

**SULU ÇÖZELTİLERDEKİ N-NİTROZODİFENİLAMİNİN
GAMA-IŞINLARI İLE BOZUNMASI**

**DEGRADATION OF N-NITROSODIPHENYLAMINE IN
AQUEOUS SOLUTIONS BY GAMMA-IRRADIATION**

SİNEM DEMİR

PROF. DR. DİLEK ŞOLPAN ÖZBAY

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisanüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğinin
Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

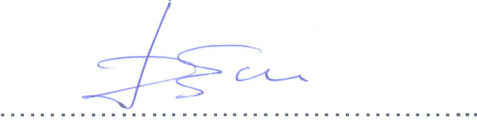
2016

SİNEM DEMİR'in hazırladığı “**Sulu Çözeltilerdeki N-nitrozodifenilaminin Gama-Işınları İle Bozunması**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Bekir SALİH
Başkan



Prof. Dr. Dilek ŞOLPAN ÖZBAY
Danışman



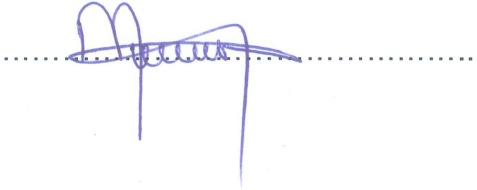
Prof. Dr. Murat ŞEN
Üye



Prof. Dr. Uğur Adnan SEVİL
Üye



Doç. Dr. Murat TORUN
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Salih Bülent ALTEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



Anne re Sabana...

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

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

beyan ederim.

19/12/2016

SİNEM DEMİR

ÖZET

SULU ÇÖZELTİLERDEKİ N-NİTROZODİFENİLAMİNİN GAMA- IŞINLARI İLE BOZUNMASI

SİNEM DEMİR

Yüksek Lisans, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek ŞOLPAN ÖZBAY

Aralık 2016, 117 sayfa

Nitrozaminler bileşiklere doğrudan katılan maddeler olmayıp, bir takım reaksiyonlar ya da kimyasal etkileşmeler sonucu oluşan maddelerdir. Ayrıca in vivo olarak canlı organizmalarda da şekillenebilirler. Nitrozaminlerden karsinojenik tesirleri ve toksik etkileri bilinen ilk bileşik, dimetilnitrozamindir (NDMA). Bu madde endüstride çözücü olarak kullanılmakta olup, aynı zamanda dimetilamin-nitrit etkileşmesi ile de oluşabilmektedir. Aminler ise bilindiği gibi doğada çok yaygın olarak bulunurlar. Çoğunlukla da nitrit ile etkileşme sonucu nitrozlanarak nitrozaminlere dönüşürler. Nitrozaminler polar bileşiklerdir ve genellikle suda iyi çözünürler. Oktanol/su dağılma katsayısı oldukça düşük olduğu için organik çözücülere ekstrakte edilmesi de güçtür. Bu bileşikler aynı zamanda apolar yüzeylere anlamlı bir boyutta adsorbe olmamaktadır. Henry sabitleri küçük olduğu için nitrozaminler sudan havalandırma ile uzaklaştırılamamaktadır. Nitrozaminler polar bileşikler olup biyoyığılma özelliği göstermezler ama bunun yanında çok zor biyobozunma özelliği gösterirler. Nitrozaminlerin yüksek hidrofilitiklik, az

adsorblanabilirlik ve kimyasal dayanıklılık özellikleri yeryüzü suları kirliliği için önemli bir risk oluşturmaktadır. Bunun yanında, kullanıcılar için en önemli tehlike içme suyunun kloraminlerle veya diğer dezenfektanlarla dezenfeksiyonu sırasında NDMA ve diğer tür nitrozaminlerin oluşmasıdır. Kimyasal özelliklerinden dolayı 225-250 nm dalga boyundaki ışınları kuvvetlice absorblamaları nedeniyle sudaki nitrozaminlerin fotolitik bozunması mümkün olabilir. NDMA'nın UV ile bozunması sonucu oluşan ana bozunma ürünlerinden birisi dimetilamin (DMA) olup bu bileşik UV'nin seçimli olarak enerjisini belli kromofor gruplara aktarması nedeniyle ile bozunamamaktadır ve DMA'dan tekrar NDMA oluşumuna yol açan madde (öncül) durumundadır. Önemli olan NDMA veya diğer tür nitrozaminlerin bozunduktan sonra tekrar nitrozaminleri oluşturmamalarıdır. Fotodegradasyonla bu mümkün değildir.

Endüstriyel uygulamalar sonucu atık sularda ve içme sularında bulunan nitrozaminler dezenfeksiyon yan ürünü olarak da oluşabilirler. Sularda tayin edilebilen çoğu nitrozamin kanserojeniktir. Bu çalışmada sudan N-nitrozodifenilaminin (NDPhA) geri kazanımı ve kromatografik olarak ara ürünlerinden ayrılmasına çalışılmıştır.

Katı faz ekstraksiyonu (SPE) örnek hazırlama metodu olup analitin çözüldüğü safılaştırılmasında ve deriştirilmesinde adsorbent madde bulunan tek kullanımlık kolondan geçirilmesi sonrasında adsorbent üzerine tutunan maddenin uygun bir organik çözücü ile geri kazanılarak istenilen analizlere uygun hale getirmek için kullanılır. Bu çalışmada NDPhA'nın sulu çözeltilerinden deriştirilmesi, kullanılan SPE sistemindeki parametrelerin kararlaştırılması ve tekrarlanabilirlik üzerine çalışılmıştır. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile C18 (1000 mg) kartuşlar kullanılarak SPE sonrası tekrarlanabilirlik analizleri Dionex ICS 3000 tarafından gerçekleştirilmiştir. NDPhA'nın düşük derişimlerdeki çözeltileri 0,01-2 mg/L aralığında hazırlanarak otomatik SPE sistemine verilmiştir. Sudaki NDPhA'nın organik faza alınma verimini arttırmak için adsorbent olarak Karboksen 572 (Carboxen 572) (Supelco, 20/45 mesh size), Alümina (BDH, for chromatographic adsorption analysis), Alümina (BDH, calcined) ve Aktif Kömür (Active Coal) (Fluka, from peat, multi-purpose, steam activated and acid washed, powder) kullanılmıştır. Bu sistemde optimum deney koşulları, kartuş materyali, çözücü sayısı ve hacmi, analiz edilecek çözeltinin hacmi parametreleri kararlaştırılmıştır. NDPhA metil alkolle ekstrakte edilmiş olup Dionex ICS 3000 HPLC sistemi ile analiz edilmiştir.

Sonuçlara göre geri kazanım yüzdesi %97 olarak bulunmuştur. Sulu çözeltilerden NDPhA'nın ayrılmasında C18 kartuşunun kullanılması daha etkili olmuştur.

Bu aşamada nitrozaminlerin gama radyasyonuna maruz bırakılması ve seçimli olmayan, nüfuz etme özelliği çok yüksek olan gama ışınları ile bozunma ürünleri de parçalanabilecek ve tekrar nitrozamin oluşumu gerçekleşmeyecektir.

Bu çalışmada nitrozaminlerin yapısının gama ışınları ile bozunması, bozunma ürünlerinin tespiti ve miktar analizi, hangi ışınlama dozlarında bozunma ürünlerinden tekrar nitrozamin oluşumunun gerçekleşip gerçekleşmeyeceğinin takibi yapılmıştır. Bu çalışma 2,21 kGy gama radyasyonuna maruz bırakılan NDPhA'nın tamamen degradasyona uğradığını göstermektedir. NDPhA'nın bozunma ürünlerinin tespitinde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), iyon kromatografisi (IC) ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemleri kullanılmıştır. Bu çalışma ile hem insan sağlığını kansere karşı korumak ve su kaynaklarından nitrozaminleri uzaklaştırmak veya miktarlarını minimuma indirebilmek amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gama-ışınlaması, nitrozaminler, bozunma ürünleri, atıksu arıtımı, radyoliz ürünleri.

ABSTRACT

DEGRADATION OF N-NITROSODIPHENYLAMINE IN AQUEOUS SOLUTIONS BY GAMMA-IRRADIATION

SİNEM DEMİR

Master of Science, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Dilek ŞOLPAN ÖZBAY

December 2016, 117 pages

Nitrosoamines are not added to the compounds directly, their formation follows some consecutive reactions or chemical interactions. They can also be formed in living organisms as in vivo. Dimethylnitrosoamine (NDMA) is the first nitrosoamine compound known as cancerogenic and toxic. This compound is used as solvent in industry and can be also formed with the interaction of dimethylamine-nitrite. Amines are present in environment widely. Generally they are converted to nitrosoamines with nitrite by nitrosation. Nitrosoamines are polar compounds and generally their solubility in water is high. Their extraction to organic solvents is difficult because octanol/water partition coefficients are very low. These compounds can not be adsorbed on nonpolar surfaces significantly. Nitrosamines cannot be removed from water by aeration since their Henry constants are low. Nitrosamines are polar compounds and they do not biofloculate but they resist on biodegradation. High hydrophilicity, low adsorbability and high resistance of nitrosamines are important risks for ground water pollution. In addition to this, the most important risk for consumers is formation of NDMA and other nitrosoamines during disinfection of drinking water with disinfectants. Photolytic decomposition of

nitrosoamines is possible because their absorbance is strong at 225-250 nm wavelength. One of the main UV degradation product of NDMA is dimethylamine (DMA) can transfer the energy of UV selectively to certain chromophore groups so can not be decomposed and it is precursor of NDMA. It is important that NDMA or other nitrosoamines should not reform nitrosoamines after decomposition. It is not possible by photodegradation.

Nitrosamines can be found in waste waters and drinking water because of industrial applications as well as during disinfection of supply water. Most of the nitrosamines were detected in water which are carcinogenic. In this study N-Nitrosodiphenylamine (NDPhA) is selected and its chromatographic separation from its intermediates after recovery from water was examined.

Solid phase extraction (SPE) is a method of sample preparation that concentrates and purifies analytes from solution by sorption onto a disposable solid phase cartridge, followed by elution of the analyte with a solvent appropriate for instrumental analysis. In this study, the concentration process for aqueous solutions of NDPhA and the experimental conditions such as determination of experimental parameters and reproducibility after SPE were studied. The recovery of NDPhA were followed by using Dionex ICS 3000 system after SPE process by Thermo Dionex AT 280 with Thermo Scientific Solex C18 cartridge (1000 mg). Low concentration solutions of NDPhA were prepared and used for the auto-concentrator system which are carried out at different NDPhA concentrations in water, varying from 0.01 to 2 mg/L. To increase the yield of NDPhA extraction into the organic solvent, Carboxen 572 (Supelco, 20/45 mesh size), Alumina (BDH, for chromatographic adsorption analysis), Alumina (BDH, calcined) and Active Coal (Fluka, from peat, multi-purpose, steam activated and acid washed, powder) were used and used as filling materials.

In this system, the aim was to determine the optimum experimental conditions, including filling material, volume of solvents, number of solvents, volume of the analyzed solution. NDPhA was eluted with methyl alcohol and analyzed by Dionex IC 3000 HPLC. The results are shown that the recovery yield was up to %97. Using C18 cartridge was found to be more efficient method to separate NDPhA from aqueous solution.

At this stage, treatment of nitrosoamines with gamma-irradiation and degradation products can be decomposed with nonselective high permeation of gamma rays and formation of nitrosoamines have been prevented.

In this study, decomposition of N-nitrodiphenylamine with gamma-rays, detection of decomposition products and amount determination investigated, nitrosoamine initial concentrations in which gamma radiation dose have been realized to prevent reformation of nitrosoamine from decomposition products. The results of this study showed that gama irradiation alone can degrade the compound at 2.21 kGy. High pressure liquid chromatography (HPLC), ion chromatography (IC) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) methods for determination of N-nitrodiphenylamine (NDPhA) and its degradation products in aqueous system was studied. Our aim in this study is to protect human health from cancer and removal of nitrosoamines or decrease the amounts of nitrosoamines as minimum as possible in water sources.

Keywords: Gamma-irradiation, nitrosoamines, degradation products, wastewater treatment, radiolysis products.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, samimiyetiyle beni yönlendiren ve bana yol gösteren, ilgisini her zaman üzerimde hissettiğim değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Dilek ŞOLPAN ÖZBAY'a;

Çalışmalarım boyunca yardımını ve desteğini esirgemeyen, her türlü soruma sabırla cevap veren sevgili hocam Doç. Dr. Murat TORUN'a;

Çalışmalarım boyunca büyük desteğini gördüğüm büyüğüm Hüseyin ÖZBAY'a;

Çalışmalarım boyunca yardımını benden esirgemeyen laboratuvar çalışma arkadaşım Masoomeh MEHRNIA'ya ve tez dönemimde her türlü moral desteği için yanımda olan arkadaşım Şeyma BEKTAŞ'a;

Lisans eğitimimde hayatıma girmiş olup eğitim hayatımın dışında da her koşulda varlığını ve desteğini hissettiren dostum Oya BAL'a;

Tez dönemi sürecimde her türlü desteği sağlayarak yanımda olan Gülay-Gürkan YENİHAYAT çiftine;

Hayatımın her döneminde maddi ve manevi her türlü desteği bana sağlayarak göstermiş oldukları sabır ve anlayışlarıyla almış olduğum her kararda koşulsuz yanımda olan canım annem, babam ve aileme;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER	x
ÇİZELGELER	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Su	3
2.1.1. Su Kaynakları	3
2.1.2. Yeraltı Suları	3
2.1.3. Su Kirliliği	4
2.2. Radyasyon Kimyası	5
2.2.1. Radyasyon Türleri	6
2.2.1.1. İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon	6
2.2.1.2. İyonlaştırıcı Radyasyon	6
2.3. Radyasyon ve Çevre	7
2.4. Atıksu Arıtımında Radyasyon Teknolojisi	8
2.5. Gama Işınlama Teknolojisi	9
2.6. Suyun Radyolizi	9
2.6.1. Suyun Radyoliz Mekanizması	11
2.6. Nitrozaminler	13
2.6.1. N-nitrozo Bileşiklerinin Kaynakları	16
2.6.2. N-nitrozo Bileşiklerinin Olası Oluşma Reaksiyonları	18
2.6.3. N-nitrozo Bileşikleri ve Kansere İlişkisi	20
2.6.4. N-nitrozo Bileşiklerine Maruz Kalma Yolları	21
2.6.5. Nitrozaminlerin Tanımlanması ve Analizi	22
2.6.6. Nitrozaminlerin Bozunmasında Kullanılan Su Arıtım Teknolojileri	22
2.7. N-nitrozodifenilamin	24
2.8. Ekstraksiyon	25
2.8.1. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)	25
2.8.2. SPE Metodunda Maddelerin Ayrılma Prensipleri	27
2.8.3. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyonu (ASPE)	29
2.9. Kromatografi	30

2.9.1. Gaz Kromatografisi.....	30
2.9.1.1. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS)	31
2.9.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	31
2.9.3. İyon Kromatografisi (IC).....	31
3. MATERYAL VE YÖNTEM	32
3.1. Kullanılan Kimyasallar	32
3.2. Cihazlar Ve Analitik Yöntemler	33
3.2.1. Kobalt-60 Gama Kaynağı	33
3.2.2. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyon Sistemi (ASPE).....	34
3.2.2.1. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyon Sisteminin Programlanması	34
3.2.2.2. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyonunda Alternatif Kolon Dolgu Maddelerinin Kullanımı	35
3.3.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizleri	38
3.3.4. İyon Kromatografisi (IC) Analizleri	39
3.3.5. Türevlendirme	40
3.3.6. GC-MS Analizleri	41
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	42
4.1. Analitik Yöntem Geliştirilmesi	42
4.2. HPLC Yöntemi Kullanılarak NDPhA ve DPhA Standartlarının Kalibrasyon Eğrilerinin Oluşturulması	54
4.3. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyonu Dolgu Malzemesi Optimizasyonu	57
4.3.1. Alternatif Kolon Dolgu Maddelerinin Optimizasyonu.....	57
4.3.2. C18 Kartuşlarının Optimizasyonu	61
4.4. Gama Işınlamasıyla NDPhA'nın Bozunması	64
4.4.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi Kullanılarak Miktar Tayini	64
4.4.1.1. HPLC Yöntemi Kullanılarak NDPhA ve DPhA Miktar Tayini	64
4.4.1.2. HPLC Yöntemi Kullanılarak Fenolik Bileşiklerin Tayini	73
4.4.2. Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	74
4.4.3. İyon Kromatografisi Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	83
4.5. HPLC, GC-MS ve IC Sonuçlarına göre Gama ışınlaması sonucu NDPhA için önerilen bozunma mekanizması	86
5. SONUÇLAR	88
KAYNAKLAR.....	92
ÖZGEÇMİŞ	96

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 2.1. Radyasyon türleri [11].	6
Şekil 2.2. Radyasyon türlerinin giricilik özellikleri.	7
Şekil 2.3. Gama ışınları oluşumunun şematik gösterimi [11].	9
Şekil 2.4. Suyun radyolizi: İyonlaştırıcı radyasyon sonucu suda oluşan serbest radikal türlerin şematik gösterimi [14].	10
Şekil 2.5. Suyun radyolizinin üç aşaması esnasında oluşan ana reaksiyonlar.	12
Şekil 2.6. Bazı nitrozaminler ve kimyasal yapıları [22].	15
Şekil 2.7. Bazı ikincil aminlerin kimyasal yapıları.	17
Şekil 2.8. DMA ve monokloramin varlığında NDMA için önerilen oluşum reaksiyonu [30].	20
Şekil 2.9. N-nitrozodifenilamin kimyasal yapısı.	25
Şekil 2.10. Katı Faz Ekstraksiyonu işlem basamakları.	27
Şekil 2.11. Thermo Scientific AT 280 Autotrace Otomatik SPE Sistemi ve Kartujları.	30
Şekil 3.1. Kobalt-60 gama kaynağı.	33
Şekil 3.2. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyon Sistemi.	34
Şekil 3.3. Boş kartuş kılıfının dolgu malzemeleriyle doldurulması.	35
Şekil 3.4. İyon Kromatografisi cihazı.	39
Şekil 3.5. Bazı fonksiyonel grupların MSTFA ile TMS esterlerine dönüştürülmesi.	40
Şekil 3.6. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi cihazı.	41
Şekil 4.1. DCM'de hazırlanmış 10 ppm ve 5 ppm standart NDPhA için HPLC kromatogramı.	42
Şekil 4.2. Suda hazırlanan değişik derişimlerdeki NDPhA çözeltisinin Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici (100 kat deriştirme) ile diklorometana ekstrakte edildikten sonraki HPLC kromatogramları.	43
Şekil 4.3. 20 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %50/%50 ve metil alkol içinde hazırlanmış standart).	44
Şekil 4.4. 20 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %65/%35 ve metil alkol içinde hazırlanmış standart).	45
Şekil 4.5. NDPhA standartlarının kromatogramları (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkol içinde hazırlanmış standartlar).	45
Şekil 4.6. NDPhA için oluşturulan kalibrasyon doğrusu (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkol içinde hazırlanmış standartlar).	46
Şekil 4.7. 2,5 ppm NDPhA için HPLC kromatogramları (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkol içinde hazırlanmış standartlar).	47

