Sorghum. *Journal of Food Science*, 83(4): 892-901.
- Şirin, G., Demir, Y. 2007.** Çarşamba ovası sol sahilindeki bazı köylerde içme ve kullanma suyu problemleri ve çözümüne ilişkin öneriler. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(3): 248-259.
- Tayar, M. 2011.** Geçmişten günümüze ambalaj. [http://www.dunyagida.com.tr/kose-yazisi/gecmisten-gunumuze-ambalaj/1016-\(Erişim tarihi: 02.02.2020\).](http://www.dunyagida.com.tr/kose-yazisi/gecmisten-gunumuze-ambalaj/1016-(Erişim tarihi: 02.02.2020).)
- Temel Britannica, 1992.** Temel eğitim ve kültür ansiklopedisi, Editör: Philip W. Goetz, Cilt-8 s. 271.
- Temel, M.K. 2019.** Sık kullanılan antidepresan ilaçlar için LC-MS/MS ile eş zamanlı analiz yöntemi geliştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, DÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Düzce.
- Tuncay, E.A. 2019.** Salvia pseudeuphratica bitkisinin sekonder metabolitlerinin saflaştırılması, antioksidan ve antialzheimer aktivitelerinin belirlenmesi ve LC-MS/MS ve GC-MS ile kimyasal içeriklerinin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, DÜ, Fen bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Diyarbakır.
- Tural, S. 2013.** Gıda ambalajları ve migrasyon. <https://www.tarimorman.gov.tr/ABDGM/Belgeler/%C4%B0DAR%C4%B0%20%C4%B0%C5%9ELER/temmuz/5.pdf> (Erişim tarihi: 02.02.2020).
- Vural, B.M. 2012.** Yaşamın temeli olan ‘su’ için biyopolitika. *Düzce Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 8(1): 1-18.
- Wu, P.G., Pan, X.D., Ma, B.J., Wnag, L.W., Zhang, J. 2014.** Determination of phthalate esters in non-alcoholic beverages by GC-MS and optimization of the extraction conditions. *Eur Food Technology*, 238: 607-612.
- Wang, J. Huang, S., Wnag, P., Yang, Y. 2016.** Method development for the analysis of phthalate esters in tea beverages by ionic hollow fibre liquid-phase microextraction and liquid chromatographic detection. *Food Control*, 67: 278-284.
- Xu, D., Deng, X., Fang, E., Zheng, X., Zhou, Y., Lin, L., Chen, L., Wu, M., Huang, Z. 2014.** Determination of 23 phthalic acid esters in food by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1324: 49-56.
- Yang, J., Li, Y., Wang, Y., Ruan, J., Zhang, J., Sun, C. 2015.** Recent advances in analysis of phthalate esters in foods. *Trends in Analytical Chemistry*, 72: 10-26.
- Yaralı, E. 2019.** Gıda zinciri izlenebilirlik. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 23(1): 108-119.
- Ye, Q., Liu, L., Chen, Z., Hong, L. 2014.** Analysis of phthalate acid esters in environmental water by magnetic graphene solid phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1329: 24-29.
- Yerlikaya, P. 2017.** Fitalat esterleri ve su ürünleri tüketimindeki yeri. *Journal of Food and Health Science*, 3(2): 59-66.

Yıldız, A. 2014. Katı faz ekstraksiyon metodu ile LC/MSMS cihazı kullanılarak işlenmiş gıdalarda akrilamid tayini ve çeşitli ön işlemlerin patates kızartmasındaki akrilamid oluşumu üzerindeki etkisi. *Doktora Tezi*, DÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Diyarbakır.

Yılmaz, A. 2013. Kimyasal analizlerde metot validasyonu ve verifikasyonu. http://turklab.org/tr/TURKLAB_Rehber_01_Rev.2.pdf -(Erişim tarihi: 02.02.2020).

Yiğit, V., Evranoz, Ö. 1978. Plastik malzemelerin gıda ambalajlanmasına yarayışlılığı. *Gıda*, 3(4/5):197-201.

EKLER

- EK 1** MRM Optimizasyonları
- EK 2** Her Analit için Kalibrasyon Eğrisi ve Kromatogram Görüntüsü
- EK 3** Gerçek Örneklerin Kromatogram Görüntüleri

EK 1 MRM Optimizasyonları

Instrument Parameters View Normal Advanced End Time : 15.00 min

MS Interface Data Acquisition LC Time Prog. Pump Column Oven Controller Autosampler AutoPurge

Positive Negative End Time: 14,000 min MS Program Edit Valve and MS Program...

