



**DİETİL FİTALAT BASKILANMIŞ MİKROKÜRELER
İLE SULU ORTAMDAN FİTALAT ESTERLERİNİN
UZAKLAŞTIRILMASI VE ANALİTİK
UYGULAMALARI**

TUĞÇE YAZICI



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

**DİETİL FİTALAT BASKILANMIŞ MİKROKÜRELER İLE SULU
ORTAMDAN FİTALAT ESTERLERİNİN UZAKLAŞTIRILMASI VE
ANALİTİK UYGULAMALARI**

Tuğçe YAZICI

**Doç. Dr. Elif TÜMAY ÖZER
(Danışman)**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

BURSA – 2016

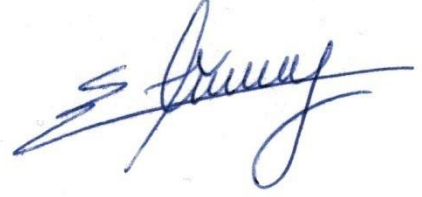
TEZ ONAYI

Tuğçe YAZICI tarafından hazırlanan “DİETİL FİTALAT BASKILANMIŞ MİKROKÜRELER İLE SULU ORTAMDAN FİTALAT ESTERLERİNİN UZAKLAŞTIRILMASI VE ANALİTİK UYGULAMALARI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Elif TÜMAY ÖZER

İmza

Başkan: Doç. Dr. Elif TÜMAY ÖZER
Uludağ Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi,
Kimya Anabilim Dalı



Üye: Prof. Dr. Belgin İZGİ
Uludağ Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi,
Kimya Anabilim Dalı



Üye: Doç. Dr. Sema BAĞDAT
Balıkesir Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi,
Kimya Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım


Prof. Dr. Ali BAYRAM
Enstitü Müdürü

03/11/2017

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

- 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 yararlanması 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.

12/12/2016

İmza
Tuğçe YAZICI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DİETİL FİTALAT BASKILANMIŞ MİKROKÜRELER İLE SULU ORTAMDAN FİTALAT ESTERLERİNİN UZAKLAŞTIRILMASI VE ANALİTİK UYGULAMALARI

Tuğçe YAZICI

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Elif TÜMAY ÖZER

Bu çalışmada, moleküler baskılama tekniği kullanılarak sentezlenen yeni nesil polimerik adsorban ile 6 fitalat esterinin eş zamanlı olarak sulu ortamdaki tayininde kullanılabilen yeni bir katı faz ekstraksiyon metodu geliştirilmiştir. Moleküler baskılama tekniği kullanılarak fitalat esterlerini (DMP, DEP, DBP, BBP, DnOP, DEHP) seçici olarak tanıyabilecek bağlanma bölgeleri içeren mikroküreler hazırlanıp taramalı elektron mikroskobu (SEM), infrared spektroskopisi (FTIR,) X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) gibi tekniklerle karakterize edilmiştir. Fonksiyonel monomer olarak metakriloil-amidotriptofan metil esteri (MATrp), çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) ve kalıp molekül olarak dietil fitalat (DEP) kullanılmıştır. Farklı oranlarda fonksiyonel monomer/çapraz bağlayıcı kullanılarak farklı formülasyonlarda adsorban ile adsorpsiyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen adsorbanlar ile Batch-tipi DEP adsorpsiyonu ve seçicilik çalışmaları gerçekleştirildikten sonra hazırlanan adsorbanın katı faz ekstraksiyon malzemesi olarak kullanılmasıyla, geliştirilen metot optimize edilmiştir. Fitalat esterlerinin tayininde gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) cihazından yararlanılmıştır. Geliştirilen yeni tayin metoduna ilişkin gözlenebilme sınırı (LOD), doğrusal çalışma aralığı, günler içi ve günler arası tekrarlanabilirlik gibi analitik parametreler belirlenmiştir. Çalışmada LOD değerleri, 6 fitalat esteri için 0,31–0,41 µg/L aralığında bulunmuştur. Korelasyon katsayısı değerleri 0,988- 0,999 aralığında, yüzde bağıl standart sapma (%RSD) verileri gün içi çalışmalar için % 1,2–5,9 ve günler arası çalışmalar için % 1,7-6,9 aralığında bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Fitalat, moleküler baskılama, adsorpsiyon, gaz kromatografi

2016, x + 92 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

REMOVAL OF PHTHALATE ESTERS IN AQUEOUS MEDIA WITH DIETHYL PHTHALATE IMPRINTED MICROSPHERES AND ANALYTICAL APPLICATIONS

Tuğçe YAZICI

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Elif TÜMAY ÖZER

In this study, a highly selective adsorption procedure combining dummy molecular imprinting and solid-phase extraction was developed for simultaneous isolation and determination of six phthalate esters which are dimethyl phthalate(DMP), diethyl phthalate(DEP), di-*n*-butyl phthalate (DBP), benzyl butyl phthalate (BBP), di(2-ethyl-hexyl) phthalate(DEHP), di-*n*-octyl phthalate (DnOP) from aqueous solution. The imprinted polymer was prepared by using diethyl phthalate (DEP) as dummy template. The dummy molecularly imprinted microbeads (DMIPs) were synthesized with suspension polymerization. Methacryloyl-amido-tryptophan methyl ester (MATrp) and ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) were used as functional monomer and cross-linker, respectively. The DMIPs microspheres were characterized by scanning electron microscopy (SEM), infrared spectroscopy (IR) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). A series of DMIPs synthesized with different functional monomer/template ratios were evaluated with adsorption experiments. The isolation performance of the DMIPs and NIPs were also evaluated with selective recognition experiments. The microspheres were applied as a specific sorbent for solid-phase extraction of six phthalate esters from water, showing high affinity and high selectivity to the target analytes. The DMIPs were successfully used for the selective analysis of six phthalate esters from water by using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Under the optimized conditions, very good linearity was observed for all analytes in a range between 0.31–0.41 µg/L with coefficient of determination (R^2) between 0.988 and 0.999. The relative standard deviations (RSDs) were in a range of 1.2–5.9% for intraday precision and 1.7–6.9% for interday precision.

Key words: Phthalate, molecular imprinted, adsorption, gas chromatography

2016, x + 92 pages.

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

İlk yüksek lisans öğrencisi olmaktan onur duyduğum, tez çalışmalarım boyunca bana her türlü imkanı sağlayan, bana inanan ve güvenen, her zaman beni destekleyen, gerek hocalığı ile gerek insanlığı ile her zaman örnek alacağım değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elif TÜMAY ÖZER'e,

Çalışmalarında Uludağ Üniversitesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nın olanaklarını sonuna kadar kullanmama izin veren, çalışmalarım ile ilgili kafama takılanlar olduğunda mantığıyla çözümler getiren aynı zamanda hayat dersleri de veren aynı çalışma grubu içerisinde çalışmış olmaktan mutluluk duyduğum hocam Sayın Doç. Dr. Bilgen OSMAN'a,

Laboratuvar ortamında gerek birlikte çalıştığımız gerek sohbetler ettiğimiz taze annelerimiz Aslı GÖÇENOĞLU SARIKAYA ve Emel YEŞİLOVA'ya,

Bana destek veren, stresli zamanlarımda yanımda olan birlikte gülüp birlikte dertlendiğimiz başta çalışma grubumuzun üyeleri Merve GÜMRÜKÇÜ, Buse PARLAK, Tuğba YAPICI ve Recep KARALI olmak üzere yüksek lisansa gönül vermiş tüm dostlarıma ve ayrıca bana güvenip moralimi hep yükselten ve yanımda olan erkek arkadaşım Emin DEDE'ye,

Tüm eğitim-öğretim hayatım boyunca bana sonsuz inanan ve güvenen, beni her zaman maddi manevi destekleyen ailemin eşsiz parçaları babam Şahin, annem Süheyla ve kardeşim Ece YAZICI'ya,

Bu çalışmayı KUAP(F)-2013/86 nolu proje ile destekleyen Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna ve yüksek lisans tez çalışmamı da 2211 Öncelikli Alanlar Yurtiçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında destekleyen TÜBİTAK'a,

verdiği desteklerden ötürü TEŞEKKÜR EDERİM...

Tuğçe YAZICI
12/12/2016

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Endokrin Bozucular.....	4
2.2. Endokrin Bozucu Kimyasallardan Fitalatlar.....	6
2.2.1. Fitalatlar ve fizikokimyasal özellikleri.....	6
2.2.2. Fitalatların alım yolları.....	8
2.2.3. Fitalatlar ile ilgili getirilen kısıtlamalar.....	12
2.3. Fitalatların Analizinde Kullanılan Tayin ve Örnek Hazırlama Metotları.....	12
2.3.1. Fitalatların tayin metotları ile ilgili literatür.....	13
2.3.2. Fitalatların analizinde kullanılan örnek hazırlama metotları ile ilgili literatür.....	18
2.3.3. Adsorpsiyon tekniği ile örnek hazırlama metotları.....	21
2.4. Moleküler Baskılama Tekniği.....	26
2.4.1. Moleküler baskılanmış polimer hazırlamada kullanılan yaklaşımlar.....	29
2.4.2. Fitalatların moleküler baskılanmış polimerler ile analizlerine yönelik literatür çalışmaları.....	35
2.5. Çalışmada Kullanılan Analiz Metotları ve Metotlarla ilgili Kuramsal Bilgiler.....	41
2.5.1. Ultraviyole – Görünür Bölge (UV-GB) spektroskopisi.....	41
2.5.2. Gaz kromatografisi (GC).....	42
2.5.3. Kütle spektrometri (MS).....	44
2.5.4. Gaz kromatografisinin kütle spektroskopisi ile birleştirilerek kullanımı (GC/MS).....	46
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	48
3.1. Materyal.....	48
3.1.1. Gaz kromatografi - kütle spektrometre (GC-MS).....	48
3.1.2. UV-GB spektrofotometresi.....	48
3.1.3. Fourier Dönüşümlü İnfrared (FTIR) spektrometre.....	49
3.1.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	49

3.1.5. X ışını fotoelektron spektrometresi (XPS).....	49
3.1.6. pH-metre	49
3.1.7. Karıştırıcı ve ısıtıcılar.....	49
3.1.8. Terazî.....	50
3.1.9. Saf su cihazı	50
3.1.10. Ultrasonik banyo	50
3.1.11. Etüv	50
3.1.12. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve sarf malzemeler	50
3.2. Yöntem.....	51
3.2.1. Metakriloil-amidotriptofan Metil Ester (MATrp) Monomerinin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	51
3.2.2. Dietil Fitalat (DEP) Baskılanmış Poli(EGDMA-MATrp)] Kürelerin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	52
3.2.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri	53
3.2.4. FTIR Analizleri	53
3.2.5. Sentezlenen Adsorbanlar ile Batch Tipi DEP Adsorpsiyonu ve Seçicilik Çalışmaları	53
3.2.5.1. Batch tipi adsorpsiyon çalışmalarına pH etkisi.....	54
3.2.5.2. Batch tipi adsorpsiyon çalışmalarında konsantrasyon etkisi	54
3.2.5.3. Seçicilik çalışmaları	55
3.2.6. Hazırlanan Adsorbanın Katı Faz Ekstraksiyon Malzemesi Olarak Kullanımı ve Metot Optimizasyonu.....	56
3.2.6.1. Çözücü seçimi	56
3.2.6.2. Uygun adsorban formülasyonunun seçimi.....	56
3.2.6.3. Örnek hacmi ve adsorban miktarı optimizasyonu	56
3.2.6.4. Tuz konsantrasyonu etkisi.....	57
3.2.7. Optimize Edilen Metodun Validasyonu.....	57
3.2.8. Metodun Gerçek Örneklere Uygulanması	57
3.2.8.1. Geliştirilen katı faz ekstraksiyon metodu kullanılarak kapalı içme suyunda GC-MS ile tayini	58
3.2.8.2. Oyuncaklardaki fitalatların yapay tükürük çözeltisine migrasyonu ve geliştirilen katı faz ekstraksiyon metodunun uygulanması	58
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	59
4.1. N-Metakriloil-amidotriptofan metil ester (MATrp) Monomerinin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	59
4.2. Dietil fitalat (DEP) Baskılanmış Poli[(EGDMA-MATrp)] Kürelerinin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	61
4.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri.....	63

4.4. Sentezlenen Adsorbanlar ile Batch-tipi DEP Adsorpsiyonu ve Seçicilik Çalışmalar	64
4.4.1. Batch tipi adsorpsiyon çalışmalarına pH etkisi	65
4.4.2. Batch tipi adsorpsiyon çalışmalarında konsantrasyon etkisi.....	66
4.4.3. Seçicilik çalışmaları	67
4.5. Hazırlanan Adsorbanın Katı Faz Ekstraksiyon Malzemesi Olarak Kullanımı ve Metot Optimizasyonu	70
4.5.1. Çözücü seçimi	71
4.5.2. Uygun adsorban formülasyonunun seçimi.....	72
4.5.3. Örnek hacmi ve adsorban miktarı optimizasyonu.....	72
4.5.4. Tuz konsantrasyonu etkisi.....	73
4.6. Optimize Edilen Metodun Validasyonu.....	74
4.7. Metodun Gerçek Örneklerle Uygulanması.....	76
5. SONUÇ	77
KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	92

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
AIBN	N,N'-azobisisobütironitril
BBP	Benzil Bütil Fitalat
DBP	Dibütil Fitalat
DCM	Diklorometan
DEHP	Di-2-etil Hekzil Fitalat
DEP	Dietil Fitalat
DES	Dietilstilbesterol
DIDP	Di-izo-desil Fitalat
DiNP	Di-izo-nonil Fitalat
DLLME	Sıvı-sıvı Mikroekstraksiyon
dMI	Model Kalıp Moleküler Baskılama
DMP	Dimetil Fitalat
DnOP	Di-n-oktil Fitalat
DVB	Divinil Benzen
EDC	Endokrin Bozucu Kimyasallar
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EGDMA	Etilen Glikol Dimetakrilat
EI	Elektron İmpakt
EPA	Çevre Koruma Örgütü
ESI	Elektrosprey İyonlaştırma
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FTIR	Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrometri
GC-ECD	Gaz Kromatografi-Elektron Yakalama Dedektörü
GC-FID	Gaz Kromatografi-Alev İyonlaştırma Dedektörü
GC-MS	Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometri
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
IPCS	Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı
İS	İç Standart
LC-MS	Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometri
LOD	Gözlenebilme Sınırı
LOQ	Tayin Sınırı
LPME	Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
MAA	Metakrilik Asit
MATrp	Metakrilolil Amido L-Triptofan Metil Ester
MIP	Moleküler Baskılanmış Polimer
MMA	Metil Metakrilat
MS	Kütle Spektrometri
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans
PDMS	Polidimetil Siloksan
PVA	Polivinil Alkol
PVC	Polivinil Klorür
RSD	Bağlı Standart Sapma
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu

SIM	Selektif İyon Modu
SML	Spesifik Migrasyon Limiti
SPE	Katı Faz Ekstraksiyon
SPME	Katı Faz Mikroekstraksiyon
SRM	Sertifikalı Referans Madde
UV-GB	Ultraviyole-Görünür Bölge Spektrometri
XPS	X-ışını Fotoelektron Spektrometri



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.2.1. Fitalatların genel kimyasal yapısı.....	7
Şekil 2.3.2. Yıllara göre fitalat analizleri yapılan matris türleri.....	21
Şekil 2.3.3. Fitalat esterlerinin adsorpsiyonu ve desorpsiyonu için geliştirilen çok duvarlı karbon tüp-MSPE prosedürünün şematik gösterimi.....	26
Şekil 2.4. Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi.....	27
Şekil 2.4.1. (a) Kovalent olmayan (b) Kovalent moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi.....	29
Şekil 2.4.2.1. Manyetik model kalıp moleküler baskılanmış dispersif katı faz ekstraksiyon prosedürü.....	37
Şekil 2.4.2.2. Model kalıbın sentezi (dietil N,N'-fitaloil-bis(11- amino undekanoat).....	38
Şekil 2.4.2.3. Silika jel partikül yüzeyine model kalıp baskılanmış polimerlerin hazırlanmasının şematik gösterimi.....	39
Şekil 2.5.1. Elektromanyetik spektrum.....	41
Şekil 2.5.2.1. Gaz kromatografi cihazının şematik gösterimi.....	42
Şekil 2.5.2.2. Enjeksiyon bölmesinin kesiti.....	43
Şekil 2.5.3. Kütle spektrometri cihazının bölümleri.....	45
Şekil 2.5.4. Gaz kromatografi - kütle spektrometri cihazının şematik gösterimi	47
Şekil 4.1.1. MATrp monomerinin sentez reaksiyonu.....	59
Şekil 4.1.2. MATrp monomerinin ¹ H-NMR spektrumu.....	60
Şekil 4.1.3. MATrp monomerinin FT-IR spektrumu.....	61
Şekil 4.2.1. Kürelerin sentezinde kullanılan yapılar (a) DEP (kalıp molekül) (b) MATrp (fonksiyonel monomer) (c) eş zamanlı olarak seçici tayini yapılan 6 fitalat esterinin kimyasal yapısı.....	62
Şekil 4.2.2. Poli(EGDMA-MATrp) polimerizasyon şeması.....	62
Şekil 4.2.3. DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) filmin FTIR-ATR spektrumu.....	63
Şekil 4.3.1. Poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerin SEM görüntüleri.....	64
Şekil 4.4. DEP kalibrasyon grafiği ($\lambda=239$ nm).....	64
Şekil 4.4.1.1. DEP adsorpsiyonuna çözelti pH'sinin etkisi.....	65
Şekil 4.4.1.2. Fitalik asitin molekül yapısı.....	65
Şekil 4.4.1.3. Hidroliz reaksiyonları sonucu fitalatların olası yapıları.....	66
Şekil 4.4.2. Adsorpsiyona DEP derişiminin etkisi.....	67
Şekil 4.4.3.1. Seçicilik çalışması için kullanılan moleküller.....	67
Şekil 4.4.3.2. Farklı formülasyonlardaki adsorbanların DEP'e karşı seçiciliği....	68
Şekil 4.5. GC-MS enjeksiyonundan önce hazırlanan adsorbanın katı faz ekstraksiyon malzemesi olarak kullanımının şematik gösterimi.....	70
Şekil 4.5.1. Fitalatların desorpsiyonu için uygun çözücünün seçimi.....	71
Şekil 4.5.2. Adsorban formülasyonlarının fitalatların desorpsiyonuna etkisi....	72
Şekil 4.5.3. Örnek hacmi ve adsorban miktarının fitalatların desorpsiyonuna etkisi.....	73
Şekil 4.5.4. Fitalatların adsorpsiyonuna tuz konsantrasyonunun etkisi.....	74

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Başlıca endokrin bozucu kimyasallar.....	5
Çizelge 2.2.1. Ticari olarak yaygın kullanılan bazı fitalatların kimyasal isimleri ve fizikokimyasal özellikleri.....	7
Çizelge 2.2.2. Fitalatlar ve potansiyel maruziyet kaynakları.....	8
Çizelge 2.3.1.1. Çeşitli gıda matrikslerinden farklı ekstraksiyon teknikleri ile fitalatların GC analizlerine yönelik yapılan çalışmalar.....	14
Çizelge 2.3.1.2. Sulu sistemlerden farklı ekstraksiyon teknikleri ile fitalatların GC analizlerine yönelik yapılan çalışmalar.....	16
Çizelge 2.4.2. Moleküler baskılanmış polimerler ile fitalat esterlerinin analizleri ve validasyon parametreleri.....	40
Çizelge 2.5.2.1. Dolgulu ve kapiler kolon özellikleri.....	43
Çizelge 2.5.2.2. Gaz kromatografik dedektörler.....	44
Çizelge 2.5.3.1. Moleküler kütle spektrometri için iyonlaştırıcılar.....	45
Çizelge 2.5.3.2. Kütle spektrometri için yaygın kütle analizörleri.....	46
Çizelge 3.1.1. Fitalatların ait alıkonma zamanları ve selektif iyon kütle/yük değerleri.....	48
Çizelge 3.2.2. Moleküler baskılanmış polimerlerin sentezinde kullanılan fonksiyonel monomer, kalıp molekül, çapraz bağlayıcı, başlatıcı karışım miktarları.....	53
Çizelge 4.4.3. DEP baskılanmış ve baskılanmamış mikrokürelerin seçicilik moleküllerine karşı seçicilik katsayıları.....	68
Çizelge 4.6.1. Metot parametreleri.....	75
Çizelge 4.6.2. Fitalatların tayinine yönelik geliştirilen moleküler baskılanmış adsorbanlar ile literatürde yapılan çalışmalar ile tez çalışması sonucu elde edilen değerlerinin karşılaştırılması.....	75
Çizelge 4.7. Metodun gerçek örneklere uygulanması.....	76

1. GİRİŞ

Endokrin bozucular, endokrin sistemin gelişimi ve fonksiyonunu değiştiren, böylece bir organizmada ters sağlık etkilerine neden olan dışarıdan gelen bir madde veya karışımlardır (Anonim 2016). Endokrin bozucu kimyasallar sınıfında bulunan 1,2-benzendikarboksilik asitlerin esterleri olan fitalatlar, östrojenik kimyasallar veya endokrin bozucular olarak bilinen organik esterlerdir (Qiao ve ark. 2014). Plastik malzemelere yumuşaklık ve benzeri özellikler kazandırmak amacıyla ilave edilirler. Bu moleküller, özellikle sert polivinil klorür tipi plastiklere kovalent olmayan, polimerik yapıya fiziksel yollarla bağlandıkları için kolaylıkla çevreye taşınabilirler. Çocuk bakım ürünleri ve oyuncaklardan çiğneme yoluyla, gıdalara ambalaj ve çevreden bulaşarak sindirim yoluyla, deriden absorpsiyon yoluyla, gaz formunda solunum yoluyla, PVC yapılı cihazlardan ise direkt olarak vücuda alınabilirler. Bu yüzden su ve sulu ortamda tayinlerine yönelik metotların geliştirilmesi uluslararası düzeyde önem kazanmıştır.

1970-80'li yıllarda araştırmacılar fitalatların sağlık üzerine olumsuz etkileri üzerine araştırma yapmaya yönelmiştir (Shea 2003). Fitalatların mutajenik, kanserojenik ve endokrin kesici özellikleri olduğundan şüphelenilmiştir (Casas-Hernandez ve ark. 2003). Ayrıca bu yapıların yağdaki çözünürlüklerinin yüksek ve biyolojik olarak depolanabilir olmaları nedeniyle vücuttaki yağ dokularında ve özellikle böbrek ve karaciğer gibi yağ oranı yüksek organlarda tutulması söz konusudur. Bu nedenle kolayca besin zincirine katılarak çevreye dağılması mümkün olmaktadır. Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda bu küresel kirleticilerin vücutta birikimi sonucu; özellikle erkek üreme sistemlerinde zarara ve çocuklarda solunum yolu hastalıklarına (astım vb.) neden olabileceği vurgulanmıştır. Ayrıca hayvanlar üzerine yapılan çalışmalarda; bu yapıların plasentadan fetüse; anne sütünden de yeni doğana geçişi saptanmıştır (Huber ve ark. 1996, Ema ve ark. 1997, Arcadi ve ark. 1998, Wilkinson ve ark. 1999, Shea 2003).

Fitalat esterlerinin tekli analizlerinde genel olarak kullanılan cihazlar; gaz ve sıvı kromatografidir. Bunun yanı sıra; fitalat tuzları ve esterlerinin toplam olarak

gideriminin takibinde ise Ultraviyole-Görünür Bölge Spektrometre (UV-GB) ile 228-230 nm dalgaboyundaki absorbans ölçümleri kullanılmaktadır.

Adsorpsiyon teknikleri bu tür kirleticilerin sucul ortamdan uzaklaştırılması ve tayininde sıklıkla kullanılan bir teknik halini almıştır. Yüzey fonksiyonlarının fazlalığı sebebiyle aktif karbon, birçok organik bileşik için olduğu gibi fitalat esterlerinin adsorpsiyonunda da kullanılmaktadır. Fitalat esterlerinin uzaklaştırılmasında aktif karbon etkin ve yüksek kapasiteli bir materyal olmasına karşın, rejenerasyonun maliyetli olması ve düşük mekanik dayanıklılığı çözülmesi gereken problemler olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda polimerik materyaller geniş yüzey alanları, yüksek mekanik dayanımları, ayarlanabilir kimyasal özellikleri, gözenek yapıları ve kolay rejenerasyonları nedeniyle aktif karbona alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır (Li ve SenGupta 1998, Ahmed ve ark. 2000, Pan ve ark. 2007). Polimerik materyaller çok farklı fiziksel formda (mikroküre, nanoküre, membran, film vb.) hazırlanabilmekte ve çapraz bağlı yapısı nedeniyle yüksek bir mekanik dayanım göstermektedir. Bu materyaller, yüzeydeki fonksiyonel grupların istenilen özellikte seçilmesi ya da yüzeydeki grupların modifiye edilmesi ile ayrılması istenilen moleküle özgü şekilde hazırlanabilmektedir. Ancak “moleküler baskılama” adı verilen teknik, hedef molekülün daha da seçici bir şekilde ayrılmasına olanak sağlamaktadır.

Moleküler baskılama fikri Nobel ödülü sahibi olan Linus Pauling’in antibadi oluşumuna ilişkin teorilerinden ilham alınarak ortaya çıkmıştır (Ansell ve ark. 1996, Mosbach ve Ramstrom 1996). Pauling antibadilerin denatüre protein gibi davrandığını, hidrojen bağı içermediğini ve zincirlerinin serbestçe hareket edebildiğini varsaymıştır. Antijen ile karşılaştığında “moleküler tamamlama” adını verdiği olay gerçekleşmekte ve antijenin kimyasal yapısında yer alan fonksiyonel gruplar antibadideki aminoasitler ile etkileşmektedir. Bu sayede antibadi antijenin yapısını hafızasına almaktadır (Pauling 1940). Daha sonra bu hipotezin yanlış olduğu kanıtlanmış fakat serbest halde hareket eden polimer zincirlerinin bir molekül etrafında tamamlayıcı bir şekilde organize olabileceği fikri moleküler baskılama olayı için ilham kaynağı olmuştur.

Doğada gerçekleşen bağışıklık yanıt, ligand-reseptör etkileşimi ve enzim katalizi gibi bir çok biyolojik olaydaki moleküler tanıma olayını temel alan araştırmacılar daha iyi,

daha seçici ve hassas analitik çalışmalar yapabilmek için doğada gerçekleşen spesifik tanıma olayını sentetik reseptörler hazırlamak için kullanarak “moleküler baskılama” olarak bilinen yeni bir alanın doğmasına neden olmuştur. Moleküler baskılama, kalıp molekül etrafında fonksiyonel monomerlerin organize olması ve çapraz bağlayıcı ilavesiyle polimerizasyonun gerçekleştirilmesi sonucunda, şekil ve boyut olarak kalıp moleküle özgü bağlanma bölgeleri içeren yeni bir malzemenin elde edilmesi esasına dayanmaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı moleküler baskılama tekniği kullanılarak sentezlenen polimerik adsorban ile sulardan fitalat esterlerinin tayinininde kullanılacak yeni bir katı faz ekstraksiyon metodu geliştirmektir. Dietil fitalat (DEP) baskılanmış yeni nesil polimerik malzeme ile fitalat esterlerine özgü tanıma bölgelerine sahip, fonksiyonel bir katı faz materyali sentezlenerek, uzaklaştırma amaçlı kullanılmıştır. İlk olarak moleküler baskılama tekniği kullanılarak fitalat esterlerini seçici olarak tanıyabilecek bağlanma bölgeleri içeren mikroküreler hazırlanarak karakterize edilmiştir. Fonksiyonel monomer olarak bir aminoasit monomeri olan metakriloil-amidotriptofan metil esteri (MATrp), çapraz bağlayıcı olarak da etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) kullanılmıştır. Tanıma bölgelerinin hazırlanması için tüm fitalat esterlerini temsil etmesi için dietil fitalat (DEP) kalıp molekül olarak kullanılmıştır. Diğer bir ifadeyle, DEP molekülü burada analizi yapılmak istenen tüm fitalat grubunun tanınması için model kalıp (dummy template) olarak Türkçeleştirilebilecek moleküldür. Bu çalışma sonucunda, moleküler baskılama tekniği kullanılarak hazırlanmış olan yeni nesil bir polimerik materyal ile belirlenen 6 fitalat esterinin sulu ortamdan eş zamanlı olarak uzaklaştırılması ve tayini için yeni bir metot geliştirilmiştir. Fitalat esterlerinin tayininde gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) cihazından yararlanılmıştır. Geliştirilen yeni tayin metoduna ilişkin doğrusal çalışma aralığı, gözlenebilme sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ), korelasyon katsayısı, günler içi ve günler arası tekrarlanabilirlik gibi analitik parametreler belirlenerek elde edilen sonuçlar mevcut yöntemler ile karşılaştırılmış ve yeni metodun avantajları belirlenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Endokrin Bozucular

Hormonlar; üremeyi, büyüme ve gelişmeyi, kanın su, elektrolit ve besinsel dengesini düzenler. Vücuttaki her hücre farklı yollarla hormonlar tarafından düzenlenir. Fakat hormonlar gıdalardan, içeceklerden veya hava yoluyla alınan endokrin bozucu kimyasallardan (EDC) olumsuz yönde etkilenmektedir.

Endokrin bozucular; endokrin sistemin gelişimi ve fonksiyonunu değiştiren, ekzojen madde veya madde karışımlarıdır. Bu maddeler, hormonların üretim, salınım, bağlanma, taşınma, aktivite, yıkım ve vücuttan atılımları üzerine etki etmektedirler. Doğada doğal olarak bulunabildiği gibi değişik sentetik ve endüstriyel ürünlerin içerisinde de yer almaktadırlar (Tsumura ve ark. 2002, Farahani ve ark. 2008). Doğal endokrin bozucular; yarı ömürleri kısa oldukları ve dokularda birikmeden kolaylıkla vücuttan atıldıkları için genellikle önemli yan etkiler oluşturmayan bozuculardır. Bunlardan en iyi bilineni fitoöstrojenlerdir. Fitoöstrojenler, vücutta üretilen östrojenlere göre daha zayıf etki gösterirler ve günlük hayatta sık olarak tüketilen besinlerde (sarımsak, maydanoz, hububat, havuç, patates, vişne, elma ve kahve) bulunurlar. Fitoöstrojenler, ancak yoğun ve çok miktarlarda alınmaları sonucunda belirgin etkiye neden olurlar (Tsumura ve ark. 2002). Sentetik endokrin bozucular; endüstride, tarımda ve evde kullanılan değişik ürünlerin içinde bulunurlar (Blount ve ark. 2000, Li ve ark. 2012). Güçlü östrojenik etkisi olan “dietilstilbesterol” (DES) en çok tanındır. DES, ilk defa 1938 yılında üretilmiş, Amerika ve Avrupa’da uzun yıllar boyunca toksemilerde, erken doğum tehdidinde ve fetal ölümlerin önlenmesinde kullanılmıştır. Ayrıca çalışmalarda DES’e maruz kalan bayanlarda meme kanserinin gelişme riskinin yaklaşık 2 kat arttığı ve farklı kanser risklerine yol açtığı, erkeklerde de testis kanseri riskini arttığı tespit edilmiştir. Bu nedenle DES piyasadan kaldırılmıştır (IARC 2000, Tsumura ve ark. 2002, Gallart-Ayala ve ark. 2013).

İnsanlar ve yaban hayatı üzerinde olumsuz yönde gelişimsel, nörolojik, üreme ve immün etkileri nedeniyle endokrin bozucu kimyasallar üzerine geniş çapta araştırmalara odaklanılmaktadır. Son birkaç yıldır endokrin bozucuların sağlık üzerinde olası tehdit

oluşturması konusunda endişeler büyümektedir. Bu sebeple bu kimyasalların etki mekanizmalarının aydınlatılması konusunda literatürde yapılan çalışmalara rastlamak mümkündür.