Şekil 4.8. 5 ppm NDPhA için HPLC kromatogramları (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkol içinde hazırlanmış standartlar).	47
Şekil 4.9. 0,025 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme).	49
Şekil 4.10. 0,05 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme).	50
Şekil 4.11. 0,125 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme).	50
Şekil 4.12. 0,25 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme. NDPhA bu durumda çok derişik olduğu için metil alkol ile deriştirme oranı 50 kata düşürülmüştür.).	51
Şekil 4.13. 0,5 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme. NDPhA bu durumda çok derişik olduğu için metil alkol ile deriştirme oranı 25 kata düşürülmüştür.).	51
Şekil 4.14. 1 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme. NDPhA bu durumda çok derişik olduğu için metil alkol ile deriştirme oranı 20 kata düşürülmüştür.).	52
Şekil 4.15. 2 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme. NDPhA bu durumda çok derişik olduğu için metil alkol ile deriştirme oranı 10 kata düşürülmüştür.).	52
Şekil 4.16. 0,1 ppm NDPhA için HPLC kromatogramları (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme).	53
Şekil 4.17. NDPhA standartları için HPLC kromatogramları (Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkolde hazırlanmış standartlar).....	55
Şekil 4.18. DPhA standartları için HPLC kromatogramları (Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkolde hazırlanmış standartlar).....	55
Şekil 4.19. NDPhA için oluşturulan kalibrasyon doğrusu (Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkolde hazırlanmış standartlar).....	56
Şekil 4.20. DPhA için oluşturulan kalibrasyon doğrusu (Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkolde hazırlanmış standartlar).....	57
Şekil 4.21. Karboksen dolgu maddesinden geçirilen 0,1 ppm NDPhA için metil alkol ve diklorometana ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı(%v/v) %80/%20).	58
Şekil 4.22. Alümina (kromatografik analize uygun saflıkta) dolgu maddesinden geçirilen 0,1 ppm NDPhA için metil alkol ve diklorometana ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).....	59
Şekil 4.23. Alümina (kalsine) dolgu maddesinden geçirilen 0,1 ppm NDPhA için metil alkol ve diklorometana ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).....	60

Şekil 4.24. Aktif kömür dolgu maddesinden geçirilen 0,1 ppm NDPhA için metil alkol ve diklorometana ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).	60
Şekil 4.25. C18 kartuşundan geçirilen 0,1 ppm NDPhA için metil alkole ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).....	62
Şekil 4.26. C18 kartuşundan geçirilen 0,25 ppm DPhA için metil alkole ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).....	63
Şekil 4.27. 1,74 kGy ışınlanmış 2 ppm NDPhA (100 kat deriştirilmiş) için HPLC kromatogramı.	64
Şekil 4.28. 1,74 kGy ışınlanmış ve 10 gün karanlıkta bekletilmiş 2 ppm NDPhA (100 kat deriştirilmiş) için HPLC kromatogramı.	65
Şekil 4. 29. 20 ppm DPhA için HPLC kromatogramı.	65
Şekil 4.30. (a) 1,74 kGy ışınlanmış ve 10 gün bekletilmiş NDPhA numunesinin C18 kartuşta tutunmuş görüntüsü, (b) 1,74 kGy ışınlanmamış (bekletilmemiş) NDPhA numunesinin C18 kartuşta tutunmuş görüntüsü.	66
Şekil 4.31. C18 kartuş ile sudan diklorometan fazına geçirilmiş (a) 1,74 kGy ışınlanmış NDPhA (10 gün karanlıkta ve ağız kapalı bekletilen), (b) 1,74 kGy ışınlanmış NDPhA (bekletilmeyen), (c) ışınlanmamış NDPhA örneklerinin görüntüsü.	66
Şekil 4.32. C18 kartuşundan geçirilen ışınlanmış sulu 2 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (50 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).....	67
Şekil 4.33. C18 kartuşundan geçirilen ışınlanmış sulu 2 ppm NDPhA (ışılandıktan sonra 10 gün kapalı bir şişede ve karanlık ortamda bekletilmiş) için HPLC kromatogramı (50 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).....	68
Şekil 4.34. 2 ppm NDPhA çözeltilerinin ışınlaması sonucu oluşan ara ürün DPhA miktarının ışınlama dozu ile değişimi.....	69
Şekil 4.35. NDPhA ve DPhA için C16 kolonda alıkonma zamanlarının belirlenmesi.	70
Şekil 4.36. 2 ppm sulu NDPhA için HPLC kromatogramlarının ışınlama dozu ile değişimi (7,5 kat deriştirme).	71
Şekil 4.37. 2 ppm sulu NDPhA miktarının ışınlama dozu ile değişimi.....	71
Şekil 4.38. 2 ppm sulu NDPhA'nın bozunma yüzdesinin ışınlama dozu ile değişimi.	72
Şekil 4.39. 2 ppm sulu NDPhA'nın ışınlaması sonucu oluşan ara ürün DPhA miktarının ışınlama dozu ile değişimi.....	73
Şekil 4.40. NDPhA bozunması sonucu oluşabilecek bazı olası araürünlerin alıkonma zamanı: Kolon C18, hareketli faz su (asetik asit-amonyum asetat tamponu)-metil alkol. Standartlar ; 1: p-amino fenol 2: hidrokinon 3: resorsinol 4: katekol 5: benzoik asit 5: fenol 7: benzaldehit 8: p-nitro fenol 9. m-nitro fenol 10: asetofenon 11: o-nitro fenol (her biri 20 ppm).....	74
Şekil 4.41. Değişik derişimlerdeki NDPhA için GC kromatogramları.	75

Şekil 4.42. NDPhA için oluşturulan kalibrasyon doğrusu.....	75
Şekil 4.43. 0,01 ppm NDPhA için GC kromatogramları (500 mL NDPhA standartı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, sonraki işlemler sonucu 100 kat deriştirme sonucu 1 ppm NDPhA).....	76
Şekil 4.44. 2 ppm sulu NDPhA için GC kromatogramlarının ışınlama dozu ile değişimi.	77
Şekil 4.45. 2 ppm sulu NDPhA'nın 1,83 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürün gaz kromatogramı (11,38 ve 11,40 dakika).	79
Şekil 4.46. 2 ppm sulu NDPhA'nın 1,83 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürün gaz kromatogramı (21,05 ve 21,08 dakika).	79
Şekil 4.47. 2 ppm NDPhA'nın 1,83 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürünler. (Ara ürünler TMS esteri olarak ve verilen bileşiklerin izomerleri olarak gözlenmiştir.).....	80
Şekil 4.48. 2 ppm NDPhA'nın 1,83 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürüne ait kütle spektrumu. (Alıkonma süresi: 11,38, Resorsinol).	80
Şekil 4.49. 2 ppm NDPhA'nın 1,83 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürüne ait kütle spektrumu (Alıkonma süresi: 21,05, p-nitro fenol).	80
Şekil 4.50. 2 ppm NDPhA'nın 2,21 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürünlerin gaz kromatogramı.	81
Şekil 4.51. 2 ppm NDPhA'nın 2,21 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürünler. (Ara ürünler TMS esteri olarak gözlenmiştir.).....	81
Şekil 4.52. 2 ppm NDPhA'nın 2,21 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürüne ait kütle spektrumu (Alıkonma süresi: 5,17 dk, Laktik Asit).	82
Şekil 4.53. 2 ppm NDPhA'nın 2,21 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürüne ait kütle spektrumu (Alıkonma süresi: 11,48 dk, monoamidoetil malonik asit).	82
Şekil 4.54. NDPhA'nın ışınlama ile bozunma sonrası oluşabilecek olası ara ürünler için iyon kromatogramı; 1: asetik asit, 2: formik asit, 3: propiyonik asit 4: valerik asit, 5: c,t-mukonik asit, 6: nitrit, 7: nitrat, 8: glutarik asit 9: süksinik asit, 10: malonik asit, 11: maleik asit, 12: okzalik asit, 13: c,c-mukonik asit, 14: t,t-mukonik asit, 15: sitrik asit. (Bütün bileşiklerin derişimi 3 ppm).	83
Şekil 4.55. 2 ppm NDPhA'nın gama ışınları ile ışınlanması sonucu IC ile gözlenen olası ürünler.....	84
Şekil 4.56. 2 ppm NDPhA'nın gama ışınları ile ışınlanması sonucu IC ile gözlenen olası ürünler (4,2 dak, asetik asit ve 4,6 dak, formik asit).	84
Şekil 4.57. 2 ppm NDPhA'nın gama ışınları ile ışınlanması sonucu IC ile gözlenen olası ürünü (9,7 dak, nitrit).....	85
Şekil 4.58. 2 ppm NDPhA'nın gama ışınları ile ışınlanması sonucu IC ile gözlenen olası ürünleri (16,7 dak, malonik asit; 17,7 dak, maleik asit).	85
Şekil 4.59. Gama ışınları ile NDPhA'nın bozunması için önerilen mekanizma.	87

ÇİZELGELER

Sayfa

Çizelge 2.1. Suyun radyoliz sonucunda oluşan radikal ve moleküler ürün verimleri.	11
Çizelge 2.2. Suyun radyolizine ait hız sabitleri.	13
Çizelge 2.3. SPE metodunda kullanılan çözücüler.	27
Çizelge 2.4. Katı Faz Ekstraksiyonu adsorbentleri.	28
Çizelge 3.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi cihazı kullanılarak tespit ve miktar tayininde kullanılan standartlar.	32
Çizelge 3.2. İyon Kromatografi cihazı kullanılarak organik alifatik asit, nitrit ve nitrat tespitinde kullanılan standartlar.	33
Çizelge 3.3. Thermo Dionex AT 280 oto deriştiricisi ile NDPhA katı faz ekstraksiyonu için yapılan program.	34
Çizelge 3.4. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için yapılan katı faz ekstraksiyonu programı. Dolgu malzemesi Karboksen, organik faz (a) Diklorometan, (b) Metil alkol.	35
Çizelge 3.5. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için yapılan katı faz ekstraksiyonu programı. Dolgu malzemesi Alümina (kromatografik analize uygun saflıkta), organik faz (a) Diklorometan, (b) Metil alkol.	36
Çizelge 3.6. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için yapılan katı faz ekstraksiyonu programı. Dolgu malzemesi Kalsine alümina, organik faz (a) Diklorometan, (b) Metil alkol.	37
Çizelge 3.7. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için yapılan katı faz ekstraksiyonu programı. Dolgu malzemesi Aktif kömür, organik faz (a) Diklorometan, (b) Metil alkol.	37
Çizelge 3.8. HPLC cihazının analitik parametreleri.	38
Çizelge 3.9. HPLC cihazının analitik parametreleri.	39
Çizelge 3.10. İyon Kromatografi (IC) cihazının analitik parametreleri.	40
Çizelge 3.11. GC/ MS çalışma koşulları.	41
Çizelge 4.1. Gradyent mobil faz için yapılan akış programı (A çözeltisi: %10 asetonitril, %90 su; B çözeltisi: %90 asetonitril, %10 su).	42
Çizelge 4.2. 2,5 ppm NDPhA için kromatogramların analitik parametreleri.	48
Çizelge 4.3. 5 ppm NDPhA için kromatogramların analitik parametreleri.	48
Çizelge 4.4. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile yapılan katı faz ekstraksiyonları sonucu elde edilen veriler.	48
Çizelge 4.5. C18 kartuşun NDPhA tutulmasındaki verimi.	53
Çizelge 4.6. C18 kartuşun 0,1 ppm NDPhA'yı tutma verimi.	54
Çizelge 4.7. Karboksen dolgu malzemesi için NDPhA ekstraksiyon verimi.	58

Çizelge 4.8. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için C18 (1000 mg) kartuşu ile yapılan katı faz ekstraksiyonu sonucu elde edilen HPLC kromatogramlarının analitik parametreleri.	62
Çizelge 4.9. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile DPhA için C18 (1000 mg) kartuşu ile yapılan katı faz ekstraksiyonu sonucu elde edilen HPLC kromatogramlarının analitik parametreleri.	63
Çizelge 4.10. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için C18 (1000 mg) kartuşu ile yapılan katı faz ekstraksiyonu sonucu elde edilen GC/MS kromatogramlarının analitik parametreleri.	76
Çizelge 4.11. Işınlama dozu ile bozunmadan geriye kalan NDPhA derişimi değişiminin HPLC ve GC/MS ile sonuçlarının karşılaştırılması.	78
Çizelge 4.12. Işınlama dozunun 2 ppm NDPhA çözeltilerinin pH değerlerindeki değişimine etkisi.	86



SİMGELER VE KISALTMALAR

ACN	Asetonitril
ASPE	Otomatik Katı Faz Ekstraksiyonu
AOP's	İleri Yükseltgenme Prosesleri
C18	Oktadesil
⁶⁰ Co	Kobalt 60
¹³⁷ Cs	Sezyum 137
DBA	di-n-bütilamin
DBPs	Dezenfeksiyon Yan Ürünü
DCM	diklorometan
DEA	dietilamin
DPA	di-n-propilamin
DPhA	difenilamin
EI	Elektron İyonlaşma
EPA	Enviromental Protection Agency
e ⁻ _{aq}	Hidrate Elektron
G	Radyoliz Verimi
GC	Gaz Kromatografi
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
•H	Hidrojen Radikali
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC	İyon Değişirme Kromatografisi (İyon Kromatografisi)
kGy	Kilogray
Mor	Morfolin
MSTFA	N-metil-N-(trimetilsilil)trifloroasetamit)
MTBE	Metil tersiyer bütil eter
NAs	Nitrozaminler
NDBA	N-nitrozo-di-n-bütilamin
NDEA	N-nitrozodietilamin
NDMA	N-nitrozodimetilamin
NDPA	N-nitrozo-di-n-propilamin
NDPHA	N-nitrozodifenilamin

NMEA	N-nitrozodimetiletilamin
NMor	N-nitrozomorfolin
NPip	N-nitrozopiperidin
NPyr	N-nitrozopirolidin
•OH	Hidroksi Radikali
Pip	Piperidin
Pyr	Pirolidin
SPE	Katı Faz Ekstraksiyonu
TEA	Termal Enerji Analizi
TOC	Toplam Organik Karbon
TMS	Trimetilsilan
UV	Ultraviyole
WHO	Dünya Sağlık Organizasyonu

1. GİRİŞ

Yıllar boyunca doğal ortam koşullarında, doğaya zarar vermeden yapılan tarımsal, bitkisel ve hayvansal faaliyetler çevreye zarar vermeden gerçekleştirilmiştir. Nüfusun hızla artması sonucu gıda ihtiyacının karşılanabilmesinde birim alandan daha fazla ürün elde edebilmek amacıyla tarıma yapay unsurlar girmiştir. Bu durum ekolojik dengeyi bozarak çevre sorunlarına neden olmaktadır. Nitrit ve nitratlar, besinlerde bakteri, küf oluşumlarının engellenmesi, raf ömrünün uzatılması, doğal renk ve aromanın kalıcılığının sağlanmasında besinlere katılan ve en çok kullanılan koruyucu maddeler arasında bulunmaktadır ve kansere neden olan nitrozaminlerin oluşumunda yer alırlar. Nitrozaminler bileşiklere doğrudan katılan maddeler olmayıp, bir takım reaksiyonlar ya da kimyasal etkileşmeler sonucu oluşan maddelerdir [1]. Nitrozaminlerden karsinogenik tesirleri ve toksik etkileri bilinen ilk bileşik, dimetilnitrozamindir. Bu madde endüstride çözücü olarak kullanılmakta olup, aynı zamanda dimetilamin-nitrit etkileşmesi ile de oluşabilmektedir. Aminler ise bilindiği gibi doğada çok yaygın olarak bulunurlar [2]. Oluşan N-nitrozo bileşiklerinin akut toksisiteleri ve karsinogenik etkileri incelendiği zaman konunun önemi bir kez daha ortaya çıkmaktadır.