MRM(+) Product Ion Scan(+) Precursor Ion Scan(+) Neutral Loss Scan(+) SIM(+) Scan(+)

CID Gas CID Gas... Attenuation... Loop Time...

Type	Event#	+/-	Compound Name	m/z	Time (0,000 min - 14,000 min)
MRM	1	+	DMP	195,00>163,00, 195,00>77,10	
MRM	2	+	DEP	223,20>149,00, 223,00>121,00	
MRM	3	+	BBP	313,20>149,00, 313,20>91,00	
MRM	4	+	DBP	279,25>149,00, 279,25>57,30	
MRM	5	+	DEHP	391,10>149,00, 391,10>167,00	
MRM	6	+	DNOP	391,10>149,00, 391,10>57,30	

MRM Acq. Time: 0 - 14 min Compound Name: BBP

Ch	Precursor m/z	Product m/z	Pause Time (msec)	Dwell Time (msec)	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias(V)
Ch1	313,20	149,00	1,0	124,0	-15,0	-13,0	-27,0
Ch2	313,20	91,00	1,0	124,0	-15,0	-20,0	-17,0
Ch3							

Event Time: 0,250 sec Q1 Resolution: Unit Advanced Settings...

Ek Şekil 1.1. BBP için MRM şartları

Instrument Parameters View Normal Advanced End Time : 15.00 min

MS Interface Data Acquisition LC Time Prog. Pump Column Oven Controller Autosampler AutoPurge

Positive Negative End Time: 14,000 min MS Program Edit Valve and MS Program...

MRM(+) Product Ion Scan(+) Precursor Ion Scan(+) Neutral Loss Scan(+) SIM(+) Scan(+)

CID Gas CID Gas... Attenuation... Loop Time...

Type	Event#	+/-	Compound Name	m/z	Time (0,000 min - 14,000 min)
MRM	1	+	DMP	195,00>163,00, 195,00>77,10	
MRM	2	+	DEP	223,20>149,00, 223,00>121,00	
MRM	3	+	BBP	313,20>149,00, 313,20>91,00	
MRM	4	+	DBP	279,25>149,00, 279,25>57,30	
MRM	5	+	DEHP	391,10>149,00, 391,10>167,00	
MRM	6	+	DNOP	391,10>149,00, 391,10>57,30	

MRM Acq. Time: 0 - 14 min Compound Name: DBP

Ch	Precursor m/z	Product m/z	Pause Time (msec)	Dwell Time (msec)	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias(V)
Ch1	279,25	149,00	1,0	124,0	-13,0	-14,0	-16,0
Ch2	279,25	57,30	1,0	124,0	-12,0	-24,0	-23,0
Ch3							

Event Time: 0,250 sec Q1 Resolution: Unit Advanced Settings...

Ek Şekil 1.2. DBP için MRM şartları

EK 1 MRM Optimizasyonları (devamı)

Instrument Parameters View Normal Advanced End Time: 15.00 min

MS Interface Data Acquisition LC Time Prog. Pump Column Oven Controller Autosampler AutoPurge

Positive Negative End Time: 14,000 min MS Program Edit Valve and MS Program...

MRM(+) Product Ion Scan(+) Precursor Ion Scan(+) Neutral Loss Scan(+) SIM(+) Scan(+)

CID Gas CID Gas... Attenuation... Loop Time...

Type	Event#	+/-	Compound Name	m/z	Time (0,000 min - 14,000 min)
MRM	1	+	DMP	195,00>163,00, 195,00>77,10	
MRM	2	+	DEP	223,20>149,00, 223,00>121,00	
MRM	3	+	BBP	313,20>149,00, 313,20>91,00	
MRM	4	+	DBP	279,25>149,00, 279,25>57,30	
MRM	5	+	DEHP	391,10>149,00, 391,10>167,00	
MRM	6	+	DNOP	391,10>149,00, 391,10>57,30	

MRM Acq. Time: 0 - 14 min Compound Name: DEP

Ch	Precursor m/z	Product m/z	Pause Time (msec)	Dwell Time (msec)	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias(V)
Ch1	223,20	149,00	1,0	249,0	-10,0	-16,0	-28,0
Ch2	223,00	121,00	1,0	249,0	-25,0	-32,0	-21,0
Ch3							

Event Time: 0,500 sec Q1 Resolution: Unit Advanced Settings...