Endokrin bozucuların çevrede bulunma süresi sudaki çözünürlüklerine, ısı ve ışığa karşı hassaslıklarına bağlıdır. Büyük çoğunluğu çevre, gıda ve tüketici ürünleri gibi çeşitli matrislerde bulunmaktadır. Temizlik malzemeleri, fungusitler (mantar ilaçları), pestisitler (zararlı canlıları öldüren ilaçlar), herbisitler (yabani otları yok eden ilaçlar) ile boyalar, plastikler ve çözücüler gibi organik kimyasalların endokrin bozucu olma potansiyeli vardır. Bu maddelerin çoğunun yağda eriyerek, yağ dokusunda birikirerek veya yıkılıp zararsız hale getirilme işlemi zor olduğu için vücutta uzun süre kalıp zararlı etkilerde bulunabilirler (IARC 2000, Tsumura ve ark. 2002). Endokrin bozucuların insan sağlığı üzerine etkileri incelendiğinde özellikle üreme sistemi ve tiroid fonksiyonlarını etkilemekle birlikte diğer birçok etkilerinin de olduğu tespit edilmiştir (Blount ve ark. 2000, Li ve ark. 2012). Bu nedenle endokrin bozucuların etki mekanizmaları da geniş çapta araştırılmalıdır. Başlıca endokrin bozucu kimyasallar Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Başlıca endokrin bozucu kimyasallar (Yeşilkaya 2008)

Fitoöstrojenler	Prunetin, Glisetein, Ekuol, Daidzein, Enterolakton, Enterodiol, Genistein
Organohalojenler	Dioksinler, Furanlar, Poliklorlu Bifeniller (PCB), Hekzaklorobenzen
Pestisitler	DDT, Endosulfan, Kepon, Vinklozolin, Atrazin
Fitalatlar	Di-etilheksil fitalat, butil benzil fitalat, di-n-butil fitalat, dietil fitalat, dimetil fitalat, di-n-oktil fitalat
Ağır metaller	Arsenik, Kadmiyum, Uranyum, Kurşun, Civa
İlaçlar	Doğum kontrol hapları, dietilstilbesterol (DES)
Diğerleri	Bisfenol A, B ve F, nonilfenol, stiren, 4-nitro toluen, 2,4-diklorofenol

2.2. Endokrin Bozucu Kimyasallardan Fitalatlar

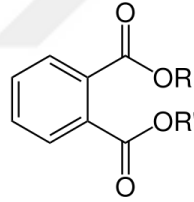
Fitalatlar veya fitalik asit esterleri (1,2-benzendikarboksilik asit), fitalik anhidritin diesterleridir. Fitalik anhidrit ile okso alkollerin arasında gerçekleşen esterifikasyon reaksiyonu ile sentezlenirler. (ECOBILAN 2001). Fitalatlar; plastik malzemelere, reçinelere, yapıştırıcılara, esneklik, yumuşaklık, dayanıklılık ve benzeri özellikler kazandırmak amacıyla ilave edilir. PVC, oyuncaklar, kişisel bakım ürünleri, boyalar, endüstriyel plastikler, tıbbi aletler gibi evsel ürünlerden farklı endüstriyel ürünlere kadar 1930'lu yıllardan beri geniş bir yelpazede kullanım alanı bulmaktadırlar (Staples ve ark. 1997, Tsumura ve ark. 2002, Farahani ve ark. 2008). Ayrıca kozmetikler, insektisitler ve farmasötikler içerisinde de küçük miktarlarda kullanılmaktadır (Hashizume ve ark. 2002). Tüm dünyada yıllık milyonlarca ton fitalat üretilmektedir (Blount ve ark. 2000). Fitalatların içerisinde di-2-etilheksil fitalat (DEHP), dünya çapında en çok üretilen plastikleştiricidir. Bu bileşiği sırasıyla dibutil fitalat (DBP), di-izo-desil fitalat (DIDP) ve di-izo-nonil fitalat (DiNP) bileşikleri takip etmektedir (Li ve ark. 2012, Gallart-Ayala ve ark. 2013).

Fitalatların endokrin bozucu etkileri üzerine literatürde pek çok çalışma bulunmaktadır. Swan ve ark. (2005) erkek çocuklarda anogenital mesafe ile anne idrarındaki fitalat düzeyleri arasında bir ilişkinin olduğunu bildirmektedirler. Bu nedenle fitalatlar, emzik ve oyuncakların içerisinde bulunmasıdır. Fitalatların özellikle testiste sertoli hücrelerini etkiledikleri ve FSH'nin sertoli hücrelerini uyarmalarını engelledikleri kabul edilmektedir. Kondo ve ark. (2006) prepubertal ve yetişkin erkek sıçanlara fitalat verdiklerinde prepubertal sıçanların testislerinde daha belirgin hasarın oluştuğunu tespit etmişlerdir. Fitalat verilen sıçanların testislerinde, germ hücre dejenerasyonu da saptanmıştır. Başlıca endokrin etkileri; erkeklerde sperm sayısında azalma, pubertal jinekomasti, ev tozu fitalatların alımıyla alerjik semptomlar ve astım riskinde artış olarak belirlenmiştir.

2.2.1. Fitalatlar ve fizikokimyasal özellikleri

Oda sıcaklığında fitalatların büyük çoğunluğu renksiz ve kokusuz yağlı sıvılardır. Kaynama noktaları 190- 530°C aralığında değişmektedir. Sudaki çözünürlükleri yüksek

veya düşük oktanol/su katsayısına (k_{ow}) göre nitelendirilir. Bu faktör oktanol içerisindeki denge konsantrasyonunun sudakine oranı olarak ifade edilmektedir. Sudaki çözünürlüğü düşük olup, zincir uzunluğu arttıkça diğer bir ifadeyle molekül ağırlığı arttıkça çözünürlük de azalmaktadır. Sonuç olarak, DMP ve DBP gibi kısa alkil gruplara sahip düşük molekül ağırlıklı fitalatların suda çözünürlüğü uzun zincirli fitalatlara oranla daha fazladır (Lyche ve ark. 2009). Fitalatların sudaki çözünürlükleri, sulu ortamdaki toksisitelerini, biyobirikimlerini ve biyobozunmalarını etkilemesinin yanı sıra yiyeceklerdeki ve vücuttaki dağılımını da kontrol eder. DMP, DEP, DBP ve BBP gibi düşük molekül ağırlıklı fitalatlar için Karickhoff ve ark. yaptığı bir çalışmada teorik açıdan tahminler ile birbirine uyumlu olarak alkil zincirindeki karbon atomları ile sudaki çözünürlükleri arasında negatif korelasyon belirlenmiştir (Karickhoff ve ark. 1991). Ayrıca alkil zinciri uzunluğu artması ile log k_{ow} değerinin (DMP 1,61, DEP 2,38, DBP 4,45, BBP 4,59) artması, beklendiği gibi hidrofilitenin azalmasından kaynaklanmaktadır (Staples ve ark. 2000). Fitalatların genel kimyasal yapısı şekilde (Şekil 2.2.1) ve bazı fitalatların fizikokimyasal özellikleri Çizelgede verilmiştir (Çizelge 2.2.1).



Şekil 2.2.1 Fitalatların genel kimyasal yapısı

Çizelge 2.2.1. Ticari olarak yaygın kullanılan bazı fitalatların kimyasal isimleri ve fizikokimyasal özellikleri (Yang ve ark. 2015)

İsim	CAS No	Mol Ağırlığı	Sudaki Çözünürlük (g/L)	K.N. (°C)	Yoğunluk (g/mL)	log _{ow}
Dimetil Fitalat (DMP)	131-11-3	194,18 C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1	282	1,190	1,61
Dietil Fitalat (DEP)	84-66-2	222,24 C ₁₂ H ₁₄ O ₄	1,080	295	1,120	2,54
Di-n-butil Fitalat (DBP)	84-74-2	278,35 C ₁₆ H ₂₂ O ₄	0,013	340	1,043	4,45

Çizelge 2.2.1. Ticari olarak yaygın kullanılan bazı fitalatların kimyasal isimleri ve fizikokimyasal özellikleri (devamı)

Benzilbutil fitalat (BBP)	85-69-7	312,36 C ₁₉ H ₂₀ O ₄	0,00269	370	1,12	4,9
Di(2-etil-heksil) fitalat (DEHP)	117-81-7	390,56 C ₂₄ H ₃₈ O ₄	-	384	0,98	7,73
Di-n-oktil fitalat (DNOP)	117-84-0	390,56 C ₂₄ H ₃₈ O ₄	-	380	0,99	9,1

2.2.2. Fitalatların alım yolları

İnsanların fitalatlara en çok maruz kaldığı kaynaklar materyal ile ilgili olanlar (inşaat malzemeleri, mobilya, elektronik aletler), kozmetik, ambalajlama, boyama, tekstil ve medikal cihaz ürünleri, endüstriyel ürünler, zirai (insektisitler, pestisitler ve ilaçlar) ürünler ve atıklardır (Wilkinson ve Lamb 1999, Nakamiya ve ark. 2005, Wormuth ve ark. 2006). İnsanların fitalatlara maruziyeti ya direk temas sonucu ya da fitalat içeren ürünlerin kullanımıyla gerçekleşebilir. Oral alım (ağız yoluyla), inhalasyon (solunum), PVC yapımı cihazlardan enjeksiyon ve deri absorpsiyonu yoluyla fitalatlara maruz kalınmaktadır (Aurela ve ark. 1999). Bazı fitalatların alım yolları Çizelge 2.2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2.2. Fitalatlar ve potansiyel maruziyet kaynakları (Heudorf ve ark. 2007)

Fitalatlar	Potansiyel Maruziyet Kaynakları
Dietil fitalat (DEP)	Kişisel bakım ürünleri, kozmetikler
Benzilbutil fitalat (BBP)	Plastik yer karoları, gıda taşıyıcı bantlar, suni deri, trafik konileri
Di-n-butil fitalat (DBP)	PVC plastikler, lateks yapıştırıcılar, kozmetikler, kişisel bakım ürünleri, selüloz plastikler, boya çözücüleri
Di (2-etilheksil) fitalat (DEHP)	Yapı malzemeleri, araba ürünleri, giysi, gıda ambalajları, çocuk ürünleri, tıbbi cihazlar
Di-n-heksil fitalat (DnHP)	Alet sapları, döşeme, vinil eldivenler
Di-n-oktil fitalat (DnOP)	Bahçe hortumları, yer karoları, taşıyıcı bantlar
Di-isononil fitalat (DINP)	Bahçe hortumları, tenteler, oyuncaklar
Di-isodesil fitalat (DIDP)	PVC plastikler, suni deri, oyuncaklar

Polivinil klorür (PVC), polietilen tereftalat (PET), polivinil asetat (PVA) ve polietilen (PE) gibi plastik maddeler kütlece %10'dan %60'a değişen oranlarda fitalat içermektedir (IARC 2000). Bu plastik maddeler ambalajlama ve işlem sürecinde kullanılmaktadır (Stales ve ark. 1997, Matsumoto ve ark. 2008). Fitalat moleküllerinin polimer ile iyi derecedeki uyumu sebebiyle polimer içerisine girer ve moleküller arası kuvvetleri azaltarak herhangi bir kimyasal reaksiyon olmadan PVC nin vizkozitesini etkili bir şekilde azaltır. Plastik matriks ile kimyasal bağ yapmamasından dolayı da hava, toprak ve yer altı sularına taşınabilirler ve bitkiler ve hayvanlar absorbe ettiklerinde besin zinciri içerisine girerler (Castillo ve Barcelo 2001). Literatürde insanların fitalatlara pek çok yolla maruz kaldığına dair uzun yıllardan beri çalışmalar yapılmaktadır. Genel nüfustaki fitalat maruziyetinin en büyük kaynağı kontamine olmuş gıdaların alımıdır. Tahminen, günlük alınımı DBP için maksimum 0,48 µg/kg/gün (MAFF 1996), DEHP için 4,9–18 µg/kg/gün (Meek ve Chan 1994), BBzP için 0,11–0,29 µg/kg/gün'dür (MAFF, 1996). Castle ve ark. (1990) yaptığı çalışmada süt sağma cihazı kullanarak Norveçteki günlük süt örneklerindeki DEHP seviyeleri ölçülmüştür. Süt sağma haznesinden toplanan süt örneklerindeki DEHP miktarları 30 µg/kg- 50 µg/kg aralığında bulunmuştur. Kontrol örneği olarak ise elde sağma ile elde edilen süt örneğindeki DEHP miktarı 5 µg/kg olarak belirlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada gerçek örnek çalışması olarak marketten alınan plastik ambalajlı 5 farklı süt örneklerinin analizinde DBP, DIOP, DMP fitalat bileşiklerine rastlanmıştır (Yan ve ark. 2011). Sonuçlara göre plastik ambalajlardan süte fitalat esterleri önemli ölçüde göç edebilmektedir. Sui ve ark. (2014) yaptığı bir çalışmada Çinde beslenme ile DEHP'e maruz kalınması üzerine araştırma yapmışlardır. Çalışmalara göre ifade edilen DEHP alımı çocuklarda 4,51, yetişkinlerde 2,03 ve genel popülasyonda 2,34 mg/kg dır. Ayrıca DEHP'in temel kaynakları yetişkinler için tahıllar %44,57, et ürünleri %15,70 ve içme suları %12,28 dır. Çocuklar için ise; tahıllar 39,44, içme suları %16,94 ve et ürünleri %15,81 değerlerindedir.

Ortam havasıyla da fitalatlara maruz kalınmaktadır. Clark ve ark. (2011) çalışmasında aerosol ve partiküllere yapıştığını ve ev ortamında bulunan tozlarda DEHP varlığını belirlemiştir.

Medikal cihazlar yoluyla ftalat alımı ile ilgili Kambia ve ark. (2001) yaptığı bir çalışmada kronik böbrek yetmezliği olan hemodiyaliz bakımı yapılan 4 saatlik diyaliz seansı boyunca plastik diyaliz tüpünden hastalara geçebilecek DEHP miktarı ölçülmüştür. Diyaliz makinesinin çıkışında ölçülen kan plazmasındaki DEHP konsantrasyonu 0,4 µg/mL'den 2,6 µg/mL'ye çıktığı tespit edilmiştir.

Farmasötik ilaçlar çoğunlukla ilacın sindirim kanalında dağılım yerini ve zamanını etkileyecek şekilde bir polimerle kaplanırlar. Örneğin; Eudragit, amonyak metakrilat kopolimer kaplaması olup düşük mide pH'sında bozunmadan dururken yüksek pH'lı kalın bağırsakta bozulur (Chourasia ve Jain 2003). Bağırsakta ilaç dağılımını etkilemek için Eudragit'e DBP ve DEP içeren çeşitli plastikleştiriciler katılabilir. ABD Patent Ofisinin veri tabanındaki bir internet araştırmasında (<http://www.patentstorm.us/>) kaplamalarında DBP ve DEP içeren ftalat plastikleştiricilere sahip farmasötik ürünlerin birçok örneklerini göstermektedir. Ayrıca Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 2010 yılında yapılan araştırmada kozmetik ürünlerinin ftalat içeriği belirlenmiştir. Bu araştırmaya göre farklı markalara ait tırnak cilası ürünlerinde DBP, vücut kremleri ve losyonlarında, parfümlerde, saç ürünlerinde, yüz ve vücut boyalarında büyük oranlarda DEP, deodorantlarda DMP ve DEP bileşiklerine rastlanmıştır (USFDA, 2010).

Fitalatlarla yumuşaklaştırılmış polimer oyuncaklar, çocuklarda potansiyel oral maruziyet kaynağıdır. Avrupa Birliği bütün çocuk oyuncakları, DEHP, DBP ve BBzP içeren çocuk bakım eşyaları bunun yanı sıra DiNP, di-n-oktil ftalat (DnOP) ve DiDP içeren 3 yaş altı çocuklar için tasarlanmış oyuncakların pazarlanmasını geçici olarak yasaklamıştır. Çocukların ağız aktivitelerinden kaynaklanan ortalama DINP maruziyeti varsayımlar ve istatistiksel tekniklere bağlı olarak 5,7 ile 44 µg/kg/gün aralığındadır (Kavlock ve ark. 2002).

Endokrin bozucu kirleticiler sınıfa ait olan ftalat esterleri, biyolojik organizmalar üzerinde üreme ve gelişimsel sağlık etkileri göstermektedir. Erkek cinsiyet organlarının gelişimine katkıda bulunan önemli bir androjen (veya erkek cinsiyet hormonu) olan testosteron seviyelerini azaltabilirler (Struve ve ark. 2009). 1960'lı ve 1970'li yılların

başlarında hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda ftalatların özellikle mutajenik ve teratojenik etkilerinin bulunması ile toksisiteyi doğrulanmıştır (Calley ve ark. 1966, Singh ve ark. 1974). Zhou ve ark. (2011) yaptığı çalışmada DEP, DBP, DMP, DNOP ve DEHP gibi düşük mol kütleli ftalatların embriyo zarının yapısına zarar verdiği ve deniz salyangozlarının embriyonik gelişimleri sırasında psikolojik homeostasis rahatsızlıklarına sebep olduğu belirlenmiştir (Zhou ve ark. 2011). Başka bir çalışmada DBP'nin kadınlarda cinsiyet olgunlaşmasını geciktirebildiği erkeklerde ise sperm kalitesini azalttığı belirlenmiştir (Dobrzynska ve ark. 2011). Zhang ve ark. (2011) yaptığı çalışmada da dibenzil ftalatın (DBzP) östrojenik agonist/antagonist etkisi olduğu bulunmuştur. 2012'de yapılan bir çalışmada DEHP in oksidatif stres yolu ile folikül büyümesini inhibe edici özelliği kanıtlanmıştır (Wang ve ark. 2012). Ayrıca antiandrojenik etkisi de erkek sıçanların cinsel olgunlaşma sürecinde gözlenmiştir (Carbone ve ark. 2013).

Kluwe ve ark. (1982) yaptığı bir çalışmada ftalat esterlerinin (DEHP, BBP, adipat, ftalamit ve ftalik anhidrit bileşikleri) kanserojenik etkilerini sıçanlar ve fareler üzerinde test etmişlerdir. 102-106 hafta boyunca fareler ve sıçanlar test kimyasallarına maruz bırakılmıştır. Test sonunda hayatta kalan hayvanlar üzerinde tümör varlığı araştırılmıştır. Di(2-etilheksil) ftalat (DEHP)'in fareler ve sıçanlarda kanserojenik olduğu düşünülmüştür.

2014 yılında yapılan bir çalışmada DEP'in kadınların üreme sistemindeki östrojenik potansiyeli belirlenmiştir (Kumar ve ark. 2014). Bostonda 1180 hamile bayanda yapılan bir prospektif kohort çalışmasında idrar örneklerinde 9 ftalat metabolitleri tayin edilmiştir. Sonuçlara göre ftalatların bazıları erken doğum riskini önemli ölçüde arttırabilmektedir. Dolayısıyla ftalatlara uzun süre maruz kaldıktan sonra anormal üremeye yol açabilmekte ve özellikle hamile bayanlar ve çocuklarda toksisitenin artması ile birlikte endokrin bozucu kimyasallar olarak düşünülmektedir (Gallart-Ayala ve ark. 2013, Miodovnik ve ark. 2014).

Benson (2009) yaptığı çalışmada düşük mol kütleli ftalatların gözlerde, burunda ve boğazlarda tahriş edici etkisi olduğunu bulmuştur. Hayvanlar üzerine yapılan

çalışmalarda fitalatların akciğer ve böbrek hasarları ile yakından ilişkili olduğu saptanmıştır. Son zamanlarda yüksek derecede DEHP maruziyetinin etkisi üzerine inde yapılan araştırmalarda PVC film imalatı yapan 352 çalışanın %33'ünün günlük DEHP alımı 22,7 µg/kg (ağırlık/gün)'dir (Wang ve ark. 2015). Fakat bu miktar Amerika evre Koruma Ajansının belirttiği 20 µg/kg değerinden çok daha fazladır (US EPA 1981). Bu çalışmaya göre yüksek dozda yoğun olarak DEHP'e maruz kalmak nörotoksik hastalıklar, alerjik semptomlar ve solunum problemleri gibi rahatsızlara sebep olarak sağlığa olumsuz yönde etki etmektedir.

2.2.3 Fitalatlar ile ilgili getirilen kısıtlamalar

Fitalatların tüm bu etkilerinden dolayı gıdalarda ve plastiklerde kullanımı ile ilgili Avrupa Birliği Komisyonları ve Avrupa Gıda Güvenliği Otoriteleri tarafından düzenlemeler yapılmaktadır (EC-CSTEE 1999, EU Commission Directive 2002/72/EC, 2005/84/EC, 2007/19/EC).

rneğe benzer gıda örneklerinin hazırlanması ve kullanımı ile gıdalarla temas eden ambalajlardaki birkaç fitalat için Avrupa Birliğinin belirlediği belirli migrasyon limitleri (SML) bulunmaktadır (EFSA 2005). Örneğin BBP için 30, DEHP için 1,5 ve DBP için 0,3 mg/kg yiyecek tir (EU Commission Directive 2007/19/EC). SML limitlerinin kullanılmaması dışında gıda ürünlerinde limit değer 60 mg/kg olarak uygulanmaktadır (European Union, Commission Regulation (EU) No 10/2011/EC).

Türkiyede de 2004/781/EEC sayılı Komisyon Kararı dikkate alınarak Avrupa Birliği mevzuatına uyum kapsamında 2006 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından Resmi Gazete'de yayımlanan 'Oyuncak ve ocuk Bakım Eşyalarındaki Fitalatlar Hakkında Tebliğ' ile ocuk oyuncaklarında ve ocuk bakım ürünlerinde fitalat kullanımı ile ilgili bazı sınırlamalar getirilmiştir. Bu Tebliğ, üç yaşından küçük çocukların ağızlarına götürebilmesi muhtemel olan ve ağırlığının % 0,1'inden fazlasını bazı fitalatlardan (DINP, DEHP, DnOP, DDP, BBP, DBP) bir veya birkaçının oluşturduğu kısmen ya da tamamen yumuşak PVC'den üretilen oyuncaklar ile ocuk bakım eşyalarını kapsar.

2.3. Fitalatların Analizinde Kullanılan Tayin ve Örnek Hazırlama Metotları

2.3.1. Fitalatların tayin metotları ile ilgili literatür

Genel olarak çeşitli matrislerden fitalatların kantitatif analizlerinde yaygın olarak kromatografik tekniklerden yararlanır. Tüm analitik tekniklerin arasında Kütle Spektrometrisi ile birleştirilmiş Gaz Kromatografisi (GC-MS) veya Tandem MS (GC-MS-MS), MS ile birleştirilmiş Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) veya HPLC-MS-MS teknikleri kullanılmaktadır. Sensörler ve Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi (UV-GB) teknikleri de fitalat analizleri için kullanılmaktadır (Yang ve ark. 2015).

Düşük molekül ağırlığı, kısmen düşük polarite ve fitalatların termal stabilitesi sayesinde MS, MS/MS veya FID ile birleştirilen GC metodları 2010 yılından beri gıdalarda fitalatların tanınması ve kantitatif analizleri için temel araç haline gelmiştir. Bunun ile ilgili literatürde yapılan GC ile fitalat esterlerinin çeşitli matrislerden analizine yönelik çalışmalar aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir (Çizelge 2.3.1.1, 2).

Çizelge 2.3.1.1. Çeşitli gıda matrislerinden farklı ekstraksiyon teknikleri ile fitalatların GC analizlerine yönelik yapılan çalışmalar (Yang ve ark. 2015)

Analitler	Matriks	Örnek Hazırlama Metodu	Dedektör ve Ayırma Kolonu	Enjeksiyon Modu / Sıcaklık	Fırın Sıcaklık Programı	LOD (LOQ)	Referans
DMP, DEP, DBP, BBP, DIOP, DNOP	Şişe sütleri	Ultrasonik destekli dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon	FID KB-1 (30m x 0,25mm x 0,25µm)	Split oranı 10 /290°C	150°C (2 dk) den 285°C ye (25°C / dk; 10 dk)	0,64–0,79 ng/g	Yan ve ark. 2011
DMP, DEP, DIBP, DBP, DAP, DHP, BBP, BBEP, DEHP, DOP vb.	Zeytinyağı	Headspaca katı-faz mikro ekstraksiyon	IT/MS ZB-5 MS (30m x 0,25mm x 0,25 µm)	- /260°C	70°C (2 dk) den 200°C ye (6°C / dk; 5 dk) 295°C ye (4°C / dk; 8 dk)	0,02–0,05 mg/kg	Rios ve ark. 2010
DMP, DBP, DEP, DEHP, DNDP	Yağlı gıdalar	Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon	FID ve MS DB-5 MS (30m x 0,25mm x 0,25 µm)	Splitless / 280°C	40°C den 320°C ye (20°C / dk)	0,4 (1,2) µg/g	Ostrovský ve ark. 2011
DMP, DEP, DBP, BBP, DIBP, DEHP	Şarap	Ultrasonik vorteks destekli dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon	FID ve IT/MS SE-54 MS (30m x 0,25mm x 0,25mm)	Splitless / 110°C den 310°C ye 800°C/dak	100°C den 300°C ye (10°C / dk)	≥0,022 µg/L (≥0,075 µg/L)	Cinelli ve ark. 2013
DMP, DEP, DBP, DAP, DNOP	Soya Sütü	Moleküler Baskılanmış Katı-Faz Ekstraksiyon (MISPE)	MS DB-5 MS (30m x 0,25mm x 0,25µm)	Splitless / -	150°C den 170°C ye (30°C / dk); 300°C ye (40°C / dk; 3 dk)	0,013-0,022 µg/mL	He ve ark. 2010a
DMP, DEP, DBP, BBP, DIBP, DEHP	Hidroalkolik gıda içecekleri	Amberlite XAD-2 absorbanı ile Katı-Faz Ekstraksiyon (SPE)	FID ve IT/MS SE-54 (30mm x 0,25mm x 0,24 µm)	Splitless / PTV	100°C den 300°C ye (10°C / dk)	1,21-2,51 pg/µL (2,42-5,03 pg/µL)	Cinelli ve ark. 2014
DBP, DEHP	Tavuk çorbası	Manyetik mikro katı-faz ekstraksiyon	FID DB-5 (30m x 0,25mm x 0,25µm)	-	-	26,3-36,4 µg/mL	Makkliang ve ark. 2015
DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP, DOP	Sebzeler	Karıştırıcı sorptif ekstraksiyon	MS DB-17 MS (30m x 0,25mm x 0,25µm)	Spitless / PTV	75°C (0,5 dk) 200°C ye (25°C / dk); 275°C (50°C / dk; 5 dk)	15,8-106 pg/g	Cacho ve ark. 2012

Çizelge 2.3.1.1. Çeşitli gıda matrislerinden farklı ekstraksiyon teknikleri ile ftalatların GC analizlerine yönelik yapılan çalışmalar (devam)

DMP, DEP, DCHP, DBP, DNNP, DEHP, DIHP, DBEP, DIBP, DMEP, DPRP, BBP, DPEP vb.	Sebze Suyu	Oyuk fiber –sıvı faz ekstraksiyonu	MS DB-5 MS (30m x 0,25mm x 0,25µm)	Splitless / 250°C	60°C (1 dk) den 220°C ye (20°C / dk, 1 dk); 280°C ye (5°C / dk, 4 dk)	0,0001-0,01 µg/mL	Zhu ve ark. 2013
DMP, DEP, DBP, DIBP, DMEP, DPEP, DNHP, DPHP, DNOP vb.	Yağlı Gıdalar	Dağıtıcı katı faz ekstraksiyonu	MS HP-5 MS (30m x 0,25mm x 0,25µm)	Splitless / 250°C	60°C (1 dk) den 220°C ye (20°C / dk, 1 dk); 280°C ye (5°C / dk, 4 dk)	0,4–0,8 µg/mL	Li ve ark. 2012

Çizelge 2.3.1.2. Sulu sistemlerden farklı ekstraksiyon teknikleri ile fitalatların GC analizlerine yönelik yapılan çalışmalar (LaFleur ve Schug 2011)

Örnek Matrisi	Örnek hazırlama Tekniği	İlgili Bileşikler	Ayırma Tekniği	Ayırma Kolonu	Dedeksiyon	Tayin Sınırı (LOD)	Referanslar
Nehir ve deniz Suları	SPME termal desorpsiyon	DMP, DEP, DBP, DEHP	GC-MS	Çapraz bağlı %5 metilsilikon (HP-5MS 30m x 0,25mm x 0,25µm)	EI - MS	3-30 ng L ⁻¹	Penalver ve ark. 2001
İçme Suyu	Karıştırıcılı sorptif ekstraksiyon	DBP, BBP	(LVI)GC-MS	%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan (TRB-5MS 30m x 0,25mm x 0,25 µm)	EI-Kuadropol	3-40 ng L ⁻¹	Serodio ve Nogueira 2006
Atık Su	Türevlendirilmiş SPE	DMP, DEP, DBP, BBP, BEHP, DOP, BPA	GC-MS	%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan (HP-5MS 30m x 0,25mm x 0,25µm)	EI-Kuadropol	20-400 ng L ⁻¹	Ballesteros ve ark. 2006
Atık Su	SPE ve türevlendirme	NP, Fitalat Esterleri, E1, βE2, E3,	GC-MS	%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan (DB-5HT 15m ve 1m polisiloksan ön kolon)	EI-Manyetik Sektörlü	1,5-172 ng L ⁻¹	Fernandez ve ark. 2007
Atık Su	Karıştırıcılı sorptif ekstraksiyon	Fitalatlar, Alkilfenoller, E1, βE2	GC-MS	%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan (DB-5MS 30m x 0,25mm x 0,5 µm)	EI-MS	2 ng L ⁻¹	Tan ve ark. 2008
Endüstriyel ultra saf su	ATD ile modifiye edilmiş SPE	DEP, DBP, BBP	GC-MS	%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan (DB-5MS 30m x 0,25mm x 0,25 µm)	EI-Kuadropol	36-95 ng L ⁻¹	Liu ve ark. 2008
Çeşme ve içme suları	Sıvı faz mikroekstraksiyon	DMP, DEP, DAP, DnBP, BBP, DCHP, DEHP	GC-MS	%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan (DB-5MS 30m x 0,25mm x 0,25 µm)	EI-Kuadropol	0,02-0,05 µg L ⁻¹	Farahani ve ark. 2008

Çizelge 2.3.1.2. Sulu sistemlerden farklı ekstraksiyon teknikleri ile fitalatların GC analizlerine yönelik yapılan çalışmalar (devam)

Atık Su	Katı faz mikroekstraksiyon	Fitalatlar, Alkilfenoller, BPA	GC-MS	%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan (HP-5 15m x 0,25mm x 0,25 µm)	EI-Kuadropol	3-54 ng L ⁻¹	Sanchez-Avila ve ark. 2009
Atık Su ve Yağmur Suyu	Sıvı-sıvı ekstraksiyon	DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP, DOP	GC-MS	%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan (DB-5 60m x 0,25mm x 0,25 µm)	EI-MS	0,05-0,1 µg L ⁻¹	Clara ve ark. 2010
Saf su ve NaCl sulu ekstrakt	Katı faz mikroekstraksiyon	DMP, DEP, DBP, DAP, DEHP, DnOP, DIDP	GC-FID	%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan (SE-54 25m x 0,32mm)	FID	6-30 ng L ⁻¹	Skoog ve Leary 1996
Atık Su	Sıvı-sıvı ekstraksiyon	DIDP, DMP, DnBP, DnOP	GC-ECD	%5 difenil, %95 dimetilpolisiloksan (HTB-50m x 0,22mm x 0,25 µm ve ön kolon)	ECD	20-30 ng L ⁻¹	Dargnat ve ark. 2009

2.3.2. Fitalatların analizinde kullanılan örnek hazırlama metotları ile ilgili literatür

Çeşitli matrislerden (saç, atık su, toprak, biyolojik sıvılar, gıda vb.) endokrin bozucuların analizleri çoğunlukla analizden önce geniş çaplı örnek hazırlama gerektirir. Örnek matrisinden hedef bileşiklerin ekstraksiyonu ve izolasyonu girişim yapabilecek türlerin varlığıyla zorlaşabilir. Bu sebeple fitalatların tayinine yönelik yüksek seçicilik ve duyarlılıkta örnek hazırlama metotları geliştirmek gereklidir (He ve ark. 2010a). Bu amaçla fitalatların analizi ile ilgili literatürde pek çok örnek hazırlama teknikleri kullanılmıştır.

Tekniklerin büyük çoğunluğunda örnek matrisinden ekstrakte etme ve saflaştırma üzerine çalışılmaktadır. Fitalatların analizinde kullanılan örnek hazırlama metotları, örneğin türüne göre bazı farklılıklar gösterse de genel olarak kullanılan örnek hazırlama basamakları şu ana başlıklar altında toplanabilir:

1. Çözücü kullanılan teknikler; sıvı-sıvı ekstraksiyon ve mikroekstraksiyon, dağıtıcı sıvı-sıvı ekstraksiyon, süper kritik akışkan ekstraksiyonu, Soxhlet ekstraksiyonu,
2. Adsorban kullanılan teknikler; katı faz kolon ekstraksiyonu, katı faz mikroekstraksiyon, batch tipi ekstraksiyon, moleküler baskılanmış katı faz ekstraksiyonu,
3. Çözücüsüz teknikler; termal desorber ve head-space metotları olarak verilebilir.