NDMA'nın yapılan çalışmalarda çok fazla ilgi çeken yapı olmasına rağmen diğer nitrozamin türü bileşikler de içme sularında tespit edilmiştir. Bunlar arasında N-nitrozomorfolin, N-nitrozopirrolidin, N-nitrozopiperidin ve N-nitrozodifenilamin bulunmaktadır. Nitrozaminler polar bileşikler olup genellikle suda iyi çözünürler. Oktanol/su dağılma katsayısı oldukça düşük olduğu için organik çözücülere ekstrakte edilmesi de güçtür. Bu bileşikler aynı zamanda nonpolar yüzeylere anlamlı bir boyutta adsorbe olmamaktadır. NDMA 225-250 nm dalga boyundaki ışınları kuvvetlice absorblar ve bu özellik sudaki bileşiklerin fotolitik bozunması için önemli olabilir. NDMA polar bir bileşik olarak biyoyığılma özelliği göstermemekte ama bunun yanında çok zor biyobozunma özelliği gösterir. Nitrozaminlerin yüksek hidrofiliklik, az adsorblanabilirlik ve dayanıklılık özellikleri yeryüzü suları kirliliği için önemli bir risk oluşturmaktadır. Bunun yanında, en önemli tehlike içme suyunun kloraminlerle veya diğer dezenfektanlarla dezenfeksiyonu sırasında nitrozaminlerin oluşmasıdır [3]. Bu durum NDMA'nın oluşum mekanizmasına yönelik araştırmaları teşvik ederken, diğer yandan da oluşum ve bozunma çalışmalarının araştırılması

için yeni yöntemler üzerinde çalışılmasına neden olmuştur. İnsanların NDMA ile etkileşimleri sadece içme suyuyla sınırlı değildir, çünkü nitrozaminler klorlanmış havuz sularında ve atıksularda bulunabilir [4]. Nitrozaminler, azot içeren dezenfektanların yan ürünü (DBPs) kategorisinde yer almakla birlikte bazı araştırmacılar tarafından da insanlar için en tehlikeli kanserojen bileşik olarak gösterilmektedir [5]. Nitrozaminlerin yüksek kanserojenik aktivitelerinden dolayı, bunların maksimum izin verilen derişim limitleri genellikle düşük ng/L (risk için 10^{-5}) seviyelerinde tutulmaktadır ve buda bazı analitik problemelere neden olmaktadır [6]. Nitrozaminler, azot içeren dezenfektanların yan ürünü (DBPs) kategorisinde yer almakla birlikte bazı araştırmacılar tarafından da insanlar için en tehlikeli kanserojen bileşik olarak gösterilmektedir.

Genel olarak, nitrozaminlerin içme sularında bulunma olasılıklarının azaltılmasında kullanılacak teknolojinin iki ana strateji üzerinden ilerlemesi gerekmektedir. Sulu ortamlardan nitrozaminlerin uzaklaştırılması için etkin bir yol bulunması ya da bunların oluşumunun engellenmesidir. Suyun dezenfeksiyon aşamasının en sonunda oluştukları için nitrozaminlerin suda oluşumunun engellenmesinde nasıl oluştuklarının anlaşılması ve nitrozamin oluşumunun minimize eden en uygun yöntemlerle suyun dezenfeksiyonu gerekmektedir.

Bu çalışmada, NDPhA'nın aynı derişimdeki sulu çözeltileri farklı ışınlama dozlarına maruz bırakılarak radyasyonla bozunması incelenmiştir. Işınlama dozunun NDPhA'nın ana bozunma ürünü olan DPhA'nın oluşum miktarına etkisi takip edilmiş olup tekrar nitrozamin oluşumunda yer alıp almadığı incelenmiştir. Oluşan ürünlerin ve geriye kalan miktarların tayininin yapılabilmesi için deriştirilme yapılması gerekmektedir. Sulu çözeltilerde çok düşük derişimlerde bulunan yapıların ekstraksiyonu için Otomatik Katı Faz Ekstraksiyon sistemi kullanılmış olup ekstraksiyon veriminin artırılmasında farklı parametreler uygulanmıştır. Bozunma ürünlerinin hangi türlere ait olduğu ve miktar tayinlerinde Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi, İyon Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometre yöntemlerinden yararlanılmıştır. Sonuç olarak hedef nitrozaminin hangi doz ışınlamasına maruz bırakıldığında degradasyona uğradığı ve tekrar oluşumunun gerçekleşmediği araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Su

Su, bir besin maddesi olmasının yanı sıra, içerisinde bulunan bileşik ve minerallerle vücudumuzda gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonlarda etkin rol oynamakta olup yaşamın devamlılığının sağlanabilmesi için gereklidir. Hücrelerdeki organellere ve moleküllere dağılma ortamı yaratmasına, besinlerin, artık maddelerin ilgili yerlere taşınmasına, vücudun pH dengesinin korunmasına kadar pek çok görevde yer almasından dolayı insan sağlığına etkisi önemli bir boyuttur [7].

2.1.1. Su Kaynakları

Dünya nüfusunun çok hızlı artışı, sanayinin hızlı büyümesinden kaynaklı suların kirletilmesi, çevre bilincinin oluşturulamaması ve yaygınlaşmaması gibi nedenlerden dolayı dünyada içilebilir su miktarı giderek azalmaktadır. İçilebilir su kaynaklarının insan faaliyetlerinin sonucu olarak kirletilmesi, suyun tekrar kullanımını etkileyerek geri dönüşü olmayan sorunların yaşanmasına neden olmaktadır [7].

İçilebilir ve kullanılabilir nitelikteki suları oluşum biçimlerine göre üç ana gruba ayrılabilir [8]:

1. Yağış suları
2. Yüzey suları
3. Yeraltı suları

2.1.2. Yeraltı Suları

Yeraltı suları deniz, akarsu, göl gibi su kütlelerini besleyen ve yer kabuğundaki geçirimli jeolojik ortamın doygun bölgesinde bulunan sudur. [8].

Çeşitli ihtiyaçların karşılanmasında yüzey sularının yanısıra yararlanılan yeraltı suları tarımda, insanların içme ve kullanma sularının kaynağı olarak kullanılarak ihtiyaçların giderilmesini sağlamaktadır.

Yeraltı suları, yüzey sularına oranla daha pahalı yöntemlerle elde edilmelerine ve daha fazla erimiş madde içermelerine rağmen;

1. Kirlenmesinin güç olması ve temiz olması,
2. Sıcaklıklarının mevsimlere göre çok az değişiklik göstermesi,
3. Berrak ve renksiz olması,
4. Kimyasal bileşimlerinde değişim olmaması gibi nedenlerle yüzey sularından daha nitelikli bir yapıdadırlar ve yapılan müdahaleler sonucu kirlenme oranlarındaki artış bu avantajlarını riske atmaktadır.

Kirletici özellikte olan veya kimyasal reaksiyonlara yol açan maddeleri içeren atık suların yeraltı suları ile karışması sonucunda yeraltı sularında kirlilik artar. Yeraltı sularının kirlenmesine yol açan birçok neden vardır. Günümüzde deterjan, pestisit, ağır metal kirliliğinde de artış gözlenmektedir. Evsel atıklar da nitrit ve nitrat oranını artırmaktadır [8].

2.1.3. Su Kirliliği

Su yeryüzüne yağış olarak dönerken havada bulunan inorganik maddeleri, radyoaktif elementleri ve bir takım gazları içerisine alır. Toprak altına süzülen su ortamda bulunan bazı inorganik maddelerle karışır. Böcek ilaçları, endüstriyel atıklar, tarım ilaçları suya karışarak su kirliliğine neden olmaktadır. Su kirliliğinin sınıflandırılması aşağıdaki gibi özetlenebilir [8]:

- Endüstriyel Kirlenme
- Evsel Kirlenme
- Tarımsal Kirlenme

2.2. Radyasyon Kimyası

Radyasyon enerjisi madde içerisinde veya boşluktan geçebilen enerjidir. Bazı maddelerin atomları sürekli olarak parçalanırlar ve bu reaksiyonlar sırasında çevreye iyonlaştırıcı ışınlar yayarlar. Çevresine bu şekilde ışın saçarak parçalanan maddelere radyoaktif maddeler denir. Uranyum gibi doğal olarak radyoaktif olan maddelerin dışında, çeşitli işlemlerle yapay olarak radyoaktif hale getirilen Kobalt 60 ve Sezyum 137 gibi maddeler de vardır. Radyoaktif izotoplar zamanla aktivitelerini kaybederler. Yarılanma ömrü her radyoizotop için spesifikler. ^{137}Cs için 30 yıl ve ^{60}Co içinde 5,3 yıldır.

Işınlama dozu, ışınlama sırasında absorbe edilen radyasyon miktarına karşılık gelmektedir ve ışınlama dozunu tam olarak tanımlayabilmek için radyasyon birimlerini de bilmek gerekmektedir. 1 rad, 1 gram madde tarafından absorbe edilen 100 erg'lik enerjiye eşit olan radyasyon enerjisi birimidir. Son zamanlarda rad birimi yerine yaygın olarak Gray (Gy) birimi kullanılmaktadır. 1 Gray (Gy) ise iyonlaştırıcı radyasyona maruz bırakılan bir maddenin 1 kg'ına verilen 1 joule enerji miktarına eşittir.

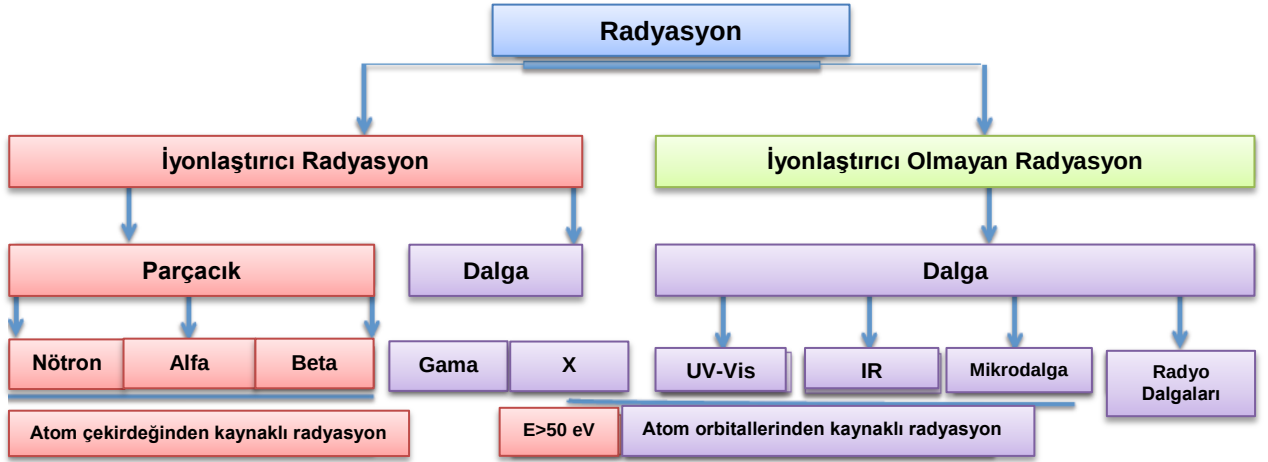
Işın kaynağının gücü aktivitesi ile ilgilidir. Becquerel (Bq) aktivite birimi olup, daha önce bu amaçla kullanılan Curie (Ci) teriminin yerini almaktadır [9].

$$1 \text{ Becquerel (Bq)} = 1 \text{ parçalanma/saniye} \quad (2.1)$$

$$1 \text{ Curie (Ci)} = 3,7 \times 10^{10} \text{ Bq} \quad (2.2)$$

2.2.1. Radyasyon Türleri

Radyasyon yayılan veya transfer edilen parçacık veya dalga formunda bulunan enerji olarak tanımlanmaktadır ve Şekil 2.1'de gösterildiği gibi iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olarak iki gruba ayrılır [10].



Şekil 2.1. Radyasyon türleri [11].

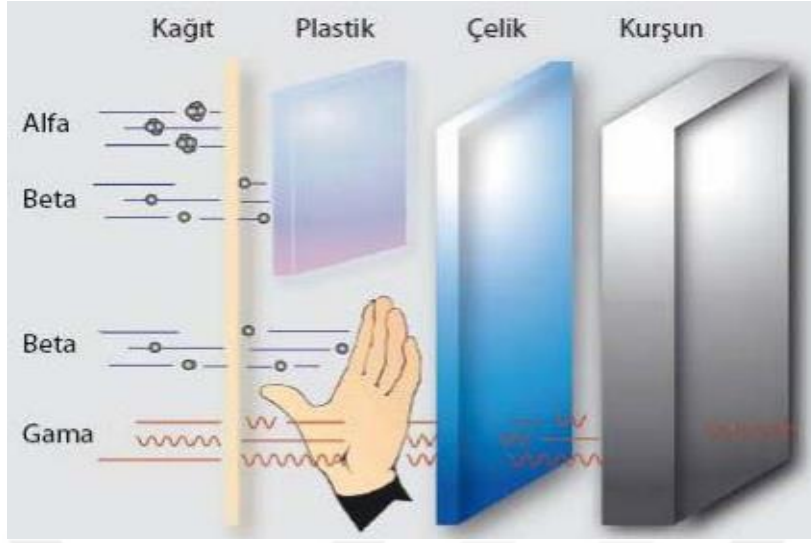
2.2.1.1. İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon

İyonlaştırıcı olmayan radyasyon; daha düşük frekanslı, düşük enerjili elektromanyetik dalgalar olup, enerjisi atom veya moleküllerde değişikliğe yol açmaya yetmez. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon için görünür ışık, kızıl ötesi ışık, radyo dalgaları, mikrodalgalar ve güneş ışığı örnek verilebilir.

2.2.1.2. İyonlaştırıcı Radyasyon

İyonlaştırıcı radyasyonlar, bir atom ya da molekülden bir elektron koparılması sonucu iyonlaşmaya yol açarlar. Gama ve X-ışınları ile alfa (α), beta (β), nötron partikülleri iyonlaştırıcı radyasyon türlerini oluşturur. Yüksek enerjili fotonlardan oluşan elektromanyetik radyasyon ve kütleli yapıya sahip partiküler radyasyon olmak üzere iki gruba ayrılırlar. İyonlaştırıcı özelliğe sahip X ve γ ışınlarının meydana geliş şekilleri birbirlerinden farklıdır. X-ışınları çekirdek dışında oluşan elektron kaynaklı ışınlardır. Radyoaktif bir çekirdeğin kararlı hale geçerken parçalanması esnasında açığa çıkan fazla enerjinin, çekirdekten dışarı atılması sonucunda ise γ ışınları oluşmaktadır [12].

Şekil 2.2’de radyasyon türlerine göre giricilik özellikleri görsel olarak verilmiştir.



Şekil 2.2. Radyasyon türlerinin giricilik özellikleri.

2.3. Radyasyon ve Çevre

Dünyanın birçok bölgesinde hızla gelişen tarım ve sanayi, evsel ve atık suların yönetimi problemini beraberinde getirmektedir. Bu amaçla birçok arıtma yöntemi kullanılmaktadır. Her birinin bir diğerine göre üstünlüğü bulunmakla birlikte, arıtma sürecindeki ölçütler göz önüne alındığında en uygun yöntem ekonomik olması, kısa sürede gerçekleşmesi ve çevreye minimum zarar vermesi gibi özelliklerine bakılarak seçilir. Bu ölçütlere bakıldığında arıtma yöntemleri arasında en umut verici olanlardan bir tanesi de radyasyon teknolojisi. Radyasyon teknolojisi özellikle fiziko-kimyasal ve biyolojik metodlarla karşılaştırıldığında oldukça önemli çevresel ve teknolojik avantajlara sahiptir. Kanalizasyon, içme suyu ve endüstriyel atıksu gibi atık sular için en çok kullanılan radyasyon kaynağı türleri gama ışınları, elektron demeti ve X-ışınlarıdır. Hangi kaynak türü kullanılırsa kullanılsın, iyonlaştırıcı radyasyonun madde üzerindeki etkisi benzerdir. O nedenle de kaynak türü seçimi örneğin kimyasal yapısından çok fiziksel özelliklerine ve çevre koşullarına göre yapılır. Fotonun arıtma amaçlı kullanılmasını sağlayan en büyük avantaj, herhangi bir yük taşımaması nedeniyle ışınlama ortamında derinlere kadar nüfuz etmesine olanak sağlamasıdır. Bir makine yardımıyla üretilen yüklü taneciklerle gerçekleştirilen ışınlamalarda ise giricilik sorunu mevcuttur. Bu durum, ışınlama makinesi gücünün artırılması ya da ışınlama sisteminin mevcut makineye göre yeniden düzenlenmesiyle giderilir [13].

2.4. Atıksu Arıtımında Radyasyon Teknolojisi

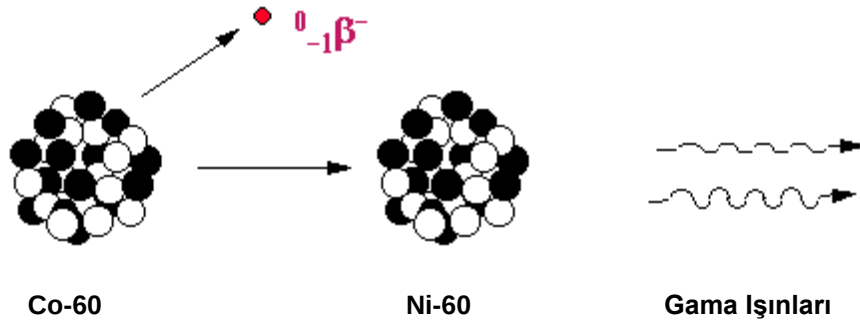
Radyasyon teknolojisi uzun yıllar sterilizasyon, polimerlerin çapraz bağlanması ve sertleştirilmesi, gıdaların ışınlaması ve çevre uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda içmesuyu ve atıksu arıtımında da radyasyon teknolojisinden yararlanılmaktadır. Bu teknolojinin kullanılması amacıyla çeşitli ülkelerde içme ve atıksu arıtım tesisleri de kurulmuştur.

Dünyadaki hızlı nüfus artışıyla birlikte azalan su kaynaklarını daha iyi korumak artık bütün arıtma teknolojilerinin ana hedefidir. Bu hedef doğrultusunda bilim adamları yeni teknikler geliştirme çalışmaları yürütürken, mevcut tekniklerden de yararlanarak en olası yöntemi bulmaya gayret etmektedirler. Son yıllarda çevreye duyarlı teknolojiler değerlendirilirken iyonlaştırıcı radyasyondan da yararlanmak, oluşturduğu yüksek enerjiden istifade etmek fikri ortaya çıkmıştır. Suyun iyonlaştırıcı radyasyon karşısında radyolize uğraması ile yüksek indirgeme ve yükseltgeme özelliğine sahip iyon, radikal ve yüklü parçacıklar oluşturması bu teknolojinin diğer teknik ve teknolojilere alternatif olması konusunda umut vermiştir [13].