Ek Şekil 1.3. DEP MRM şartları

Instrument Parameters View Normal Advanced End Time: 15.00 min

MS Interface Data Acquisition LC Time Prog. Pump Column Oven Controller Autosampler AutoPurge

Positive Negative End Time: 14,000 min MS Program Edit Valve and MS Program...

MRM(+) Product Ion Scan(+) Precursor Ion Scan(+) Neutral Loss Scan(+) SIM(+) Scan(+)

CID Gas CID Gas... Attenuation... Loop Time...

Type	Event#	+/-	Compound Name	m/z	Time (0,000 min - 14,000 min)
MRM	1	+	DMP	195,00>163,00, 195,00>77,10	
MRM	2	+	DEP	223,20>149,00, 223,00>121,00	
MRM	3	+	BBP	313,20>149,00, 313,20>91,00	
MRM	4	+	DBP	279,25>149,00, 279,25>57,30	
MRM	5	+	DEHP	391,10>149,00, 391,10>167,00	
MRM	6	+	DNOP	391,10>149,00, 391,10>57,30	

MRM Acq. Time: 0 - 14 min Compound Name: DEHP

Ch	Precursor m/z	Product m/z	Pause Time (msec)	Dwell Time (msec)	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias(V)
Ch1	391,10	149,00	1,0	124,0	-10,0	-18,0	-16,0
Ch2	391,10	167,00	1,0	124,0	-10,0	-13,0	-17,0
Ch3							

Event Time: 0,250 sec Q1 Resolution: Unit Advanced Settings...

Ek Şekil 1.4. DEHP için MRM şartları

EK 1 MRM Optimizasyonları (devamı)

Instrument Parameters View Normal Advanced End Time: 15.00 min

MS Interface Data Acquisition LC Time Prog. Pump Column Oven Controller Autosampler AutoPurge

Positive Negative End Time: 14,000 min MS Program Edit Valve and MS Program...

MRM(+) Product Ion Scan(+) Precursor Ion Scan(+) Neutral Loss Scan(+) SIM(+) Scan(+)

CID Gas CID Gas... Attenuation... Loop Time...

Type	Event#	+/-	Compound Name	m/z	Time (0,000 min - 14,000 min)
MRM	1	+	DMP	195,00>163,00, 195,00>77,10	
MRM	2	+	DEP	223,20>149,00, 223,00>121,00	
MRM	3	+	BBP	313,20>149,00, 313,20>91,00	
MRM	4	+	DBP	279,25>149,00, 279,25>57,30	
MRM	5	+	DEHP	391,10>149,00, 391,10>167,00	
MRM	6	+	DNOP	391,10>149,00, 391,10>57,30	

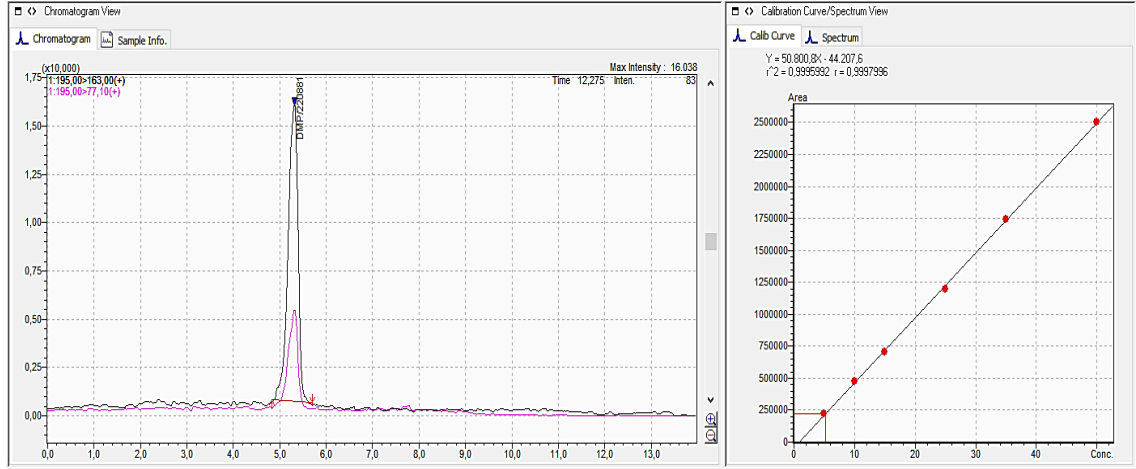
MRM Acq. Time: 0 - 14 min Compound Name: DNOP