Yan ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, şişe sularında 6 fitalatın ultrasonik destekli dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon tekniği kullanılarak GC-FID ile analizi gerçekleştirilmiştir. 0,8 mL metanol (dağıtıcı) ve 40 µL CCl₄ (ekstraktant) 8 mL lik süt çözeltilisine ilave edilmiştir. Emülsiyon haline getirilmiş karışım bulanık çözelti formu oluşması için 2 dakika ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Optimum koşullarda analitlerin deriştirme faktörü 220-270 kat aralığında bulunmuştur. Tüm analitler için lineer aralık 0,8-51 ng/g olarak gözlenmiştir. LOD değerleri (S/N=3) 0,64-0,79 ng/g aralığındadır. Güniçi ve günler arası tekrarlanabilirlik değerleri %4 ten daha az bulunmuştur (n=5). Bu metodun fitalat esterlerinin tayininde başarılı bir şekilde uygulandığı rapor edilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada şehir atık sularında 14 endokrin bozucu kimyasalın eser miktarlarının eş zamanlı tayinine yönelik analitik metot geliştirilmiştir. Analizlenen bileşikler; bisfenol-A ve klorlu türevleri, alkilfenoller, DMP, DEP, DBP, BBP, BEHP, DnOP dır. Katı faz ekstraksiyon metodu kullanılarak analitler önderiştirme işlemine tabi tutulmuş ve sonrasında sıvı kromatografik ayırma ve kütle spektrometrik dedeksiyon (LC-MS) ile analizlenmiştir. DEP için dedeksiyon limit değeri 12 ng/L olarak bulunmuştur. İspanyada Granada şehri atık su örneklerinde bu kimyasalların tayini için metot başarılı şekilde uygulandığı ve geri kazanım çalışmaları ile de validasyonu gerçekleştirildiği belirtilmiştir (Zafra-Gómez ve ark. 2008).

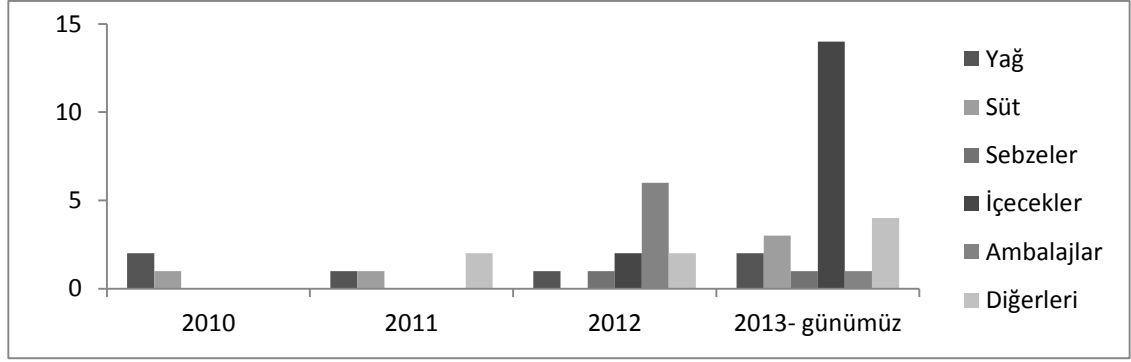
Abb ve ark. (2009)'nın yaptığı çalışmada BBP, DBP, DEHP, DIDP ve DINP bileşiklerinin tayinine yönelik hızlı bir analitik metot geliştirilmesi hedeflenmiştir. Ölçüm cihazı olarak sıvı kromatografi-elektrosprey iyonlaştırma MS/MS (LC-ESI-MS/MS) cihazı kullanılmıştır. İç standart kalibrasyonu ile bulunan tayin limitleri DEHP için 4 mg/kg, DBP için 14 mg/kg dır. Bu çalışma ile tozlar içerisindeki ftalatların toplam miktarı üzerinde halı ve plastik materyallerin ne ölçüde etkili olduğu incelenmiştir. Sonuç olarak ev ortamında da önemli ölçüde ftalatlar görülebildiği bildirilmiştir.

Ostrovsky ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada yağlı gıdalarda ftalatların 80 °C de 20 saat süreyle ftalik asidin bazik ortamda hidrolizine dayanan bir teknikle GC-FID ile analizi gerçekleştirilmiştir. n-Hegzan ile pH=1'de sulu ayırma ürününden lipofilik girişim yapan türlerin seçici ekstraksiyonu yapılmıştır. Ftalik asit su ve kloroformdan oluşan iki fazlı sistemde diazometan ile DMP'ye türevlendirilmiştir. Kloroform fazında absorplanan DMP, GC-FID ile tayin edilmiştir. DMP için LOD değeri 0,4 µg/g, LOQ değeri ise 1,2 µg/g olarak sonuçlanmıştır. Gerçek örnek çalışmasında morina ve ringa balığı, tereyağı, domuz eti, kaz ve ördek yağı, ayçiçeği yağı, kolza ve bezir yağı analiz edilmiştir. Ördek yağında ftalat içeriğine rastlanmazken en yüksek tereyağında detekte edilen değer 12,5 µg/g olarak bulunmuştur. Fakat bu tekniğin temel dezavantajı klor içeren organik ekstraktantlar (CCl₄ ve CHCl₃) çevresel kirlenmeye sebep olabilmektedir. 100°C'den daha düşük sıcaklıklarda sıvı olan özel organik tuzların yeni bir türü olan iyonik sıvılar (IL) çevreci ekstraktantlar DLLME

tekniklerinde kullanılarak alkollü içeceklerden DEHP, DBP, DIBP ve BBP ekstraksiyonu için kullanılmıştır (Fan ve ark. 2014). Kullanılan ekstraktantlarla kıyaslandığında iyonik sıvılar uçucu ve toksik olmamasının yanı sıra geri dönüşebilirlerdir. Fakat yeterli derecede stabil değildir ve bazı metalik katalizörlerle temas ettiğinde çözünmezdir. İyonik sıvıların sentezinde birkaç toksik çözücüye ihtiyaç duyulur. Ayrıca saflaştırma süreci son derece karmaşıktır ve yüksek maliyete sebep olmaktadır. Bu yüzden geniş çaplı uygulamaları kısıtlıdır.

Klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında DLLME tekniğinin basitlik, hızlık ve kesinlik avantajları Rezaee ve ark. (2006) tarafından önerilmiştir. Yapılan bir çalışmada ultrasonik destekli DLLME metodu şişe sütlerindeki 6 ftalatın ekstraksiyonu için uygulanmıştır. Dağıtıcı (dispersif) olarak metanol, ekstraktant olarak CCl₄ kullanılmıştır. Zenginleştirme faktörü 220-270 aralığında bulunmuştur (Yan ve ark. 2011). Bir başka çalışmada ultrasonik-vorteks destekli DLLME olarak ifade edilen teknik, şaraptaki 6 ftalatın ekstraksiyonu için kullanılmıştır (Cinelli ve ark. 2013).

2012 yılı öncesinde birkaç çalışması olmasına rağmen, 2012 yılından sonra literatürde ftalat analizleri ile ilgili hızlı bir artış olmaya başlamıştır. Yağ, süt, içecek ve ambalaj örnekleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Fakat en çok içecekler üzerinde yapılmış çalışmalara rastlamak mümkündür (Şekil 2.3.2). Hemen hemen tüm örneklerde DEHP'nin en yüksek içeriği 2,685 g/kg olarak bulunmuştur. DINP, DNOP, BBP ve diğer ftalatlar yumuşak içeceklerde belirlenmiştir (Self ve Wu 2012, Hsieh ve ark. 2013, Fan ve ark. 2014, Chen ve ark. 2014). Bugünlerde araştırmacılar sularda, sedimentlerde ve hayvansal kaynaklı ürünlerde ftalat analizleri yapmaktadır (Yang ve ark. 2015).



Şekil 2.3.2. Yıllara göre fitalat analizleri yapılan matriks türleri (Yang ve ark. 2015)

2.3.3. Adsorpsiyon tekniği ile örnek hazırlama metotları

Fitalatların zenginleştirilmesi, izolasyonu, arıtımı veya uzaklaştırılması amacıyla geliştirilen adsorbanlar ile yapılan pek çok çalışmaya literatürde rastlamak mümkündür. Ticari gözenekli reçineler, ticari fonksiyonel polimerik reçineler, aktif karbon ve modifiye aktif karbon, çok duvarlı karbon nano tüpler gibi adsorbanlar kullanılmakla birlikte son yıllarda yeni sentezlenen polimerlerle literatür çalışmaları giderek zenginleştirilmekte ve geliştirilmektedir.

Luks-Betlej ve ark. (2001) yaptığı bir çalışmada 6 farklı non-polar ve polar fiberler ile 7 fitalatın su örneklerinden katı faz mikroekstraksiyonu yapılmıştır. GC-MS sistemi ile analizlenmiştir. 7 µm PDMS, 100 µm PDMS, PDMS-DVB, DVB-Karboksen-PDMS, PA ve CW-DVB fiberleri kullanılmıştır. Ekstraksiyon verimi ve tekrarlanabilirliği dikkate alındığında 70-µm Karbowax-divilbenzen fiber DMP ve DnOP fitalat için uygun bulunmuştur. Doğrusal aralık 0,02-10 µg/L olarak belirlenmiştir. LOD değerleri DEP için 0,02, DBP için 0,005, BBP için 0,005, DEHP için 0,04 µg/L şeklinde bulunmuştur. Almanya ve Polonyadan alınan su örneklerinde DEP, DnBP, BBP ve DEHP miktarları 0,02-0,6 µg/L aralığında bulunmuştur. Başka bir katı faz mikroekstraksiyon çalışmasında 6 fitalat ile bir adipat esterinin sulardan ekstraksiyonu ile GC-MS ile analizleri gerçekleştirilmiştir. SPME parametreleri ticari fiberler ile belirlendikten sonra 65-µm polidimetilsiloksan-divilbenzen (PDMS-DVB) fiber seçilerek İspanyanın Tarragona şehrindeki endüstriyel limandan ve Ebro nehrinden alınan su örneklerinin analizinde kullanılmıştır. Çalışmada analizlenen bileşikler; DMP,

DEP, DnBP, BBP, DEHP, BnOP ve DEHA dır. Bileşikler için konsantrasyon aralığı 0,4-3,2 µg/L olarak belirlenmiştir. Gerçek örnek çalışması ile elde edilen doğrusal aralık 0,1-10 µg/L olarak belirlenmiştir. LOD değerleri 3-30 ng/L aralığında bulunmuştur. 1 µg/L lik örnekler için günler arası tekrarlanabilirlik %13, tekrar üretilebilirlik %18'in altında olduğu rapor edilmiştir (Penalver ve ark. 2001).

Jonsson ve Boren (2002) yaptığı bir çalışmada bazı mono ve diesterler ve *o*-fitalik asit bileşiklerinin saf sudan katı faz ekstraksiyonu ile GC-MS analizini gerçekleştirmiştir. Çalışmada polistiren-divilbenzen polimer ile hidrosilat ile modifiye edilmiş polistiren-divilbenzen polimerleri katı faz adsorbanı olarak kullanılmıştır. Analizlenen bileşenler dimetil, monometil, dietil, monoetil, mono(2-etilheksil), monobenzil, butilbenzil, di(2-etilheksil) ve didesil fitalat, fitalik asit ve 3-brombenzoik asittir. Monoesterler ve fitalik asit protonlandığında (pH=0,9) formunu korumaktadır. Bu yüzden asidik suda örnekler hazırlanmıştır. Tüm elüsyon çözücüleri test edildiğinde etil asetat her iki polimer için de yüksek geri kazanım (%61-89) değerlerinden dolayı en uygun çözücü olarak belirlenmiştir. Kompleks matriksteki uygulamalarına örnek olarak kolondan asidik sudaki uçucu yağ asitlerinin (C₂ – C₄) eliminasyonu gerçekleştirilmiştir. Li ve ark. (2004) yaptığı bir çalışmada kaliks[4]aren/hidroksi-sonlandırılmış silikon (C[4]/OH-TSO) yağ kaplı fiber adsorban kullanarak plastiklerdeki plastikleştiricilerden fitalik asit esterlerinin ultrasonik çözücü ekstraksiyonu ile birleştirilmiş katı faz mikroekstraksiyonu ile GC analizleri gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon parametreleri (ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı, iyonik şiddet vb.) ve GC enjeksiyonunun termal desorpsiyon koşulları 8 fitalat için optimize edilmiştir. Kullanılan fiber, test edilen bileşiklere iyi derecede duyarlılık ve seçicilik göstermiştir. LOD değer aralığı 0,006-0,084 µg/L dir. Gerçek örnek çalışmasında kan torbaları, serum şişesi, gıda ambalajlama torbası ve mineral su şişesinde bileşikler analizlenmiş ve tüm örneklerde sadece bis-2-etilheksil fitalat (DEHP) bileşiğine rastlanmıştır. DEHP için geri kazanım değerleri %95,5-101,4 aralığında bulunmuştur. Gaz kromatografisinde farklı bir dedektör kullanarak çevre suyu örneklerinden fitalat esterlerinin eser düzeylerini dedekte etmek amacıyla bir katı faz mikroekstraksiyon metodu geliştirilmiştir. Araştırmacılar tarafından katı faz ekstraksiyon için polianilin sorbent olarak seçilmiştir. Adsorbanın yüksek termal ve mekanik stabilitesini sağlamak için paslanmaz çelik tel

üzerinde elektrokimyasal olarak depolamışlardır. Polianilin filmin poröz yapısı Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ile karakterize edilmiştir. Parametreler optimize edilip SPME-GC prosedürünü değerlendirmek amacıyla 5 fitalat esteri (DMP, DEP, DAP, DBP, DOP) analiz için seçilmiştir. Ayrıca önerilen metot göl ve nehirlerdeki su örneklerinin analizinde de uygulanmıştır. Kontrol deneyleri ticari poliakrilat (PA) fiber kullanılarak yürütülmüştür. Olası ekstraksiyon mekanizması elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) kullanılarak araştırılmıştır. Ticari silika kaplı fiberlere göre polianilin fiberin daha yüksek fiziksel stabiliteye ve kimyasal inertliğe sahip olduğu belirtilmiştir. Geliştirilen bu metodun fitalatların sulu ortamda izlenmesi açısından basit, hızlı ve hassas bir teknik olduğu vurgulanmıştır (Li ve ark. 2006).

Dietil fitalatın (DEP) su fazından aktif karbon ile gideriminin yapıldığı bir çalışmada DEP konsantrasyonu, sulu fazın pH'ı, adsorban miktarı gibi parametrelerin giderim verimine etkisi araştırılmış ve adsorpsiyon kinetiğinin Langmuir ve Freundlich adsorpsiyon izoterm modelleri ile uyum gösterdiği belirtilmiştir. DEP analizlerinde C18 kolona sahip, HPLC kullanılmıştır (Mohan ve ark. 2007). Aktif karbon zenginleştirilmesiyle yapay ter çözeltisine di(2-etilheksil) fitalatın geçişinin GC-MS ile tayinine yönelik başka bir çalışma yapılmıştır. Di(2-etilheksil) fitalatın geri kazanımını etkileyen faktörlerinin etkileşimini ve önemini anlamak ve maksimum geri kazanım için koşulları optimize etmek amacıyla yanıt yüzey metodolojisi (RSM) kullanılmıştır. Yapay tükürüğe ilave edilen analitlerin eş zamanlı tayini için pH (3,1), aktif karbon miktarı (1,4 g/L), adsorpsiyon süresi (55 dk) ve elüsyon çözücüsü (kloroform) gibi analitik koşullar optimize edilmiştir. Farklı çocuk oyuncaklarından yapay tükürüğe DEHP geçişi optimum koşullarda incelenmiştir. Dedeksiyon limiti 13,8 µg/L olup, 100 µg/L lik analit miktarının analizi için yüzde bağıl standart sapma (RSD) değeri %3,7 (n=5) nin altında bulunmuştur (Özer ve Güçer 2012).

Şarap örneklerinden fitalat esterlerinin analizine yönelik katı faz ekstraksiyon metodunun geliştirildiği bir çalışmada şarap örneklerinden ekstrakte edilen 6 fitalat bileşiği GC-MS ile analizleri gerçekleştirilmiştir. DEP, DMP, DEHP için doğrusal aralık 0,015-5 µg/mL (LOQ=0,024 µg/mL) iken, iBP, DBP ve BBP için bu aralık 0,018-5 µg/mL (LOQ= 0,029) olarak belirlenmiştir. Gün içi tekrarlanabilirlik %10-15 RSD,

günler arası tekrarlanabilirlik %13-21 RSD arasındadır. Gerçek örnek çalışmasında marketten alınan beyaz ve kırmızı şaraplar, şarap yapıcılar ve deneme yapılacak bitkiler kullanılmıştır. Tüm örneklerin fitalat içerdiği belirlenmiştir. Ticari şaraplarda ise tüm fitalatlarda daha yüksek dedeksiyon sinyali elde edilmiştir (Carlo ve ark. 2008).

Başka bir çalışmada ise DEP'in adsorptif uzaklaştırma performansı çeşitli adsorbanlar ile değerlendirilmiştir. DEP, işlemler sırasında 228 nm'de UV-GB ile spektrofotometrik olarak takip edilmiştir. Çalışmada aminlenmiş polistiren reçine (NDA-101) ve okside polistiren (NDA-702) reçineleri araştırılmıştır. Karşılaştırma olarak da ticari homojenize polistiren reçine (XAD-4), akrilik ester reçine (Amberlite XAD-7) ve kömür esaslı granül aktif karbon (AC-750) kullanılmıştır. İlgili denge izotermelerinin de Freundlich eşitliği ile uyumlu olduğu ve DEP'in adsorpsiyon kapasitesinin NDA-702 > NDA-101 > AC-750 > XAD-4 > XAD-7 şeklinde olduğu belirtilmiştir (Xu ve ark. 2008). Yapılan bir çalışmada DEHP analizi için membran-filtrasyon zenginleştirme temeline dayanan yeni bir ekstraksiyon metodu önerilmiştir. Naylon bir membran (0,22 mm boşluk büyüklüğü, 50 mm çap) katı-faz desteği olarak seçilmiştir. Vakum altında örnek çözelti membrandan geçirilerek DEHP membran yüzeyine absorbe olmuştur. Daha sonra herhangi bir elüsyon prosesi uygulamadan 275 nm'de Diffüz Reflaktans UV-Spektroskopi yoluyla DEHP miktarı belirlenmiştir. Bu prosesin mekanizmasında DEHP ile membran arasındaki etkileşimler olduğu farzedilmektedir (hidrofobik fonksiyonel grup etkileşimi, hidrojen bağı ve π - π etkileşimleri gibi). Metodun güç yanının çoklu analitlerin eş zamanlı analizlerinde membran seçiminin oldukça zor olduğu vurgulanmıştır (Chen ve ark. 2014).

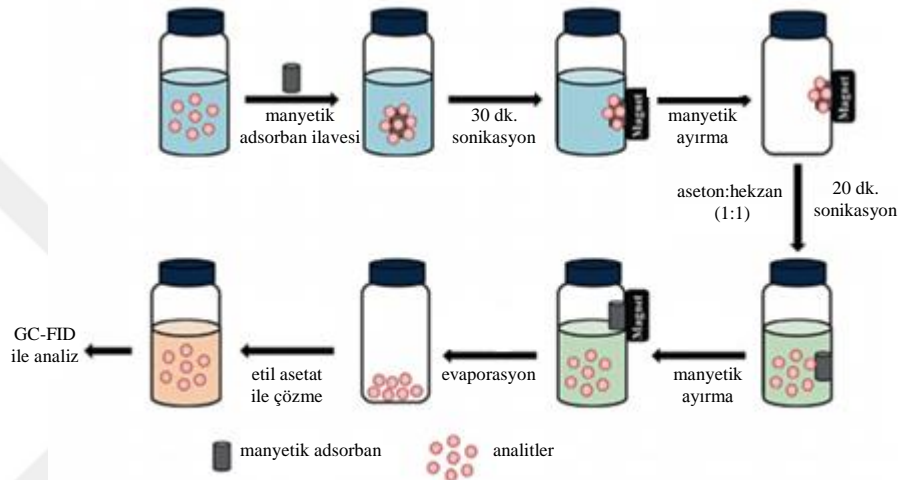
Klasik SPE metodunun modifiye edilmesine dayanan MSPE yöntemi, manyetik nanosorbent kullanılan ve araştırmacılar tarafından örnek hazırlama açısından ilgi çeken bir yöntemdir. Manyetik nanosorbentler, nanopartiküllerin geniş yüzey alanı ve makrogözenek yapısı gibi önemli özelliklere sahiptir. Yapılan bir çalışmada polipirol kaplı Fe₃O₄ manyetik mikroküreler sentezlenerek DMP, DEP, DIBP, DBP, BBP, DEHP ve DNOP analizi için kullanılmıştır (Meng ve ark. 2014). Manyetik mikroküreler kullanılarak sulu ortamdan dietil fitalatın (DEP) uzaklaştırılmasına yönelik yapılan bir çalışmada baryum hekzaferrit içeren (BaFe₁₂O₁₉) manyetik poli(etilen glikol

dimetakrilat-vinil piridin) (mag-poli-(EGDMA-VP)) küreler sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Sulu çözeltilerden DEP'in uzaklaştırılması amacıyla kullanılmıştır. Manyetik küreler; N₂ adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi (BET), titreşimli örnek magnetometresi (VSM), X-ışını toz difraksiyonu (XRD), elementel analiz, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve şişme oranlarının belirlenmesi gibi yöntemlerle karakterize edilmiştir. Katı/çözelti karışım oranlarında, pH, başlangıç konsantrasyonu, etkileşim süresi ve sıcaklık gibi DEP'in adsorpsiyonuna etki eden faktörler optimize edilmiştir. Manyetik küreler üzerinde DEP'in maksimum adsorpsiyon kapasitesi 98,9 mg/g (pH=3, 25°C) dir. Langmuir ve Dubinin-Radushkevich adsorpsiyon izoterm modellerinden her ikisine de uyumlu olduğu belirtilmiştir. Pseudo-birinci-derece, pseudo-ikinci-derece ve partikül içi difüzyon modelleri adsorpsiyon kinetiğinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Termodinamik parametreler adsorpsiyonun ekzotermik koşullarda gerçekleştiğini göstermiştir. 10 ardışık seri reaksiyondan sonra DEP'in adsorpsiyon kapasitesinin değişmediği ve manyetik kürelerin uygulamalarda yararlı olduğu rapor edilmiştir (Osman ve ark. 2012a).

Katı faz ekstraksiyon materyali geliştirilmesi üzerine yapılan bir çalışmada yeni sentezlenen mikrokürelerle yapay tükürük çözeltilerinden fitatların GC-MS ile tayinine yönelik yeni bir metot geliştirilmiştir. Poli (etilenglikol dimetakrilat-N-metakriloil-L-triptofan metil ester) (poli(EGDMA-MATrp)) mikroküreler sentezlenip karakterize edilmiştir. pH, adsorpsiyon süresi ve adsorpsiyon miktarı gibi katı faz ekstraksiyonuna etki eden farklı parametreler merkezi kompozit dizayn (CCD) ile optimize edilmiştir. Yapay tükürük çözeltilerine ilave edilen analitlerin eş zamanlı tayini için en uygun koşullar; pH=6,8'de, adsorpsiyon süresi 90 dakika, adsorban miktarı 1,8 g/L ve elüsyon çözücüsü diklorometan olarak bulunmuştur. Bu koşullarda çeşitli çocuk oyuncaklarından tükürüğe fitatların geçişinin söz konusu olduğu belirlenmiştir (Osman ve ark. 2013).

Fitalat esterlerinin ambalajlı gıdalardan manyetik katı faz mikroekstraksiyonu ile tayinine yönelik yapılan bir çalışmada özgün, basit ve düşük maliyetli bir sorbent geliştirilmiştir. Manyetik çok duvarlı karbon nanotüpler-poli(vinil alkol) kriyojel mikro katı faz ekstraksiyon sorbenti, polivinil alkol kriyojel içerisine manyetik çok duvarlı

karbon nanotüpler ve manyetik partiküllerin birleştirilmesiyle elde edilmiştir. Bu sorbent, gıda ambalajlarından dibutil fitalat (DBP) ve di(2-etilheksil) fitalat (DEHP) bileşiklerinin GC-FID ile analizden önce ekstraksiyonunda kullanılmıştır (Şekil 2.3.3). Gerçek örnek çalışması polipropilen ve yüksek yoğunluklu polietilen ambalajlardaki çorba örnekleri ile yapılmıştır. Plastik ambalajlardaki hazır çorbalardan sıcak su içerisine geçen DBP ve DEHP miktarına bakıldığında tavuk çorbası örneklerinde 0,02-0,07 µg/mL aralığında sadece DEHP bulunmuştur (Makkliang ve ark. 2015).



Şekil 2.3.3. Fitalat esterlerinin adsorpsiyonu ve desorpsiyonu için geliştirilen çok duvarlı karbon tüpler-PVA kriyojel-MSPE prosedürünün şematik gösterimi (Makkliang ve ark. 2015)

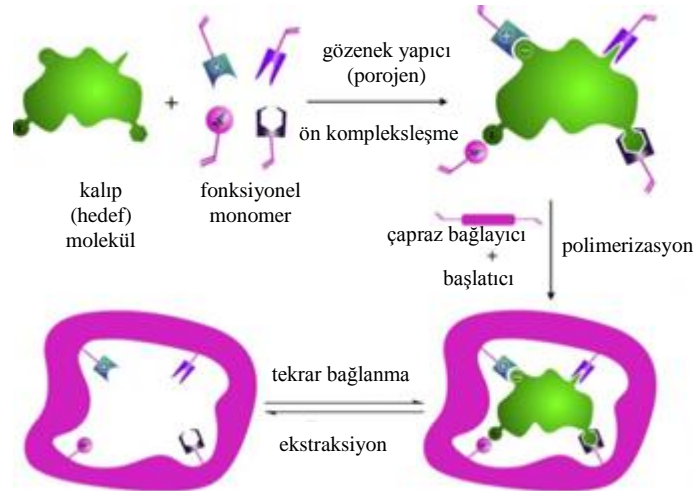
2.4. Moleküler Baskılama Tekniği

Moleküler baskılama fikri Nobel ödülü sahibi olan Linus Pauling'in antibadi oluşumuna ilişkin teorilerinden ilham alınarak ortaya çıkmıştır (Ansell ve ark. 1996, Mosbach ve Ramstrom 1996). Pauling antibadilerin denatüre protein gibi davrandığını, hidrojen bağı içermediğini ve zincirlerinin serbestçe hareket edebildiğini varsaymıştır. Antijen ile karşılaştığında "moleküler tamamlama" adını verdiği olay gerçekleşmekte ve antijenin kimyasal yapısında yer alan fonksiyonel gruplar antibadideki aminoasitler ile etkileşmektedir. Bu sayede antibadi antijenin yapısını hafızasına almaktadır (Pauling 1940). Daha sonra bu hipotezin yanlış olduğu kanıtlanmış fakat serbest halde hareket eden polimer zincirlerinin bir molekül etrafında tamamlayıcı bir şekilde organize olabileceği fikri moleküler baskılama olayı için ilham kaynağı olmuştur.

Doğada gerçekleşen bağışıklık yanıt, ligand-reseptör etkileşimi ve enzim katalizi gibi bir çok biyolojik olaydaki moleküler tanıma olayını temel alan araştırmacılar daha iyi, daha seçici ve hassas analitik çalışmalar yapabilmek için doğada gerçekleşen bu spesifik tanıma olayını sentetik reseptörler hazırlamak için kullanarak “moleküler baskılama” olarak bilinen yeni bir alanın doğmasına neden olmuştur.

Moleküler baskılanmış polimerler (MIP), moleküler tanıma açısından etkili bir yöntem olduğundan örnek hazırlamada, kromatografik ayırmada ve sensör hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. İşaretleme ve arıtım basamakları gerektirmeden çevredeki endokrin bozucuların on-line izlenmesine olanak sağlar ve laboratuvar temelli analitik metotlara etkili bir alternatiftir. Seçiciliğin eksikliği ve analitlerin geri kazanımının düşük olduğu durumlar katı faz ekstraksiyonu ile gözlemlenen en yaygın sorunlardır. Bu sorunları ortadan kaldırmak için moleküler baskılanmış polimerler (MIP) ile katı-faz ekstraksiyon (SPE) birlikte kullanılabilir.

Moleküler baskılama, kalıp molekül etrafında fonksiyonel monomerlerin organize olması ve çapraz bağlayıcı ilavesiyle polimerizasyonun gerçekleştirilmesi sonucunda, şekil ve boyut olarak kalıp moleküle özgü bağlanma bölgeleri içeren yeni bir malzemenin elde edilmesi esasına dayanmaktadır. Moleküler baskılama prosedürü aşağıdaki Şekil 2.4’de gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi (Hu ve ark. 2013)

Moleküler baskılama yöntemi temel olarak üç basamaktan oluşmaktadır:

1.Ön kompleksleşme

2.Polimerizasyon

3.Kalıp (hedef) molekülün uzaklaştırılması

Ön kompleksleşme aşamasında kalıp molekül (küçük bir molekül, biyolojik bir makromolekül ya da bir mikroorganizma) tamamlayıcı fonksiyonel gruplar içeren ve polimerleşebilen bir monomer ile tersinir kovalent bağ(lar), elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri, hidrofobik etkileşimler ya da bir metal ile koordinasyon bağı oluşturmak suretiyle etkileşir. Ön polimerizasyon karışımına (kalıp molekül-monomer kompleksi) bir çapraz bağlayıcı, bir başlatıcı ve analitin spesifik bağlanma bölgelerine kolayca ulaşmasını sağlayacak olan gözenekleri oluşturacak bir gözenek yapıcı (porojen) ilave edilir.

Polimerizasyon aşamasında monomer kalıp kompleksi, kullanılan kalıp molekülün karakteristik özelliklerine de bağlı olarak ısı ya da düşük sıcaklıkta fotokimyasal olarak polimerleştirilir.

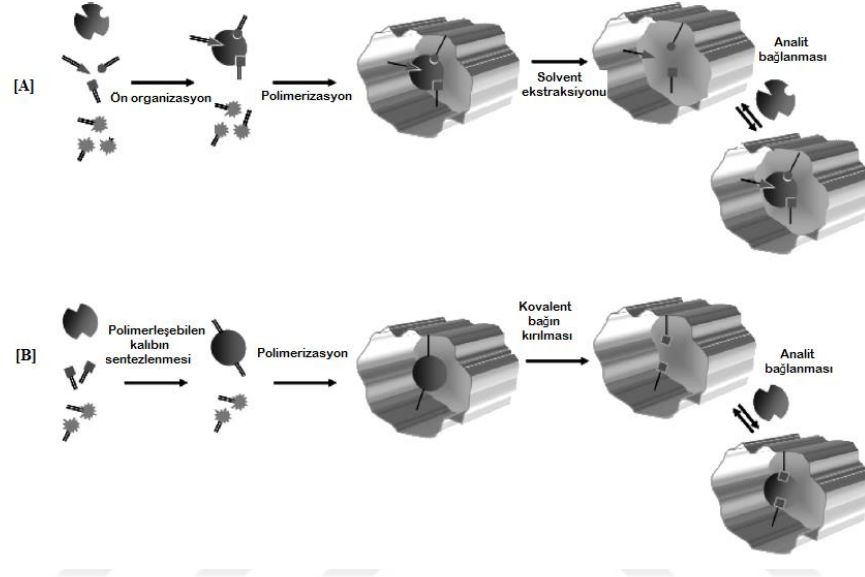
Monomer ve çapraz bağlayıcı molekülleri arasında kimyasal bağların oluşmasından dolayı polimerizasyon gerçekleştirildiğinde kalıp molekül etrafında fonksiyonel monomerlerin pozisyonu sabitlenir. Son aşamada kalıp molekülün uzaklaştırılması ile şekil, boyut ve fonksiyonel grup bakımından kalıp moleküle özgü bağlanma bölgeleri içeren üç boyutlu bir polimerik yapı hazırlanmış oluşur. Diğer bir deyişle baskılanmış molekülün sterik ve kimyasal bilgisi polimer yapısına aktarılır.

Bu teknik basit ve ucuz olup, elde edilen moleküler baskılanmış polimerler yüksek seçicilikte, mükemmel mekanik kuvvette, sıcaklık, asidik ve bazik koşullar ile organik çözücülere dayanıklıdır. Bu yöntem katı faz ekstraksiyonu (Tamayo ve ark. 2007), sıvı kromatografisi (Sellergren 2001), ilaç salınım sistemleri (Cunliffe ve ark. 2005), kapiler elektroforez ve elektrokromatografi (Turiel ve Martin-Esteban 2005), enzim benzeri

kataliz (Hall ve ark. 2005) veya sensör geliştirilmesi (Ye ve Haupt 2004) gibi alanlarda geniş çapta kullanılmaktadır.

2.4.1. Moleküler baskılanmış polimer hazırlamada kullanılan yaklaşımlar

Bugüne kadar moleküler baskılamada geliştirilmiş olan iki farklı yaklaşım kovalent ve kovalent olmayan baskılamadır (Şekil 2.4.1).



Şekil 2.4.1. (a) Kovalent olmayan (b) Kovalent moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi

Kovalent yaklaşım Wulff ve Sarhan (1972) tarafından tanımlanmıştır. Kovalent baskılamada kalıp molekül polimerleşebilen bir fonksiyonel monomere (boronat ester, ketal ve asetal ya da schiff bazları) kovalent olarak bağlanır. Bir çapraz bağlayıcı kullanılarak gerçekleştirilen kopolimerizasyonun ardından kalıp molekül yüksek derecede çapraz bağlı polimer içerisinde kovalent bağı kırmak suretiyle uzaklaştırılır ve kalıp molekülü spesifik olarak tanıyan moleküler boşluklar elde edilir.