Atıksu arıtımı için pek çok farklı teknik uygulanmaktadır. Uygulama sahasına göre her bir tekniğin avantajları ve dezavantajları mevcuttur. Bir tekniğin çözümsüz kaldığı yerde diğer teknik çözüm olmaktadır. Kimi zaman da birkaç tekniğin birlikte kullanımıyla çözüm üretilebilmektedir. Evsel ve endüstriyel atık sular içerdikleri kirletici derişimlerinin yüksek olması nedeniyle kirli içme sularından farklıdırlar. Örneğin endüstriyel atık sular toksik veya parçalanması güç olan siyanür, fenol, boyar madde gibi kirleticileri içerir. Bu tür kirleticilerin uzaklaştırabilmesi için yüksek doza ihtiyaç duyulur. Endüstriyel atık sularda radyasyonun tek başına kullanılmasında yüksek doza ihtiyaç duyulması nedeniyle kimyasal, biyolojik ya da ısıll işlemler gibi geleneksel tekniklerle birlikte kullanılarak, en uygun arıtma koşulları sağlanır [13].

2.5. Gama Işınlama Teknolojisi

Gama ışınlama teknolojisi, ^{60}Co veya ^{137}Cs gibi radyoaktif bir kaynaktan yayılan yüksek enerjili gama ışınlarını kullanır. ^{60}Co , nükleer reaktörde ^{59}Co 'ın nötron bombardımanı sonucu oluşur. ^{60}Co 'ın tarihi süreç içerisindeki kullanım alanları genellikle kanser tedavisi amaçlı olmuştur. ^{137}Cs ise, nükleer reaktörlerde kullanılmış yakıt çubuklarının tekrar işlenmesiyle elde edilmekte olup kullanıldığı alanlar tarihi süreçte genellikle nükleer silah teknolojisiyle ilgili olmuştur. Şekil 2.3'de gama ışınları oluşumunun şematik gösterimi verilmiştir [11]. ^{60}Co kaynaklı gama ışınları, hem ^{137}Cs 'ye göre daha kolay bulunabildiği hem de elektron hızlandırıcılara göre penetrasyon özelliğinin daha iyi olması nedeniyle endüstride tercih edilmektedir. Bu sistemin dezavantajları ise, sürekli bir radyoaktif kaynak olması dolayısıyla X ışınları gibi istenildiği zaman açılıp-kapanamamasıdır. Ayrıca daha kısa yarılanma ömrüne sahip olması dolayısıyla kaynak zamanla tükenmekte ve yenileme gerekliliği bulunmaktadır [9].

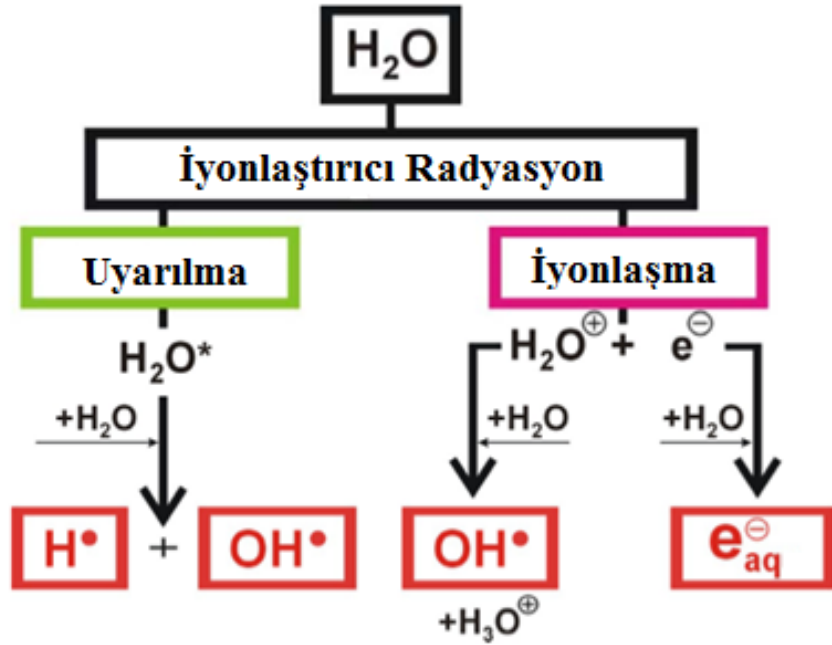


Şekil 2.3. Gama ışınları oluşumunun şematik gösterimi [11].

2.6. Suyun Radyolizi

Radyasyonla kimyasal özelliklerdeki değişim, yüksek enerjiyle maddenin etkileşimini bir araya getirmiştir. Buradaki yüksek enerji, atom veya molekülün iyonlaşma enerjisinden daha büyük bir enerjinin atom veya moleküle aktarılmasıdır. Bu amaçla yüksek enerji kaynağı olarak en çok kullanılan radyasyon kaynakları ^{60}Co ve ^{137}Cs gibi radyoizotoplardan yayılan elektromagnetik (gama) radyasyon ile elektron hızlandırıcıları tarafından üretilen elektron demetleridir.

Son yıllarda X ışınlarından da bu amaçla yararlanmak üzere çeşitli sistemler geliştirilmiştir. Işınlamayla sulu çözeltilerin radyolizi sonucu, organik kirleticiler radyasyonla doğrudan ya da dolaylı yoldan etkileşerek parçalanırlar. Suyun ışınlanmasıyla oluşan serbest radikaller (e^-_{aq} , $\cdot H$, $\cdot OH$) genel olarak radikal ürünleri, moleküler yapılar da (H_2 , H_2O_2) moleküler ürünler olarak adlandırılırlar. Işınlama sonrası oluşan ürünler indirgeyici (e^-_{aq} , $\cdot H$) ve yükseltgeyici ($\cdot OH$, H_2O_2) gruplar olarak da iki gruba ayrılabilirler. Işınlama sonrası ortaya çıkan H_2 reaksiyona girmez ve çoğu zaman sistemden gaz olarak çıkar [13]. Şekil 2.4’de iyonlaştırıcı radyasyon sonucu suda oluşan serbest radikal türler şematik olarak verilmiştir [14].



Şekil 2.4. Suyun radyolizi: İyonlaştırıcı radyasyon sonucu suda oluşan serbest radikal türlerin şematik gösterimi [14].

Sulu çözeltilerdeki oluşan radyoliz ürünleri arasında en reaktif olanlar yükseltgeyici hidroksil radikali ($\cdot OH$) ile indirgeyici hidrate elektron (e^-_{aq}) ve hidrojen radikali ($\cdot H$)’dir. İyonlaştırıcı radyasyon aynı anda hem indirgeyici hem de yükseltgeyici reaktif grupları oluşturması nedeniyle diğer birçok ileri oksidasyon teknolojilerine göre avantaj oluşturmaktadır [13].

Suyun radyoliz mekanizmasını incelemek için teorik ve deneysel araştırmalar yapılmıştır. Suyun radyolizi sonucu oluşan radikal ve moleküler ürünlerin pH 3-11 aralığındaki radyoliz verimleri (G , μmolJ^{-1}) aşağıda tabloda verilmiş olup G , radyoliz verimidir ve absorblanan 100 eV enerji başına oluşan molekül sayısıdır.

Suyun radyoliz sonucunda oluşan radikal ve moleküler ürün verimleri ise Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Suyun radyoliz sonucunda oluşan radikal ve moleküler ürün verimleri.

Parametre	Verim değeri (μmolJ^{-1})
Radyasyon türü	γ
pH	3-11
$G(-\text{H}_2\text{O})$	0,4227
$G(\text{H}_2)$	0,0466
$G(\text{H}_2\text{O}_2)$	0,0704
$G(e^-_{\text{aq}})$	0,2725
$G(\text{H}\bullet)$	0,0570
$G(\text{HO}\bullet)$	0,2818
$G(\text{HO}_2\bullet)$	0,0027

Reaksiyon verimleri karşılaştırıldığında ışınlamayla kaybolan suyun verimi ile oluşan ürünlerin veriminin dengede olması gerekir. Bu durum;

$$G(-\text{H}_2\text{O}) = 2G(\text{H}_2) + G(\text{H}\bullet) + G(e^-_{\text{aq}}) = 2G(\text{H}_2\text{O}_2) + G(\text{HO}\bullet) \quad (2.3)$$

eşitliği ile ifade edilir.

2.6.1. Suyun Radyoliz Mekanizması

Su radyolizi mekanizması şu şekilde özetlenebilir:



Üç ana aşamada meydana gelen radyoliz reaksiyonları, farklı zaman aralıklarında gerçekleşmektedir [15].

Fiziksel Aşama:

Bu aşama, maddenin iyonlaştırıcı radyasyonla etkileşimi ile iyonlaşmış su moleküllerinin (H_2O^+), uyarılmış su moleküllerinin (H_2O^*) ve uyarılmış elektronların (e^-) oluşumuna sebep olmaktadır.

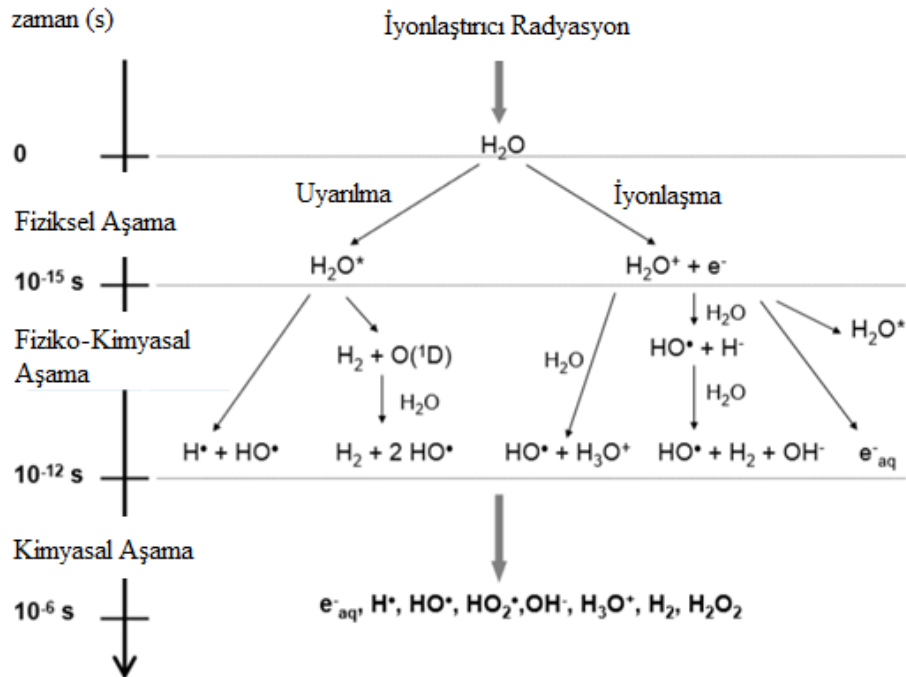
Fiziko-Kimyasal Aşama:

(10^{-15} - 10^{-12} s) arasında gerçekleşen fiziko-kimyasal aşama esnasında, iyon-molekül reaksiyonlarını (2.5), uyarılmış türün homolitik ayrışmasını (2.6), uyarılmış türlerin iyonlaşmasını, uyarılmış elektronların solvatasyonunu (2.7) içeren çok sayıda süreç gerçekleşmektedir.



Kimyasal Aşama:

(10^{-12} - 10^{-6} s) arasında gerçekleşen kimyasal aşama esnasında, fiziksel ve fiziko-kimyasal süreçler sonucu oluşan türler radyasyon etkisiyle birbirleriyle tepkime verirler ve çözeltiye difüzenirler. Birbirleriyle tepkime verebildikleri gibi ortamdaki diğer moleküllerle de tepkime verirler. Şekil 2.5’de suyun radyolizinin üç aşaması esnasında oluşan ana reaksiyonlar verilmiştir [15].



Şekil 2.5. Suyun radyolizinin üç aşaması esnasında oluşan ana reaksiyonlar.

Sulu çözeltide bulunan kirleticiler ışınlamanın dozuna bağlı olarak molekül ağırlığı büyük türler parçalanarak daha küçük molekül ağırlığında molekül, iyon ya da radikallere dönüşür. Oluşan kararsız yapılar kararlı hale gelmek için ortamdaki diğer kararsız iyon ya da radikallerle birleşerek kararlı yapıları meydana getirirler [16].

Ana Reaksiyonlar

Ana reaksiyonlara ait bazı hız sabitleri aşağıdaki Çizelge 2.2’de yer almaktadır.

Çizelge 2.2. Suyun radyolizine ait hız sabitleri.

Reaksiyon	Hız sabitleri (k) ($10^{18} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$)
$e^-_{\text{aq}} + e^-_{\text{aq}} + 2\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{H}_2 + 2\text{OH}^-$	0,55
$e^-_{\text{aq}} + \text{H}^\bullet + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{H}_2 + \text{OH}^-$	2,50
$\text{H}^\bullet + \text{H}^\bullet \longrightarrow \text{H}_2$	0,78
$e^-_{\text{aq}} + \text{HO}^\bullet \longrightarrow \text{OH}^-$	3,00
$e^-_{\text{aq}} + \text{H}_3\text{O}^+ \longrightarrow \text{H}^\bullet + \text{H}_2\text{O}$	2,30
$\text{HO}^\bullet + \text{HO}^\bullet \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0,55
$\text{HO}^\bullet + \text{H}^\bullet \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	2,00
$\text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^- \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	14,0

Suyun radyolizi sonucunda H_2 oluşumundan tabloda belirtilmiş ilk üç reaksiyon sorumlu olup, %70’e varan verimle gerçekleşmektedir [15].

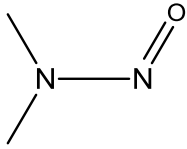
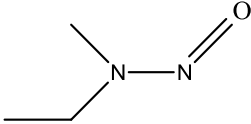
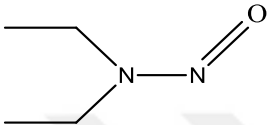
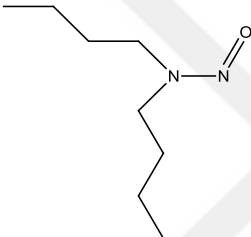
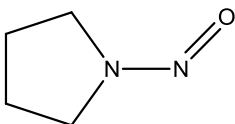
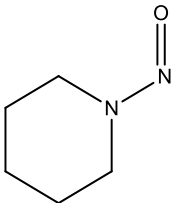
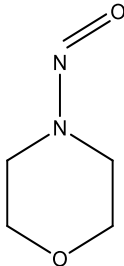
2.6. Nitrozaminler

Nitrozaminler, insanlarda ve hayvanlarda güçlü mutajenik ve karsinojenik etkilere sahip bileşikler olup çevrede yaygın olarak bulunmaktadır. Gıda ürünleri, kozmetik ürünleri, tütün dumanı, toprak ve yer altı sularında bu bileşiklerin varlığı tespit edilmiştir. Nitrozaminler, ikincil aminler ve nitritin nitrasyon reaksiyonu ile oluşmaktadır. Başlıca nitrozaminler arasında N-nitrozodietilamin(NDEA), N-nitrozodipropilamin (NDPA), N-nitrozopirrolidin (NPyr), N-nitrozopiperidin (Npip), N-nitrozo-N-metil-üre (NMU), N-nitrozoprolin (NPRO) sayılabilir [17]. Şekil 2.6’da bazı nitrozaminler ve kimyasal yapıları verilmiştir.

Son yıllarda, içme suyu kaynaklarında klor dezenfeksiyonu sonucu N-nitrozodimetilamin (NDMA) ve diğer nitrozaminlerin yan ürün olarak varlığı tespit edilmiştir [18]. Halojenli bileşiklerin yanı sıra dezenfeksiyon yan ürünü (DBPs) olarak açığa çıkan nitrozaminlerin su kirliliğine yol açması nedeniyle çevre bilimcilerin çalışmaları bu konu üzerine daha fazla yoğunlaşmıştır. Su üzerine yapılan çalışmaların yanında, toprak ve gıda ürünlerinde nitrozamin varlığı tespiti ve insan sağlığı üzerindeki etkilerini anlamak için 30 yıldır çalışmalar yapılmaktadır. N-nitrozodimetilamin (NDMA), ilk olarak Ontario'da (Kanada) klorlanmış içme suyunda tespit edilmiştir. 2006 yılında, Dünya Sağlık Organizasyonu (WHO) tarafından NDMA üzerine detaylı bir çalışma yayınlanmıştır [19]. İnsanların NDMA ile etkileşimleri sadece içme suyuyla sınırlı değildir, çünkü nitrozaminler klorlanmış havuz sularında ve atıksularda bulunabilir [4, 20]. Bazı yapıların yükseltgenmesiyle NDMA oluştuğuna dair bulgular da raporlanmıştır.

NDMA, yapılan çalışmalarda çok fazla ilgi çeken bir yapı olmasına rağmen diğer nitrozamin türleri de içme sularında tespit edilmiştir. Bu bileşiklere; N-nitrozomorfolin (NMor), N-nitrozopirrolidin (NPyr), N-nitrozopiperidin (NPip) ve N-nitrozodifenilamin (NDPhA) örnek verilebilir.

Nitrozaminler, polar bileşikler olup genellikle suda çözünbilmektedirler. Oktanol/su dağılma katsayısı oldukça düşük olduğu için organik çözücülerle ekstrakte edilmesi de güçtür. Bu bileşikler aynı zamanda nonpolar yüzeylere anlamlı bir boyutta adsorbe olmamaktadır [21]. Henry sabitleri küçük olduğu için nitrozoaminler sudan havalandırma ile de uzaklaştırılamamaktadır. NDMA 225-250 nm dalga boyundaki ışınları kuvvetlice absorblar ve bu özellik sudaki bileşiklerin fotolitik bozunması için önemli olabilir. NDMA, polar bir bileşik olarak biyoyığılma özelliği göstermemekte ama bunun yanında çok zor biyobozunma özelliği gösterir. Nitrozaminlerin yüksek hidrofiliklik, az adsorblanabilirlik ve dayanıklılık özellikleri yeryüzü suları kirliliği için önemli bir risk oluşturmaktadır.