Ch	Precursor m/z	Product m/z	Pause Time (msec)	Dwell Time (msec)	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias(V)
Ch1	391,10	149,00	1,0	124,0	-10,0	-16,0	-16,0
Ch2	391,10	57,30	1,0	124,0	-18,0	-26,0	-24,0
Ch3							

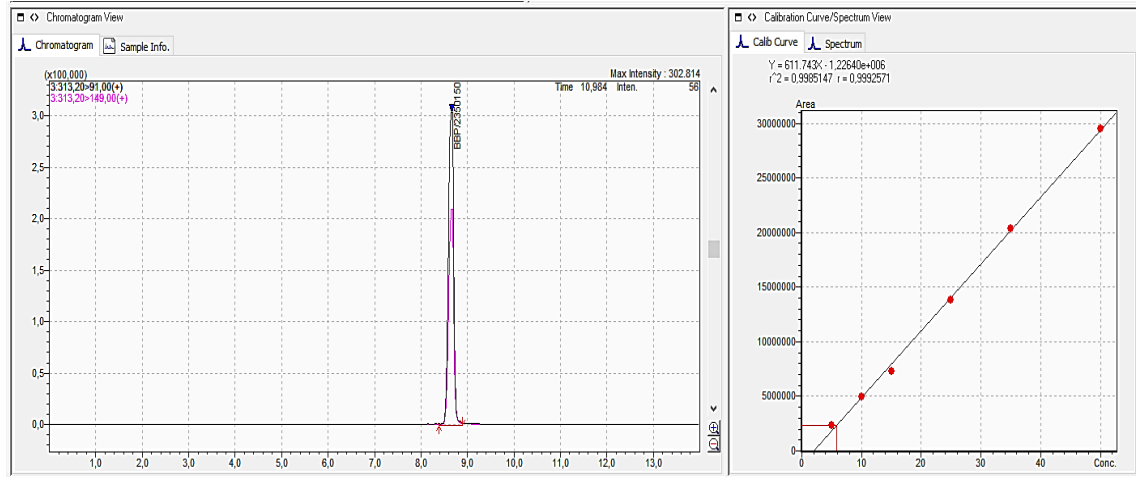
Event Time: 0,250 sec Q1 Resolution: Unit Advanced Settings...

Ek Şekil 1.5. DNOP için MRM şartları

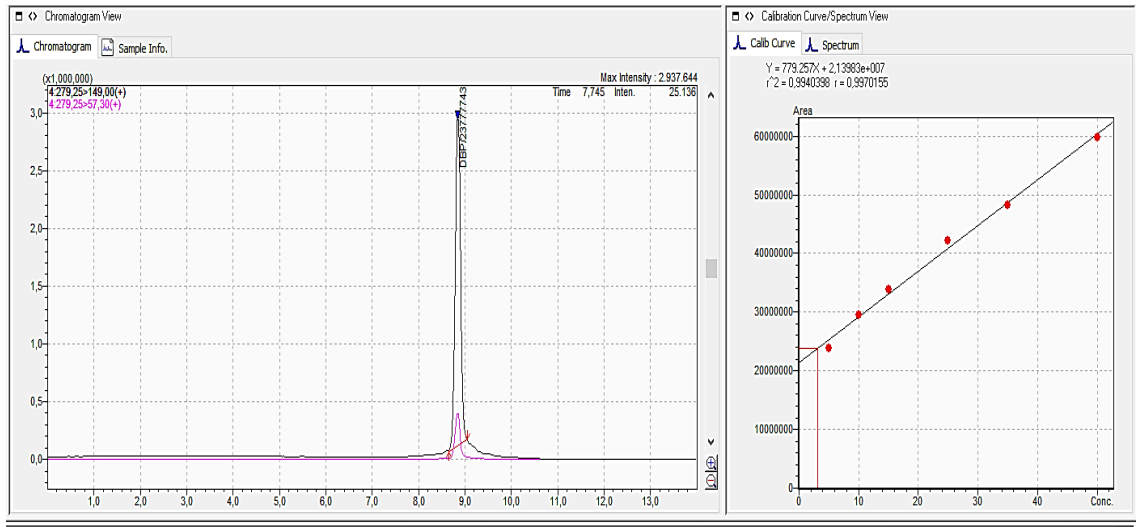
EK 2 Her Analit için Kalibrasyon Eğrisi ve Kromatogram Görüntüsü