Kovalent olmayan baskılama ise Mosbach ve ark. tarafından gerçekleştirilmiş bir yaklaşımdır (Arshady ve Mosbach 1981, Andresson ve ark. 1984). Bu yaklaşımda spesifik bağlanma bölgeleri kalıp molekül ve fonksiyonel monomer arasındaki ön organizasyon ve ardından gelen çapraz bağlanma ile oluşmaktadır. Kalıp molekül gerek ön organizasyon gerekse geri bağlanma sırasında bağlanma bölgelerine hidrojen bağları,

hidrofobik etkileşimler, van der Waals etkileşimleri ve iyonik gruplar arasında gerçekleşen Coulomb etkileşimleri gibi kovalent olmayan etkileşimler ile bağlanmaktadır.

Kovalent olmayan baskılama yönteminin basitliği nedeniyle moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanmasında daha sık kullanılan bir yaklaşım olup kovalent baskılamaya göre birçok avantajı vardır. En önemli üstünlükleri ön kompleksleşmenin kalıp molekül ve fonksiyonel monomeri basitçe karıştırmakla hazırlanabilmesi ve etkileşimin kovalent olmamasından dolayı kalıp molekülün yapıdan kolayca uzaklaştırılabilmesidir. Biyolojik molekülleri de içine alan çok sayıda molekülün fonksiyonel monomerler ile kovalent olmayan etkileşimlere girme kapasitesine sahip olması nedeniyle, kovalent olmayan baskılama çok daha fazla gelecek vaadeden bir yaklaşımdır.

Kovalent olmayan moleküler baskılamada en büyük sınırlama çalışılan moleküle özgü bağlanma koşullarıdır. Çoğu durumda monomer ve kalıp molekül arasında oluşan etkileşim hidrofobiktir ve polar ortam bu etkileşimleri bozar. Diğer sınırlayıcı durum ise etkileşim için birden fazla bölgenin bulunmasına duyulan gereksinimdir. Tek bir etkileşim bölgesine sahip olan moleküller, örneğin sadece bir karbonil grubu, genellikle sınırlı miktarda moleküler tanıma yeteneğine sahip moleküler baskılanmış polimerler elde edilmesine neden olur.

Moleküler tanıma olayı üç boyutlu yapı ve fonksiyonel uyum gibi birçok faktöre bağlıdır. Fonksiyonel tamamlayıcılık dikkate alındığında kalıp molekül ile moleküler bağlanma bölgesi arasında gerçekleşecek moleküler tanıma için tüm kovalent olmayan etkileşimler oluşsa bile oluşan moleküler baskılanmış ürünün kalite ve performansını belirleyen, kalıp molekül, monomerler ve polimerizasyon reaksiyonunun kendisidir. Daha da ötesi moleküler tanıma bölgelerinin sayısı ve kalitesi, monomer ile kalıp arasında oluşan ön kompleksin özellikleri ve oluşum mekanizmasıyla yakından ilişkilidir.

Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanmasında kullanılan kalıp molekül, monomer, çapraz bağlayıcı, çözücü, başlatıcı ve başlama yöntemi ve polimerizasyon yönteminin kendisi hazırlanan polimerin kimyasal, morfolojik ve moleküler tanıma özelliklerini etkilemektedir (Cormack ve Elorza 2004, Yan ve Row 2006).

Kalıp molekül fonksiyonel monomer ile etkileşerek moleküler tanıma bölgelerinin sayısı ve kalitesini etkilediğinden bütün moleküler baskılama yöntemlerinde merkezi bir öneme sahiptir. Birçok nedenden dolayı tüm moleküllerin kalıp olarak kullanılması mümkün değildir. Moleküler baskılanmış polimerler çoğunlukla serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlendiğinden polimerizasyonun gerçekleştirilebilmesi açısından, kalıp moleküller polimerizasyon koşullarında kimyasal olarak inert olmalıdır. Eğer kalıp molekül radikalik reaksiyonlara katılıyorsa ve polimerizasyon koşullarında dayanıklı değil ise alternatif baskılama stratejileri belirlenmelidir.

Bir kalıp molekülde aranan özellikler şöyle sıralanabilir:

- (a) Kalıp molekül polimerleşebilir gruplar taşımamalıdır.
- (b) Kalıp molekülde serbest radikal polimerizasyonunu önleyebilecek ya da yavaşlatabilecek gruplar ya da kalıntılar (tiyol, hidrokinon kalıntıları gibi) bulunmamalıdır.
- (c) Kalıp molekül polimerizasyonun gerçekleştirileceği sıcaklıklarda ya da UV ışığa karşı dayanıklı olmalıdır.

Baskılanacak molekül olarak ilaçlar, amino asitler, karbonhidratlar, proteinler, nükleotid bazlar, hormonlar, pestisidler, koenzimler ve iyonlar kullanılabilir. Baskılanan molekül olarak iyon kullanıldığında polimerik malzemenin seçiciliği, baskılanmış iyonun yüküne, boyutuna, koordinasyon sayısına ve geometrisine bağlıdır.

Fonksiyonel monomerler baskılanmış bağlanma bölgesindeki bağlanma etkileşiminden sorumludur ve genellikle kovalent olmayan baskılama yönteminde kalıp molekül ile monomer arasındaki ön kompleks oluşumunda reaksiyonu kompleks oluşumu yönüne kaydırmak için monomer, kalıp moleküle göre daha fazla miktarda kullanılır. Kompleks oluşumunu ve baskılama etkisini arttırmak için kalıp molekülün fonksiyonelliği ile

monomerin fonksiyonelliği uyumlu olmalıdır. Örneğin biri H-bağı donörü ise diğeri H-bağı akseptörü olmalıdır. Fakat bununla birlikte iki ya da daha fazla monomer aynı anda kullanılarak polimerizasyon gerçekleştirilecekse monomerlerin reaktifliklerinin oranı uygun olmalıdır. Kalıp molekül ile monomer arasında gerçekleşecek olan ön kompleksleşme monomerin elektronik ve sterik yapısını etkileyerek monomerin reaktivitesini değiştirecektir. Farklı kimyasal yapıya ve polariteye sahip fonksiyonel monomerler ticari olarak mevcuttur ya da sentezlenebilmektedir.

Baskılanmış bir polimerde çapraz bağlayıcı polimer matriksin morfolojisinin (jel tipi, makrogözenekli ya da mikrojel toz) belirlenmesi, baskılanmış bağlanma bölgesinin kararlılığının sağlanması ve polimer matrikse mekanik dayanıklılık kazandırılması gibi üç temel görev üstlenir. Kullanılan çapraz bağlayıcı miktarının moleküler tanıma kapasitesine olan etkisi ile ilgili birçok çalışma yapılmasına rağmen olaya polimerizasyon açısından bakıldığında yeterli mekanik dayanıklılığa sahip makro gözenekli malzemeler elde etmek için genellikle yüksek çapraz bağlanma oranları kullanılmakta ve hazırlanan polimerlerde çapraz bağlanma oranları %80'i aşmaktadır. Yüksek oranda çapraz bağlama polimerin çözünmesini önleyerek kolayca kullanılmasını sağlar.

Polimerizasyonda çapraz bağlayıcının reaktifliği ile fonksiyonel monomerin reaktiflikleri uygun olmalıdır. Fonksiyonel monomer ya da çapraz bağlayıcı fazla olursa kopolimerizasyon etkin şekilde gerçekleşmez. Çapraz bağlayıcı ajanın fonksiyonel monomere oranı da önemlidir. Eğer mol oranları çok küçükse, kalıp moleküllerin bağlanma bölgeleri birbirlerine çok yaklaşır, hedef molekülün bağlanma bölgeleri komşu bölgeler tarafından kapatılır ve etkin bir sonuç elde edilemez. Çok büyük mol oranlarında da, çapraz bağlayıcının fonksiyonel monomerlerle ya da kalıp molekülle kovalent olmayan etkileşimlere girmesi sonucu baskılamanın etkinliği yine azalmaktadır.

Moleküler baskılama için yaygın olarak kullanılan birçok çapraz bağlayıcı vardır. Bunlardan çoğu ticari olarak üretilmektedir ve bunlardan çok azı kalıp molekül ile etkileşime girerek fonksiyonel monomer olarak hareket ederler. Organik çözücülerde

moleküler baskılama için etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) ve divinil benzen (DVB), suda ise N,N'-metilen bisakrilamit yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılardır.

Moleküler baskılamada kullanılan çözücü, kullanılan tüm bileşenlerin (kalıp molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı ve başlatıcı) tek faz içerisinde olmasını sağlayan bileşendir. Diğer önemli bir fonksiyonu da makro gözenekli polimerdeki gözeneklerin oluşumudur. Bu nedenle çözücü genellikle porojen olarak da adlandırılır.

Makro gözenekli polimerler hazırlanırken kullanılan gözenek yapıcının özellikleri ve miktarı polimerin morfolojisini ve toplam gözenek hacmini belirleyen en önemli etmendir. Termodinamik açıdan uygun bir gözenek yapıcı kullanıldığında elde edilen polimerler genellikle hem iyi bir gözenek yapısına hem de yüksek bir spesifik yüzey alanına sahip olmaktadır. Kullanılan gözenek yapıcının miktarını arttırmak, gözenek hacmini de arttırmaktadır.

Çözücünün diğer bir rolü ise polimerizasyon reaksiyonu oluşurken sıcaklığı dağıtmasıdır. Aksi takdirde, reaksiyon karışımının sıcaklığı bölgesel olarak çok yüksek olur ve istenmeyen yan reaksiyonlar oluşabilir. Çözücünün seçimi baskılamanın türüne de bağlıdır. Kovalent baskılamada tüm bileşenleri iyi bir şekilde çözdüğü takdirde birçok çözücü kullanılabilir. Kovalent olmayan baskılamada ise kullanılan çözücü kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşimi ve baskılama etkisini arttıracak nitelikte olmalıdır. Toluen gibi apolar, aprotik çözücüler hidrojen bağlarının oluşumunu stabilize ederken, kompleksleşme için hidrofobik etkileşimden yararlanılacaksa su iyi bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır.

Prensip olarak serbest radikal polimerizasyonunu başlatmak için kullanılan tüm başlatma yöntemleri kalıp molekülün varlığında da kullanılabilir. Fakat başlatıcının seçimi kalıp olarak kullanılan molekül için farklı olacaktır. Eğer kalıp molekül fotokimyasal ya da termal olarak kararsız ise uygun başlatıcının seçiminde göz önünde bulundurulmalıdır. Bunun yanı sıra, ön kompleks oluşumunda hidrojen bağları etkin ise

daha düşük polimerizasyon sıcaklıkları tercih edilecektir ve bu durumda da düşük sıcaklıklarda kullanılabilecek fotokimyasal olarak aktif başlatıcılar tercih edilmelidir.

Kalıp molekülün yüksek seçicilikle tanınması ve baskılanmış polimerler tarafından bağlanması, malzemenin fiziksel ve kimyasal (esneklik, bağlanma bölgelerinin sayısı ve malzemenin yapısı gibi) özelliklerine bağlıdır.

Moleküler baskılanmış polimerlerin daha kullanışlı olmaları için, seçiciliğin yanında, uygun koşullar altında desorpsiyon ve geri bağlanma kinetiğinin de hızlı olması gerekir. Bu yüzden moleküler baskılanmış malzemelerin tasarımı yapılırken uygun bağlanma etkileşimlerinin seçimi oldukça önemlidir. Birden fazla bağlanma bölgesinin olması, monomerin bağlanma bölgeleri ile kalıp molekül arasındaki etkileşimlerin daha iyi olması, dolayısıyla moleküler tanımanın daha seçici olmasını sağlar. Moleküler etkileşimlerin farklılığı, seçiciliğin ve tersinirliğin derecesini etkiler. Örneğin, kovalent bağlarla oluşturulan etkileşimler oldukça spesifiktir ancak geri bağlanma kinetiği yavaştır. Bununla beraber, hidrofobik etkileşimlerin kinetiği daha hızlıdır fakat seçiciliğinde azalma gösterir. Genel olarak kovalent olmayan etkileşimler, birçok bileşiğe uygulanabilir olmaları, hızlı kinetiği ve daha uygun koşullarda bağ oluşumu ve kırılması özellikleri göstermeleri nedeniyle daha geniş uygulama alanlarına sahiptir. Dahası, π - π etkileşimleri, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler gibi belirli kovalent olmayan etkileşimler yeni moleküler baskılanmış fonksiyonel polimerlerin tasarımı için gelecek vaad etmektedir (Lu ve ark. 2002).

Moleküler baskılama tekniği, bir kalıp molekülü etrafında fonksiyonel monomerlerin kovalent veya non-kovalent etkileşimlerle düzenlenmesi ve sonrasında uygun bir işlem süreci ile kimyasal fonksiyona sahip katı malzemelerin oluşturulmasını amaçlamaktadır. İşlem sonrasında kalıp molekülün uzaklaştırılması ile yapıda kalıp molekülüne özgü oyuk bölgeler oluşmakta ve ayırma, kimyasal tayin ve kataliz gibi işlemler için ideal bir malzeme elde edilmektedir (Wulff 1995, Mosbach ve Ramstrom 1996, Lu ve ark. 2002). Moleküler baskılama tekniği, kalıp moleküller yoluyla sentetik polimerlerde spesifik tanıma bölgeleri oluşturmaktadır. Baskılanmış polimerle moleküler tanıma, son yıllarda yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (Lu ve ark. 2002, Jiang ve ark. 2007).

Moleküler baskılanmış polimerler (MIP);

1-doğal reseptörlere yakın ölçüde seçicilik ve afiniteleri,

2-doğal moleküllere göre kararlılıklarının yüksek olması,

3-hazırlanmalarının ve birçok farklı uygulamaya uyarlanmalarının kolay olması,

özellikleri nedeniyle yoğun araştırmalara konu olmaktadır (Yan ve Ramstrom 2005).

Çevre, ilaç ve biyoteknoloji alanlarında hızlı ve verimli yeni yöntemlere sürekli ihtiyaç duyulması, araştırıcıları, daha iyi, daha seçici ve duyarlı analitik çalışmaların yapılmasına yöneltmiştir. Moleküler tanıma temeline dayanan ayırma sistemleri arasında "moleküler baskılama" yöntemi ile hazırlanan taşıyıcılar, hedef moleküle olan yüksek seçicilikleri nedeniyle oldukça ümit vaat etmektedirler. Bu bağlamda tez çalışmasında hedef alınan fitalat esterlerinin moleküler baskılama yöntemi ile analizine yönelik yapılan çalışmalar dikkate alınmaktadır.

2.4.2. Fitalatların moleküler baskılanmış polimerler ile analizlerine yönelik literatür çalışmaları

Literatürde fitalatların adsorban olarak moleküler baskılanmış polimerler ile analizlerine yönelik yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bu bağlamda bu tez çalışması ile de yeni bir metot geliştirerek literatüre kazandırmak hedeflenmiştir.

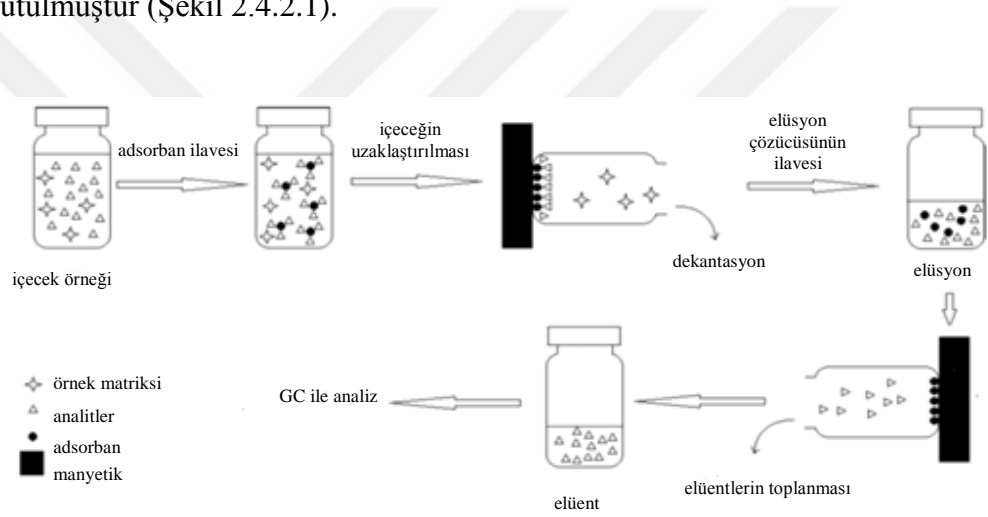
Literatürde fitalatların GC-MS ile tayinine yönelik katı faz mikroekstraksiyon düzeneğinin hazırlandığı bir çalışmada; kalıp molekül; dibutil fitalat (DBP), monomer; metil metakrilat (MMA) ve çapraz bağlayıcı; etilen glikol dimetakrilat (EDMA) kullanılarak bir düzenek hazırlanmış ve direkt örnekleme sistemi ile tayinleri gerçekleştirilmiştir (He ve ark. 2010a).

Farklı bir adsorpsiyon çalışmasında ise; kalıp molekül; dipentil fitalat (DPP), monomer; allil- β -siklodextrin (allyl- β -CD) ve metil metakrilat (MMA) kullanılarak yeni bir moleküler baskılanmış polimer (MIP) sentezlenmiş ve adsorpsiyon kinetikleri aydınlatılmıştır. İlgili MIP ile inek sütünde ultraviyole-görünür bölge spektrofotometresi (UV-GB) ile fitalatların tayini gerçekleştirilmiştir (Yongfeng ve ark.

2012). Plastik şişe içeceklerdeki fitalat esterlerinin analizine yönelik geliştirilen bir katı faz ekstraksiyon işlemi için ise; kalıp molekül; diisononil fitalat (DINP), monomer; akril amid (AM) ve çapraz bağlayıcı; divinil benzen (DVB) kullanılmıştır (Yan ve ark. 2012). Şişelenmiş içme sularında monofitalat esterlerinin sıvı kromatografi ile analizine ilişkin geliştirilen bir katı faz ekstraksiyon kolonu olarak yine bir MIP sentezi gerçekleştirilmiş, kalıp molekül; monobutil fitalat (mBP), monomer; 4-vinilpiridin(4-VP) ve çapraz bağlayıcı; etilen glikol dimetakrilat (EDMA) kullanılmıştır (Qi ve ark. 2011). Nehir sularında di(2-etil heksil) fitalat (DEHP) analizine ilişkin geliştirilen bir MIP sentezinde ise; kalıp molekül; DEHP, monomer; metrakril amid (MA) ve çapraz bağlayıcı; N,N-metilen-bis-akrilamid kullanılmıştır (Shaikh ve ark. 2012).

Fitalatların moleküler baskılama ile analizlerinin yanı sıra “dummy template” adı verilen ve “model kalıp” olarak Türkçe ifade edebileceğimiz özel bir moleküler baskılama tekniği de geliştirilmektedir. Bu yöntemde model kalıbın polimerik yapıda baskılanma işlemi yapıldıktan sonra ortamdan uzaklaştırıldığında o moleküle özgü bağlanma bölgeleri oluşmaktadır. Hedef moleküle özgü bağlanma bölgelerinin oluşmasının yanı sıra o moleküle belirli grupları benzer olan yapılar için de uygun bağlanma bölgeleri oluşmuş olmaktadır. Bu durum sadece hedef molekülün değil eş zamanlı olarak diğer analoglarının da bağlanmasına olanak sağlar. Bunun ile ilgili yapılan çalışmalardan plastik şişeli içeceklerden fitalat esterlerinin eş zamanlı izolasyonu ve tayinine yönelik model kalıp moleküler baskılama ve katı faz ekstraksiyon metodu (DMI-SPE) geliştirilmiştir. DINP model kalıp olarak kullanılarak DEP, BBP, DIOP, DBP, DNOP bileşiklerinin de eş zamanlı tayini hedeflenmiştir. DINP ve akrilamid, toluen ve asetonitrilde çözüldükten sonra divinibenzen ve 2,2-azobisisobutironitril (AIBN) eklenerek çökelme polimerizasyonu 60°C’de 24 saat su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Polimerik partiküller Soxhlet ekstraksiyonu ile metanol:asetik asit (9:1) ile uzaklaştırılmıştır ve vakum altında kurutulmuştur. Elüsyon prosedüründe kuru mikroküreler SPE kolonuna doldurulduktan sonra örnek çözeltiler geçirilmiştir. Her ekstraksiyondan sonra metanol ve su ile kolon şartlandırılmıştır. Etil asetat ile elüe edilen örnekler deriştirilerek GC analizine hazır hale getirilmiştir. Metot valide edildiğinde LOD=0,85-1,38 µg/L, LOQ=2,86-4,60 µg/L, geri kazanım 84,3-96,2, %RSD 5,49 dan daha düşük değerlerde bulunmuştur (Yan ve ark. 2012).

Qiao ve ark. (2014) yaptığı bir çalışmada plastik şişeli içeceklerden fitalatların analizi için yeni bir manyetik moleküler baskılanmış dispersif katı faz ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Model kalıp olarak diizononil fitalat (DINP) molekülü seçilmiştir. Fe₃O₄ magnetit, metakrilik asit (MAA) fonksiyonel monomer, etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) çapraz bağlayıcı, 2,2-azobis(izobutironitril) (AIBN) başlatıcı olarak kullanılarak model kalıbın da ilavesi ile 600 rpm 60°C’de 24 saat karıştırılarak süspansiyon polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyondan sonra oluşan polimerik yapıdan kalıbın uzaklaştırılması için metanol:asetik asit (9:1, v/v) karışımı ile yıkanmıştır. Kalıbın uzaklaştırılmasından sonra 45°C’de vakum altında 24 saat kurutulmuştur (Şekil 2.4.2.1).



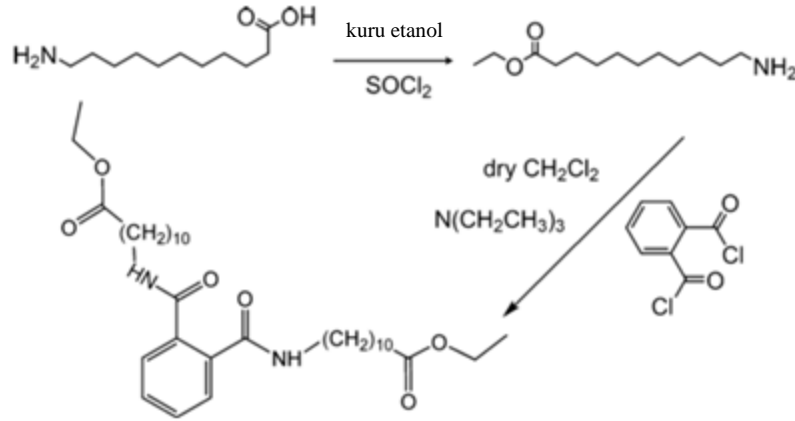
Şekil 2.4.2.1. Manyetik model kalıp moleküler baskılanmış dağıtıcı katı faz ekstraksiyon prosedürü (MAG-MIM-dSPE) (Qiao ve ark. 2014)

Şekil 2.4.2.1’de görüldüğü gibi içecek örnekleri içerisine katı faz materyali (MAG-MIM) ilave edilerek oda sıcaklığında ultrasonik destekle tamamen dağılması sağlanmıştır. Manyetik ayırmayla analit ile birleşmiş polimer ayrılarak sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. Daha sonra elüsyon çözütücüsü (etil asetat/asetik asit) ilave edilerek adsorban üzerinden analitlerin desorpsiyonu gerçekleştirilmiştir. Son olarak elüent azottan geçirilerek örnek GC analizine hazırlanmıştır.

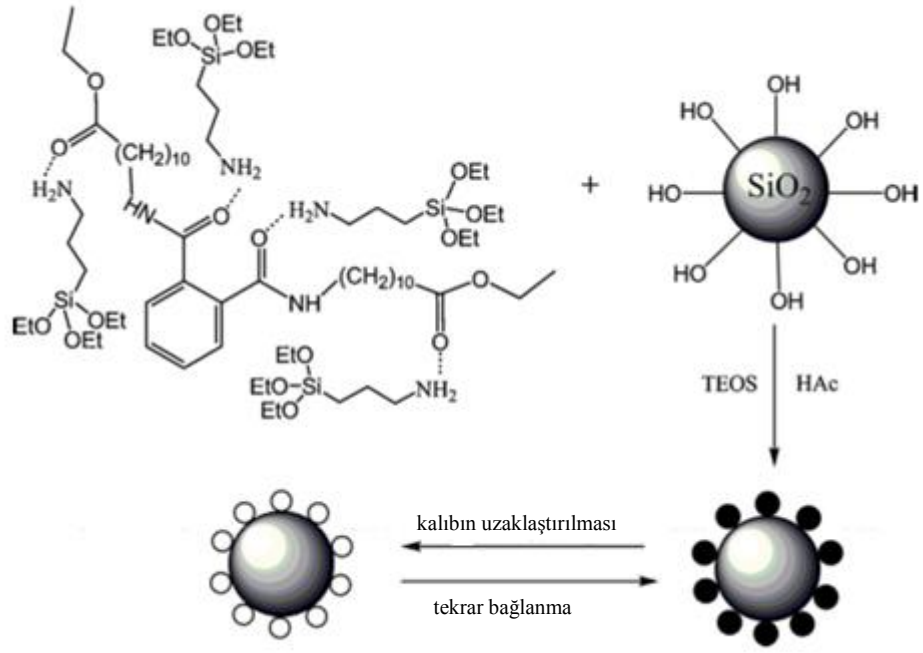
Validasyon parametreleri belirlendiğinde; DEP, DBP, BBP, DIOP, DNOP için LOD değerleri 0,53–1,2 µg/L, LOQ değerleri 1,8-4,0, % geri kazanım değerleri 89,5–101,3,

%RSD değerleri 3,1-6,9 aralığında bulunmuştur. Buna göre model kalıp katı faz ekstraksiyonun yüksek verimliliği, moleküler baskılanmış polimerlerin yüksek seçiciliği ve manyetik partiküllerin hızlı ayırımı ile elde edilen bu teknik başarılı bir şekilde uygulanmıştır (Qiao ve ark. 2014).

Hu ve ark. (2014) yaptığı bir çalışmada da 9 fitalat esterine eş zamanlı seçici tanıma sağlayan, silika jel üzerine model kalıp moleküler baskılanmış polimerler hazırlanmıştır. Fitalat esterlerine benzer yapıya sahip olan dietil N,N'-fitaloil-bis(11-aminoundekanoat) model kalıp olarak kullanılmıştır (Şekil 2.4.2.2). Fitalatlar olarak da DMP, DIBP, fitalik asit bis(2- metoksietil) ester, diamil fitalat (DAP), diheksil fitalat (DHXP), benzil bütül fitalat (BBP), bis(2-etilheksil) fitalat (DEHP), disikloheksil fitalat (DCHP), difenil fitalat (DPP) seçilmiştir. APTES (3-aminopropiltrietoksilan/fonksiyonel monomer) ve TEOS (tetrametoksilan/çapraz bağlayıcı) silika jel partiküllerin yüzeyine film olarak bağlanmıştır. Böylece model kalıp baskılanmış polimerik materyal hazırlanmıştır (Şekil 2.4.2.3).



Şekil 2.4.2.2. Model kalıbın sentezi (dietil N,N'-fitaloil-bis(11-aminoundekanoat)



Şekil 2.4.2.3. Silika jel partikül yüzeyine model kalıp baskılanmış polimerlerin hazırlanmasının şematik gösterimi (Hu ve ark. 2014)

9 fitalat esteri için maksimum statik adsorpsiyon 281 mg/g (DMIP) ve 132 mg/g (NIP) olarak bulunmuştur. Sorbentin baskılanma faktörü diamil fitalat hariç 1,8-3,0 aralığında bulunmuştur. Fitalat esterlerinin GC-MS ile tayininden önce ön arıtım prosedüründe katı faz ekstraksiyon sorbenti olarak model kalıp moleküler baskılanmış polimerler geliştirilmiştir. Geliştirilen metot valide edilmiştir. Gerçek örnek olarak meyve suyu kullanılarak ilave edilen fitalatların geri kazanım değerleri %72-100,2 aralığında bulunmuştur. %RSD değerleri 10,2'den düşüktür. LOD değerleri 0,002-0,01 ng/mL, LOQ değerleri ise 0,007-0,07 ng/mL aralığında bulunmuştur (Hu ve ark. 2014).

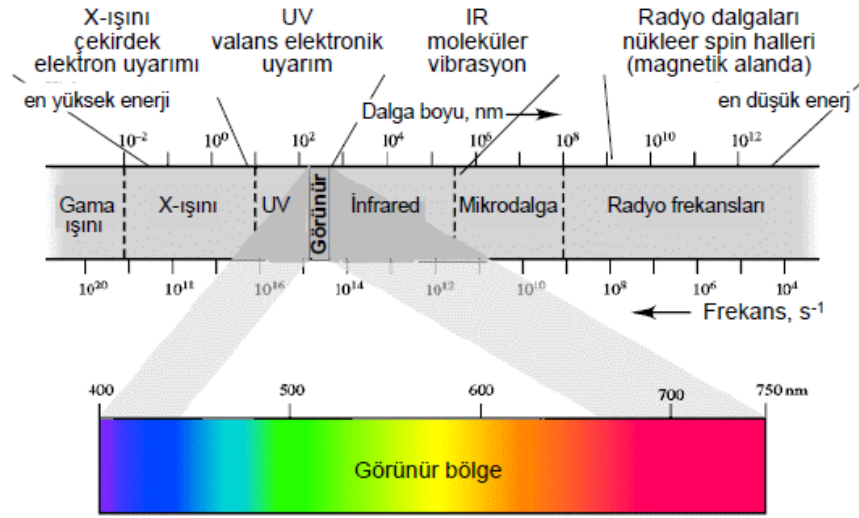
Çizelge 2.4.2. Moleküler baskılanmış polimerler ile fitalat esterlerinin analizleri ve validasyon parametreleri (Narula ve ark. 2014)

Gerçek örnek matriksi	Analitler	Kullanılan Teknik	Polimerizasyon Türü	Kalıp Molekül	Fonksiyonel Monomer	Çapraz Bağlayıcı	LOD ($\mu\text{g mL}^{-1}$) [LOQ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)]	%RSD	%Geri kazanım	Referans
Şişe Suyu	mEP, mBP, mMP, DEP, DBP	MISPE-HLPC	Kütle	mBP	MAA, 4-VP	EGDMA	0,0165 $\mu\text{g mL}^{-1}$	7,8–11,1	61,9–82,8	Qi ve ark. 2011
İnek Sütü	DEP, DBP, DPP, DEHP, DNOP, DMT, DAIP	MISPE-GC-MS	Kütle	DPP	Allil- β -CD ve MAA	Akrilamit	-	-	62,7-93,7	Yongfeng ve ark. 2012
Soya Sütü	DMP, DEP, DBP, DAP, DNOP	MISPE-GC-MS	Kütle	DBP	MAA, AA, MMA, AN, AM	EDMA	0,013–0,022 $\mu\text{g mL}^{-1}$ [0,040–0,056 $\mu\text{g mL}^{-1}$]	1,80–10,08	75,8–107,5	He ve ark. 2010a
Nehir Suyu	DMP, DEP, DBP, DEHP	MIP-SPE-GC-FID	Süspansiyon (su/yağ)	DEHP	Metakrilamit	N,N-metilen-bis-akrilamit	0,011 $\mu\text{g mL}^{-1}$ [0,035 $\mu\text{g mL}^{-1}$]	0,013-1,017 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Günüçi) 1,130-4,799 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Günler arası)	94,1-99,4	Shaikh ve ark.2012
-	DEHP, BBP, DBP	MIM-MIN-HPLC	Çökme	DEHP	MAA	EGDMA, TRIM	-	-	-	Lai ve ark. 2007
Nehir Suyu	DMP, DEP, DBP, DAP, DNOP	MISPE-GC-MS	Süspansiyon	DBP	MMA	EDMA		2,9–7,3	85,2–104,5	He ve ark. 2010b
-	DMP, DEP, DBP	-	Kütle	DMP	Stiren, Divilbenzen	Azoizobütironitril (AIBN)	-	-	-	Wolska ve Bryjak 2012
Baraj Suyu	DMP, DEP, DBP, DAP, DNOP	MIP-SPME-GC/MS	MIP-SPME fiber	DBP	MAA	EDMA	2,17–20,84 ng L^{-1} [0,02–0,34 $\mu\text{g L}^{-1}$]	1,50–5,31	94,54 – 105,34	He ve ark, 2010c

2.5. Çalışmada Kullanılan Analiz Metotları ve Metotlarla ilgili Kuramsal Bilgiler

2.5.1. Ultraviyole – Görünür Bölge (UV-GB) spektroskopisi

Ultraviyole (UV veya Mor Ötesi) ve Görünür Bölgeye (GB) karşılık gelen elektromanyetik ışının enerjisi, maddenin bileşimindeki atomların bağ elektronlarının uyarılmasına neden olur. Bu uyarılma, temel haldeki titreşim ve dönme enerji seviyelerinden uyarılmış haldeki titreşim ve dönme enerji seviyelerine olacak şekilde de gerçekleşir. Ultraviyole bölgesine karşılık gelen elektromanyetik ışının maddenin bileşimindeki atomların bağ elektronlarının uyarılmasına neden olduğundan dolayı *Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi* adı verilir. UV bölgesi; 10-200 nm aralığında uzak Ultraviyole (vakum bölgesi), 200-400 nm aralığında ise Ultraviyole (yakın Ultraviyole) olarak adlandırılır. Görünür bölge de 400-800 nm aralığında yer almaktadır (Şekil 2.5.1).