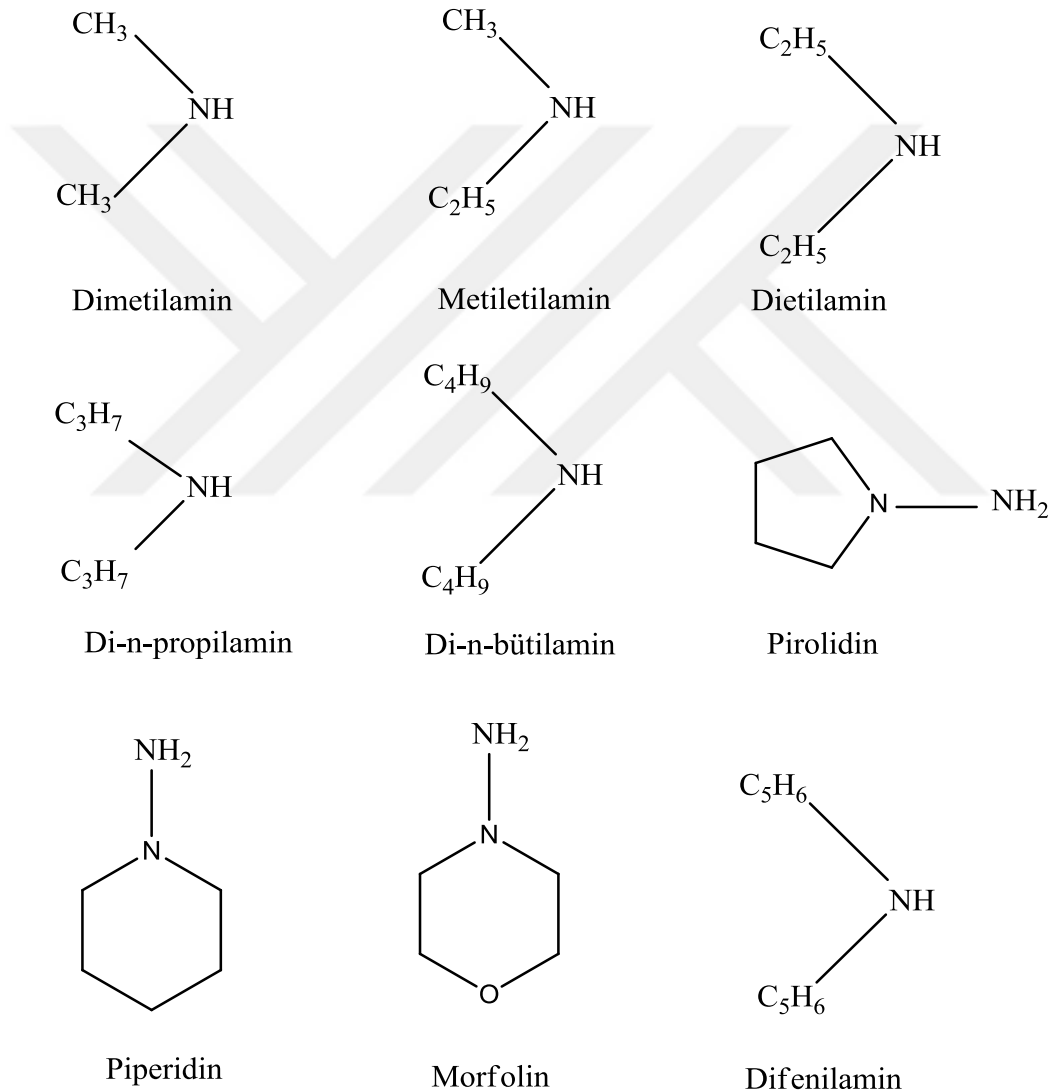
N-nitrozaminler	Kısaltma	Formül	Molar Kütle (g/mol)
N-nitrozodimetilamin 	NDMA	$C_2H_6N_2O$	74,0
N-nitrozodimetiletilamin 	NMEA	$C_3H_8N_2O$	88,1
N-nitrozodietilamin 	NDEA	$C_4H_{10}N_2O$	102,1
N-nitroso-di-n-bütülin 	NDBA	$C_8H_{18}N_2O$	158,2
N-nitrozopirrolidin 	NPyr	$C_4H_8N_2O$	100,1
N-nitrozopiperidin 	NPip	$C_5H_{10}N_2O$	114,2
N-nitrozomorfolin 	NMor	$C_4H_8N_2O_2$	116,1

Şekil 2.6. Bazı nitrozaminler ve kimyasal yapıları [22].

2.6.1. N-nitrozo Bileşiklerinin Kaynakları

Doğal su kaynaklarının nitrat ve nitrit düzeyleri, su kalitesinin önemli bir göstergesidir. Nitrat ve nitrit derişim seviyelerindeki artış halk sağlığı açısından önemli bir problem haline gelmektedir [23]. Doğada nitratların en önemli kaynağı sebzeler ve sudur. Bunlar bitkisel materyalde doğal olarak bulunurlar. Ispanak, kıvırcık, lahana, turp, pazı, kabak v.s. gibi sebzelerin oldukça yüksek oranlarda nitrat içerdikleri bilinmektedir. Bazı örneklerde bu miktar 3000 ppm'den fazladır. Ayrıca nitrat ve nitritler et ve balık ürünlerinde yaygın bir şekilde koruyucu olarak kullanılır. Bir çok ülkede bu maddelerin kullanılma oranları yasal olarak belirlenmiştir [2]. Muhafaza ve olgunlaştırma amacıyla hayvansal gıdalara, özellikle et ürünlerine katılan nitrat ve nitrit, bu gıdalardaki sekonder aminlerle birleşerek nitrozaminleri oluştururlar. Burada nitrat, ön bakteriler tarafından nitrit indirgenir [24]. Nitratların toksisitesi nitritlerden daha fazladır ve günlük alınabilecek miktar 0,4 mg/kg ile sınırlandırılmıştır. Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı tarafından yayınlanan Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'ne göre koruyucu olarak kullanılabilecek miktarlar vücut ağırlığı başına sodyum nitrat için 5 mg/kg, sodyum nitrit için ise 0,2 mg/kg olarak belirlenmiştir. Yine işlenmiş et ve balık ürünlerine 200 mg/kg kadar nitrat katılabilmektedir. Nitratlarda önce nitritlere indirgenmekte ve aminlerle etkileşmektedirler [2]. Peynir, balık ve et ürünlerine eklenen nitrit ve nitratların potasyum ve sodyum tuzları; bu ürünlerin lezzetini arttırmakta olup renginin belirgin olmasını sağlamaktadır. Ayrıca gıdaların muhafaza süresini uzatmak amacıyla da kullanılmaktadırlar [25]. Nitrozaminler, doğal olarak amin içeren pek çok bileşikte bulunmaktadırlar. Örneğin, tütünde, tahıllarda ve alkollü içkilerde 5 ppm'den daha az miktarda nitrozaminlerin varlığı bilinmektedir. Ayrıca et, balık, süt, peynir v.s. gibi birçok hayvansal gıdaların 1 ppm civarında dietilamin içediğı saptanmıştır. İşlenmiş et ve balık ürünlerine koruyucu amaçlarla katılan nitrat ve nitrit bileşikleri dimetilamin ile etkileşerek çeşitli nitrozamin bileşiklerine dönüşmektedirler [2]. Genel olarak oluşan dezenfeksiyon yan ürünlerini kontrol etmek ve musluk suyundaki klor seviyesini korumak için, bazı ülkelerde dezenfeksiyon için klor yerine kloramin kullanılmaktadır. Kloraminin doğrudan ilave edilmesinin yanı sıra, bazı kaynak suları gübre ve atıksu kaynaklı kirlenme sonucunda yüksek derişimde amonyak içerir. Bu durum; dezenfektan olarak klor kullanımı sonrasında kloramin oluşumuna yol açabilmektedir.

Yapılan son çalışmalarda, ikincil aminler ve özellikle dimetilamin (DMA) ve difenilamin (DPhA) nitrozamin oluşumda yer alan önemli öncül bileşiklerdendir. Bu bileşiklere ek olarak dietilamin (DEA), metiletilamin (MEA), di-n-propilamin (DPA), di-n-bütilamin (DBA), morfolin (Mor), pirolidin (Pyr) ve piperidin (Pip) önemli ara ürünlerden olup, kimya ve ilaç sanayisinde kullanılmaktadırlar [26]. Şekil 2.7’de bazı ikincil aminlerin kimyasal yapıları görülmektedir.



Şekil 2.7. Bazı ikincil aminlerin kimyasal yapıları.

Türkiye’de bulunan nehirlerde, Pip (- - 0,1 µg/L), Pyr (82-152 µg/L), DPhA (- - 0,1 µg/L) ve DBA (- - 0,24 µg/L) bileşiklerine rastlanılmıştır [26].

Günümüzde, gıda numuneleri (et, peynir, bira, yemeklik yağ, deniz ürünleri), çevresel örnekler (atık su, hava, toprak), biyolojik numuneler (idrara, tükürük, kan) ve diğer örnekleri (kozmetik, kauçuk meme, tütün) kapsayarak, bu örneklerdeki nitrozamin tespiti ile ilgili çalışmalara ağırlık verilmiştir [27].

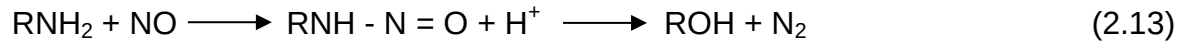
Dezenfeksiyon yan ürünü olarak oluşan nitrozaminlerin oluşumunu en aza indirmek için izlenecek en iyi yol nitrozaminlerin öncüllerini ortadan kaldırmaktır. Pek çok çalışma, organik azot içeren bileşikler (doğal organik maddeler) ve su arıtımında iyon değişimi için kullanılan anyon değiştirici reçineleri N-nitrozamin öncülleri olarak göstermiştir. Bu bileşiklerin yanında, dimetilamin (DMA), etilmetilamin (EMA), dietilamin (DEA) ve dipropilamin (DPA) gibi ikincil aminler nitrozamin oluşumunda yer alan en önemli öncül gruplarındandır [28].

2.6.2. N-nitrozo Bileşiklerinin Olası Oluşma Reaksiyonları

Nitrozaminler bileşiklere doğrudan katılan maddeler olmayıp, bir takım reaksiyonlar ya da kimyasal etkileşmeler sonucu oluşan maddelerdir. Nitrit ve nitrojen oksitlerin birincil ve ikincil aminlerle reaksiyonları N-nitrozo bileşiklerinin oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. [25].

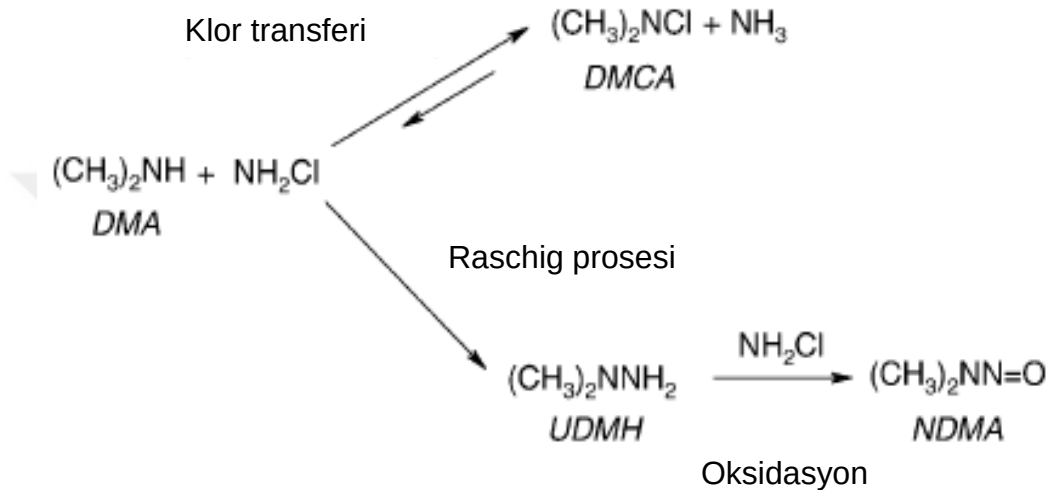
Nitrozaminler; dezenfeksiyon yan ürünü olarak oluşumlarının yanı sıra, çeşitli endüstriyel işlemlerde aminlerin nitrojen oksit, nitroz asit veya nitrit ile reaksiyonu ile istenmeyen ürün olarak oluşabilmektedirler. Lastik üretim ve işleme, deri tabaklama, metal işleme ve gıda işleme gibi prosesler sonucunda oluşumları da bilinmektedir [29].

Nitrozamin oluşumundaki kimyasal reaksiyonlardan bazıları aşağıda listelenmiştir [17]. (M/M^+ , Fe^{2+}/Fe^{3+} ve diğer metal iyonları gibi dönüşümleri göstermektedir.)



Nitrozaminler çevrenin belli bir kısmında özellikle bulunurlar. Üzerine en çok araştırma yapılmış olan nitrozaminlerden NDMA; kauçuk, deri, metal, kimya ve maden endüstrilerinde saptanmıştır. Fabrikalar ikincil aminleri ya da roket yakıtı 1,1-dimetilhidrazini (UDMH) üretmektedirler ve yakın endüstriyel kuruluşlar dimetilamin gibi bileşikleri organik sentezlerde kullanmaktadırlar. Bunlar aynı zamanda birçok yiyecek ve içecek türü gıdalarda özellikle fermentasyon ya da pişirme sonrasında, sigara dumanında ve son zamanlarda yüksek derecede saflaştırılmış atıksu ve içme sularında bulunurlar. Nitrozaminler kanserojenik, mutajenik ve teratojenik özellik gösteren kimyasal sınıfında olduğu için ilgi çekmektedirler. Son zamanlardaki çalışmalar NDMA oluşumunun suyun dezenfeksiyon koşullarına bağlı olduğunu, monokloraminle çözünmüş dimetilaminin ve UDMH'nin reaksiyonu sonucunda oluştuğunu ortaya çıkarmıştır. NDMA, UDMH'nin bilinen bir atığıdır ve eski su arıtım sistemleri ve genel işlem prosedürleri hem NDMA için hem de UDMH için yüzey su kaynaklarına uygulanmaya başlamıştır.

Sulu çözeltideki dimetilamin (DMA) varlığında, N-nitrozodimetilamin (NDMA) oluşumuna ait önerilen reaksiyon mekanizmasında monokloramin (NH_2Cl) (MCA), dezenfektan olarak yer almakta olup tersinir klor transferi sonucunda dimetilkloramin ve Raschig prosesi sonucunda UDMH oluşmaktadır. UDMH'nin MCA varlığında oksidasyon sonucu NDMA oluşmaktadır. Şekil 2.8'de DMA ve monokloramin varlığında NDMA için önerilen oluşum reaksiyonu verilmiştir [30].



Şekil 2.8. DMA ve monokloramin varlığında NDMA için önerilen oluşum reaksiyonu [30].

2.6.3. N-nitrozo Bileşikleri ve Kanseri İlişkisi

N-nitrozo bileşiklerinin potansiyel kanserojen özellik gösteren ve geniş etkiye sahip bileşikler olduğu hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur [25]. Oluşan N-nitrozo bileşiklerinin akut toksisiteleri ve karsinojenik etkileri incelendiği zaman konunun önemi bir kez daha ortaya çıkmaktadır [2]. Yapılan araştırmalara göre, insanda kanser oluşumunun başlıca sebeplerinden biri olarak beslenme kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Kanseri oluşumuna gıda maddelerine katılan hangi katkı maddelerinin etkili olduğu araştırılmaktadır. Günümüze kadar 300'e yakın N-nitrozo bileşiği test edilmiş olup bu bileşiklerin %90'ının deney hayvanlarında kanser oluşumuna neden olabileceğini gösteren önemli bulgulara ulaşılmıştır [31, 32].

Nitrozaminler ilk olarak 1956'da kanserojen sınıfına dahil olmuşlardır. Bu nedenle balık ve et ürünlerine renk kalıcılığı, antimikrobiyal etki göstermesi ve tat korunumu amacıyla katılan sodyum nitrit miktarlarına sınırlamalar getirilmiştir [33].

Nitrozaminler, azot içeren dezenfektanların yan ürünü (DBPs) kategorisinde yer almakla birlikte bazı araştırmacılar tarafından da insanlar için en tehlikeli kanserojen bileşik olarak gösterilmektedir [5]. Nitrozaminlerin yüksek kanserojenik aktivitelerinden dolayı, bu bileşiklere izin verilen maksimum derişim limitleri genellikle düşük ng/L (risk için 10^{-5}) seviyelerinde tutulmaktadır ve bu durum bazı analitik problemlere neden olmaktadır. Kaliforniya kaynak suyunda NDMA bulunmasından sonra, Kaliforniya eyaleti NDMA için zararlı seviyeyi 2 ng/L olarak belirlemiş olup daha sonraki aşamada, ölçüm aşamasındaki zorluklar nedeniyle bu değer 10 ng/L olarak düzeltilmiştir. NDMA kloraminlenmiş/klorlanmış içme sularında genellikle litre başına birkaç nanogram olarak bulunmaktadır, ancak atıksularda çok fazla miktarlarda oluşmakta veya gözlenmektedir.

NDMA ve diğer nitrozaminler ulusal ölçekleme seviyesinde ortamda bulunabilme verilerini toplayan Yasallaşmamış Kirletici Tespit Kuralı (Unregulated Contaminant Monitoring Rule, UCMR-2) kapsamında yerini almıştır. Ontario geçici olarak NDMA için maksimum kabul edilebilir derişim değerini 9 ng/L olarak yayınlamıştır. İngiliz ve Galler İçme Suyu Denetçiliği, NDMA için gözlemlenebilir sınırını 1 ng/L olarak istemesine rağmen, Almanya'da sağlık temelinde izin verilen limit değeri NDMA ve NMor için 10 ng/L olarak belirlenmiştir [6].