Ek Şekil 2.1. DMP için kalibrasyon eğrisi ve tekli kromatogram görüntüsü

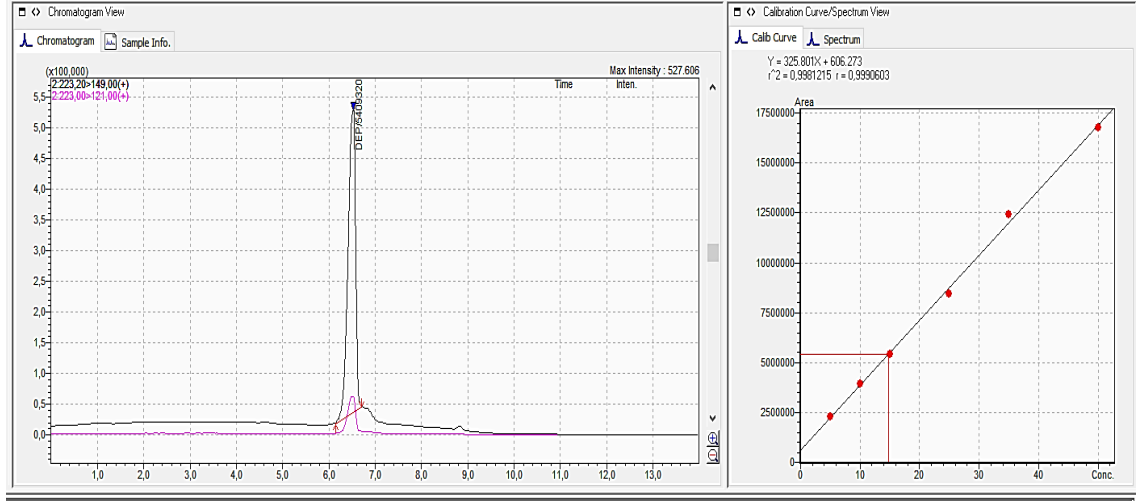


Ek Şekil 2.2. BBP için kalibrasyon eğrisi ve tekli kromatogram görüntüsü

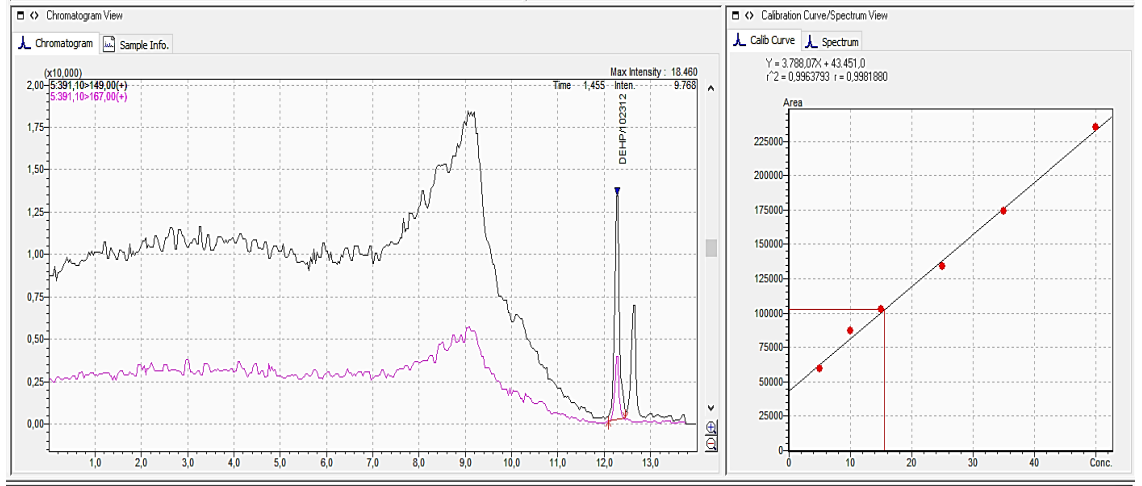


Ek Şekil 2.3. DBP için kalibrasyon eğrisi ve tekli kromatogram görüntüsü

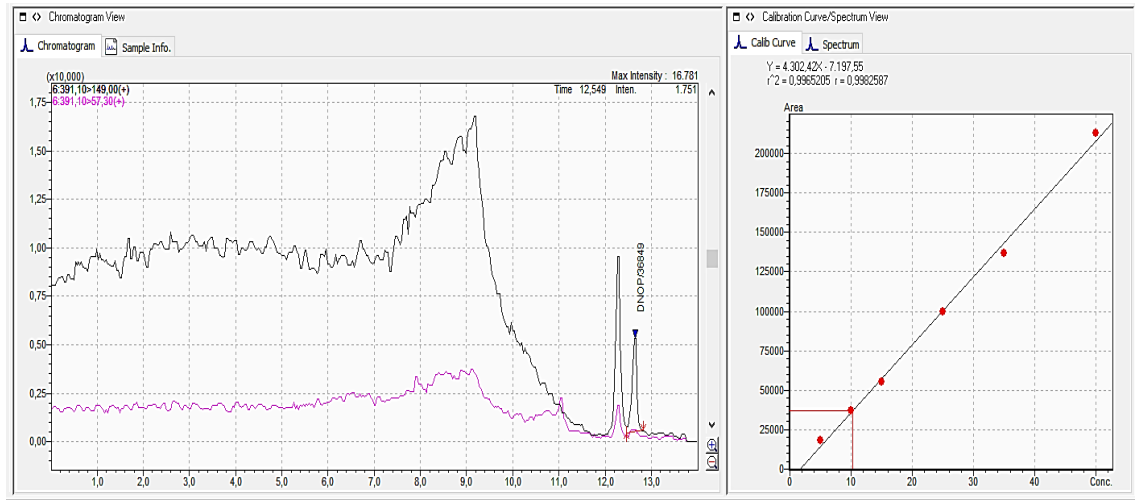
EK 2 Her Analit için Kalibrasyon Eğrisi ve Kromatogram Görüntüsü (Devamı)