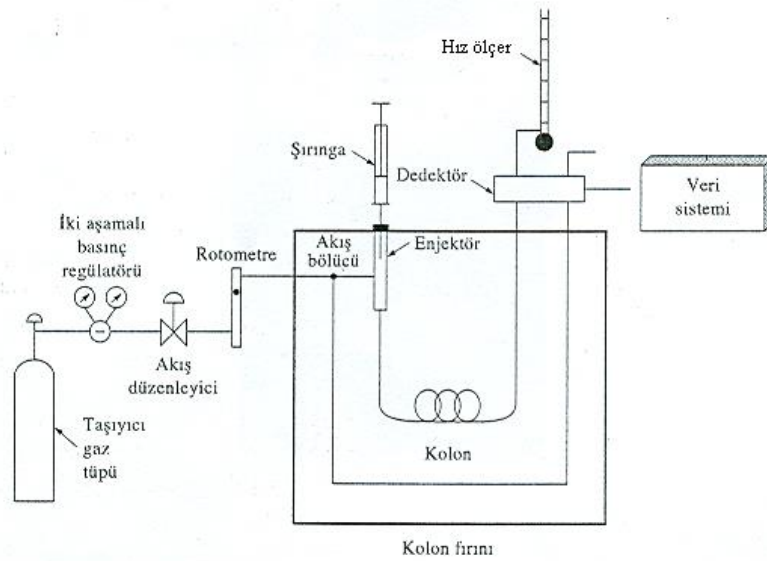
Şekil 2.5.1. Elektromanyetik spektrum

(<http://alpha.chem.umb.edu/chemistry/ch311/evans/UVVIS.ppt#2>)

Ultraviyole veya görünür ışının absorpsiyonu, çoğunlukla bağlı elektronların uyarılmasıyla sonuçlanır; bunun sonucu olarak da, test edilen maddede bulunan bağların tipleri ile ilişkili dalga boylarında absorpsiyon pikleri elde edilir. Absorpsiyon spektroskopisi bu nedenle bir moleküldeki fonksiyonel grupların teşhisinde ve ayrıca, tipik absorpsiyon bandları veren bileşiklerin kantitatif analizlerinde de uygulanabilir.

2.5.2. Gaz kromatografisi (GC)

Hareketli fazın uygun bir gaz, sabit fazın ise katı bir adsorban veya katı bir destek yüzeyine kaplanmış sıvı olduğu kromatografik tekniklere *gaz kromatografisi (GC)* adı verilir. Gaz kromatografisi, bir karışımda gaz halinde bulunan veya kolayca buharlaşabilen türlerin birbirlerinden ayrılmasında ve analizlerinde kullanılır. Dolayısıyla gaz kromatografisi, molekül kütlesi 400'ün üzerinde olan bileşenler için kullanılamaz.

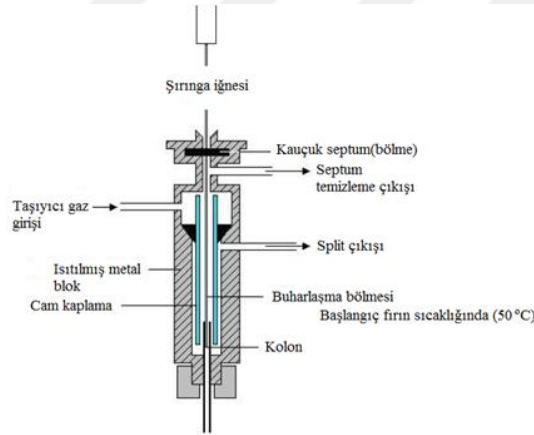


Şekil 2.5.2.1. Gaz kromatografisi cihazının şematik gösterimi (Skoog ve ark. 1998)

Bir gaz kromatografisi cihazı; akış hızı kontrol altında tutulabilen bir taşıyıcı gaz kaynağı, ısıtılabilir bir enjeksiyon girişi (25-500°C), 25-400°C aralığında istenilen sıcaklığa ayarlanabilen bir fırın ve fırın içinde yer alan bir kolon, buhar fazındaki maddeler için uygun bir dedektör ve bir sinyal toplayıcı yani kaydediciden oluşmaktadır (Şekil 2.5.2.1). Gaz kromatografisi analizinde, numuneler analize hazır hale getirildikten sonra bir enjektör yardımıyla kolon girişine verilir. Burası önceden ısıtılmış durumdadır.

Numune burada hemen buharlaşır ve taşıyıcı gaz yardımıyla kolona girer. Numunedeki bileşenler sabit fazla farklı etkileşimleri sonucu farklı hızlarda taşınarak birbirlerinden ayrılırlar. Kolondan çıkan her bileşen kolonun sonunda yer alan uygun bir dedektör yardımıyla algılanıp, miktarlarıyla doğru orantılı olarak kaydedilirler.

Numuneler GC sistemine verilirken, kolon girişinde bulunan bir silikon-plastik diyafram veya bir septum içinden, numune sıvı veya gaz olarak bir mikro-şırınga ile hızla buharlaştırıcı bölme verilir (Şekil 2.5.2.2). Analitik kolonlar için enjeksiyon hacmi 0,1-20 μ L iken kapiler kolonlarda çok daha küçük hacimlerde enjeksiyon yapılır. Bu sistemlerde kolon girişine numunenin çok küçük bir bölümünü yollamak için, bir numune bölücü kullanılır; kolona gönderilmeyen bölüm atılır.



Şekil 2.5.2.2. Enjeksiyon bölgesinin kesiti (Skoog ve ark. 1998)

Ayrırma işleminin gerçekleştiği kısım olan kolonların doğru seçilmesi büyük önem taşımaktadır. Gaz kromatografide, dolgulu ve kapiler (kılcal) kolonlar olmak üzere iki tür kolon kullanılır (Çizelge 2.5.2.1).

Çizelge 2.5.2.1. Dolgulu ve kapiler kolon özellikleri (Skoog ve ark. 1998)

	Dolgulu Kolon	Kapiler kolon
Uzunluk (m)	0,5 – 5	5 – 10
İç çap (mm)	2 - 4	0,1 – 0,7
Akış (mL/dk)	10 – 60	0,5 – 15
Basınç (psi)	10 – 40	3 – 40
Plaka sayısı	4000	250.000
Kapasite	10 mg/pik	100 ng/pik
Film kalınlığı (mm)	1 - 10	0,1 - 8

GC de kullanılabilen pek çok dedektör türü mevcuttur. Bu dedektörlerden en çok tercih edilenleri: alev iyonlaşma dedektörleri (FID), termal iletkenlik dedektörleri (TCD), elektron yakalama dedektörleri (ECD), atomik emisyon dedektörleri (AED) ve alev fotometrik (FPD) dedektörlerdir (Çizelge 2.5.2.2).

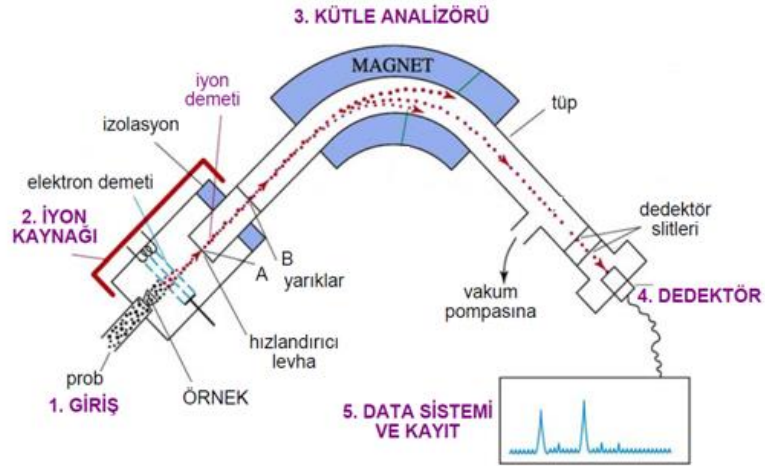
Çizelge 2.5.2.2. Gaz kromatografik dedektörler (Skoog ve ark.1998)

Tipi	Uygulanan Numuneler	Gözlenebilme Sınırı
Alev İyonlaşma	Hidrokarbonlar	0,2 pg/s
Termal İletkenlik	Her tip bileşik	500 pg/mL
Elektron Yakalama	Halojenli bileşikler	5 fg/s
Kütle Spektrometre	Her tür için ayarlanabilir	0,25-100 pg
Termiyonik	Azot ve fosfor bileşikleri	0,1-1 pg/s (P-N)
Elektrolitik İletkenlik	Halojen, kükürt veya azot içeren bileşikler	0,5 pg Cl/s 2 pg S/s 4 pg N/s
Fotoiyonlaşma	UV ışınıyla iyonlaşan bileşikler	2 pg C/s
Fourier Dönüşümlü IR	Organik bileşikler	0,2-40 ng

2.5.3.Kütle spektrometri (MS)

Özel bir düzenek kullanılarak pozitif yüklü parçacıklar meydana getirilmesi, bu parçacıkların m/z (kütle/elektron yükü) oranlarına göre ayrılmaları, belirlenmeleri ve bunlardan yararlanılarak örneğin teşhis edilmesi üzerine kurulmuş olan metotlar topluluğuna kütle spektrometresi denmektedir. Kütle spektrometresi, analiz örneğinin yapısını aydınlatmada UV, IR spektrofotometreleri ve NMR spektrometresinden alınan verilerle bir arada değerlendirildiğinde molekülün parçaları ile molekül ağırlığı hakkında bilgi veren bir yöntemdir.

Kütle spektrometresi yönteminde, atom veya moleküllerden gaz fazında iyonlar oluşturulur ve bu iyonlar kütlelerine göre birbirinden ayrılarak kaydedilir. İyonların bağıl miktarlarının (kütle/yük) oranlarına göre çizilmiş grafiğine **kütle spektrumu** denir. Bir kütle spektrometri cihazının bölümleri Şekil 2.5.3’de verilmiştir.



Şekil 2.5.3. Kütle spektrometri cihazının bölümleri (Wade 2013)

Bir maddenin kütle spektrumunun elde edilebilmesi için bunun önce gaz fazına geçirilmesi ve daha sonra iyonlaştırılması gerekir. Örneğin ve uygulamanın türüne göre çeşitli iyonlaştırma yöntemleri uygulanır (Çizelge 2.5.3.1).

Çizelge 2.5.3.1. Moleküler kütle spektrometri için iyonlaştırıcılar (Skoog ve ark. 1981)

Tipi	Adı ve Kısa Gösterim	İyonlaştırma Yöntemi	Spektrum Tipi
Gaz Fazı	Elektron impakt (EI)	Yüksek enerjili elektronlar	Parçalanmaya bağlı ayrıntılar
	Kimyasal iyonlaştırma (CI)	Gaz halde reaktif iyonlar	Proton katılmaları; az sayıda parçalanma ürünü
Desorpsiyon	Hızlı atom bombardımanı (FAB)	Yüksek enerjili atom demetleri	Moleküler iyonlar
	Matriks yardımcı lazer desorpsiyonu/iyonlaştırma (MALDI)	Yüksek enerjili fotonlar	Moleküler iyonlar ve çok yüklü iyonlar
	Elektrosprey iyonlaştırma (ESI)	Elektrik iyonlaşmış bir oluşturup buharlaştırma	Çok yüklü moleküler iyonlar

İyonlaştırma kaynaklarından iyonlaşarak çıkan iyon demeti, kütle analizörüne gelir ve m/z oranlarına göre ayrılırlar. Analizörler, iyonları m/z oranlarına göre demetlere ayırır ve dedektöre gönderir. Çizelge 2.5.3.2’de Kütle Spektrometrisinde yaygın olarak kullanılan analizörler verilmiştir.

Çizelge 2.5.3.2. Kütle spektrometri için yaygın kütle analizörleri (Skoog ve ark. 1981)

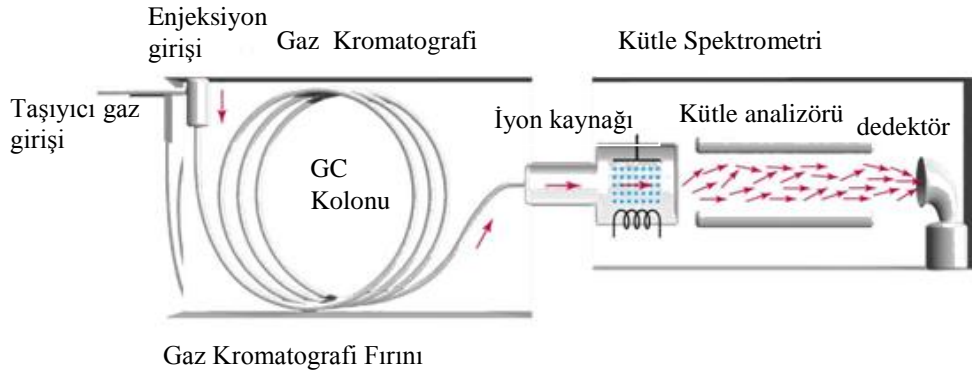
Tipi	Analizin İlkesi
Manyetik sektör	m/z değerine bağlı olan iyonların yörüngesinin manyetik alanda sapması
Çift odaklama	Manyetik alanda sapma sonrası elektrostatik olarak odaklama
Kuadrupol	DC ve radyo frekans alanlarında belirli m/z değerlerindeki iyonların geçmesi
İyon tuzağı	Elektrik alan uygulanan belirli elektrotlarla sınırlanan alanda iyonların depolanması
İyon siklotron rezonans	Bir tuzaklama voltajı ve manyetik alan yardımıyla, iyonların kübik bir hücrede tuzaklanması
Uçuş zamanlı	Kütleyle bağlı olarak eşit kinetik enerjili iyonların, biriktirme tüpüne girerek farklı birikme hızında dedektöre ulaşmaları

Kütle spektrometrisinde, belli koşullarda elde edilen ve parçalanma ürünlerini içeren kütle spektrumu aynı koşullarda elde edilmiş spektrumlarla karşılaştırılarak molekülün nitel analizi yapılır. Kütle spektrumunda ölçülen en şiddetli pik, **temel pik** adını alır ve bu, parçalanma ürünleri içinde en kararlı iyona aittir. Öteki piklerin bağıl şiddetleri bu pike göre hesaplanır. Kütle spektrometrisinde gözlenen piklerin yüksekliği örnekte bulunan maddenin derişimi ile doğru orantılı olduğundan bu yöntem, nicel analiz amacıyla da kullanılır.

2.5.4. Gaz kromatografisinin kütle spektroskopisi ile birleştirilerek kullanımı (GC/MS)

Son yıllarda özellikle bir gaz, sıvı, veya kapiler kromatografik ayırma ünitesi ardına birleştirilmiş kütle spektrometreleriyle hibrit sistemler geliştirilmiştir. Bir GC/MS sisteminde numune, kılcal GC sistemine verilir ve kolondan çıkan gaz karışımı bir kuadrupol kütle spektrometreye girer. İyon kaynağına ulaşan moleküller parçalanıp iyonlaşır; kütlelerine göre ayrılır ve elektron çoğaltıcı sistemde dedekte edilir (Şekil 2.5.4).

GC/MS sistemlerinde, kütle spektrometre, bir kromatografik ayırma süresince ard arda çok sayıda tarama yapar. Bu veriler, veri sistemi tarafından çeşitli şekillerde analizlenebilir.



Şekil 2.5.4. Gaz Kromatografi - Kütle Spektrometri cihazının şematik gösterimi (Wade 2013)

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1 .Gaz kromatografi - kütle spektrometre (GC-MS)

Fitalatların ayırımında ve belirlenmesinde Agilent 7890A model gaz kromatografisi 5975C model Kütle spektrometresi kullanıldı. Cihaza Agilent 7693 model oto örnekleyici ile splitless modda otomatik enjeksiyon yapılmaktadır. Ayırmada kullanılan kolon (30 m uzunluk, 0,25 mm çap) HP-5MS'dir. Cihazda kullanılan fırın programı; 100°C, 2 dk boyunca, 7°C/dk artış hızı ile 280°C'ye ısınma ve 280°C'de 5 dk bekleme şeklindedir. Enjektör sıcaklığı 280°C, detektör sıcaklığı 230°C, enjeksiyon hacmi 1 µL'dir. Taşıyıcı gaz (helyum) akışı 1,394 ml/dk'dır. Selektif iyon modunda çalışıldı. Çizelge 3.1.1'de hedef bileşenlerin alıkonma zamanları ve tayinde kullanılacak iyonlar belirtilmektedir.

Çizelge 3.1.1. Fitalatların ait alıkonma zamanları ve selektif iyon kütle/yük değerleri

İsim	Kısaltma	Alıkonma Zamanı (dk)	m/z
Dimetilfitalat	DMP	12,603	77, 104, 135, 149, 163, 194
Dietilfitalat	DEP	14,829	76, 105, 149, 177, 194, 222
Benzil benzoat	BB (İS)	14,756	51, 65, 77, 91, 105, 167, 194, 212
Di-n-butilfitalat	DBP	20,094	104,149, 205, 223, 278
Benzilbutilfitalat	BBP	24,887	91, 104, 123, 132, 149, 206, 239, 312
Di(2-etil-heksil) fitalat	DEHP	26,996	113, 149, 167, 279
Di-n-oktilfitalat	DnOP	28,963	149, 261, 279, 390

İS: İç Standart

3.1.2. UV-GB spektrofotometresi

Batch tipi adsorpsiyon çalışmalarında absorbands takibi için UV-GB Spektrofotometresi (UV-1700 Shimadzu) kullanıldı. Fitalatların absorbandslarının takibi 239 nm dalga boyunda kuartz (Hellma 100-QS, ışık yolu 10 mm) küvetler ile yapıldı.

3.1.3. Fourier Dönüşümlü İnfrared (FTIR) spektrometre

Elde edilen kürelerin kimyasal yapısı ThermoScientific, Nicolet 6700 model Fourier Dönüşümlü İnfrared (FTIR) Spektrometresi ile incelendi.

3.1.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Hazırlanan materyalin yüzey ve yığın yapıları yüksek büyütme sağlamaları nedeniyle Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü'nde bulunan taramalı elektron mikroskobu CARL ZEISS EVO 40 model ile incelendi. Cihazın çözünürlüğü 3,0 nm 30 kV (SE), 4,5 nm 30 kV (BSD), voltajı 0,2-30 kV, büyütmesi 7-1000000 x , görüntü ise 3072 x 2304 piksel, TIFF, JPEG olarak verilebilir.

3.1.5. X ışını fotoelektron spektrometresi (XPS)

XPS analizleri ile polimerik yüzeyin elementel kompozisyonu araştırılmasında analizler PHI 5000 XPS cihazı ile Al monokromatik anot kullanılarak gerçekleştirildi. Bu işlemler Ortadoğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Merkez Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1.6. pH-metre

pH ölçümlerinde kombine cam elektroda sahip, Hanna Instruments pH 211 marka pH metre kullanıldı. Ölçümler öncesi cihaz pH 4,01, 7,00 ve 9,21 tamponları ile kalibre edilerek kullanıldı.

3.1.7. Karıştırıcı ve ısıtıcılar

Adsorpsiyon sürecinde karıştırma işlemleri Thermo Variomag marka çoklu (15'li) karıştırıcı ve Ika-Werke (RT-15 power) marka çoklu (15'li) magnetik ısıtıcı - karıştırıcı ile gerçekleştirildi. Vücut dışında (in-vitro) yapılan ekstraksiyon işlemleri için inkübatör

sistemli, dairesel çalkalama özelliğine sahip Heildolph (Heildolph Instruments, GmbH & Co.KG, Schwabach, Germany) marka yatay karıştırıcı kullanıldı.

3.1.8. Terazı

Ölçümler sırasında çözelti hazırlama işlemleri için Radwag (AS/220/C/2 model) analitik terazi kullanıldı. Ölçümler $0,0000 \text{ g} \pm 0,0001$ hassasiyetinde gerçekleştirildi.

3.1.9. Saf su cihazı

İşlemler sırasında genel olarak kullanılan saf su cihazı ELGA PURELAB flex marka ultra saf su cihazıdır.

3.1.10. Ultrasonik banyo

Ultrasonik ekstraksiyon ve homojenizasyon işlemleri Wise Clean Ultrasonic WUC-A03H model ultrasonik banyo ile gerçekleştirildi (Germany).

3.1.11. Etüv

Çalışmalardaki kurutma ve inkübasyon işlemleri için Binder Redline 53 model etüv kullanıldı.

3.1.12. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve sarf malzemeler

	Katalog No	Kimyasal adı
Aldrich	364517	L-triptofan metilester hidroklorür ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{HCl}$)
Fluka	64120	Metakriloil klorür ($\text{C}_4\text{H}_5\text{ClO}$)
Merck	8.22333	Hidrokinon ($\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$)
AcrosOrganics	157910010	Trietilamin ($\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$)
Merck	8.18847	Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA)
Merck	8.01595	N,N'-azobisizobütironitril (AIBN)
Riedel-de Haën	24529	Toluen (C_7H_8)
Aldrich	341564	Polivinil alkol (PVA)
Merck	1.00971	Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)
Merck	1.00056	Asetik asit (CH_3COOH)
Merck	8.22323	Dietil fitalat standardı ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_4$)
Merck	1.06018	Metanol (CH_3OH)
Carlo Erba	06203	Sodyum Hidroksit (NaOH)

Merck	303871	Hidroklorik asit (HCl), %37, d=1,19 g/cm ³
Merck	1.06054	Diklorometan (CH ₂ Cl ₂)
Sigma- Aldrich	1.00013	Aseton ((CH ₃) ₂ CO)
Merck	1.02444	Kloroform (CHCl ₃)
Merck	1.10972	Etil asetat (C ₄ H ₈ O ₂)
Merck	1.04371	n-Heksan (C ₆ H ₁₄)
Merck	1.06404	Sodyum klorür (NaCl)
Merck	8.07679	Stiren (C ₈ H ₈)
Merck	8.41025	Vanilik asit (C ₈ H ₈ O ₄)
Merck	109001	Folin – Ciocalteu reaktifi
Dr. Ehrenstorfer GmbH	Fitalat ester mix 1 (2000 ng / µL metanolde) (DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP, DnOP)	
Dr. Ehrenstorfer GmbH	Benzoik asit – benzil ester (5000 ng / µL n-Heksanda) iç standart	
Millipore	APFF02500 cam fiber filtre	
Millipore	Millex HV hidrofilik 0,45 µm'lik PVDF enjektör tipi filtre kartuş	
	Ayset tek kullanımlık şiringalar (5 ve 10 mL'lik)	

3.2. Yöntem

3.2.1. Metakriloil-amidotriptofan Metil Ester (MATrp) Monomerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Metakriloil-amidotriptofan metil ester (MATrp) monomerinin sentezi için 5 g L-triptofan metil ester ve 0,2 g hidrokinon, 100 mL diklorometan (CH₂Cl₂) içerisinde çözüldü. Çözelti 0°C'a soğutuldu. 12,74 g trietilamin bu çözeltiliye ilave edildi. 5 mL metakriloil klorür yavaşça bu çözeltinin üzerine döküldü. Bu reaksiyon karışımı azot atmosferi altında manyetik karıştırıcı ile 2 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Kimyasal reaksiyonun sonunda, reaksiyona girmeyen metakroil klorür % 10'luk NaOH çözeltisi ile ekstrakte edildi. MATrp içeren kısmının çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılarak, kalan katı etanolde çözüldü. Elde edilen MATrp monomeri FTIR ve NMR teknikleri ile karakterize edildi.

3.2.2. Dietil Fitalat (DEP) Baskılanmış Poli(EGDMA-MATrp)] Kürelerin Sentezi ve Karakterizasyonu

DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) kürelerinin hazırlanması için süspansiyon polimerizasyonu tekniği uygulandı. İlk olarak tanıma bölgelerini oluşturmak için EGDMA (çapraz bağlayıcı) ve MATrp (fonksiyonel monomer), AIBN ve polivinil alkolün sırasıyla başlatıcı ve stabilizör olduğu bir sistemde polimerleştirildi. Fonksiyonel monomer ve kalıp molekül 2 saat süreyle muamele edilerek ön kompleks hazırlandı. MATrp ve DEP (kalıp molekül) oranları değiştirerek fitalatlar için en seçici mikrokürelerin hazırlanması amacıyla fonksiyonel monomer, kalıp molekül, çapraz bağlayıcı, başlatıcı ile sentez ortamı hazırlanarak polimerizasyon gerçekleştirildi (Çizelge 3.2.2). Toluen bu sistemde gözenek yapıcı olarak kullanıldı. Sürekli faz 200 mg polivinil alkolün 50 mL saf su içerisinde çözünmesi ile hazırlandı. Ardından MATrp (4 mL) ve AIBN (100 mg) organik faz içerisinde çözüldü. Organik faz sulu fazda dağıtılarak 400 rpm karıştırma hızında polimerizasyon reaktöründe karıştırıldı. Reaktör polimerizasyon sıcaklığı olan 65°C'da 400 rpm karıştırma hızı ile 4 saat, 600 rpm karıştırma hızında ve 85°C'de ise 8 saat süre ile karıştırıldı. Elde edilen küreler reaksiyona girmemiş monomer ve gözenek yapıcının uzaklaştırılması için fazla miktarda etil alkol ve su ile yıkanarak vakum etüvünde 50°C'da kurutuldu. Yıkama işleminden sonra metanol:asetik asit (9:1) karışımı ile mikroküreler tekrar tekrar yıkanarak kalıp molekül DEP yapıdan tamamen uzaklaştırıldı ve böylece fitalatları spesifik olarak tanıyabilecek bağlanma bölgelerini içeren polimerik küreler elde edildi. DEP molekülünün yapıdan tamamen uzaklaşıp uzaklaşmadığı 239 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak absorbans ölçümleri ile takip edildi. Baskılanmamış poli(EGDMA-MATrp) mikroküreler polimerizasyon ortamında kalıp molekül (DEP) olmaksızın aynı yöntem ile hazırlandı.

Tüm sentez ve karakterizasyon işlemleri Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri KUAP(F)-2013/86 nolu proje ile gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2.2. Moleküler baskılanmış polimerlerin sentezinde kullanılan fonksiyonel monomer, kalıp molekül, çapraz bağlayıcı, başlatıcı karışım miktarları

Polimer Formülasyonları	MATrp (mmol)	DEP (mmol)	EGDMA (mmol)	AIBN (mg)
A1	0,46	0,46	25,9	100
A2	0,92	0,92	51,8	100
A3	0,46	0,92	25,9	100
A4	0,92	0,46	51,8	100
A5	0,92	0,23	51,8	100
A6	0,92	0,115	51,8	100
A7	0,92	0,0575	51,8	100
A8	0,92	0,02875	51,8	100
A9	1,38	0,46	25,9	100
A10 (NIP)	0,46	0	25,9	100

3.2.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri

Hazırlanan materyalin yüzey morfolojisinin belirlenmesi amacıyla SEM görüntüleri alınarak karakterizasyonu gerçekleştirildi. Bu amaçla ilk basamakta mikroküreler iletken bir yapıştırıcıyla SEM örnek plakası üzerine tutturuldu. Daha sonra mikrokürelerin yüzeyi vakum altında 200 Å kalınlığında metalik altın ile kaplanarak yüzey iletken hale getirildi. Hazırlanan örnekler SEM örnek yuvasına yerleştirilerek ve fotoğrafları çekildi.

3.2.4. FTIR Analizleri

Polimerik mikroküreler vakum etüvünde 48 saat kurutuldu. FTIR spektrumlarının elde edilmesi amacıyla 2 mg polimer örneği 98 mg KBr ile karıştırılarak, havanda dövülerek ve hidrolik preste 600 kg/cm² basınçta 10 dakika bekletilerek ince bir tablet haline getirildi. Hazırlanan tabletin 4000-500⁻¹ cm dalga sayısı aralığında spektrumu FTIR cihazında alındı.

3.2.5. Sentezlenen Adsorbanlar ile Batch Tipi DEP Adsorpsiyonu ve Seçicilik Çalışmaları

Sentezlenen adsorbanlar ile fitalatların sulu ortamdan uzaklaştırılmasında Batch tipi DEP adsorpsiyonuna yönelik pH, adsorpsiyon kapasitesi ve seçicilik çalışmaları yapıldı.

Adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesinde kullanılmak üzere DEP için kalibrasyon eğrisi elde edilerek doğru denklemi belirlendi. DEP standardı ile hazırlanan 500 mL 500 mg/L stok çözeltiden 100 mL 100 mg/L DEP ara stok çözeltisi hazırlandı. Ara stok çözeltisi kullanılarak uygun seyreltmelerle 1-3-5-10-20-30 mg/L olacak şekilde kalibrasyon çözeltileri hazırlandı. UV-GB Spektrofotometresi ile yapılan absorbans ölçümlerinden sonra Excel programı üzerinde Absorbans – Derişim grafiği çizilerek kalibrasyon eğrisi elde edildi.

Adsorplanan DEP miktarı ;

$$Q = \frac{(C_0 - C)V}{m}$$

eşitliği kullanılarak belirlendi. Eşitlikteki Q(mg/g), kürenin gram başına adsorplanmış DEP miktarıdır. C_0 (mg/L), DEP'in başlangıç derişimi, C(mg/L), adsorpsiyon süreci sonrasında sulu fazda kalan DEP'in derişim değerleridir. V(mL), sulu faz hacmi ve m(g), kullanılan mikroküre kütlesidir.

3.2.5.1. Batch Tipi adsorpsiyon çalışmalarına pH etkisi

Adsorpsiyona pH'nin etkisini incelemek amacıyla pH 2-10 aralığında 50 mL 20 mg/L DEP çözeltileri hazırlandı. Erlenlere aktarılan çözeltilere yaklaşık 0,02 g farklı formülasyondaki adsorbanlar ilave edildi. Çözeltiler manyetik karıştırıcıda 2,5 saat boyunca (25°C, 200 rpm) karıştırıldı. Karıştırma sonrası, çözeltiler filtreden (MilliporeMillex-HV Hydrophilic PVDF 0,45 µm) geçirilerek süzüntüde kalan DEP'in 239 nm dalga boyundaki absorbans değişimleri takip edildi. Excel programı kullanılarak adsorpsiyon kapasitesi (Q) ile pH arası grafikler çizildi.

3.2.5.2. Batch tipi adsorpsiyon çalışmalarında konsantrasyon etkisi

Uygun pH seçiminden sonra (pH 3'te) 500 mL 500 mg/L stok DEP çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltiden 1, 3, 5, 10, 20, 30, 50, 100, 200, 300, 500 mg/L derişimlerinde 50 mL lik DEP çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler erlenlere alınarak yaklaşık 0,02 g farklı formülasyondaki adsorbanlar ilave edildi. Çözeltiler manyetik karıştırıcıda 2,5 saat boyunca (25°C, 200 rpm) karıştırıldı. Karıştırma sonrası, çözeltiler filtreden geçirilerek süzüntüde kalan DEP'in 239 nm dalga boyundaki absorbans değişimleri

takip edildi. Excel programı kullanılarak adsorpsiyon kapasitesi (Q) ile konsantrasyon arası grafikler çizildi.

3.2.5.3. Seçicilik çalışmaları

Sentezlenen adsorbanların DEP'e karşı seçiciliğinin belirlenmesi amacıyla DEP molekülü ile yapısal benzerlik gösteren vanillik asit ve stiren molekülleri kullanıldı. Bu çalışmada DEP (20 mg/L), vanillik asit (20 mg/L) ve stiren (20 mg/L) standart çözeltileri içerisine yaklaşık 0,02 g adsorbanlar ilave edildi. Çözeltiler manyetik karıştırıcıda 2,5 saat boyunca (25°C, 200 rpm) karıştırıldı. Çözeltiler karıştırma sonrası filtreden süzöldükten (0,45 µm) sonra analit derişimleri UV-GB Spektrofotometresi ile ölçüldü. Her bir moleköl için maksimum absorbans yaptığı dalga boyu taraması yapılarak stiren için 247 nm'de ve vanillik asit çözeltisi Folin-Ciocalteu metodu uygulanarak 750 nm'de ölçümler alındı. Baskılanmış ve baskılanmamış adsorbanların seçiciliği, (1-3) formülleri kullanılarak belirlendi.