2.6.4. N-nitrozo Bileşiklerine Maruz Kalma Yolları

İnsanlar, N-nitrozo bileşiklerine çeşitli şekillerde maruz kalmaktadırlar. Klorlanmış havuzda yüzmek, kişisel bakım ürünlerini (şampuan, kozmetik gibi) kullanmak, sigara içmek ve katkı maddesi eklenmiş gıda maddelerini tüketerek N-nitrozo bileşikleri bünyeye alınmaktadır [34]. Gıda maddeleri veya ilaçlardaki ikincil amin bileşiklerinin mide içerisinde bulunan nitrozolama ajanlarıyla reaksiyonu sonucu N-nitrozo bileşikleri oluşabilmektedir [1, 35]. Balık, kürlenmiş et, bira ve peynir çeşitlerinde N-nitrozo bileşiklerine yüksek miktarlarda rastlanılmaktadır [36].

2.6.5. Nitrozaminlerin Tanımlanması ve Analizi

N-nitrozo bileşikler gıdalarda düşük miktarlarda bulunmalarına rağmen yüksek kanserojen etki göstermektedirler. İnsan vücudunda veya gıdalardaki oluşumlarının engellenmesi ya da azaltılması için bir takım önlemlerin alınması gerekmektedir. N-nitrozaminlerin gıdalarda belirlenmesinde çok hassas analizlerin yapılması gerekmektedir. Gıdanın kompleks matriksi içerisinde dağılmış olarak bulunan nitrozaminlerin analizlerinin gerçekleştirilmesinde karşılaşılan en zor husus; ekstraksiyonunun sağlanmasıdır [37].

Yapılan çalışmalarda, kalorimetre, kapiler elektrokromatografi, alev iyonlaşma dedektörlü gaz kromatografisi, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, nitrozamin tespiti için kullanılan analitik yöntemler içerisinde [27]. Gıdalarda düşük miktarlarda bulunmalarından dolayı nitrozamin bileşiklerinin saptanması zor olmakla birlikte, Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile ölçümleri yapılabilmektedir [36]. Gaz kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve kapiler elektroforez gibi birçok analitik metot nitrozaminlerin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Bununla birlikte, su örneklerinde nitrozaminin düşük derişimlerdeki seviyesinin belirlenmesi için ön işlem olarak katı faz ekstraksiyonu (SPE) kullanılarak örneğin deriştirilmesi gerekmektedir [18].

2.6.6. Nitrozaminlerin Bozunmasında Kullanılan Su Arıtım Teknolojileri

Sudaki düşük derişimlerdeki istenmeyen maddeleri gidermek için, çeşitli su arıtım teknolojileri mevcuttur. Ultraviyole (UV) ışınlamanın sudaki NDMA seviyesini düşürdüğü bulunmuştur. Buna karşın, eğer suda bulanıklık varsa, renk varsa ya da kısa dalgaboyundaki (<270 nm) ışınlarla örtüşen (öneğin; nitrat, toplam organik karbon, TOC) kimyasallar varsa, bu tekniğin etkinliği büyük ölçüde azalmaktadır. Yeniden NDMA oluşumu için bir olasılık vardır, bu durum, özellikle UV ışınları ile muamele edilmiş suyun kloraminlemeye maruz bırakılması durumunda gözlemlenir. Bu potansiyel zorlukları yenebilmek için, ileri yükseltgenme prosesleri (AOP's) sonucu oluşan serbest radikallerin sudaki kanserojen kimyasalları parçalaması araştırılmalıdır [38]. Bu teknolojiler hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$) ile oksitleme yapabilen ozon, UV/ozon ve UV/H₂O₂ sistemleri ya da titanyum dioksit (TiO₂) ile heterojen kataliz yöntemi, sonoliz ya da yükseltgeyici ($\bullet\text{OH}$) ile indirgen hidrate elektronlar (e^-_{aq}) oluşturabilen elektron-beam prosesleri olabilir.

UV ışınlaması su kaynaklarında bazı doğal organik bileşiklerin ve antropojenik bileşiklerin bozunmasına neden olabilir. DMA, NDMA'nın temel UV ile ışınlama sonucu oluşan bozunma ürünlerinden birisidir; buna karşın DMA UV ile parçalanmamaktadır. Bu durum UV ile ışınlama sonucu oluşan bozunma ürünlerinde DMA içeren organik bileşiklerden NDMA oluşumuna neden olmaktadır [39].

Bugüne kadar yapılan çalışmaların çoğu özellikle et, sucuk, salam, sosis, süt, meyve suyu gibi gıda maddelerinde gıda koruyucu maddesi olarak kullanılan NaNO_2 'nin bu gıda maddelerinin yapısında varolan $-\text{NH}_2$ grubu ile oluşturdukları nitrozaminlerin tespitine yöneliktir [40]. Su ve farklı çözücülerde bulunabilecek nitrozaminlerin tespiti ve nitrozamin yapısının suya dezenfektan olarak katılan maddeler varlığında UV ve değişik TiO_2 kullanılarak fotolitik olarak bozunmasına ait çalışmalar yapılmış ancak bozunma ürünlerinin tekrar nitrozamin oluşturmaları nedeniyle olumlu sonuçlar alınamamıştır [41,42]. Suda bulunabilen NDMA, NDEA, NMEA, NDBA gibi nitrozaminlerin elektron-beam ile etkileştirilerek akabinde puls radyoliz tekniği kullanılarak suyun radyoliz ürünlerinden $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{H}$, e^-_{aq} ile bu nitrozamin türlerinin hangi hızda ve suyun hangi radyoliz ürünleri ile daha kolay tepkime verdiğini kinetik çalışmalar yaparak incelenmiştir [39]. Yüksek enerjili, etkileştiği madde içerisinde nüfuz etme özelliği fazla ve seçicilik göstermeden nitrozaminlerin yapısını bozabilecek gama ışınları ile gıda maddelerindeki (salam, sucuk, et) nitrozaminler (NDMA ve NPyr) sodyum nitrit varlığında ışınlanmıştır. Çalışmalarının sonucunda NaNO_2 yokluğunda nitrozaminlerin tekrar oluşmadığı, NaNO_2 varlığında ise çok çok az miktarda bulunduklarını saptamışlardır. Gıda maddelerinde özellikle ekstrakte ettikleri nitrozaminlerin yapısının suda daha hızlı bozunduklarını tespit etmişlerdir. Bu çalışma ise ^{60}Co -gama ışınları ile nitrozaminlerin ışınlaması ile ilgili tek çalışmadır. İleri yükseltgeme prosesleri (AOP's) kullanılarak nitrozaminlerin gama-ışınları ile yapılarının bozunması ve tekrar bozunma ürünlerinin nitrozaminleri oluşturmamalarının anlaşılması ile ilgili daha fazla araştırmaların yapılması gereklidir [43].

Türkiye’de ise nitrozaminlerin gıda maddelerinde tespitine yönelik çalışmalar mevcuttur. Ancak içme sularında veya atıksularda nitrozamin varlığının tespitine yönelik çalışmalar mevcut değildir. Sadece bazı nehir ve yeraltı sularında nitrat ve nitrit miktar tayinine yönelik rutin su analizleri çalışmaları bulunmaktadır. Endüstrinin, ilaç sanayi atıklarının, gıda sanayi atıklarının hepsinde nitrozamin tespiti ve giderilmesi ile ilgili çalışmalar yapılması zorunludur [44, 45, 46].

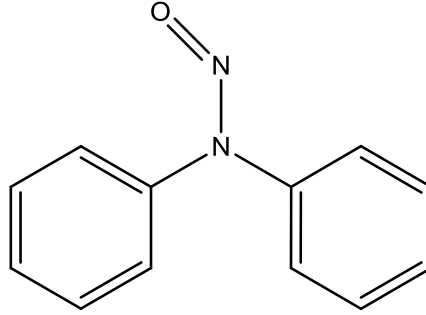
2.7. N-nitrozodifenilamin

N-nitrozodifenilamin turuncu-kahverengi ya da sarı renkli bir bileşik olup katı halde bulunmaktadır. Sudaki çözünürlüğü 0,003 g/100 mL’dir [22]. NDPhA, US Environmental Protection Agency (EPA) tarafından olası bir insan kanserojeni (B2) olarak kabul edilmiş olup, maksimum kirletici düzeyi; 7 µg/L (mikrogram/litre) olarak belirlenmiştir [47].

İçme suyunda ve atık sularda bulunan NDPhA’nın potansiyel önemini anlamak için, bu nitrozaminin dezenfeksiyon yan ürünlerini (öncül bileşikler) ve oluşum yollarının belirlenmesi gerekmektedir. Bu bilgi, dezenfeksiyon işlemi sırasında içme suyundaki NDPhA oluşumunu kontrol altına almak, azaltmak veya ortadan kaldırmak için gereklidir. Bununla birlikte, hiçbir çalışmada bu oluşum bildirilmemiş olup hangi öncüllerin bulunduğu ve NDPhA’nın içme suyu arıtımı sırasında nasıl oluştuğu belirlenememiştir [47].

Klor, kloramin ve klordioksit kullanımı ile içme suları dezenfekte edilerek su kaynaklı hastalıkların önlendiği bilinmektedir. Monokloramin ise hem dezenfektan olarak kullanılmakta olup hem de amonyak bulunan klorlanmış su içinde de oluşabilmektedir [19]. NDPhA ise kloramin ve su içinde bulunan organik maddelerin etkileşimi ile oluşan istenmeyen dezenfeksiyon yan ürünüdür. Difenilamin ise böcek ilacı, yiyecek katkı maddesi, kauçuklara eklenen antioksidant olarak kullanılmakta olup NDPhA oluşumunda öncül bileşen olduğu bilinmektedir [47, 48]. NDPhA’nın yapısına ve DMA’dan NDMA’nın oluşumuna dayanarak, su kloraminasyon sonrasında NDPhA’nın muhtemel öncüsü olarak difenilamin (DPhA) önerilmekte olup yüzey suyu ve yeraltı sularında çevresel bir kirletici olarak tespit edilmiştir [47]. Şekil 2.9’da N-nitrozodifenilaminin kimyasal yapısı ve bazı özellikleri verilmiştir.

N-nitrozaminler	Kısaltma	Formül	Molar Kütle (g/mol)
N-nitrozo-di-fenilamin	NDPhA	C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O	198,2



Şekil 2.9. N-nitrozodifenilamin kimyasal yapısı.

2.8. Ekstraksiyon

Kimyasal analizi gerçekleştirilecek idrar, plazma, serum gibi biyolojik; hava, su, toprak gibi çevresel ve gıda, farmasotik ürünler gibi diğer numuneler, aranan madde dışında birçok bileşeninde bulunduğu karışık bir matriks içerirler. Örnek hazırlama işlemi gaz kromatografi (GC), gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS), yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC), atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) gibi cihazlar yardımıyla yapılan analizler öncesinde uygulanması gereken bir basamaktır [49].

Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda çok fazla çözücünün ve zamanın harcanması, ayrıca bu yöntemde suda yüksek çözünürlüğe sahip polar maddelerin analizlerinin düşük verimle yapılmasından dolayı daha pratik, ekonomik, seçici ve hassas teknikler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Son yıllarda, sıvı-sıvı ekstraksiyona alternatif olarak geliştirilen katı-faz ekstraksiyonu tekniğine büyük ilgi vardır [50].

2.8.1. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

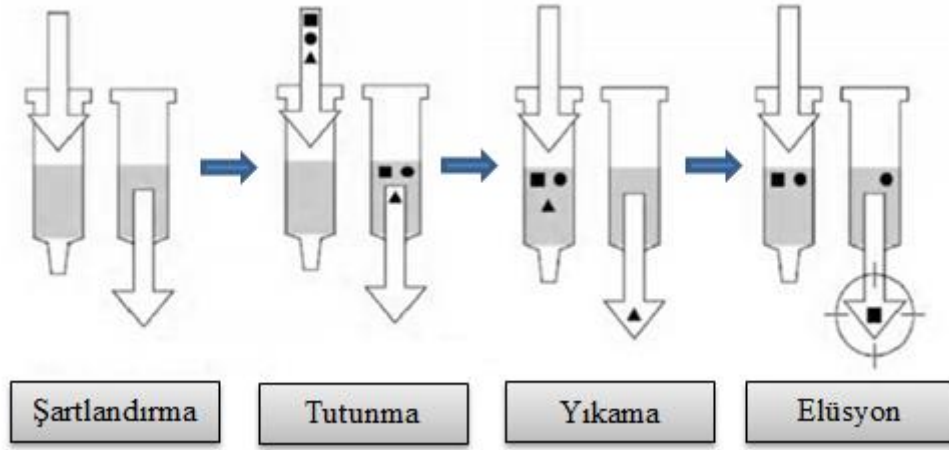
Bu yöntem, herhangi bir sıvı örneği içinde bulunan analit moleküllerinin 100-500 mg adsorbent madde içeren tek kullanımlık kolondan geçirildikten sonra adsorbent üzerine tutunan analit moleküllerinin kolondan geçirilen uygun bir organik çözücü ile geri kazanılarak sonrasında yapılacak analizlerde kullanılması için uygulanır. Bu yöntem uygulanırken analizi yapılacak maddenin bazı fizikokimyasal özelliklerine göre uygun adsorbent seçiminin yapılması, çözücünün polar ve apolar özelliklerine göre belirlenmesi gerekmektedir[50].

SPE yöntemi, tek kullanımlık ekstraksiyon kolon veya disklerine çeşitli adsorbent maddelerini içermesi ve sıvı örneklerden istenmeyen bileşenlerin ayrılması, değiştirilmesi ve yapılacak analize uygun hale getirilmesi için örnek matriks yapısının değiştirilmesi amaçlarıyla hazırlanmış olan kolon ve disklerden geçirilmesi esasına dayanmaktadır [49].

SPE metodunda kolon içerisinde bulunan adsorbent madde ile kolondan geçirilen örnek molekülleri arasında kimyasal bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşim sayesinde maddelerin ayrılma işlemi başlıca iki yolla gerçekleştirilir:

- (1) Birinci yöntemde, analiz edilecek bileşik adsorbent maddeye bağlanarak kolon içinde tutulurken, çözelti ve istenmeyen bileşenler bu madde ile herhangi bir etkileşime girmezler. Daha sonra istenmeyen bileşenler uygun bir çözücü kullanılarak uzaklaştırılır ve adsorbentte tutunmuş olan analiz edilecek bileşen uygun bir çözücü sayesinde organik faza alınır.
- (2) İkinci yöntemde ise, istenmeyen bileşenlerin adsorbent madde ile etkileşimi sağlanır. Atık yağlar gibi matriksten ayrılması zor olan maddelerin analizinde kullanılan bu yöntemde, matriksteki istenmeyen bileşenler adsorbente bağlanırlar. Böylece matriksten ayrılması istenen madde adsorbent ile etkileşime girmez ve uygun çözücü yardımıyla toplanır.

Şekil 2.10'da görüldüğü üzere, her iki ayırma işleminden önce SPE kolondaki adsorbentin şartlandırılması, kolondan uygun çözücünün geçirilmesi ile adsorbentin aktif hale getirilmesi ve matriksteki maddeler ile tekrarlanabilir etkileşim için gerekli ortamın sağlanabilmesi amacıyla yapılmaktadır. Polar olmayan adsorbentler, kolon hacminin 2-3 katı miktarda su ile karışabilen metil alkol, tetrahidrofuran, isopropanol gibi polar çözücüler ile polar tutucu maddeler ise polar olmayan çözücülerle şartlandırılmaktadır [51, 52].



Şekil 2.10. Katı Faz Ekstraksiyonu işlem basamakları.

2.8.2. SPE Metodunda Maddelerin Ayrılma Prensipleri

SPE metodunda maddelerin birbirinden ayrılması, analizi yapılacak maddenin molekülleri ile adsorbent maddede bulunan etkin gruplar arasındaki moleküller arası etkileşimler sayesinde açıklanır. Analizi yapılacak madde molekülleri adsorbentteki etkin gruplara iyonik, hidrojen, dipol-dipol, dipol-indüklenmiş dipol ve indüklenmiş dipol-indüklenmiş dipol (van der Waals) bağları ile bağlanır. Böylece analizi yapılacak madde, matriksteki istenmeyen bileşiklerden çözücüler yardımıyla ayrılmış olur [51]. Çizelge 2.3’de SPE metodunda kullanılan çözücüler verilmektedir.

Çizelge 2.3. SPE metodunda kullanılan çözücüler.

Polarite	Çözücü	Su ile karışabilme
Apolar Polar	Hekzan	Hayır
	İzooktan	Hayır
	Petrol eteri	Hayır
	Sikloheksan	Hayır
	Karbon tetraklorür	Hayır
	Kloroform	Hayır
	Metilen klorür	Hayır
	Tetraflüroren	Evet
	Dietil eter	Hayır
	Etil asetat	Zayıf
	Aseton	Evet
	Asetonitril	Evet
	İzopropanol	Evet
	Metil alkol	Evet
	Su	Evet
	Asetik asit	Evet

SPE metodunda, analiz edilecek madde, çözücü ve adsorbentlerin özelliklerine göre çeşitli ayırma mekanizmaları rol oynar. Belli başlı ayırma mekanizmaları olarak normal faz, ters faz, iyon değişim (katyonik ve anyonik değişim) ve moleküler eleme (büyüklükçe ayırma) sayılabilir [51, 52].

Normal faz sisteminde polar bileşikler polar olmayan matrislerden ayrılır. Şartlandırma işleminde polar olmayan çözücüler, organik faza alınmasında ise daha polar çözücüler kullanılır. Bu yöntemde en fazla kullanılan adsorbent madde silikadır. Florosil ise pestisitler, aşırı polar örnekler için ise alümina, silika gibi tutucu maddelere çeşitli grupların eklenmesi ile elde edilen amino, siyano ve diol grubu tutucu maddeler tercih edilmektedir [51].

Ters faz sisteminde, tutucu madde polaritesi örnek çözeltisinden daha düşüktür. En çok kullanılan adsorbent maddesi oktadesil (C18) olmakla birlikte, sikloheksil, oktil (C8), fenil, bütıl ve amino da çeşitli numuneler için seçici olmaları nedeniyle tercih edilirler [51]. Çizelge 2.4'te katı faz ekstraksiyonunda kullanılan adsorbentlere örnekler verilmiştir.