Ek Şekil 2.4. DEP için kalibrasyon eğrisi ve tekli kromatogram görüntüsü

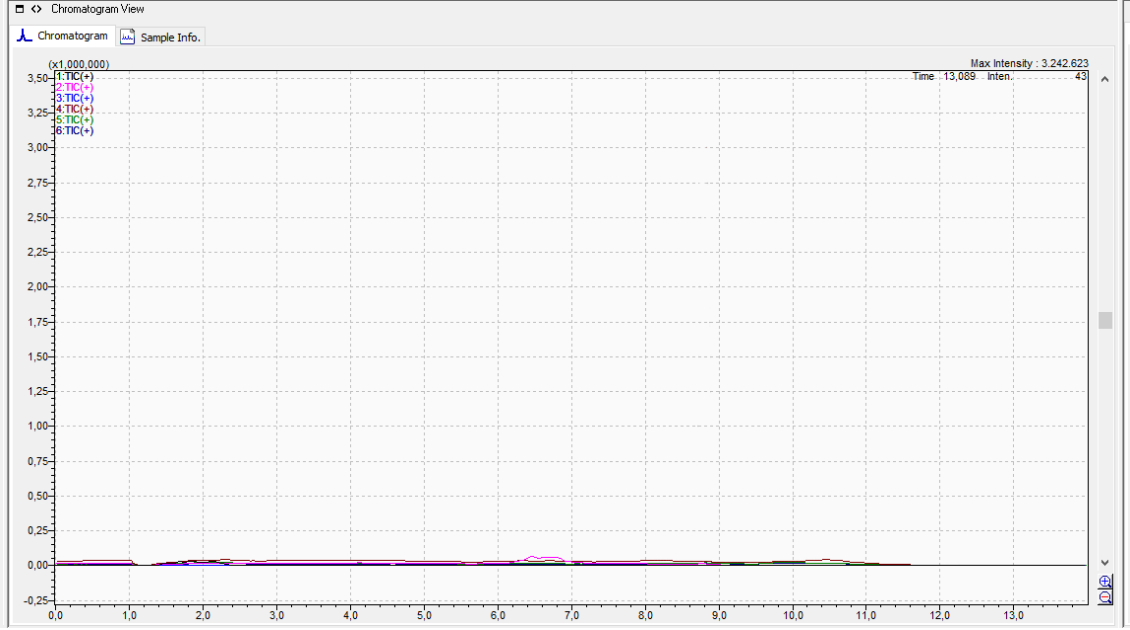


Ek Şekil 2.5. DEHP için kalibrasyon eğrisi ve tekli kromatogram görüntüsü

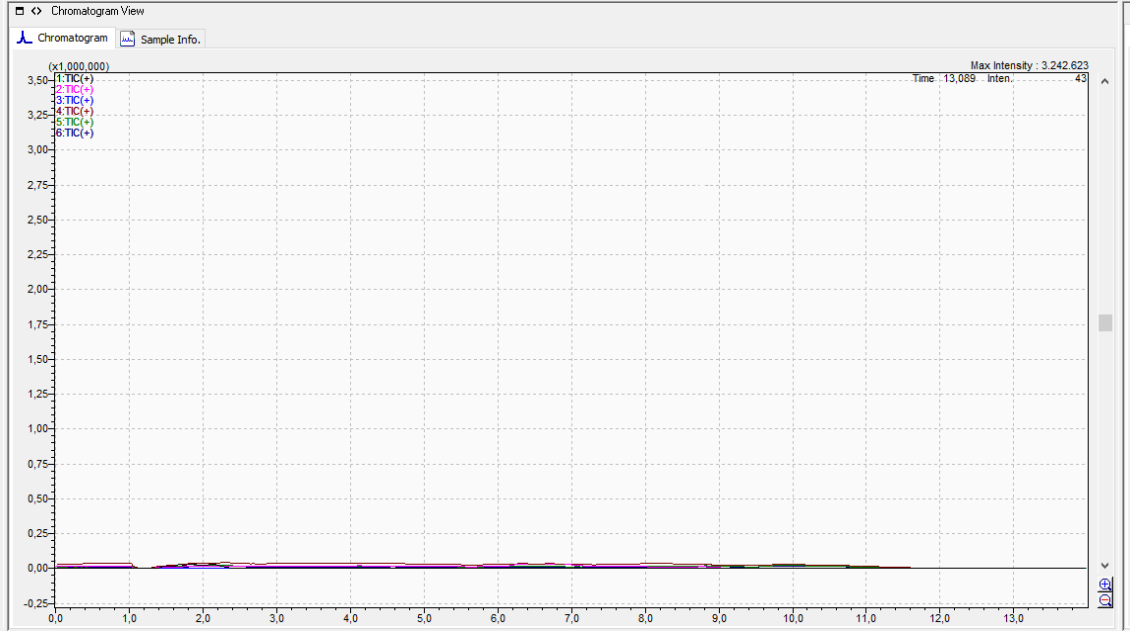


Ek Şekil 2.6. DNOP için kalibrasyon eğrisi ve tekli kromatogram görüntüsü

EK 3 Gerçek Örneklerin Kromatogram Görüntüleri



Ek Şekil 3.1. Gazoz için kromatogram görüntüsü



Ek Şekil 3.2. Kaynak suyu için kromatogram görüntüsü

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yağmur ORUÇ
Doğum Yeri ve Tarihi : Osmangazi/Bursa 22.02.1992
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Bursa Çelebi Mehmet Lisesi, Sayısal Bölüm, 2010
Lisans : Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Fakültesi/Kimya Bölümü,
2015
Yüksek Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Kimya A.B.D., Analitik Kimya, 2020

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : R.B. Karesi A.Ş. 2016 Ocak- 2016 Mart
Uludağ İçecek Türk A.Ş. 2016 Mart-Halen

İletişim (e-posta) : yagmuroruc@gmail.com

Yayımları

:

Oruç, Y., İzgi, B. 2019. Çeşitli Maden Sularında Anyon ve Katyon Miktarlarının Belirlenmesi, *Gıda Dergisi (The Journal of Food)*, Doi:10.15237 / gida.GD19092.