Dağılma katsayısı (K_d), seçicilik katsayısı (k) ve bağıl seçicilik katsayısı (k') gibi parametreler adsorbanların adsorpsiyon performansını değerlendirmek açısından önemli göstergelerdir. İki fazda çözünen maddenin taşınma ve ayrılma kapasitesini gösteren dağılım katsayısı (K_d), her iki fazdaki bileşenin miktarlarının veya derişimlerinin oranıdır. K_d , aşağıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanır:

$$K_d = \frac{C_b - C_s}{C_s} \times \frac{V}{W} \quad (1)$$

Bu eşitlikte K_d ; dağılım katsayısını (L/g), C_b ; analit çözeltisinin adsorpsiyondan önceki derişimini (mg/L), C_s ; çözeltinin adsorpsiyondan sonraki derişimini (mg/L), V ; adsorpsiyon ortamının hacmini, W ; adsorban kütlesini (g) göstermektedir.

Sonrasında seçicilik katsayısı aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$k = \frac{K_{\text{hedef iyon}}}{K_{\text{yarışmacı iyon}}} \quad (2)$$

$$k' = k_{\text{baskılanmış}} / k_{\text{baskılanmamış}} \quad (3)$$

3.2.6. Hazırlanan Adsorbanın Katı Faz Ekstraksiyon Malzemesi Olarak Kullanımı ve Metot Optimizasyonu

3.2.6.1. Çözücü seçimi

50 mL saf su içerisine 50 µL hacminde 2000 mg/L standart fitalat karışımından eklendi. Yaklaşık olarak 0,02 g adsorban ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda 1,5 saat boyunca (25°C, 200 rpm) karıştırıldı. Karıştırma sonrası adsorban örnekleri cam filtre kâğıdı kullanılarak vakum yardımıyla süzülde ve etüvde (70°C, 20 dk) kurutuldu. Kurutulan filtrelerden adsorbane tutunmuş olan fitalatlar, 5 mL diklorometan ile ultrasonik banyoda 10 dk ekstrakte edilerek organik faza alındı ve enjektör tipi filtrelerden süzülerek (0,45 µm) GC-MS'e enjekte edildi.

3.2.6.2. Uygun adsorban formülasyonunun seçimi

Adsorban formülasyonun seçiminde 50 mL saf su içerisine 50 µL hacminde 2000 mg/L standart fitalat karışımından ilave edildi. Yaklaşık olarak 0,02 g farklı formülasyonlardaki adsorbanlar ayrı ayrı örnekler içerisine ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda 1,5 saat boyunca (25°C, 200 rpm) karıştırıldı. Karıştırma sonrası adsorban örnekleri cam filtre kâğıdı kullanılarak vakum yardımıyla süzülde ve etüvde (70°C, 20 dk) kurutuldu. Kurutulan filtrelerden adsorbane tutunmuş olan fitalatlar, 5 mL diklorometan ile ultrasonik banyoda 10 dk ekstrakte edilerek, organik faza alındı ve enjektör tipi filtrelerden süzülerek (0,45 µm) GC-MS'e enjekte edildi.

MS sistemi üzerinden pik alanları belirlendikten sonra Excel üzerinde tüm adsorbanlara ait sonuçlar çıkarıldı. Fitalatların geri alımı için en uygun adsorban formülasyonu belirlendi.

3.2.6.3. Örnek hacmi ve adsorban miktarı optimizasyonu

Örnek hacmini optimize etmek amacıyla 200 ve 500 mL saf su örnekleri içerisine 50 µL hacminde 2000 mg/L standart fitalat karışımından ilave edildi. Farklı miktarlarda A5

formülasyonuna sahip adsorban ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda 1,5 saat boyunca (25°C, 200 rpm) karıştırıldı. Karıştırma sonrası yapılan deneysel işlemler yukarıda verilen diğer çalışmalardaki gibi gerçekleştirildi. MS sistemi üzerinden pik alanları belirlenip örnek hacmi ile birlikte adsorban miktarının adsorpsiyon kapasitesi üzerine etkisi incelendi.

3.2.6.4. Tuz konsantrasyonu etkisi

Tuz konsantrasyonunun fitalat adsorpsiyona etkisini incelemek amacıyla %0, %1, %3, %5, %7, %10 (m/v) oranında olacak şekilde sodyum klorür (NaCl) tuzu kullanıldı. 200 mL saf su örnekleri içerisine yukarıda belirtilen oranlarda tuz ilave edildikten sonra 50 µL hacminde 2000 mg/L standart fitalat karışımından ilave edildi. Yaklaşık 0,06 g A5 formülasyonuna sahip adsorban ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda 1,5 saat boyunca (25°C, 200 rpm) karıştırıldı. Karıştırma sonrası yapılan deneysel işlemler yukarıda verilen diğer çalışmalardaki gibi gerçekleştirildi. MS sistemi üzerinden pik alanları belirlenip tuz konsantrasyonunun fitalat adsorpsiyonuna etkisi incelendi.

3.2.7. Optimize Edilen Metodun Validasyonu

Optimum adsorpsiyon şartları belirlendikten sonra, bu şartlar altındaki 6 fitalat için belirli kalibrasyon aralığındaki kalibrasyon eğrileri pik alanlarına göre çizildi. Ayrıca metoda ait gözlenebilme sınırları belirlendi. Bu amaçla pik veren en düşük konsantrasyondaki fitalat karışımı 5 kez GC-MS'e enjekte edildi ve pik alanlarının standart sapma değeri, kalibrasyon eğrisinin eğimine bölünüp, 3 ile çarpılarak gözlenebilme sınır değeri (LOD) hesaplandı. Bununla birlikte 5 mg/L konsantrasyondaki standardın gün içi ve günler arası pik alanlarından hesaplanarak tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri saptandı.

3.2.8. Metodun Gerçek Örneklerle Uygulanması

Metodun uygunluğunun araştırılması amacıyla marketten alınan kapalı içme suyu ile çeşme suyu kullanılarak geliştirilen ekstraksiyon metodu uygulandı. Ayrıca fitalatların yapay tükürük çözeltisinden oyuncaklara migrasyonu aynı metot uygulanarak GC-MS ile analizleri gerçekleştirildi.

3.2.8.1. Geliştirilen katı faz ekstraksiyon metodu kullanılarak kapalı içme suyunda GC-MS ile tayini

Gerçek örnek çalışmasında marketten alınan kapalı su ile çeşme suyundaki fitalatların uzaklaştırılarak geliştirilen katı faz ekstraksiyon metodunun uygunluğu araştırıldı. 200 mL su örnekleri içerisine 1 mg/L (50 µL) ve 5 mg/L (250 µL) olacak şekilde 100 mg/L hazırlanan (250 µL, 2000 mg/L SRM) standart fitalat karışımından ilave edildi. A5 formülasyonuna sahip adsorban ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda 1,5 saat boyunca (25°C, 200 rpm) karıştırıldı. Karıştırma sonrası yapılan deneysel işlemler yukarıda verilen diğer çalışmalardaki gibi gerçekleştirildi. GC-MS'e iç standart ve örnek karışımı enjekte edilerek adsorban miktarının adsorpsiyon kapasitesi üzerine etkisi incelendi.

3.2.8.2. Oyuncaklardaki fitalatların yapay tükürük çözeltisine migrasyonu ve geliştirilen katı faz ekstraksiyon metodunun uygulanması

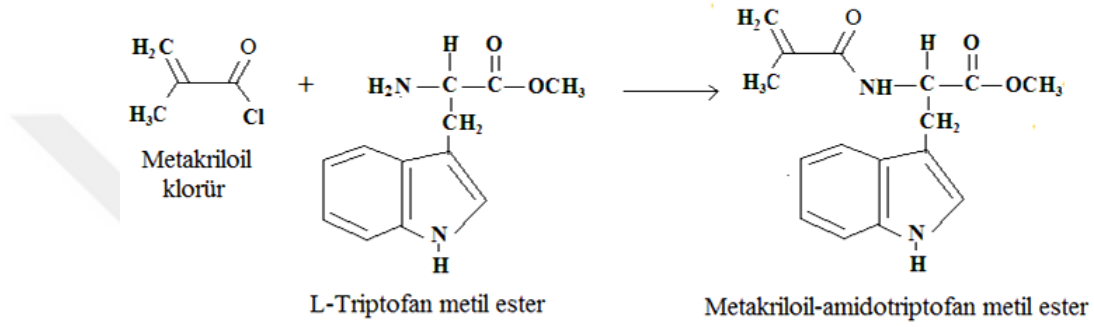
Yüksek miktarda DEHP içeren iki farklı oyuncak örneği yaklaşık 2,2 cm çapında daireler şeklinde kesildi (yüzey alanı yaklaşık 15,2 cm²). Oyuncak örnekleri 200 mL yapay tükürük çözeltisi içeren 250 mL'lik erlenlere konularak yatay karıştırıcılı inkübatörde (40°C, 120 dk, 200 rpm) karıştırıldı. Karıştırma sonrası içerisinden oyuncak örnekleri çıkartılan çözeltiler, oda sıcaklığına (25°C) getirildi (Özer ve Güçer, 2011). İçerisine yaklaşık 0,06 g A5 formülasyonuna sahip adsorban ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda 1,5 saat boyunca (25°C, 200 rpm) karıştırıldı. Karıştırma sonrası yapılan deneysel işlemler yukarıda verilen diğer çalışmalardaki gibi gerçekleştirildi.

Yapay tükürük çözeltisi, Alman Standartlarına (DIN V53610:1994) göre; litresinde 0,17 g MgCl₂.6H₂O, 0,15 g CaCl₂.6H₂O, 0,76 g K₂HPO₄.2H₂O, 0,53 g K₂CO₃, 0,33 g NaCl ve 0,75 g KCl bulunan bir çözeltilerdir. Çözeltinin pH'si %1'lik HCl ile 6,8±0,1'e ayarlanır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. N-Metakriloil-amidotriptofan metil ester (MATrp) Monomerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

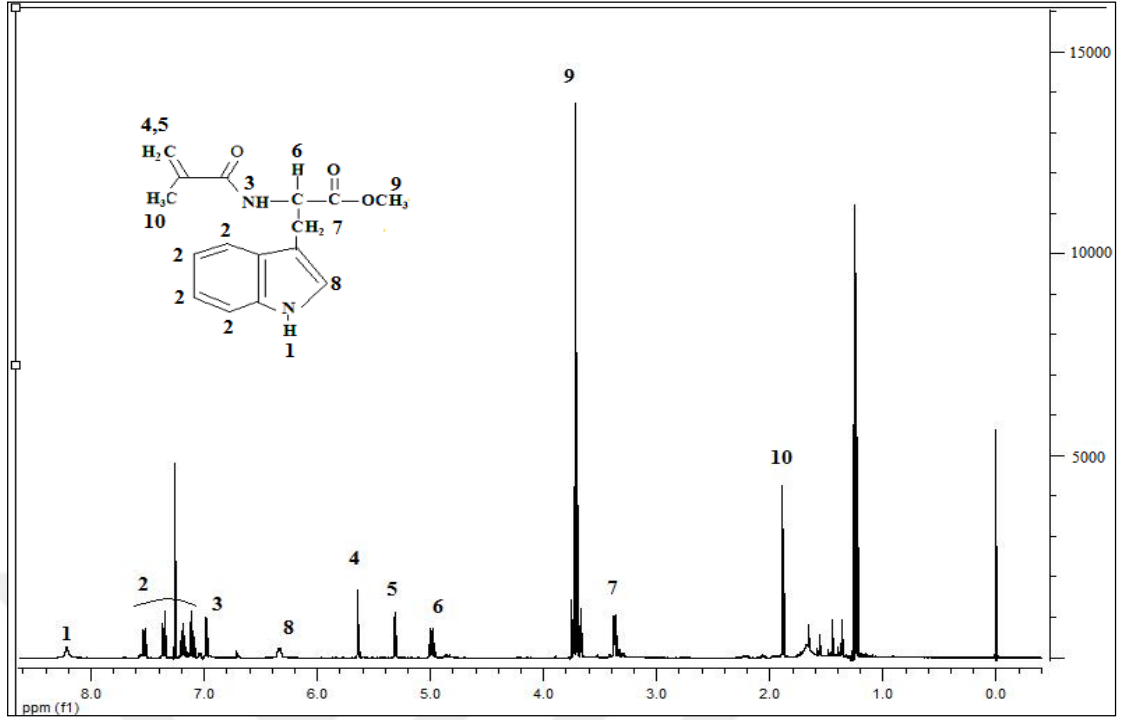
MATrp monomeri, L-triptofan metil esterinin metakriloil klorür ile reaksiyonu sonucu elde edildi (Şekil 4.1.1). Elde edilen monomerin karakterizasyonu NMR ve FT-IR çalışmaları ile yapıldı.



Şekil 4.1.1. MATrp monomerinin sentez reaksiyonu

MATrp monomerinin kimyasal yapısının belirlenebilmesi için ¹H-NMR kullanıldı. Şekil 4.1.2’de MATrp’nin ¹H-NMR spektrumunu göstermektedir.

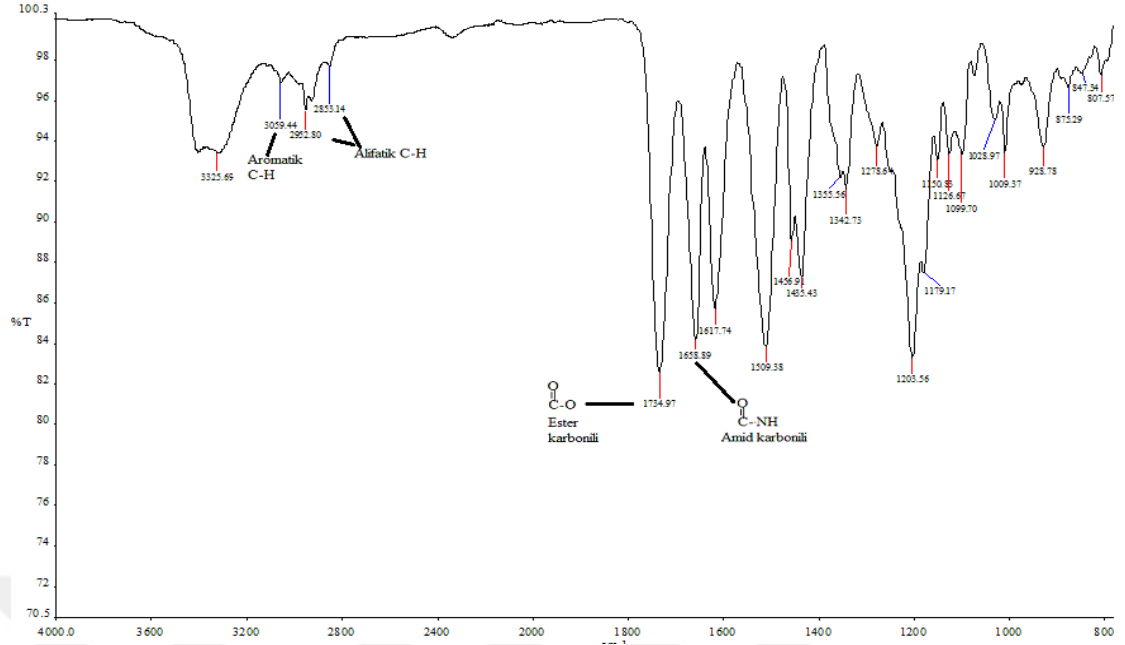
MATrp monomerinin yapısında bulunan ilgili protonlara ait pikler spektrum üzerinde işaretlenmiştir. MATrp monomerine ait karakteristik pikler şunlardır: (1) 8,22 (1H s, br, N-H), (2) 7,54-7,09 (4H aromatikler), (3) 6,98 (1H d, amid NH J=5,58), (4) 5,64 (1H, t CH₂), (5) 5,32 (1H, t, CH₂), (6) 4,99 (1H, m, CH) (7) 3,38(2H, dd, CH₂), (8) 6,34 (1H,d, 5’li halka, J=7,6), (9) 3.71 (3H, s, OCH₃), (10) 1,24 (3H ,t, CH₃), (400 MHz, DMSO-d₆).



Şekil 4.1.2. MATrp monomerinin $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu

MATrp monomerinin yapısının belirlenmesi için FT-IR tekniği de kullanıldı. Şekil 4.1.3’de MATrp monomerinin FT-IR spektrumu verildi.

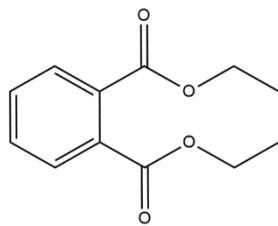
Spektrum üzerinde bileşiğe ait olan karakteristik bandlar gösterildi. $3100\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ aralığında aromatik C-H, 2952 ve 2853 cm^{-1} ’de alifatik C-H gerilmelerinden kaynaklanan absorpsiyon bandları gözlemlendi. 1734 cm^{-1} ’de ester karbonil (C=O) grubuna ait gerilme bandı, 1659 cm^{-1} ’de ise amid karbonil grubuna ait gerilme bandı yer almaktadır. N-H gerilme titreşiminden kaynaklanan absorpsiyon bandı da 3500 cm^{-1} civarında ortaya çıkmıştır.



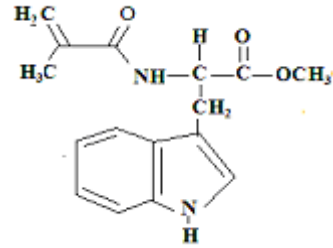
Şekil 4.1.3. MATrp monomerinin FT-IR spektrumu

4.2. Dietil fitalat (DEP) Baskılanmış Poli[(EGDMA-MATrp)] Kürelerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

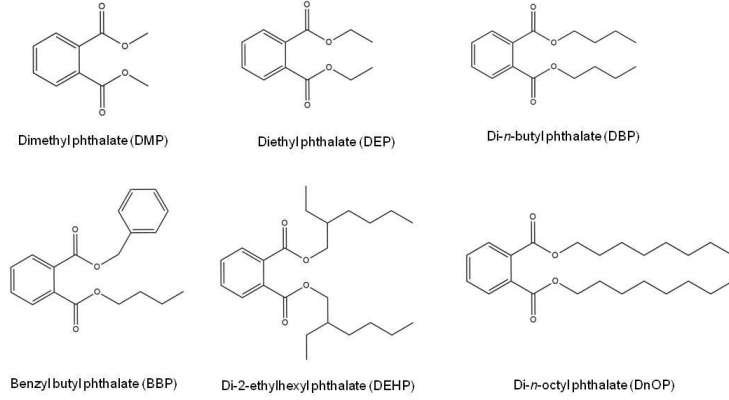
Şekil 4.2.1’de baskılanan molekül olan DEP, polimerizasyonda kullanılan fonksiyonel monomer MATrp ve eş zamanlı olarak seçici tayini yapılan 6 fitalat esterinin kimyasal yapısı verilmiştir.



(a)



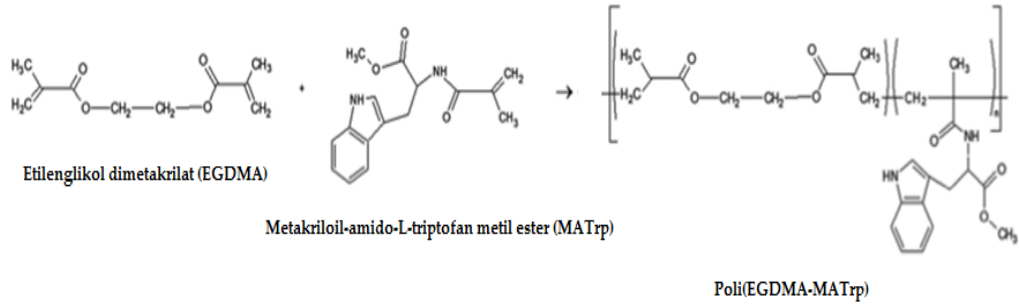
(b)



(c)

Şekil 4.2.1 Kürelerin sentezinde kullanılan yapılar (a) DEP (kalıp molekül) (b) MATrp (fonksiyonel monomer) (c) eş zamanlı olarak seçici tayini yapılan 6 fitalat esterinin kimyasal yapısı

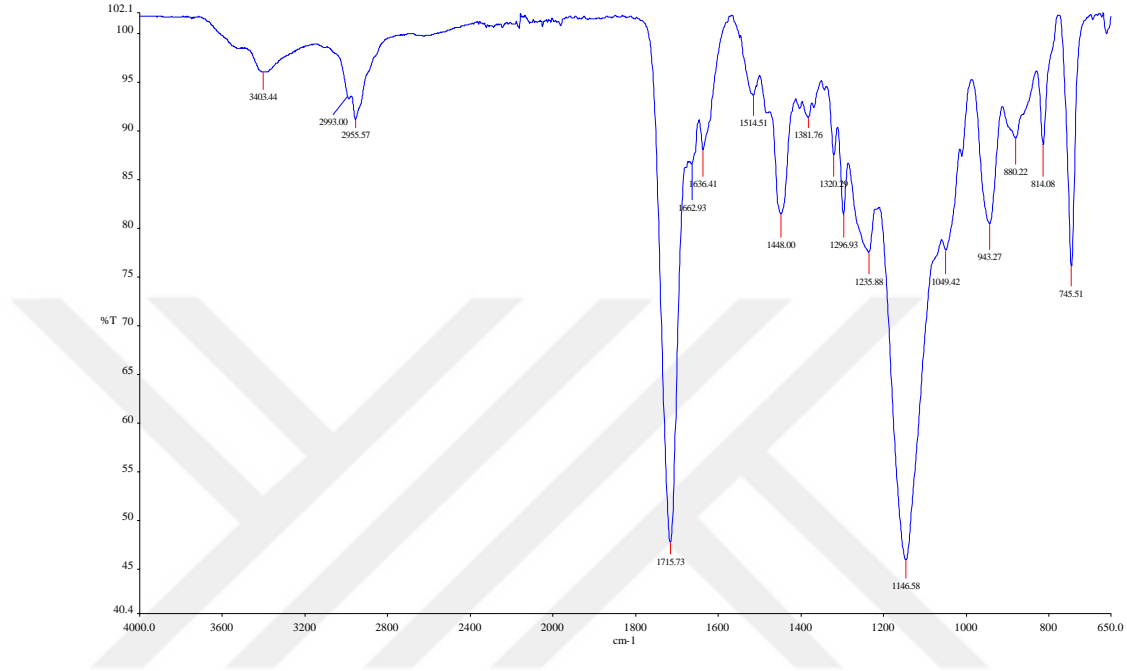
DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) kürelerin mikron boyutunda küresel formun kazandırılabilmesi için süspansiyon polimerizasyonu tekniği ile hazırlandı. Uygun reaksiyon koşullarında etilenglikol dimetakrilat (EGDMA) ile metakriloil-amido-L-triptofan metil ester (MATrp) arasında gerçekleşen reaksiyon Şekil 4.2.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2.2. Poli(EGDMA-MATrp) polimerizasyon şeması (Osman ve ark. 2013b)

Hazırlanan poli(EGDMA-MATrp) kürelerinin karakterizasyonu için ilk olarak FT-IR tekniğinden yararlanıldı. Şekil 4.2.3’te baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) polimerik filme ait FT-IR spektrumu görülmektedir. 1715 cm^{-1} ’de ester karbonil grubu ($\text{C}=\text{O}$) gerilmesine, 1662 cm^{-1} ’de amid karbonil grubu ($\text{C}=\text{O}$) gerilmesine ait absorpsiyon bandları görülmektedir. 3400 cm^{-1} bölgesinde, MATrp monomerinden gelen N-H ve

yapıdaki O-H gruplarından kaynaklanan absorpsiyon bandı beraberce görülmektedir. 2955 cm^{-1} 'de gözlenen absorpsiyon bandı ise polimerik yapı içerisinde tekrar eden alifatik C-H bağlarına ait gerilmelerden kaynaklanmaktadır.



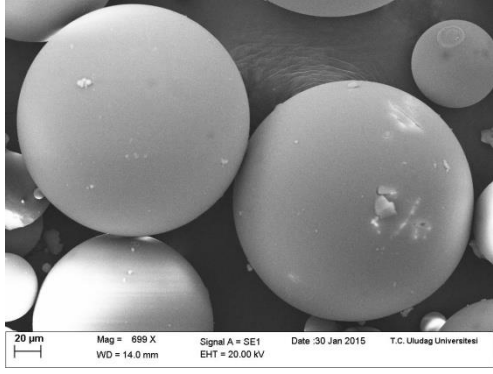
Şekil 4.2.3. DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) filmin FTIR-ATR spektrumu

FT-IR analizleri ile de elde edilen sonuçlar fonksiyonel monomer MATrp'nin başarıyla polimerik yapıya dahil edildiğini göstermektedir.

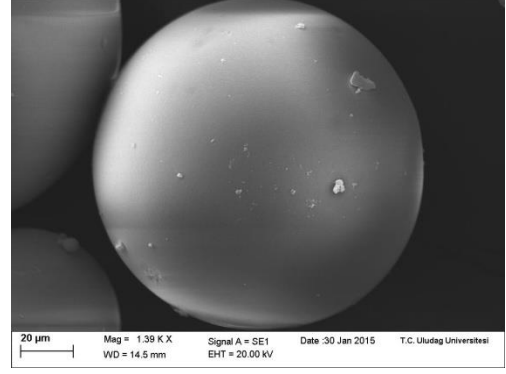
4.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri

Süspansiyon polimerizasyonu tekniği ile sentezlenen DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerin morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelendi (Şekil 4.3.1).

Elde edilen SEM görüntüleri poli(EGDMA-MATrp)'in küresel formda olduğunu açıkça göstermektedir.



(a)

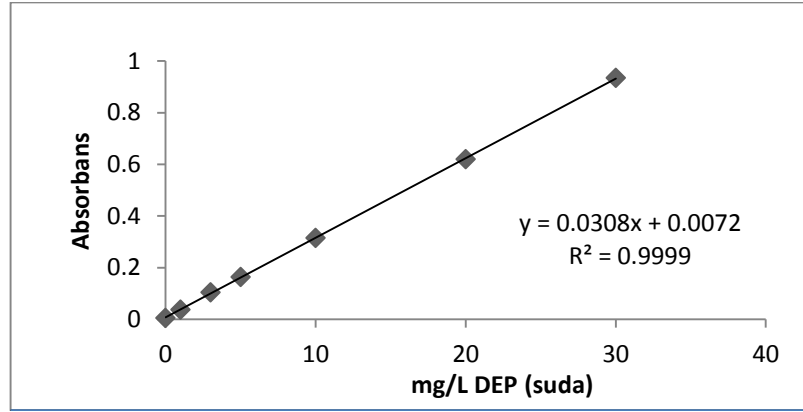


(b)

Şekil 4.3.1. Poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerin SEM görüntüleri (a) 699 X (b) 1390 X

4.4. Sentezlenen Adsorbanlar ile Batch-tipi DEP Adsorpsiyonu ve Seçicilik Çalışmaları

Farklı konsantrasyonlarda (1-30 mg/L) hazırlanan DEP çözeltilerinin $\lambda=239$ nm'de absorbansları ölçüldü. Şekil 4.4'de verilen kalibrasyon eğrisi elde edilerek ilgili hesaplamalarda kullanılmak üzere doğru denklemi belirlendi.

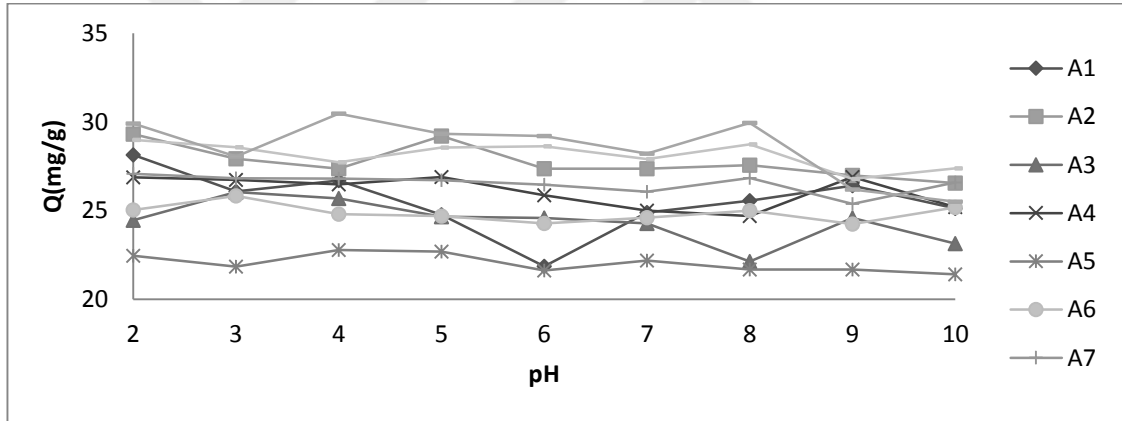


Şekil 4.4. DEP kalibrasyon grafiği ($\lambda=239$ nm)

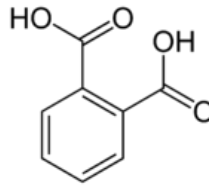
4.4.1. Batch tipi adsorpsiyon çalışmalarına pH etkisi

Farklı formülasyonlarda poli(EGDMA-MATrp) mikroküreler üzerine DEP adsorpsiyonu, hidrofobik etkileşimler ve DEP yapısında yer alan aromatik halkadaki π elektronları ile MATrp monomerinin yapısında yer alan indol halkasındaki π elektronları arasında gerçekleşen π - π etkileşimleri ile sağlanır. Benzer şekilde poli(EGDMA-MATrp) mikroküreler ile DMP molekülü arasında gerçekleşen etkileşimler literatürde verilmektedir (Osman ve ark. 2013).

DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerinin DEP adsorpsiyon kapasitesine pH etkisini incelemek için pH 2-10 aralığında çalışıldı. Adsorpsiyon kapasitesinin genel olarak pH'ye bağlı değişim göstermediği tespit edildi (Şekil 4.4.1.1).

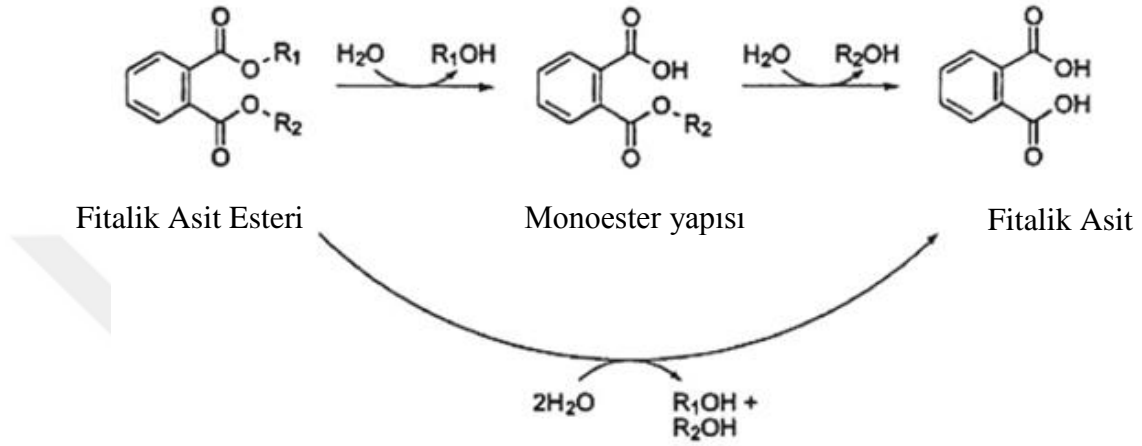


Şekil 4.4.1.1. DEP adsorpsiyonuna çözelti pH'sinin etkisi (50 mL 20 mg/L DEP; 0,02 g adsorban ilavesi, 2,5 saat karıştırma, 25°C)



Şekil 4.4.1.2. Fitalik asitin molekül yapısı (pK_{a1} :2,89, pK_{a2} :5,51)

Çalışılan pH aralığında MATrp molekülü iyonlaşabilir gruplar içermemektedir. Ancak DEP esterinin özellikle yüksek ve düşük pH'lerde hidroliz olasılığı düşünülerek oluşabilecek monoester türlerinin de moleküler formda kalması hedeflendi (Şekil 4.4.1.3). Ayrıca fitalik asitin pK_a değerleri de dikkate alınarak (Şekil 4.4.1.2) pH 3 ortamında çalışıldı.