Çizelge 2.4. Katı Faz Ekstraksiyonu adsorbentleri.

Adsorbent	Formülü
Silika jel	SiOH
Alümina	Al ₂ O ₃
Florisil	MgSiO ₃
Oktadesil (C18)	(CH ₂) ₁₇ CH ₃
Oktil (C8)	(CH ₂) ₇ CH ₃
Etil (C2)	CH ₂ CH ₃
Siyano	CN
Fenil	C ₆ H ₅
Sikloheksil	C ₆ H ₁₁
Amino	NH ₂
Diol	C-OHC-OH
Kuartern amin	N ⁺
Karboksilik asit	COOH

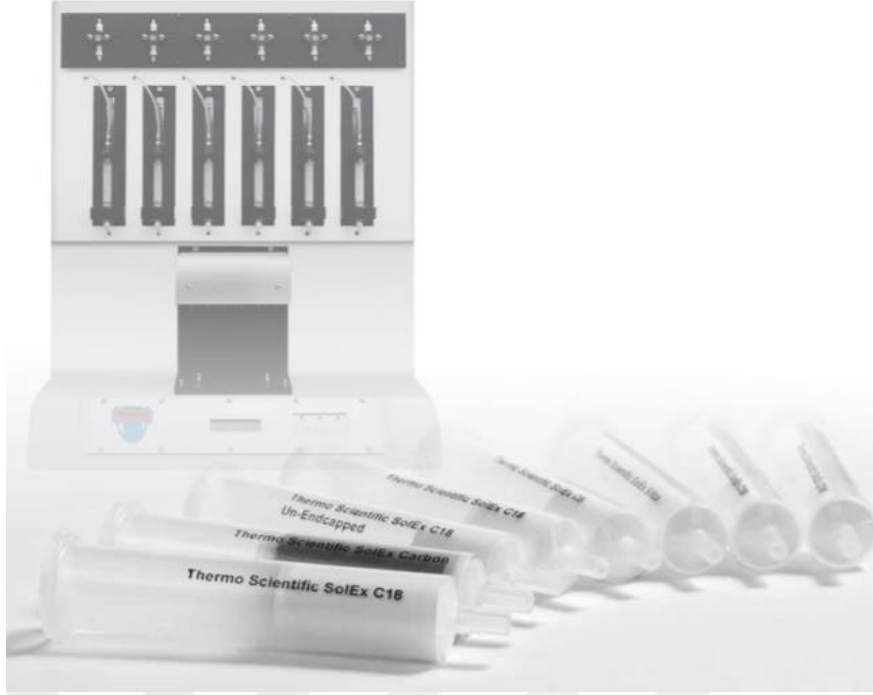
Adsorbent seçimindeki önemli parametreler aşağıdaki gibi olmalıdır:

1. Rejenere edilebilir olması,
2. Yüksek tutunma kapasitesine sahip olması,
3. Mekaniksel ve kimyasal kararlılığının olması,
4. Geniş bir pH aralığında çalışılmasına olanak sağlayarak çok sayıda analitin seçimli olarak ayrılması,
5. Kantitatif adsorpsiyon ve desorpsiyon sağlaması,
6. Kinetik olarak hızlı adsorpsiyon ve desorpsiyon mekanizmaları oluşumu sağlamasıdır.

2.8.3. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyonu (ASPE)

Kirleticilere çok kolay maruz kalabilen su kaynaklarından alınan numunelere uygulanan su analizlerinde yağmur suları, atık sular veya içme sularında ağır metal, anyon, katyon gibi inorganiklerin ve bazı organik kirleticilerin analizleri gerçekleştirilmektedir. İnorganik maddelerin analizinde genellikle su numunesi herhangi bir işleme tabi tutulmadan sistemlere enjekte edilebilmektedir.

Organik kirleticilerin analizlerinde ise istenen limitlere inebilmek için numunelerin deriştirilmesi gerekmektedir. Ekstraksiyon işlemi sırasında kullanıcı sürekli olarak çözücülere maruz kalmakta ve işlem bir su numunesi için 2-3 saat sürebilmektedir. Geri kazanım miktarlarının kullanıcıdan kullanıcıya çok farklı olması nedeniyle bu miktarlarda değişiklik gözlenmektedir. Böylece tekrarlanabilirlik ve güvenilirlik azalmaktadır. Dionex AT 280 otomatik SPE kartuş sistemi ile bu tür problemler ortadan kaldırılmaktadır. Özellikle geri kazanım ve tekrarlanabilirlik sonuçları üst seviyede olmaktadır [53].



Şekil 2.11. Thermo Scientific AT 280 Autotrace Otomatik SPE Sistemi ve Kartujları.

2.9. Kromatografi

Kromatografi, bir karışımda bulunan birbirine yakın özellikteki maddeleri ayırmak ve saflaştırılmasında yöntemidir. Kromatografik ayırmalarda örnek; gaz, sıvı veya süperkritik bir akışkan olan hareketli faz ile taşınır. Bu hareketli faz bir kolonda veya bir katı yüzeyde kendisi ile karışmayan bir sabit faz içinden geçmeye zorlanır. Sabit faz tarafından kuvvetli tutulan örnek bileşenleri, hareketli fazın akışıyla çok yavaş hareket etmesine karşılık, sabit faz tarafından zayıfça tutulan bileşenler hızlı hareket ederler. Böylece bileşenlerin kolonu terk etme hızlarının farklılığından yararlanılarak, örnek bileşenleri birbirinden kalitatif ve/veya kantitatif olarak ayrılımları sağlanmaktadır [54].

2.9.1. Gaz Kromatografisi

Gaz kromatografide (GC), numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilerek analiz başlatılır. İnert bir hareketli gaz fazı ile elüsyon yapılır. Diğer kromatografik yöntemlerden farklı olarak analitin molekülleri ile gaz fazı arasında etkileşim gerçekleşmez; gazın analiz boyunca görevi, analitin kolon boyunca taşınmasının sağlanmasıdır [55].

2.9.1.1. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS)

GC-MS sistemi çok bileşenli karışımlardaki elementlerin belirlenmesinde, gazlaştırılabilen ya da gaz fazında bulunan numunelerin kromatografik yöntemle ayrımının gerçekleştirilmesinde ve elde edilen kütle spektrumları ile ileri seviye (biyolojik, organik ve inorganik) moleküler yapı tayinlerinde, kalitatif ve kantitatif çalışmalar için kullanılan yüksek hızla çalışan bir gaz kromatografisi-kütle spektrometresi sistemidir. Kütle spektrumu ise örnekteki bileşiklerin kolaylıkla hareket edebilen iyonlara dönüştürülmesi ve bu iyonların kütle/yük oranına göre sıralanmasıyla elde edilmektedir.

2.9.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi bir sıvı içerisinde çözünmüş bileşenlerin, bir kolon içerisinde katı bir destek üzerinde bulunan sabit faz ile etkileşimlere girmesi ve kolon içinde değişik hızlarla hareket etmeleri sonucunda farklı alıkonma sürelerinde bileşenlerin kolonu terk ederek birbirlerinden ayrılmasına dayanmaktadır. Bu sistemin daha fazla tercih edilebilir olmasının sebepleri arasında yöntemin kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, duyarlılığı, sıcaklıkla kolayca bozunabilen veya uçucu olmayan bileşiklerin ayrılmasındaki uygunluğu sayılabilir.

2.9.3. İyon Kromatografisi (IC)

İyon Kromatografisi, iyon değiştirici reçinelerin kullanımına dayanan, iyonların ayrılması ve tayini için etkili bir yöntemdir [56].

İyon Kromatografisi yöntemi sabit faz olarak kullanılan bir katı ile çözeltinin etkileşimi sayesinde, katı ile çözelti arasındaki iyonların değişimini temel almaktadır. Sentetik iyon değiştirici reçineler ilk olarak 1935 yılında üretilmiş ve laboratuarlarda özellikle endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılmıştır. Bu yöntemde; sabit fazı oluşturan iyon değiştiriciye kimyasal bağlarla bağlı yüklü gruplar, hareketli fazdaki benzer iyonlarla yer değiştirmesi sonucunda değiştirilebilir iyon taşıyan maddelerin (antibiyotikler, alkaloidler, aminoasitler, asitler vb.) ayrılması sağlanmaktadır [50].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Bu çalışmada standart olarak kullanılan N-nitrozodifenilamin (NDPhA) (Aldrich $\geq 97,0$), çözücü olarak kullanılan asetonitril (ACN) (Sigma-Aldrich, Chromasolv for HPLC, $\geq 99,9$), diklorometan (DCM) (Sigma-Aldrich, Chromasolv for HPLC, $\geq 99,8$), metil alkol (Sigma-Aldrich, Chromasolv for HPLC, $\geq 99,9$), hekzan (Sigma-Aldrich, Chromasolv for HPLC, $\geq 97,0$), tampon çözeltisinin hazırlanmasında asetik asit (HAc) (Sigma-Aldrich, %99,7) ve amonyum asetat (NH_4Ac) (Sigma-Aldrich, %98), ile olası ara ürün difenilamin (DPhA) ise (Fisher, purified, certified ACS) firmalarından temin edilmiştir. Türevlendirme ajanı olarak N-metil-N-(trimetilsilil)-trifloroasetamit (MSTFA) (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. İyon Kromatografisi elüenti olarak Dionex EGC II potasyum hidroksit (KOH) temin edilmiştir. Kimyasallar herhangi bir işleme tabi tutulmadan olduğu şekliyle kullanılmıştır. Kurutma ve uçurma işlemlerinde kullanılan azot %99 saflıkta olup, bütün deneysel işlemlerde ultrasaf su kullanılmıştır. Adsorbent olarak Karboksen 572 (Carboxen 572) (Supelco, 20/45 mesh size), Alümina (BDH, for chromatographic adsorption analysis), Alümina (BDH, calcined) ve Aktif Kömür (Active Coal) (Fluka, from peat, multi-purpose, steam activated and acid washed, powder) kullanılmıştır. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ve İyon Kromatografisi ile yapılan çalışmalarda kullanılan standartlar ile ilgili bilgiler Çizelge 3.1 ve 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi cihazı kullanılarak tespit ve miktar tayininde kullanılan standartlar.

Adı	Saflık (%)	Marka
p-amino fenol	99,0	Aldrich
Hidrokinon	99,0	Sigma-Aldrich
Resorsinol	99,0	Fluka
Benzoik Asit	99,5	Sigma-Aldrich
Fenol	96,0	Sigma-Aldrich
Benzaldehit	99,0	Merck
p-nitro fenol	98,0	Fluka
m-nitro fenol	99,0	Aldrich
Asetofenon	98,0	Merck
o-nitro fenol	98,0	Aldrich

Çizelge 3.2. İyon Kromatografi cihazı kullanılarak organik alifatik asit tespitinde kullanılan standartlar.

Adı	Safılık (%)	Marka
Asetik Asit	99,7	Sigma-Aldrich
Formik Asit	90,0	Sigma-Aldrich
İtakonik asit	99,0	Fluka
Malik Asit	99,0	Fluka
Malonik Asit	99,0	Fluka
Maleik Asit	99,0	Merck
Okzalik Asit-dihidrat	99,0	Sigma-Aldrich

3.2. Cihazlar Ve Analitik Yöntemler

3.2.1. Kobalt-60 Gama Kaynağı

NDPhA'nın 2 mg/L derişiminde hazırlanmış sulu çözeltileri, pyreks şişelerde ağızları kapalı olarak, 0,023 kGy/saat doz hızına sahip Şekil 3.1'de görüldüğü üzere Gammacell-220 tipi Co-60 gama kaynağında değişik ışınlama dozlarında (0,02 kGy-3,16 kGy aralığında) oda sıcaklığında ve hava ortamında ışınlanmıştır. Işınlandıktan sonra NDPhA çözeltileri uygun hacim/hacim (v/v) oranlarında metil alkol ile ekstrakte edilerek, türevlendirme işlemi yapıldıktan sonra Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi ile analiz edilmiştir.



Şekil 3.1. Kobalt-60 gama kaynağı.

3.2.2. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyon Sistemi (ASPE)

NDPhA için deriştirme işlemleri Şekil 3.2’de verilmiş olan Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile yapılmış olup, katı faz ekstraksiyonu 1000 mg adsorbent içeren tek kullanımlık 10 mL’lik oktadesil (Thermo Scientific Solex C18) kartuşlarla gerçekleştirilmiştir. Yapılan denemeler sonucu belirlenen programa göre kartuşlar şartlandırılmıştır. Örneklerin farklı hacimlerdeki sulu çözeltileri kartuşlardan geçirildikten sonra 5 mL metil alkol içerisine kartuşlarda tutunmuş örnek, organik faza geçirilmiş olup ASPE sistemine özel 15 mL’lik viallere alınmıştır.



Şekil 3.2. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyon Sistemi.

3.2.2.1. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyon Sisteminin Programlanması

Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile C18 (1000 mg) kartuşlar kullanılarak, hazırlanan değişik derişimlerdeki 500 mL NDPhA standartları ve değişik dozlarda ışınlanan 2 ppm NDPhA örnekleri, 5 mL metil alkol içerisine alınarak 100 kat deriştirme işlemi yapılmıştır. Thermo Dionex AT 280 oto deriştiricisi için aşağıdaki program yapılmıştır:

Çizelge 3.3. Thermo Dionex AT 280 oto deriştiricisi ile NDPhA katı faz ekstraksiyonu için yapılan program.

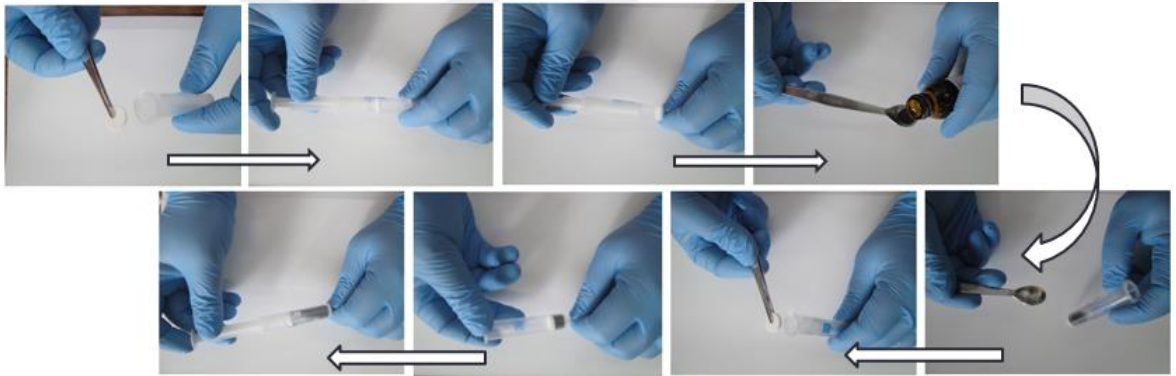
1. C18 kartuşları 6 mL hekzan ile şartlandırma
2. C18 kartuşları 12 mL metil alkol ile şartlandırma
3. C18 kartuşları 6 mL deiyonize su ile yıkama
4. 500 mL numuneyi C18 kartuşlardan geçirme (10 mL numune/dakika)
5. C18 kartuşları 2 dakika boyunca azot atmosferi altında kurutma
6. Şırıngayı 2 mL metil alkol ile yıkama
7. C18 kartuştan 5 mL metil alkol geçirerek numuneyi tüplere toplama

3.2.2.2. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyonunda Alternatif Kolon Dolgu Maddelerinin Kullanımı

Sudaki NDPhA'nın organik faza alınma verimini arttırmak için tablolarda şartlandırma koşulları verilen ve boş kolonlara doldurulan Karboksen 572 (Supelco, 20/45 mesh size), Alümina (BDH, for chromatographic adsorption analysis), Alümina (BDH, kalsine) ve Aktif Kömür (Fluka, turbadan buhar ile aktive edilmiş, asitle yıkanmış çok amaçlı toz) malzemeleri kullanılmıştır.

Dolgu malzemeleri için yapılan şartlandırmalar Çizelge (3.4-3.7)'de verilmiş olup, herbir dolgu malzemesi için, organik faz olarak hem apolar çözücü diklorometan hem de polar çözücü metil alkol için denenmiştir.

Şekil 3.3'de boş kartuş kılıfının doldurulması esnasında geçen aşamalar karboksen için gösterilmiş olup, kullanılan tüm dolgu malzemelerinde aynı yöntem kullanılmıştır. 1 gram dolgu malzemesi, alt tarafı kapatılan kartuşa yerleştirildikten sonra üzeri kapatılmaktadır.



Şekil 3.3. Boş kartuş kılıfının dolgu malzemeleriyle doldurulması.

Çizelge 3. 4. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için yapılan katı faz ekstraksiyonu programı. Dolgu malzemesi Karboksen, organik faz (a) Diklorometan, (b) Metil alkol.

(a) Numune ekstraksiyonu için diklorometan kullanılmıştır.

1. Karboksen dolgu malzemelerini 5,0 mL diklorometan ile şartlandırma
2. Karboksen dolgu malzemelerini 5,0 mL metil tersiyer bütül eter ile şartlandırma
3. Karboksen dolgu malzemelerini 5,0 mL metil alkol ile şartlandırma
4. Karboksen dolgu malzemelerini 5,0 mL deiyonize su ile şartlandırma
5. 500 mL numuneyi karboksen dolgu maddesinden geçirme (10 mL numune/dakika)
6. Karboksen dolgu malzemelerini 2 dakika azot atmosferi altında kurutma
7. Şırıngayı diklorometan ile yıkama
8. 5 mL diklorometan ile numuneyi tüplere toplama

(b) Numune ekstraksiyonu için metil alkol kullanılmıştır.