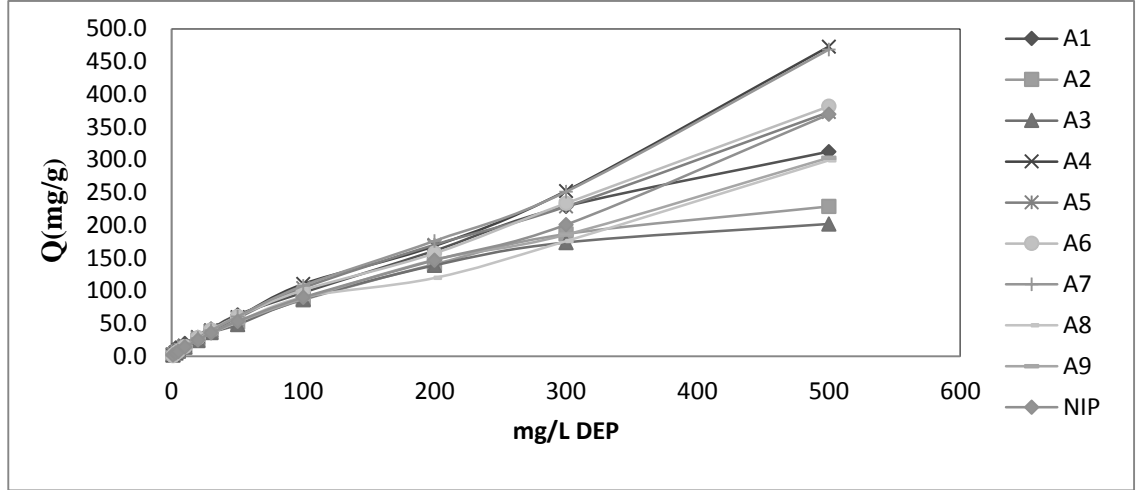


Şekil 4.4.1.3. Hidroliz reaksiyonları sonucu fitalatların olası yapıları (Staples ve ark. 1997, Mersiowsky ve ark. 1999, Schwarzbauer ve ark. 2006, Shibata ve ark. 2007)

Fitalat esterleri iki hidrolitik basamaktan oluşabilmektedir. Öncelikle diester yapısı hidroliz ile monoester yapısına dönüşür ve bir alkol ayrılır. İkinci hidroliz basamağında fitalik asit ve ikinci alkol yapısı oluşur (Şekil 4.4.1.3).

4.4.2. Batch tipi adsorpsiyon çalışmalarında konsantrasyon etkisi

Adsorpsiyon ortamındaki DEP derişiminin adsorpsiyon kapasitesine etkisini incelemek amacıyla pH 3'te 1-500 mg/L DEP derişim aralığında adsorpsiyon işlemleri gerçekleştirildi. Yapılan deneyler sonucunda artan DEP derişimi ile adsorpsiyon kapasitesinin arttığı gözlemlendi (Şekil 4.4.2). Maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip MIP formülasyonları A4 (472,8 mg/g) ve A7 (468,2 mg/g) olarak bulundu.



Şekil 4.4.2. Adsorpsiyona DEP derişiminin etkisi (50 mL örnek; pH=3, 0,02 g adsorban, 2,5 saat, 25°C)

4.4.3. Seçicilik çalışmaları

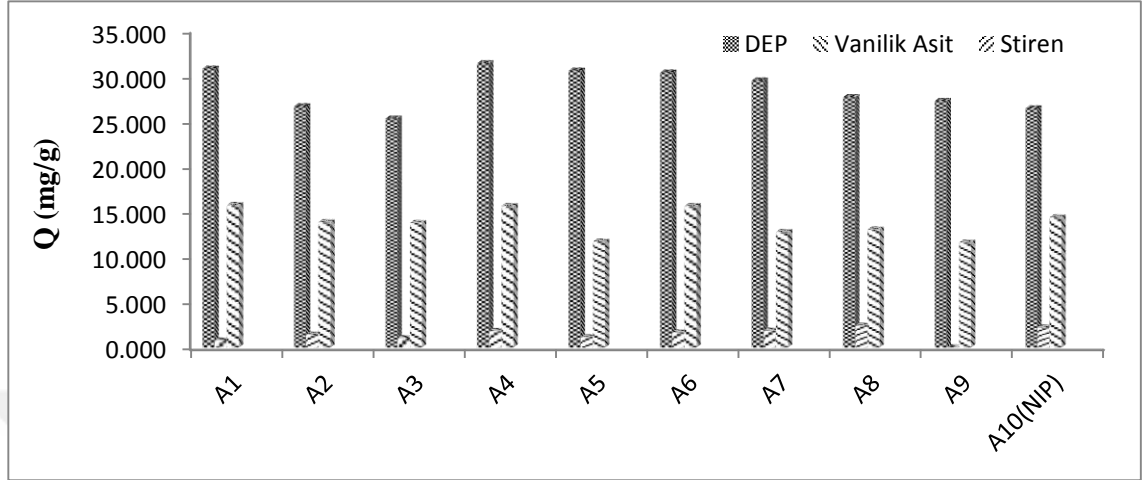
Moleküler baskılama tekniğinin önemli parametrelerinden biri seçicilik çalışmalarıdır. Bu sebeple DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerin DEP'e karşı seçiciliğini belirlemek amacıyla yapısal olarak DEP molekülü ile benzerlik gösteren vanilik asit ve stiren molekülleri kullanıldı (Şekil 4.4.3.1). DEP baskılanmış ve baskılanmamış poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerin baskılama seçiciliği belirlendi (Şekil 4.4.3.).



Şekil 4.4.3.1. Seçicilik çalışması için kullanılan moleküller

Tüm adsorban formülasyonları için DEP daha yüksek bir Q (kapasite) gösterdi. Formülasyonlar arasında en yüksek DEP adsorpsiyon kapasitesi A4 ve A5 formülasyonlarında görüldü. NIP adsorbanında da adsorpsiyon kapasitesi diğerlerine göre kısmen daha düşük bulundu (Şekil 4.4.3.2). Elde edilen verilere göre seçicilik molekülleri DEP ile yapısal benzerlik göstermesine rağmen DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerin sadece DEP'e önemli ölçüde seçicilik gösterdiği

görüldü. Bunun nedeni kalıp molekülün (DEP) uzaklaşması ile DEP'e özgü oluşan bağlanma bölgelerinin seçici adsorpsiyonudur.



Şekil 4.4.3.2. Farklı formülasyonlardaki adsorbanların DEP'e karşı seçiciliği (50 mL 20 mg/L örnekler; 0,02 g adsorbanlar, 2,5 saat, 25°C)

Şekil 4.4.3.2'de gösterilen grafikler DEP'in baskılama seçiciliğini açıkça gösterse de seçicilik parametrelerinin de uygun eşitliklerle hesaplanmasını önemlidir. Bu sebeple ilgili değerler çizelge halinde sunuldu (Çizelge 4.4.3).

Çizelge 4.4.3. DEP baskılanmış ve baskılanmamış mikrokürelerin seçicilik moleküllerine karşı seçicilik katsayıları

Formülasyon	Bileşikler	C ₀ (mg/L)	K _d		k		k'
			DMIP	NIP	DMIP	NIP	
A2	DEP	20	2886	2763	-	-	-
	Stiren		1212	1915	2,38	1,44	1,65
	Vanillik Asit		161	254	17,89	10,87	1,65
A3	DEP	20	2606	2763	-	-	-
	Stiren		1261	1915	2,07	1,44	1,44
	Vanillik Asit		120	254	21,80	10,87	2,01
A4	DEP	20	4284	2763	-	-	-
	Stiren		1472	1915	2,91	1,44	2,02
	Vanillik Asit		212	254	20,22	10,87	1,86

A5	DEP	20	3320	2763	-	-	-
	Stiren		935	1915	3,55	1,44	2,47
	Vanillik		130	254	25,56	10,87	2,35
	Asit						
A6	DEP	20	3421	2763	-	-	-
	Stiren		1566	1915	2,18	1,44	1,52
	Vanillik		192	254	17,82	10,87	1,64
	Asit						
A7	DEP	20	3388	2763	-	-	-
	Stiren		1162	1915	2,92	1,44	2,03
	Vanillik		216	254	15,71	10,87	1,44
	Asit						
A8	DEP	20	3194	2763	-	-	-
	Stiren		1400	1915	2,28	1,44	1,58
	Vanillik		286	254	11,18	10,87	1,03
	Asit						
A9	DEP	20	2972	2763	-	-	-
	Stiren		1147	1915	2,59	1,44	1,80
	Vanillik		218	254	13,65	10,87	1,26
	Asit						

Çizelge 4.4.3'te göre öncelikle iki fazda çözünen maddenin taşınma ve ayrılma kapasitesini gösteren dağılım katsayısı (K_d) değerlerine bakıldığında tüm baskılanmış formülasyonlarda DEP'in K_d değerleri diğer seçicilik moleküllerine göre daha büyüktür. Bunun yanı sıra DEP için K_d (NIP) < K_d (dMIP) şeklindedir. Buna göre dMIP mikroküreler ile NIP mikroküreleri kıyaslandığında dağılım katsayıları dMIP mikroküreler için daha yüksek elde edildi. Aynı şekilde bir karşılaştırma seçicilik moleküllerinde yapıldığında ise K_d (NIP) > K_d (dMIP) şeklinde bir durum ortaya çıkması seçici baskılama gerçekleşmediğini gösterdi.

Çizelge 4.4.3'te göre seçicilik katsayılarına (k) bakılarak karşılaştırma yapıldığında stiren için k (dMIP) > k (NIP), hatta vanilik asit için k (dMIP) >> k (NIP) şeklinde olması hedef molekülün seçicilik katsayılarının yarışmacı moleküllerin katsayılarına karşı çok daha yüksek olduğunu gösterdi.

Ayrıca dMIP ve NIP mikrokürelerin seçicilik katsayılarının oranını gösteren k' değerleri büyük bir öneme sahiptir. Bunun sebebi hem hedef molekül ile yarışmacı moleküller arasında seçiciliği belirler hem de baskılanmış formülasyonlar ile baskılanmamış formülasyon arasındaki orandır. Bu sebeple bu değerlere bakıldığında A5

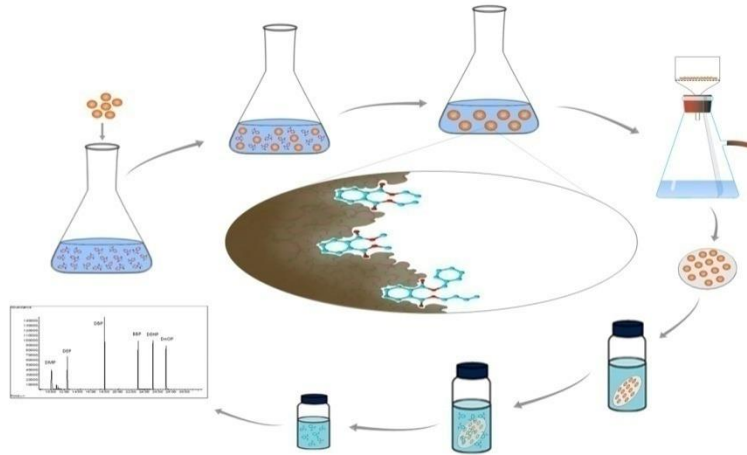
formülasyonunda her iki seçicilik moleküllerinde en yüksek k' değerleri elde edildiği görüldü.

4.5. Hazırlanan Adsorbanın Katı Faz Ekstraksiyon Malzemesi Olarak Kullanımı ve Metot Optimizasyonu

Hazırlanan adsorbanın katı faz ekstraksiyon malzemesi olarak kullanılıp GC-MS'e enjekte edilmeden önce belirli örnek hazırlama basamakları bulunmaktadır. Bu sebeple genel şema şekil 4.5'de verilmektedir.

Fitalat içeren çözelti içerisine adsorban ilave edilir. Adsorbanın fitalatları adsorplamasından sonra mikroküreler filtre edilir. Filtreleme işleminden sonra filtre kağıdı kurutularak uygun çözücü ile fitalatlar desorbe edilir. Çözücü ile ekstrakte edilen fitalatlar GC-MS'e enjekte edilir (Şekil 4.5).

Tez çalışmasında da metodun genel şeması bu şekilde olmakla birlikte metodun optimizasyonunda fitalat çözeltileri ilave edilerek örnek hazırlama basamakları aynı prosedür ile yürütüldü.

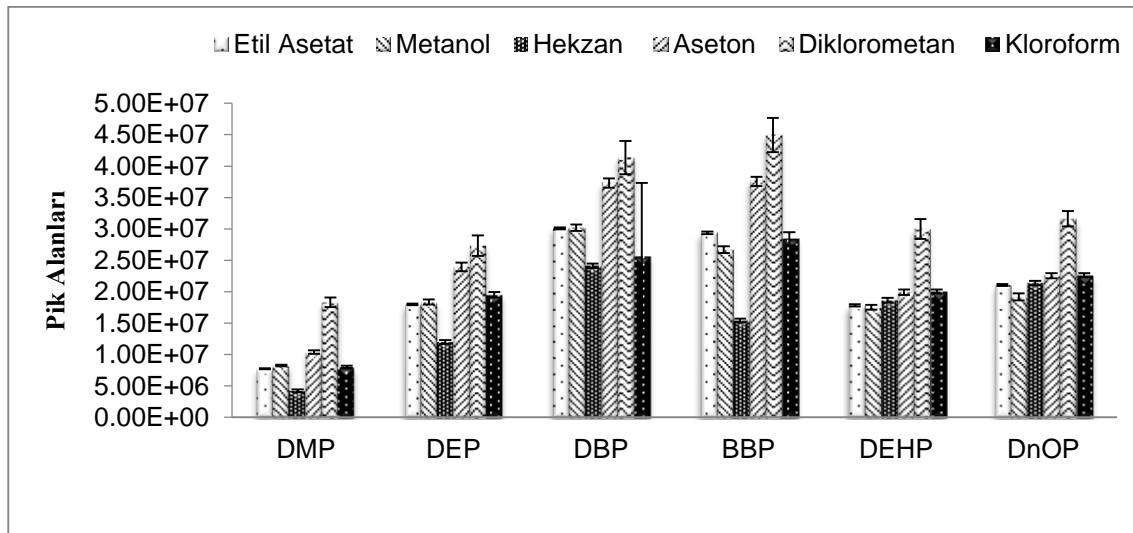


Şekil 4.5. GC-MS enjeksiyonundan önce hazırlanan adsorbanın katı faz ekstraksiyon malzemesi olarak kullanımının şematik gösterimi

4.5.1. Çözücü seçimi

Fitalatların desorpsiyonunda literatürde farklı organik çözücüler kullanılmıştır. Bunların arasında hekzan, asetonitril, etil asetat, aseton, kloroform, diklorometan ve asetik eter gibi çözücüler örnek verilebilir (He ve ark. 2010a, Yan ve ark. 2012, Hu ve ark. 2014). Aday çözücülerin iyi bir kromatografik duyarlılık ve hedef moleküle yüksek bir affinite göstermesi hedeflenmiştir. Uygun çözücü seçimi, katı faz ekstraksiyon metodunun verimliliği açısından önemlidir (Özer ve Güçer 2011). Fitalatlar polar ve polar olmayan elüsyon özelliklere sahip bileşikler olduğundan daha polar çözücüler ile desorpsiyonları daha uygundur.

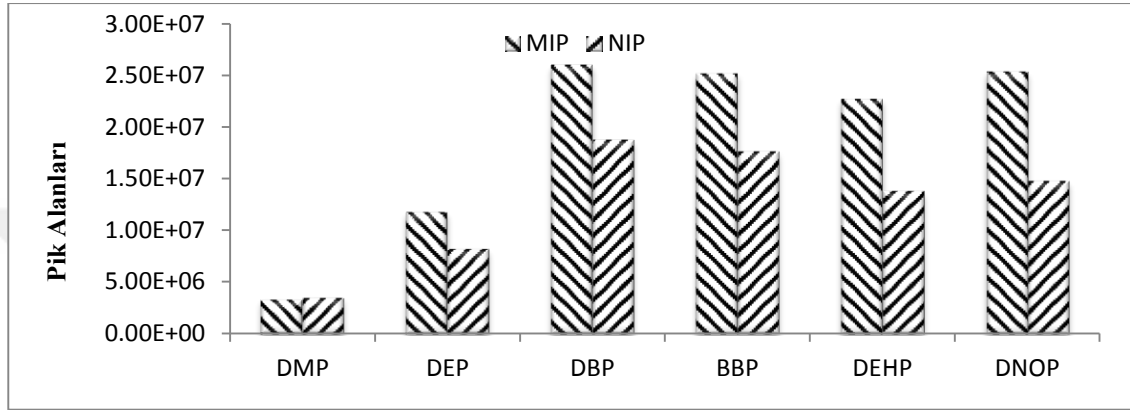
Tez çalışmasında GC-MS cihazına enjekte edilebilir uygun organik çözücülerin seçilmesi amacıyla desorpsiyonda aseton, metanol, kloroform, etil asetat, hekzan ve diklorometan çözücülerini ile çalışıldı. Kromatogramlardaki fitalat pik alanları değerlendirilerek uygun çözücü tespit edildi. Adsorbane tutunmuş kısa zincirli kısmen daha hidrofilik fitalatların (DMP, DEP, DBP) desorpsiyonunda hekzan gibi apolar bir çözücü yüksek ekstraksiyon verimliliği göstermemiştir. Deneysel çalışmalar sonucunda, diklorometan tüm fitalatlar için daha yüksek elüsyon gücüne sahip olup en yüksek pik alanları verdiği tespit edildi (Şekil 4.5.1).



Şekil 4.5.1. Fitalatların desorpsiyonu için uygun çözücünün seçimi (50 mL örnek; 50 µL standart fitalat ilavesi, 0,02 g A5 adsorbani, 1,5 saat, 25°C, 5 mL diklorometan ile ekstraksiyon)

4.5.2. Uygun adsorban formülasyonunun seçimi

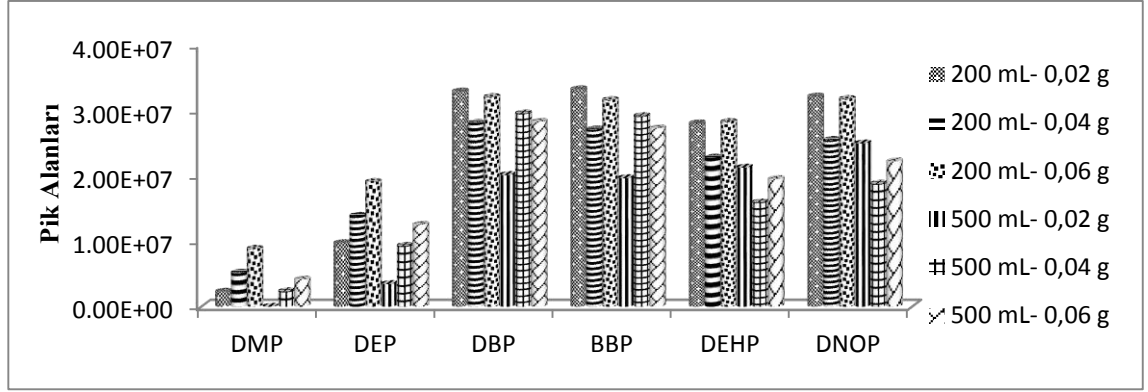
Adsorban formülasyonları arasında A4 formülasyonu en yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip olmasına rağmen uygun adsorban formülasyonu seçiminde seçicilik çalışmaları da göz önünde bulundurularak A5 formülasyonu ile çalışmalar sürdürüldü (Şekil 4.5.2).



Şekil 4.5.2. Adsorban formülasyonlarının fitalatların desorpsiyonuna etkisi (50 mL örnek; 50 µL standart fitalat ilavesi, 0,02 g A5 adsorbanı, 1,5 saat, 25°C, 5 mL diklorometan ile ekstraksiyon)

4.5.3. Örnek hacmi ve adsorban miktarı optimizasyonu

Geliştirilen katı faz ekstraksiyon metodunun optimizasyonunda zenginleştirme faktörünü arttırabilecek koşulları tespit etmek amacıyla örnek hacmi ve ilave edilen adsorban miktarının etkisi incelendi. Farklı miktarlardaki adsorbanlar, farklı hacimlerde hazırlanan standart içeren çözeltilere ilave edildi. Şekil 4.5.3'te görüldüğü gibi 200 mL örnek hacminde ve 0,06 g adsorban miktarıyla çalışıldığında özellikle DMP ve DEP için pik alanlarında artış gözlemlendi. 500 mL örnek hacminde çalışıldığında ise pik alanları, 200 mL örnek hacminde elde edilen değerlere göre daha düşük bulundu. Adsorban miktarının artışı ile DMP ve DEP gibi daha hidrofilik bileşiklerin pik alanları önemli ölçüde artış gösterdi. Bundan sonraki gerçek örnek çalışmalarında 200 mL örnek hacmi ve 0,06 g adsorban miktarı ile çalışma uygun bulundu.

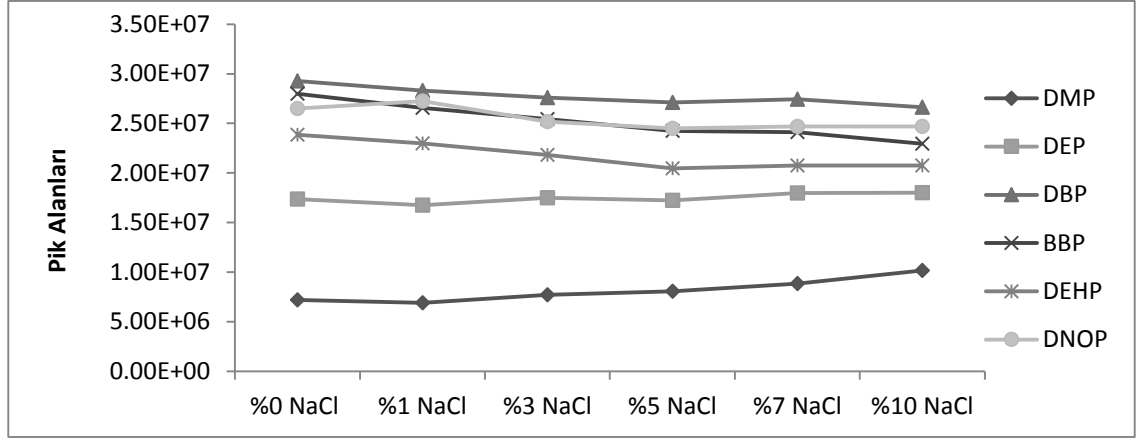


Şekil 4.5.3. Örnek hacmi ve adsorban miktarının fitalatların desorpsiyonuna etkisi (50 µL standart fitalat ilavesi; 1,5 saat, 25°C)

4.5.4. Tuz konsantrasyonu etkisi

Ortamın iyonik şiddeti katı faz ekstraksiyon yönteminde analitlerin kütle transfer mekanizmasında etkilidir. Ayrıca tuz konsantrasyonundaki artışla sulu ortamdaki apolar organik bileşiklerin çözünürlükleri azalma eğilimi gösterir. Bu davranış genellikle *salting out* etkisi olarak bilinir (Colon ve Dimandja 2004). Sonuç olarak tuz ilavesi ile analitlerin adsorpsiyonu değişebilmektedir (Asadollahzadeh ve ark. 2010).

Bu nedenle tuz konsantrasyonunun fitalatların ekstraksiyonuna etkisi incelendi. Elde edilen sonuçlara göre tuz konsantrasyonu artışı ile pik alanlarında önemli bir değişim olmadığı görüldü (Şekil 4.5.4). Literatürde katı faz mikro ekstraksiyon tekniklerinde kullanılan yüksek tuz miktarının adsorban yüzeyinde deformasyona neden olduğu da belirtilmiştir (Asadollahzadeh ve ark. 2010). Bu nedenlerden dolayı ekstraksiyon sırasında tuz ilavesi yapılmadı.



Şekil 4.5.4. Fitalatların adsorpsiyonuna tuz konsantrasyonunun etkisi (200 mL örnek; 50 µL standart fitalat ilavesi, 0,06 g A5 adsorbantı, 1,5 saat, 25°C)

4.6. Optimize Edilen Metodun Validasyonu

Analitik yöntemler için doğruluk, kesinlik, duyarlılık, tekrarlanabilirlik, gözlenebilme sınırı ve doğrusal çalışma aralığı gibi kalite ölçütleri vardır. Bu kalite ölçütlerinin ele alınıp sonuçların geçerliliği (validasyonu) büyük öneme sahiptir.

Tez çalışması kapsamında da belirlenen optimum koşullarda doğrusallık, duyarlılık, tekrarlanabilirlik, gözlenebilme sınırı (LOD), nicel ölçüm sınırı (LOQ), gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik gibi parametreler incelendi.

Saf su örnekleri içerisine artan miktarlarda (12,5-250 µg/L) fitalat standardı ilave edilip adsorpsiyon prosesi uygulandı. İç standart kullanılarak GC-MS'e enjekte edildi. Her bir fitalat için kalibrasyon eğrileri, pik alanları üzerinden hesaplanarak belirlendi (Çizelge 4.6.1). 0,5-10 mg/L konsantrasyon aralığında tüm analitler için doğrusallık elde edildi ve regresyon katsayıları Çizelge 4.6.1.1'de verildi. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve nicel ölçüm sınırı (LOQ) değerleri, sırasıyla 0,31–0,41 ve 1,03–1,35 µg/L aralığında belirlendi.

Metodun doğruluğu ve kesinliğini belirlemek amacıyla gün içerisinde saf su örnekleri içerisine 5 mg/L olarak şekilde standart ilave edildi ve adsorpsiyon prosesi uygulandı. Ardından ekstrakte edilen örneğe iç standart ilave edilerek GC-MS'e enjekte edildi. Bu işlemler gün içerisinde 5 tekrarlı analiz edildi. Günler arası çalışmada ise saf su

örnekleri içerisine 5 mg/L olacak şekilde standart ilavesi ile adsorpsiyon prosesi uygulandı ve gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlikleri belirlendi. Yüzde bağlı standart sapma (%RSD) verileri gün içi çalışmalar için % 1,2–5,9 ve günler arası çalışmalar için % 1,7-6,9 aralığında bulundu.

Çizelge 4.6.1. Metot parametreleri

Bileşikler	Doğrusal aralık (µg/L)	Korelasyon katsayısı (R ²)	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	Gün içi %RSD	Günler arası %RSD
DMP	12,5 - 250,0	0,997	0,35	1,15	2,1	1,7
DEP	12,5 - 250,0	0,999	0,41	1,35	2,3	4,8
DBP	12,5 - 250,0	0,999	0,32	1,08	1,4	4,3
BBP	12,5 - 250,0	0,999	0,33	1,10	2,3	4,0
DEHP	12,5 - 175,0	0,998	0,39	1,30	1,2	6,9
DnOP	12,5 - 175,0	0,988	0,31	1,03	5,9	3,6

Geliştirilen metot ile fitalatların tayinine yönelik literatürde moleküler baskılanmış katı faz ekstraksiyon adsorbanları ile yapılan çalışmaların LOD değerleri karşılaştırıldığında tez çalışmasında elde edilen veriler kabul edilebilir düzeydedir (Çizelge 4.6.2).

Çizelge 4.6.2. Fitalatların tayinine yönelik geliştirilen moleküler baskılanmış adsorbanlar ile literatürde yapılan çalışmalar ile tez çalışması sonucu elde edilen LOD değerlerinin karşılaştırılması

Yöntem	Baskılama Türü	Örnek	LOD(µg/L)	Referans
MI-SPE-GC-FID	Mag-MAA/EGDMA	plastik kapalı içme suları	0,53-1,2	Qiao ve ark. 2014
MI-SPE-HPLC	MAA / EDMA	şişelenmiş içecekler	8-18	Jin ve ark. 2013
MI-SPE-GC-MS	MAA /EDMA	soya sütü	17-22	He ve ark. 2010a
MI-SPE-GC-MS	Amino grubu ile fonksiyonelleştirilmiş silika jel	portakal suyu	0,002-0,02	Hu ve ark. 2014
MI-SPE-GC-FID	AM / DVB	plastik şişelenmiş içecekler	0,85-1,38	Yan ve ark. 2012
dMI-SPE-GC-MS	MATrp/ EGDMA	plastik şişelenmiş içecekler / yapay tükürük	0,31-0,41	Tez Çalışması

MIP: Moleküler baskılanmış polimer

SPE: Katı faz ekstraksiyonu

dMI: Dummy (model kalıp)-moleküler baskılanmış polimer

4.7. Metodun Gerçek Örneklerle Uygulanması

Metodun uygulanabilirliğini göstermek amacıyla plastik şişelenmiş su örnekleri ile oyuncaklardan yapay tükürük çözeltisine geçen fitalatlar belirlenen optimum koşullarda analizlendi. Plastik şişelenmiş su örnekleri yukarıdaki başlıklarda belirtilen örnek hazırlama metodu ile hazırlanırken, oyuncaklardan yapay tükürüğe fitalatların geçişini sağlamak için öncelikli olarak yatay çalkalama metoduna tabi tutuldu. Oyuncaklar 2 saat boyunca 37°C de yapay tükürük çözeltisi ile inkübe edildi (CSTEE, 2001). Optimize edilen metot uygulandığında oyuncaklardan yapay tükürüğe DMP ve DBP geçerken, plastik şişelenmiş su örnekleri içerisinde sınır değerlerin üzerinde DEHP'e rastlandı (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Metodun gerçek örneklerle uygulanması

Örnek	DEHP($\mu\text{g/L}$)	DMP ($\mu\text{g/L}$)	DBP($\mu\text{g/L}$)
Yapay tükürük	-	266,9 \pm 14,5	7,92 \pm 0,63
Plastik şişe suyu 1	11,90 \pm 1,70	-	-
Plastik şişe suyu 2	10,06 \pm 0,84	-	-

5. SONUÇ

- ✓ MATrp monomeri, L-triptofan metil esterinin metakriloil klorür ile reaksiyonu sonucu elde edildi. Elde edilen monomer, NMR ve FTIR çalışmaları ile karakterize edildi.
- ✓ Diethyl fitalat (DEP) baskılanmış poli[(EGDMA-MATrp)] mikroküreler süspansiyon polimerizasyonu tekniği ile hazırlandı. Fonksiyonel monomer (MATrp) ve kalıp molekül (DEP) muamele edilerek ön kompleks hazırlandı. MATrp ve DEP oranları değiştirerek fitalatlar için en seçici mikrokürelerin hazırlanması amacıyla fonksiyonel monomer, kalıp molekül, çapraz bağlayıcı (EGDMA) ve başlatıcı (AIBN) ile sentez ortamı hazırlanarak polimerizasyon gerçekleştirildi.
- ✓ DEP baskılanmış poli[(EGDMA-MATrp)] mikrokürelerinin karakterizasyonu için ilk olarak FTIR tekniğinden yararlanıldı. FTIR analizleri ile elde edilen sonuçlar fonksiyonel monomer MATrp'nin başarıyla polimerik yapıya dahil edildiğini gösterdi. Bunun yanı sıra mikrokürelerin morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelendi.
- ✓ Sentezlenen adsorbanlar ile Batch-tipi DEP adsorpsiyonu çalışmalarına başlanırken farklı konsantrasyonlarda (1-30 mg/L) hazırlanan DEP çözeltilerinin $\lambda=239$ nm'de absorpsiyonları ölçüldü. DEP için kalibrasyon eğrisi elde edilerek ilgili hesaplamalarda kullanılmak üzere doğru denklemi belirlendi.
- ✓ DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerinin DEP adsorpsiyon kapasitesine pH etkisini incelemek için pH 2-10 aralığında çalışıldı. Adsorpsiyon kapasitesinin genel olarak pH'ye bağlı değişim göstermediği tespit edildi.
- ✓ Adsorpsiyon ortamındaki DEP derişiminin adsorpsiyon kapasitesine etkisini incelemek amacıyla pH 3'te 1-500 mg/L DEP derişim aralığında adsorpsiyon işlemleri gerçekleştirildi. Yapılan deneyler sonucunda artan DEP derişimi ile

adsorpsiyon kapasitesinin arttığı gözlemlendi. Maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip MIP formülasyonları A4 (472,8 mg/g) ve A7 (468,2 mg/g) olarak bulundu.

- ✓ DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerin DEP'e karşı seçiciliğini belirlemek amacıyla yapısal olarak DEP molekülü ile benzerlik gösteren vanilik asit ve stiren molekülleri kullanıldı. DEP baskılanmış ve baskılanmamış poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerin baskılama seçiciliği belirlendi. Elde edilen verilere göre seçicilik molekülleri DEP ile yapısal benzerlik göstermesine rağmen DEP baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) mikrokürelerin sadece DEP'e önemli ölçüde seçicilik gösterdiği görüldü. A5 formülasyonunda her iki seçicilik moleküllerinde sınır değere göre ($k' > 1$) daha yüksek k' değerleri elde edildiği görüldü. Bu sebeple sonraki çalışmalara bu formülasyon ile devam edildi.
- ✓ Hazırlanan adsorbanın katı faz ekstraksiyon malzemesi olarak kullanımı ve metot optimizasyonu çalışmaları kapsamında ilk olarak GC-MS cihazına enjekte edilebilir uygun organik çözücülerin seçilmesi amaçlandı. Desorpsiyonda aseton, metanol, kloroform, etil asetat, hegzan ve diklorometan çözücülerini ile çalışıldı. Kromatogramlardaki fitalat pik alanları değerlendirilerek uygun çözücü tespit edildi. Deneysel çalışmalar sonucunda, diklorometan tüm fitalatlar için daha yüksek elüsyon gücüne sahip olup en yüksek pik alanları verdiği tespit edildi.
- ✓ Uygun adsorban formülasyonunun seçimi yapıldığında formülasyonlar arasında en yüksek DEP adsorpsiyon kapasitesi A4 ve A5 formülasyonlarında görüldü. Fakat seçicilik çalışmaları göz önünde bulundurularak A5 formülasyonu ile çalışmalar sürdürüldü. NIP adsorbanı ile kıyaslandığında da NIP'nin adsorpsiyon kapasitesi daha düşük bulundu.
- ✓ Geliştirilen katı faz ekstraksiyon metodunun optimizasyonunda örnek hacmi ve ilave edilen adsorban miktarının etkisi de incelendi. 500 mL ve 200 mL örnek hacminde çalışıldığında pik alanları, 500 mL hacimde çalışıldığında bulunan değerler 200 mL örnek hacminde elde edilen değerlere göre daha düşük bulundu. Adsorban miktarının artışı ile DMP ve DEP gibi daha hidrofilik bileşiklerin pik

alanları önemli ölçüde artış gösterdi. Bundan sonraki gerçek örnek çalışmalarında 200 mL örnek hacmi ve 0,06 g adsorban miktarı ile çalışma uygun bulundu.

- ✓ Ortamın iyonik şiddeti katı faz ekstraksiyon yönteminde analitlerin kütle transfer mekanizmasında etkili olduğundan tuz konsantrasyonunun fitatların ekstraksiyonuna etkisi incelendi. Elde edilen sonuçlara göre tuz konsantrasyonu artışı ile pik alanlarında önemli bir değişim olmadığı görüldü.
- ✓ Belirlenen optimum koşullarda doğrusallık, duyarlılık, tekrarlanabilirlik, gözlenebilme sınırı (LOD), nicel ölçüm sınırı (LOQ), gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik gibi parametreler incelendi. 0,5-10 mg/L konsantrasyon aralığında tüm analitler için doğrusallık elde edildi ve korelasyon katsayıları 0,988-0,999 aralığında bulundu. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve nicel ölçüm sınırı (LOQ) değerleri, sırasıyla 0,31–0,41 ve 1,03–1,35 µg/L aralığında belirlendi. Yüzde bağıl standart sapma (%RSD) verileri gün içi çalışmalar için % 1,2–5,9 ve günler arası çalışmalar için % 1,7-6,9 aralığında bulundu.
- ✓ Geliştirilen metodun uygulanabilirliğini göstermek amacıyla plastik şişelenmiş su örnekleri ile oyuncaklardan yapay tükürüğe geçebilecek fitatların analizi gerçekleştirildiğinde su örneklerinde EPA'nın belirlediği sınır değer (6 µg/L) üzerinde DEHP (11,9 ve 10,06 µg/L) bulundu. Oyuncaklardan yapay tükürüğe geçen fitatlara bakıldığında ise DMP (266,9 µg/L) ve DBP (7,92 µg/L) molekülleri belirlendi.

KAYNAKLAR

Abb, M., Heinrich, T., Sorkau, E., Lorenz, W. 2009. Phthalates in house dust. *Environment international* 35, 965–970.

Ahmed, Z., Lyne, S., Shahrabani., R. 2000. Removal and Recovery of Phenol From Phenolic Wastewater Via Ion Exchange and Polymeric Resins. *Environ. Eng. Sci.* 17, 245–255.

Andresson, L., Sellergren, B., Mosbach, K. 1984. Imprinting of amino acid derivates in macroporous polymer. *Tetrahedron Lett.*, 25, 5211-5214.

Anonim, 1974. Ground Water & Drinking Water. Fact Sheets. <https://safewater.zendesk.com/hc/en-us/articles/212076947-4-What-are-EPAs-drinking-water-regulations-for-di-2-ethylhexyl-phthalate> (Erişim tarihi: 10.12.2016).

Anonim, 2016. *International Programme on Chemical Safety (IPCS)*. 12 5, 2016 tarihinde World Health Organization: http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/ adresinden alındı.

Ansell, R., Ramstrom, O., Mosbach, K. 1996. Towards Artificial Antibodies Prepared by Molecular Imprinting. *Clin. Chem.* 42:9, 1506-1512.

Arcadi, F., Cost, C., C. I., Marchese, A., Rapisarda, A., M. Salemi, G. R. 1998. Oral toxicity of bis(2-ethylhexyl)phthalate during pregnancy and suckling in the Long-Evans rat. *Food Chem Toxicol* 36, 963-970.

Asadollahzadeh, H., Noroozian, E., Maghsoudi, S. 2010. Solid-phase microextraction of phthalate esters from aqueous media by electrochemically deposited carbon nanotube/polypyrrole composite on a stainless steel fiber. *Analytica Chimica Acta*, 669(1–2), 32–8.

Aurela, B., Kulmala, H., Soderhjelm, L. 1999. Phthalates in paper and board packaging and their migration into Tenax and sugar. *Food Additives and Contaminants* 16, 571–577.

Ballesteros, O., Zafra, A., Navalon, A., Vilchez, J. 2006. Sensitive gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of phthalate esters, alkylphenols, bisphenol A and their chlorinated derivatives in wastewater samples. *J. Chromatogr. A* 1121, 154–162.

Benson, R. 2009. Hazard to the developing male reproductive system from cumulative exposure to phthalate esters-dibutyl phthalate, diisobutyl phthalate, butylbenzyl phthalate, diethylhexyl phthalate, dipentyl phthalate, and diisononyl phthalate. *Regul. Toxicol. Pharm.* 53, 90–101.

Blount, B., Milgram, K., Silva, M., Malek, N., Reidy, J., Needham, L., et al. 2000. Quantitative detection of eight phthalate metabolites in human urine using HPLC-APCI-MS/MS. *Anal. Chem.* 72 , 4127–4134.

Cacho, J., Campillo, N., Viñas, P., Hernández-Córdoba, M. 2012. Determination of alkylphenols and phthalate esters in vegetables and migration studies from their packages by means of stir bar sorptive extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1241 , 21–27.

Calley, D., Autian, J., Guess, W. 1966. Toxicology of a series of phthalate esters. *J. Pharm. Sci.* 55 , 158–162.

Carbone, S., Ponzio, O., Gobetto, N., Samaniego, Y., Reynoso, R., P. Scacchi, e. a. 2013. Antiandrogenic effect of perinatal exposure to the endocrine disruptor di-(2-ethylhexyl) phthalate increases anxiety-like behavior in male rats during sexual maturation. *Horm. Behav.* 63, 692–699.

Carlo, M. D., Pepe, A., Sacchetti, G., Compagnone, D., Mastrocola, D., Cichelli, A. 2008. Determination of phthalate esters in wine using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 111, 771-777.

Casas-Hernandez, A., Aguilar-Caballos, M., A.Gomez-Hens. 2003. Application of time-resolved luminescence methodology to the determination of phthalate esters. *Analytical Letters*, 36 (5):1017-1027.

Castillo, M., Barceló, D. 2001. Characterisation of organic pollutants in textile wastewaters and landfill leachate by using toxicity-based fractionation methods followed by liquid and gas chromatography coupled to mass spectrometric detection. *Anal. Chim. Acta* 426, 253–264.

Castle, L., Gilbert, J., Eklund, T. 1990. Migration of plasticizer from poly(vinyl chloride) milk tubing. *Food Addit Contam* 7(5):591–6 .

Chen, G., Hu, H., Wu, T., Tong, P., Liu, B., Zhu, B., et al. 2014. Rapid and sensitive determination of plasticizer diethylhexyl phthalate in drink by diffuse reflectance UV spectroscopy coupled with membrane filtration. *Food Control*, 35, 218-222.

Chourasia, M., Jain, S. 2003. Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 6, 33–66.

Cinelli, G., Avino, P., Notardonato, I., Centola, A., Russo, M. 2013. Rapid analysis of six phthalate esters in wine by ultrasound-vortex-assisted dispersive liquid-liquid micro-extraction coupled with gas chromatography-flame ionization detector or gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 769, 72–78.

Cinelli, G., Avino, P., Notardonato, I., Centola, A., Russo, M. 2014. Study of XAD-2 adsorbant for the enrichment of trace levels of phthalate esters in hydroalcoholic food

beverages and analysis by gas chromatography coupled with flame ionization and ion-trap mass spectrometry detectors. *Food Chem.* 146, 181–187.

Clara, M., Windhofer, G., Hartl, W., Braun, K., Simon, M., Gans, O., et al. 2010. Occurrence of phthalates in surface runoff, untreated and treated wastewater and fate during wastewater treatment. *Chemosphere* 78, 1078–1084.

Clark, K. E., David, R., Guinn, R., Kramarz, K., M.A.Lampi, Staples, C. 2011. Modeling Human Exposure to Phthalate Esters: A Comparison of Indirect and Biomonitoring Estimation Methods. *Human and Ecological Risk Assessment*, 17(4):923-65.

Colon, I., Dimandja, J.-M. D. 2004. High-throughput analysis of phthalate esters in human serum by direct immersion SPME followed by isotope dilution-fast GC/MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 380, 275-283.

COMMISSION DIRECTIVE 2002/72/EC. 2002. 2002/72/EC COMMISSION DIRECTIVE of 6 August 2002 relating to plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs (s. 18-58). European Communities (EU).

Cormack, P., Elorza, A. 2004. Molecularly imprinted polymers: Synthesis and characterization. *J Chromatogr. B*, 804, 174-182.

Cunliffe, D., Kirby, A., Alexander, C. 2005. Molecularly imprinted drug delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 57, 1836-1853.

Dargnat, C., Teil, M., Chevreuil, M., Blanchard, M. 2009. Phthalate removal throughout wastewater treatment plant. Case study of Marne Aval station (France): Review. *Sci. Total Environ.* 407, 1235–1244.

Dobrzynska, M., Tyrkiel, E., Pachocki, K. 2011. Developmental toxicity in mice following paternal exposure to Di-N-Butyl-Phthalate (DBP). *Biomed. Environ. Sci.* 24, 569–578.

ECOBILAN, 2001. *Eco-profile of high volume commodity phthalate Esters (DEHP/DINP/DIDP)*. Brussels: European Council for Plasticisers & Intermediates (ECPI).

Ema, M., Amano, H., Itami, T., Kawasaki, H. 1997. Developmental effects of di-n-butyl phthalate after a single administration in rats. *J. Appl. Toxicol.* 17, 223–229.

EU Phthalates Directive 2005/84/EC, 2005. *SPARKLE Vol. 235*. Intertek.

European Food Safety Authorities (EFSA), 2005. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on a request from the Commission. (s. 1-20). The EFSA Journal.

Fan, Y., Liu, S., Xie, Q. 2014. Rapid determination of phthalate esters in alcoholic beverages by conventional ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography. *Talanta* 119, 291–298.

Farahani, H., Ganjali, M., Dinarvand, R., Norouzi, P. 2008. Screening method for phthalate esters in water using liquid-phase microextraction based on the solidification of a floating organic microdrop combined with gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta* 76, 718–723.

Fernandez, M., Ikonomou, M., Buchanan, I. 2007. An assessment of estrogenic organic contaminants in Canadian wastewaters. *Sci. Total Environ.* 373, 250–269.

G.Wulff, 1995. Molecular Imprinting in Cross-Linked Materials with the Aid of Molecular Templates- A Way towards Artificial Antibodies. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 34, 1812-1832.

G.Wulff, Sarhan, A. 1972. Use of polymers with enzyme-analogous structures for the resolution of racemates. *Angew Chem Int Ed Engl.* 11, 341.

Gallart-Ayala, H., N., O., Lucci, P. 2013. Recent advances in LC-MS analysis of food-packaging contaminants. *rAC Trends in Analytical Chemistry*, 42, 99–124.

Gallart-Ayala, H., Núñez, O., Lucci, P. 2013. Recent advances in LC-MS analysis of food pack-aging contaminants. *Trends Anal. Chem.* 42, 99–124.

Hall, A., Emgenbroich, M., B.Sellergren. 2005. Imprinted polymers. *Top. Curr. Chem.*, 249, 317-349.

Hashizume, K., Nanya, J., Toda, C., Yasui, T., Nagano, H., Kojima, N. 2002. Phthalate Esters Detected in Various Water Samples and Biodegradation of the Phthalates by Microbes Isolated from River Water. *Biological & pharmaceutical bulletin* 25, 209-214.

He, J., Lv, R., Cheng, J., Li, Y., Xue, J., Lu, K., et al. 2010b. Preparation and characterization of molecularly imprinted microspheres for dibutyl phthalate recognition in aqueous environment. *ournal of Separation Science*, 33, 3409-3414.

He, J., Lv, R., Zhan, H., Wang, H., Cheng, J., Lu, K., et al. 2010c. Preparation and evaluation of molecularly imprinted solid-phase micro-extraction fibers for selective extraction of phthalates in an aqueous sample. *Analytica Chimica Acta*, 674, 53-58.

He, J., Lv, R., Zhu, J., Lu, K. 2010a. Selective solid-phase extraction of dibutyl phthalate from soybean milk using molecular imprinted polymers. *Anal. Chim. Acta* 661, 215–221.

Heudorf, U., Mersch-Sundermann, V., Angerer, J. 2007. Phthalates: toxicology and exposure. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 210, 623– 634.

Hsieh, S., C.C.Wang, Wu, S.M. 2013. Microemulsion electrokinetic chromatography for analysis of phthalates in soft drinks . *Food Chem.* 141, 3486–3491.

Hu, J.-H., Feng, T., Li, W.-L., Zhai, H., Liu, Y., Wang, L.-Y., et al. 2014. Surface molecularly imprinted polymers with synthetic dummy template for simultaneously selective recognition of nine phthalate esters. *Journal of chromatography. A*, 1330, 6-13.

Hu, Y., Pan, J., Zhang, K., Lian, H., Li, G. 2013. Novel applications of molecularly imprinted polymers in sample preparation. *Trends Anal. Chem.* 43, 37–52.

Huber, W., Grasl-Kraupp, B., Schulte-Hermann, R. 1996. Hepatocarcinogenic potential of di(2-ethylhexyl)phthalate in rodents and its implications on human risk. *Food Chem Toxicol* 36, 365–481.

IARC, 2000. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some Industrial Chemicals, International Agency for Research on Cancer, p. 77.* Lyon, France.

Jiang, X., Jiang, N., Zhang, H., Liu, M. 2007. Small Organic Molecular Imprinted Materials: Their Preparation and Application. *Anal Bioanal Chem.*, DOI 10.1007/s00216-007-1336-6.

Jin, Y.-F., Zhang, Y.-J., Zhang, Y.-P., Chen, J., Zhou, X.-M., Bai, L.-Y. 2013. Synthesis and Evaluation of Molecularly Imprinted Polymer for the Determination of the Phthalate Esters in the Bottled Beverages by HPLC. *Journal of Chemistry*, Article ID 903210.

Jonsson, S., Boren, H. 2002. Analysis of mono- and diesters of o -phthalic acid by solid-phase extractions with polystyrene – divinylbenzene-based polymers. *Journal of chromatography. A*, 963, 393-400.

Kambia, K., Dine, T., Azar, R., Gressier, B., Luyckx, M., Brunet, C. 2001. Comparative study of the leachability of di(2-ethylhexyl) phthalate and tri(2-ethylhexyl) trimellitate from haemodialysis tubing. *Int. J. Pharm.* 229 (1–2), 139–146.

Karickhoff, S., Daniel, V. M., Melton, C., Vellino, A., Nute, D., Carreira, L. 1991. Predicting chemical reactivity by computer. *nviron. Toxicol. Chem.* 10, 1405–1416.

Kavlock, R., Boekelheide, K., Chapin, R., Cunningham, M., Faustman, E., Foster, P.e. 2002. NTP center for the evaluation of risks to human reproduction: phthalates experts panel report on the reproductive and developmental toxicity of di-isononyl phthalate. *Reproductive Toxicology* 16, 679–708.

Kluwe, W. M., McConnell, E. E., Huff, J. E., Haseman, J. K., Douglas, J. F., Hartwel, W. V. 1982. Carcinogenicity testing of phthalate esters and related compounds by the National Toxicology Program and the National Cancer Institute. *Environmental health perspectives* 45, 129-33.

Kondo, T., Shono, T., Suita, S. 2006. Age-specific effect of phthalate ester on testicular development in rats. *J Pediatr Surg.*41: 1290-3.

Kumar, N., Sharan, S., Srivastava, S., Roy, P. 2014. Assessment of estrogenic potential of diethyl phthalate in female reproductive system involving both genomic and non-genomic actions. *Reprod. Toxicol.* 49, 12–26.

Wade.L.G. 2013. *Organic Chemistry Eight Edition.*
DOI:10.1002/0471743984.vse5459.pub2.

L.Ye, Haupt, K. 2004. Molecularly imprinted polymers as antibody and receptor mimics for assays, sensors and drug discovery. *Anal. Bioanal. Chem.*, 378, 1887-1897.

Lai, J.-P., Yang, M.-L., Niessner, R., Knopp, D. 2007. Molecularly imprinted microspheres and nanospheres for di(2-ethylhexyl) phthalate prepared by precipitation polymerization. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 405-412.

Li, P., Sengupta, A. 1998. Genesis Of Selectivity And Reversibility for Sorption of Synthetic Aromatic Anions onto Polymeric Sorbents. *Environ. Sci. Technol.* 32 , 3756–3766.

Li, T., Tang, Z., Hong, W. 2012. Determination of 17 phthalic acid esters in fatty food by dispersive solid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Chin. J. Anal. Chem.* 40, 391–396.

Li, X., Zeng, Z., Chen, Y., Xu, Y. 2004. Determination of phthalate acid esters plasticizers in plastic by ultrasonic solvent extraction combined with solid-phase microextraction using calix[4]arene fiber. *Talanta* 63, 1013–1019.

Li, X., Zhong, M., Xu, S., C. S. 2006. Determination of phthalates in water samples using polyaniline-based solid-phase microextraction coupled with gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1135, 101-108.

Li, Y., Fei, F., Zhang, K., Chen, Q., Li, Y. 2012. Migration analysis of DEHP from Inner Liner of Beer Bottle Caps by HPLC. *Procedia Environmental Sciences*, 12, 17–21.

Liu, H., Den, W., Chan, S., Kin, K. 2008. Analysis of trace contamination of phthalate esters in ultrapure water using a modified solid-phase extraction procedure and automated thermal desorption-gas chromatography/mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1188, 286–294.

Luks-Betlej, K., Popp, P., Janoszka, B., Paschke, H. 2001. Solid-phase microextraction of phthalates from water. *Journal of Chromatography A*, 938 , 93-101.
Lyche, L., Gutleb, A., Bergman, A., Erikson, S., Murk, A., Ropstad, E., et al. (2009). Reproductive and developmental toxicity of phthalates. *J. Toxicol. Environ. Health, Part B* 12, 225–249.

MAFF, 1996. *Food Surveillance Information Sheet: Phthalates in Food*. UK: Joint Food Safety and Standards Group, Vol. 1999.

Makkliang, F., Kanatharana, P., Thavarungkul, P., Thammakhet, C. 2015. Development of magnetic micro-solid phase extraction for analysis of phthalate esters in packaged food. *Food Chem.* 166, 275–282.

Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Ema, M. 2008. Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: a review of recent studies on reproduction. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 50, 37-49.

Meek, M., Chan, P. 1994. Bis(2-ethylhexyl)phthalate: evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada. *Journal of Environmental Science and Health Part C* 12, 179–194.

Meng, Bu, J., Deng, C., Zhang, X. 2011. Preparation of polypyrrole-coated magnetic particles for micro solid-phase extraction of phthalates in water by gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Journal of chromatography. A*, 1218, 1585–1591.

Mersiowsky, I., Ejlertsson, J., Stegmann, R., Svensson, B. 1999. *Long-term behaviour of PVC products under soil-buried and landfill conditions*. Hamburg, Germany: Report for Norsk Hydro ASA, ECVI, ECPI,ESPA and ORTEP.

Miodovnik, A., Edwards, A., Bellinger, D., Hauser, R. 2014. Developmental neurotoxicity of orthophthalate diesters: review of human and experimental evidence. *Neurotoxicology* 41, 112–122.

Mohan, S. V., Shailaja, S., Krishna, M. R., Sarma, P. 2007. Adsorptive removal of phthalate ester (Di-ethyl phthalate) from aqueous phase by activated carbon: A kinetic study. *Journal of Hazardous Materials*, 146, 278-282.

Mosbach, K., O.Ramström. 1996. The Emerging Technique of Molecular Imprinting and Its Future Impact on Biotechnology. *Bio/technology*, 14, 163-170.

Nakamiya, K., Hashimoto, S., Ito, H., Edmonds, J. S., A., Y., Morita, M. 2005. Microbial treatment of bis (2-ethylhexyl) phthalate in polyvinyl chloride with isolated bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99(2), 115–119.

Narula, P., Singh, R., Kaur, V., Malik, A. K. 2014. Recent Progress, Challenges and Prospects in Monitoring Plastic-Derived Xenoestrogens Using Molecularly Imprinted Sorbents. *Chromatographia*, 77, 207–221.

Official Journal of the European Union, 2011. COMMISSION REGULATION (EU) No 10/2011 of 14 January 2011. (s. 1-89). Brussel: European Union Commission Regulation (EU).

Osman, B., Özer, E. T., Beşirli, N., Güçer, Ş. 2013a. Development and application of a solid phase extraction method for the determination of phthalates in artificial saliva using new synthesised microspheres. *Polymer Testing*, 32, 810-818.

Osman, B., Özer, E. T., Demirbel, E., Güçer, Ş., Beşirli, N. 2013b. Synthesis and characterization of L-tryptophan containing microbeads for removal of dimethyl phthalate from aqueous phase. *Separation and Purification Technology*, 109, 40-47.

Osman, B., Özer, E. T., Kara, A., Güçer, Ş., Beşirli, N. 2012. Assesment of dimethyl phthalate removal from aqueous phase using barium hexaferrite containing magnetic beads. *Journal of Colloid and Interface Science*, 378, 167-174.

Ostrovský, I., Cabala, R., Kubinec, R., Górová, R., Blaško, J., Kubincová, J., et al. 2011. Determiation of phthalate sum in fatty food by gas chromatography . *Food Chem.* 124, 392–395.

Özer, E. T., Güçer, Ş. (2012). Determination of di(2-ethylhexyl) phthalate migration from toys into artificial sweat by gas chromatography mass spectrometry after activated carbon enrichment. *Polymer Testing*, 31, 474-480.

Özer, E. T., Güçer, Ş. 2011. Determiation of some phthalate acid esters in artificial saliva by gas chromatography-mass spectrometry after activated carbon enrichment. *Talanta*, 84, 362-367.

Pan, B., Du, W., Zhang, W., Zhang, X., Zhang, Q., Pan, B., et al. 2007. Improved adsorption of 4-nitrophenol onto a novel hyper-cross-linked polymer. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5057–5062.

Pauling, L. 1940. A Theory of the Structure and Process of Formation of Antibodies. *J. Am. Chem. Soc.*, 62, 2645-2655.

Penalver, A., Pocurull, E., Borrull, F., Marce, R. 2001. Comparison of different fibers for the solid-phase microextraction of phthalate esters from water. *J. Chromatogr. A* 922, 377–384.

Qi, P., Wang, J., Li, Y., Su, F., Jin, J., Chen, J. 2011. Molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with HPLC for the selective determination of monobutyl phthalate in bottled water. *Journal of Separation Science*, 34, 2712-2718.

Qiao, J., Wang, M., Yan, H., Yang, G. 2014. Dispersive solid-phase extraction based on magnetic dummy molecularly imprinted microspheres for selective screening of phthalates in plastic bottled beverages. *J Agric Food Chem* , 2782-2789.

R.Arshady, Mosbach, K. 1981. Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization. *Makromol. Chem.-Rapid.*, 182, 687-692.

Rezaee, M., Assadi, Y., Hosseini, M. M., Aghaee, E., Ahmadi, F., Berijani, S. 2006. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *J. Chromatogr. A* 1116, 1-9.

Rios, J., Morales, A., Márquez-Ruiz, G. 2010. Headspace solid-phase microextraction of oil matrices heated at high temperature and phthalate esters determination by gas chromatography multistage mass spectrometry. *Talanta* 80, 2076–2082.

Sanchez-Avila, J., Bonet, J., Velasco, G., Lacorte, S. 2009. Determination and occurrence of phthalates, alkylphenols, bisphenol A, PBDEs, PCBs and PAHs in an industrial sewage grid discharging to a Municipal Wastewater Treatment Plant. *Sci. Total Environ.* 407, 4157–4167.

Schwarzbauer, J., Heim, S., Krooss, B., Littke, R. 2006. Analysis of undisturbed layers of a waste deposit land fill—insights into the transformation and transport of organic contaminants. *Org Geochem* 37: 2026–2045.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON TOXICITY, ECOTOXICITY AND THE ENVIRONMENT (CSTEE), 1999. the toxicological characteristics and risks of certain citrates and adipates used as a substitute for phthalates as plasticisers in certain soft PVC products. (s. 1-11). European commission.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON TOXICITY, ECOTOXICITY AND THE ENVIRONMENT (CSTEE), 2001. Validation of methodologies for the release of diisononylphthalate (DINP) in saliva simulant from toys (2001 EUR 19826 EN). Brussels.

Self, R., W.H.Wu. 2012. Rapid qualitative analysis of phthalates added to food and nutraceutical products by direct analysis in real time/orbitrap mass spectrometry. *Food Control* 25, 13-16.

Sellergren, B. 2001. Imprinted chiral stationary phases in high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 906, 227-252.

Serodio, P., Nogueira, J. 2006. Considerations on ultra-trace analysis of phthalates in drinking water. *Water Res.* 40, 2572–2582.

Shaikh, H., Memon, N., Khan, H., Bhangar, M., Nizamani, S. 2012. Preparation and characterization of molecularly imprinted polymer for di(2-ethylhexyl) phthalate: Application to sample clean-up prior to gas chromatographic determination. *Journal of Chromatography A*, 1247, 125–133.

Shea, K. 2003. Pediatric exposure and potential toxicity of phthalate plasticizers. *Pediatrics* 111, 1467–1474.

Shibata, K., Fukuwatari, T., Sasak, R. 2007. Phthalate esters enhance quinolinate production by inhibiting amino-carboxymuconate-semialdehyde decarboxylase

(ACMSD), a key enzyme of the tryptophan-niacin pathway . *Int Congr Series 1304*: , 184–194.

Singh, A., Lawrence, W., Autian, J. 1974. Mutagenic and antifertility sensitivities of mice to di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and dimethoxyethyl phthalate (DMEP). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 29, 35–46.

Skoog, D.A., West D.M., 1981. Principles of Instrumental Analysis, II. Edition.

Skoog, D., Leary, J. 1992. Principles of Instrumental Analysis, Fort Worth: Harcourt Brace College Publishers.

Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., 1998. Principles of Instrumental Analysis, 5th Edition, Saunder College Publishing, Philadelphia.

Staples, C., Parkerton, T., Peterson, D. 2000. A risk assessment of selected phthalate esters in North American and Western European surface waters. *Chemosphere* 40, 885–891.

Staples, C., Peterson, D., Parkerton, T., Adams, W. J. 1997. The environmental fate of phthalate esters: A literature review. *Chemosphere* 35(4): 667–749.

Struve, M. F., Gaido, K. W., Hensley, J. B., al., K. P. 2009. Reproductive toxicity and pharmacokinetics of di-n-butyl phthalate (DBP) following dietary exposure of pregnant rats. *Birth Defects Research Part B - Developmental and Reproductive Toxicology* 86, 345-354.

Sui, H., Zhang, L., P.G.Wu, Song, Y., Yong, L., Yang, D., et al. 2014. Concentration of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in foods and its dietary exposure in China. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 217, 695–701.

Swan, S., Main, K., al., F. L. 2005. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect*, 113:1056-61.

Tamayo, F., Turiel, E., Martín-Esteban, A. 2007. Molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction and solid-phase microextraction: Recent developments and future trends. *J. Chromatogr. A*, 1152, 32-40.

Tan, B., Hawker, D., Muller, J., Tremblay, L., Chapman, H. 2008. Stir bar sorptive extraction and trace analysis of selected endocrine disruptors in water, biosolids and sludge samples by thermal desorption with gas chromatography-mass spectrometry. *Water Res.* 42, 404–412.

THE COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 2007. COMMISSION DIRECTIVE 2007/19/EC . (s. 1-20). Official Journal of the European Union.

Tsumura, Y., Ishimitsu, S., Kaihara, A., Yoshii, K., Y.Tonogai. 2002. Phthalates, adipates, citrate and some of the other plasticizers detected in Japanese retail foods: a survey. *J. Health Sci.* 48, 493–502.

Turiel, E., Martin-Esteban, A. 2005. Molecular imprinting technology in capillary electrochromatography. *J. Sep. Sci.*, 28, 719-728.

US EPA, 1981. *Exposure and risk assessment for phthalate esters: di(2-ethylhexyl) phthalate, di-n-butyl phthalate, dimethyl phthalate, diethyl phthalate, di-n-octyl phthalate, butyl benzyl phthalate: Final Report.* Washington, DC, USA: Environmental Protection Agency.

USFDA, 2010. *Code of Federal Regulations Title 21 (Food and Drugs).* <http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/cfr-table-search.html>. adresinden alınmıştır.

W.Wang, Craig, Z., Basavarajappa, M., Gupta, R., Flaws, J. 2012. Di (2-ethylhexyl) phthalate inhibits growth of mouse ovarian antral follicles through an oxidative stress pathway. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 258, 288–295.

Wang, W., Xu, X., Fan, C. 2015. Health hazard assessment of occupationally di-(2-ethylhexyl)-phthalate-exposed workers in China. *Chemosphere* 120, 37–44.

Wilkinson, C. F., Lamb, J. C. 1999. The potential health effects of phthalate esters in children's toys: a review and risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 140–155.

Wilkinson, F., IV, J. C. 1999. The Potential Health Effects of Phthalate Esters in Children's Toys: A Review and Risk Assessment. *Regul. Toxicol. Pharm.* 30, 140–155.
Wolska, D. J., & Bryjak, M. (2012). Sorption of Phthalates on Molecularly Imprinted Polymers. *Separation Science and Technology*, 47, 1316-1321.

Wormuth, M., Scheringer, M., Vollenweider, M., Hungerbühler, K. 2006. What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans? *Risk Analysis*, 26(3), 803–824.

Xu, Z., Zhang, W., Pan, B., Hong, C., Lv, L., Zhang, Q., et al. 2008. Application of the Polanyi potential theory to phthalates adsorption from aqueous solution with hyper-cross-linked polymer resins. *Journal of colloid and interface science*, 319, 392–397.

Y.Lu, Li, C., Liu, X., Huang, W. 2002. Molecular Recognition Through the Exact Placement of Functional Groups on Non-Covalent Molecularly Imprinted Polymers. *Journal of Chromatography A*, 950, 89-97.

Yan, H., Row, H. 2006. Characteristic and synthetic approach of molecularly imprinted polymer. *Int. Jour. Mol. Sci.*, 7, 155-178.

Yan, H., Cheng, X., Liu, B. 2011. Simultaneous determination of six phthalate esters in bottled milks using ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography . *J. Chromatogr. B* 879, 2507–2512.

Yan, H., Cheng, X., Yang, a. G. 2012. Dummy Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction for Selective Determination of Five Phthalate Esters in Plastic Bottled Functional Beverages. *J. Agric. Food Chem.* 60, 5524–5531.

Yan, M., Ramstrom, O. 2005. Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology. *Marcel Dekker, New York, NY*, 1-729.

Yang, J., Li, Y., Y.Wang, J.Ruan, J.Zhang, C.Sun. 2015. Recent advances in analysis of phthalate esters in foods. *TrAC Trends in Analytical Chemistr* , 10-26.

Yeşilkaya, E. 2008. Endokrin Bozucular. *Endokrin Bozucular Derleme Güncel Pediatri* 6:76-82.

Yongfeng, K., Wuping, D., Yan, L., Junxia, K., Jing, X. 2012. Molecularly imprinted polymers of allyl- β -cyclodextrin and methacrylic acid for the solid-phase extraction of phthalate . *Carbohydrate Polymers* 88, 459– 464.

Zafra-Gómez, A., Ballesteros, O., Navalón, A., Vílchez, J. L. 2008. Determination of some endocrine disrupter chemicals in urban wastewater samples using liquid chromatography-mass spectrometry. *Microchemical Journal* 88, 87-94.

Zhang, Z., Hu, Y., Zhao, L., Li, J., Bai, H., Zhu, D., et al. 2011. Estrogen agonist/antagonist properties of dibenzyl phthalate (DBzP) based on in vitro and in vivo assays. *Toxicol. Lett.* 207, 7–11.

Zhou, J., Cai, Z., Xing, K. 2011. Potential mechanisms of phthalate ester embryotoxicity in the abalone *Haliotis diversicolor supertexta*. *Environ. Pollut.* 159, 1114–1122.

Zhu, L., Zhu, T., Ma, Y., Ni, Y., Y.Wang, Yan, Q. 2013. Rapid determination of 15 phthalates esters in vegetable juices by hollow fiber-liquid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Chin. J. Anal. Chem.* 41, 1019–1024.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tuğçe YAZICI
Doğum Yeri ve Tarihi : BURSA – 26/11/1991
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Bursa Cumhuriyet Lisesi, 2009
Lisans :Uludağ Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2014
Yüksek Lisans :Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri
Enstitüsü, Kimya A.B.D., Analitik Kimya
Bilim Dalı, 2016

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : -
İletişim (e-posta) : tugce.111991@gmail.com
Yayınları* : -