1. Karboksen dolgu malzemelerini 5,0 mL diklorometan ile şartlandırma
2. Karboksen dolgu malzemelerini 5,0 mL metil tersiyer bütül eter ile şartlandırma
3. Karboksen dolgu malzemelerini 5,0 mL metil alkol ile şartlandırma
4. Karboksen dolgu malzemelerini 5,0 mL deiyonize su ile şartlandırma
5. 500 mL numuneyi karboksen dolgu maddesinden geçirme (10 mL numune/dakika)
6. Karboksen dolgu malzemelerini 2 dakika azot atmosferi altında kurutma
7. Şırıngayı metil alkol ile yıkama
8. 5 mL metil alkol ile numuneyi tüplere toplama

Çizelge 3.5. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için yapılan katı faz ekstraksiyonu programı. Dolgu malzemesi Alümina (kromatografik analize uygun saflıkta), organik faz (a) Diklorometan, (b) Metil alkol.

(a) Numune ekstraksiyonu için diklorometan kullanılmıştır.

1. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL diklorometan ile şartlandırma
2. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL metil tersiyer bütül eter ile şartlandırma
3. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL hekzan ile şartlandırma
4. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL metil alkol ile şartlandırma
5. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL deiyonize su ile şartlandırma
6. 500 mL numuneyi alümina dolgu maddesinden geçirme (10 mL numune/dakika)
7. Alümina dolgu malzemelerini 2 dakika azot atmosferi altında kurutma
8. Şırıngayı diklorometan ile yıkama
9. 5,0 mL diklorometan ile numuneyi tüplere toplama

(b) Numune ekstraksiyonu için metil alkol kullanılmıştır.

1. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL diklorometan ile şartlandırma
2. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL metil tersiyer bütül eter ile şartlandırma
3. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL hekzan ile şartlandırma
4. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL metil alkol ile şartlandırma
5. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL deiyonize su ile şartlandırma
6. 500 mL numuneyi alümina dolgu maddesinden geçirme (10 mL numune/dakika)
7. Alümina dolgu malzemelerini 2 dakika azot atmosferi altında kurutma
8. Şırıngayı metil alkol ile yıkama
9. 5,0 mL metil alkol ile numuneyi tüplere toplama

Çizelge 3.6. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için yapılan katı faz ekstraksiyonu programı. Dolgu malzemesi Kalsine alümina, organik faz (a) Diklorometan, (b) Metil alkol.

(a) Numune ekstraksiyonu için diklorometan kullanılmıştır.

1. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL diklorometan ile şartlandırma
2. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL metil tersiyer bütıl eter ile şartlandırma
3. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL hekzan ile şartlandırma
4. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL metil alkol ile şartlandırma
5. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL deiyonize su ile şartlandırma
6. 500 mL numuneyi alümina dolgu maddesinden geçirme (10 mL numune/dakika)
7. Alümina dolgu malzemelerini 2 dakika azot atmosferi altında kurutma
8. şıringayı diklorometan ile yıkama
9. 5,0 mL diklorometan ile numuneyi tüplere toplama

(b) Numune ekstraksiyonu için metil alkol kullanılmıştır.

1. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL diklorometan ile şartlandırma
2. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL metil tersiyer bütıl eter ile şartlandırma
3. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL hekzan ile şartlandırma
4. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL metil alkol ile şartlandırma
5. Alümina dolgu malzemelerini 5,0 mL deiyonize su ile şartlandırma
6. 500 mL numuneyi alümina dolgu maddesinden geçirme (10 mL numune/dakika)
7. Alümina dolgu malzemelerini 2 dakika azot atmosferi altında kurutma
8. şıringayı metil alkol ile yıkama
9. 5,0 mL metil alkol ile numuneyi tüplere toplama

Çizelge 3.7. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için yapılan katı faz ekstraksiyonu programı. Dolgu malzemesi Aktif kömür, organik faz (a) Diklorometan, (b) Metil alkol.

(a) Numune ekstraksiyonu için diklorometan kullanılmıştır.

1. Aktif kömür dolgu malzemelerini 5,0 mL diklorometan ile şartlandırma
2. Aktif kömür dolgu malzemelerini 5,0 mL metil tersiyer bütıl eter ile şartlandırma
3. Aktif kömür dolgu malzemelerini 5,0 mL hekzan ile şartlandırma
4. Aktif kömür dolgu malzemelerini 5,0 mL metil alkol ile şartlandırma
5. Aktif kömür dolgu malzemelerini 5,0 mL deiyonize su ile şartlandırma
6. 500 mL numuneyi aktif kömür dolgu maddesinden geçirme (10 mL numune/dakika)
7. Aktif kömür dolgu malzemelerini 2 dakika azot atmosferi altında kurutma
8. şıringayı diklorometan ile yıkama
9. 5,0 mL diklorometan ile numuneyi tüplere toplama

(b) Numune ekstraksiyonu için metil alkol kullanılmıştır.

1. Aktif kömür dolgu malzemelerini 5,0 mL diklorometan ile şartlandırma
2. Aktif kömür dolgu malzemelerini 5,0 mL metil tersiyer bütül eter ile şartlandırma
3. Aktif kömür dolgu malzemelerini 5,0 mL hekzan ile şartlandırma
4. Aktif kömür dolgu malzemelerini 5,0 mL metil alkol ile şartlandırma
5. Aktif kömür dolgu malzemelerini 5,0 mL deiyonize su ile şartlandırma
6. 500 mL numuneyi aktif kömür dolgu maddesinden geçirme (10 mL numune/dakika)
7. Aktif kömür dolgu malzemelerini 2 dakika azot atmosferi altında kurutma
8. Şırıngayı metil alkol ile yıkama
9. 5,0 mL metil alkol ile numuneyi tüplere toplama

3.3.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizleri

20 µL analiz edilecek numune, manuel olarak Acclaim PA C16 kolonuna çözücüsü metil alkol olacak şekilde enjekte edilmiştir. İzokritik olarak yürüyen sistemde asetonitril/su mobil faz akış hızı 1,100 mLdk⁻¹ olarak ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı 30°C, UV-GB dedektörü ise 230 nm dalgaboyundaki absorbanı ölçerek analiz yapmaktadır. Bu çalışmada, ilk olarak, bilinen derişimlerdeki NDPhA çözeltileri metil alkol içerisinde hazırlanmış olup asetonitril/su mobil fazı ile dengede olan Acclaim 16 PA analitik kolonuna enjekte edilmiştir. Mobil faz bileşimi ve cihaz parametreleri Çizelge 3.8’de verilmiştir.

Çizelge 3.8. HPLC cihazının analitik parametreleri.

Kolon	Acclaim PA C16
Kolon Sıcaklığı	30 C
Hareketli Faz	Asetonitril (ACN) / Su (4:1, v/v)
Akış Hızı	1,100 mL/dakika
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Dedektör	Deuterium-UV

HPLC sistemine olası bazı aromatik bileşiklerin 20 ppm standart çözeltileri hazırlanarak enjekte edilmiş olup alıkonma zamanları saptanmıştır. Bu fenolik bileşikler, NDPhA ve DPhA için kullanılan C16 analitik kolonundan farklı olarak C18 kolona verilmişlerdir. Mobil faz olarak asetik asit-amonyum asetat tamponu ve metil alkol-su bazlı gradient sistem kullanılması tercih edilmiştir. HPLC ile ilgili analitik parametreler Çizelge 3.9’da verilmiştir.

Çizelge 3.9. HPLC cihazının analitik parametreleri.

Kolon	Acclaim® C18 (4,6x150mm; 3µm gözenek çaplı)
Kolon Sıcaklığı	30°C
Hareketli Faz	A: 25 mM HAc / 25 mM NH ₄ Ac (1,45:1, v/v) B: CH ₃ OH / H ₂ O (1,5:1, v/v)
Akış Hızı	0,700 mL/dakika
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Dedektör	Deuterium-UV

3.3.4. İyon Kromatografisi (IC) Analizleri

Organik alifatik asitler ile nitrit ve nitrat analizleri DX-3000 model Dionex marka İyon Kromatografisi (IC) ile gerçekleştirilmiştir. Supresor olarak ASRS-300 (4mm) kullanılmıştır. 35°C'de tutulan iletkenlik dedektörü 100 mA olarak ayarlanmıştır. Kolondaki analitik analizler 4x250mm analitik İonpac AS11-HC kolonu ile 30°C'de yapılmaktadır. 100 µL numune sisteme oto örnekleyici ile enjekte edilmektedir. Mobil faz olarak Dionex EGC II KOH elüenti kullanılmıştır ve kolondaki KOH derişimi basamaklı olarak 0 ile 28 mM arasında 1,300 mL/dakika akış hızı ile değişmektedir. Cihazın görüntüsü Şekil 3.4'te verilmiş olup, iyon kromatografi ile ilgili analitik parametreler Çizelge 3.10'da yer almaktadır.



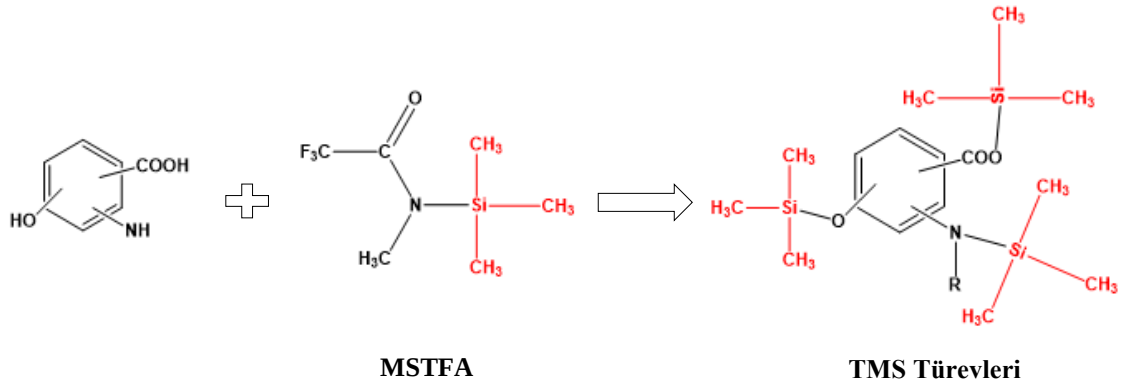
Şekil 3.4. İyon Kromatografisi cihazı.

Çizelge 3.10. İyon Kromatografi (IC) cihazının analitik parametreleri.

Marka ve Model	Dionex-DX3000
Yazılım	Chromeleon 6.80 SP2 Build 2284
Analitik Kolon	IonPac AS11-HC (4x250mm) ve IonPac AG11-HC ön koruma kolonu (4x50mm)
Akış Hızı	1,300 mL/dakika
Enjeksiyon Hacmi	100 µL
Supressor	ASRS-300, 4mm
Dedektör	İletkenlik

3.3.5. Türevlendirme

Olası ara ürünlerde mevcut olabilecek hidroksi, amin ve karboksilik asitlerdeki –H grubunu trimetil silil (TMS) esterine dönüştürmek için türevlendirme ajanı olarak N-metil-N-(trimetilsilil)-trifloroasetamid (MSTFA) kullanılmıştır. Metil alkol içerisinde olası ara ürünlerin bulunduğu örneklerden 100 µL alınmış, çözücülerini azot atmosferi altında uçurulduktan sonra 100 µL MSTFA eklenerek çözülmüş, 60°C olan saf su banyosunda 15 dakika bekletilip soğutulduktan sonra GC-MS cihazına enjekte edilmiştir. Bazı fonksiyonel grupların MSTFA ile TMS esterlerine dönüştürülmesine ait türevlendirme reaksiyonu Şekil 3.5’te verilmiştir.



Şekil 3.5. Bazı fonksiyonel grupların MSTFA ile TMS esterlerine dönüştürülmesi.

3.3.6. GC-MS Analizleri

NDPhA'nın bozunması sonucunda oluşan ara ürünlerin belirlenmesi ve tanımlanması "Thermo Trace 1300" marka Gaz Kromatografisi, buna bağlı "ISQ LT Single Quadrapol Kütle Spektrometresi"nde gerçekleştirilmiştir. NDPhA'nın ayrımı Varian VF-5ms kapiler kolon (30m x 0,25mm x 0,25µm) kullanılarak yapılmıştır. Enjeksiyon splitless modda yapılmıştır. Enjektör sıcaklığı 270°C, cihazın sıcaklık programı ise 80°C'de başlayıp bu sıcaklık değerinde 1 dakika bekleme, daha sonra 7°C/dakika ısıtma hızı ile 150°C'ye ulaşma, 5 dakika bu sıcaklıkta bekleme, 7°C/dakika ısıtma hızı ile 200°C'ye ulaşma, 5 dakika bu sıcaklıkta bekleme, 7°C/dakika ısıtma hızı ile 240°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 5 dakika sabit kalacak şekilde ayarlanmıştır. MS transfer sıcaklığı ve iyon kaynağı 250°C'ye ayarlanmıştır. Elde edilen kromatogramların analizleri MS dedektörü ile NIST kütüphanesi yardımıyla saptanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum gazı 99,999% saflığa sahip olup akış hızı, 1 mL/dk olarak ayarlanmıştır.



Şekil 3.6. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi cihazı.

Çizelge 3.11. GC/ MS çalışma koşulları.

Cihaz	"Thermo Trace 1300" Gaz Kromatografisi ve "ISQ LT Single Quadrapol Kütle Spektrometresi"
Kolon	Varian VF-5ms Kapilar Kolon (30m x 0,25mm x 0,25µm)
Enjeksiyon	Splitless
Sıcaklık Programı	80°C(1dk)→7°C/dk→150°C(5dk)→7°C/dk→200°C(5dk)→7°C/dk→275°C(5dk)
Enjeksiyon Sıcaklığı	200°C
Enjeksiyon Hacmi	1 µL
İyonlaşma	Elektron İyonlaşma (EI)
Taşıyıcı Gaz	Helyum
Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	1mLdk ⁻¹

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada NDPhA'nın gama ışınlarına maruz bırakılarak bozunması takip edilmiş olup bozunma ürünleri IC ile, kartuj seçimi yapılarak ASPE parametrelerinin optimizasyonu sağlandıktan sonra ekstrakte edilen numuneler HPLC ve GC-MS yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.

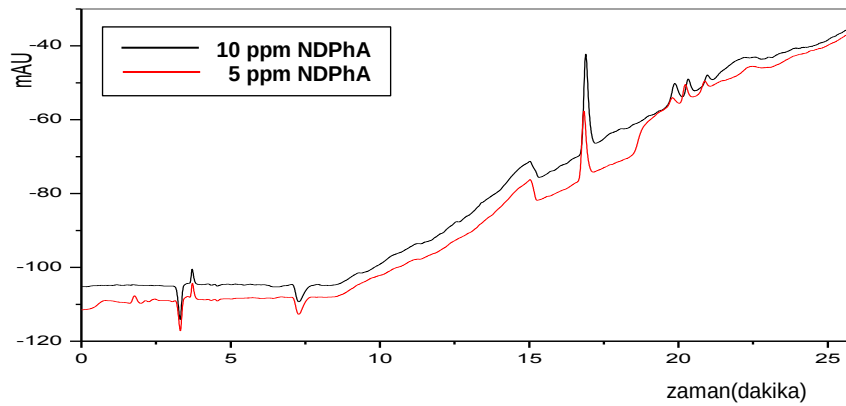
4.1. Analitik Yöntem Geliştirilmesi

Dionex HPLC sistemi için mobil faz oranları değiştirilerek, elde edilen piklerin alıkonma zamanı ve keskinliği açısından optimum analiz koşulları saptanmıştır. İlk olarak, bilinen derişimlerdeki NDPhA çözeltileri diklorometan (DCM) içerisinde hazırlanmış olup gradiyent olarak yürüyen asetonitril (ACN)/Su mobil fazı ile dengede olan Acclaim 16 PA analitik kolonuna enjekte edilmiştir. Gradiyent karışımın bileşimi ve mobil faz bileşimi Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Gradiyent mobil faz için yapılan akış programı (A çözeltisi: %10 asetonitril, %90 su; B çözeltisi: %90 asetonitril, %10 su).

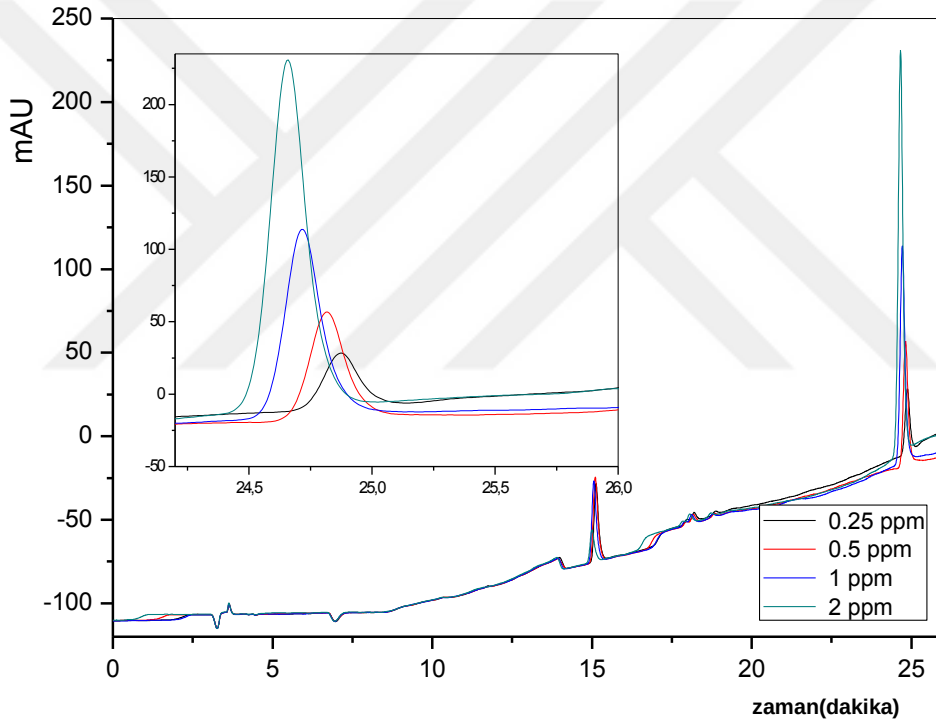
5. dakika alıkonma zamanına kadar A ve B çözeltilerinden eşit miktarda alınsın (%50 A ve %50 B)
25. dakika alıkonma zamanına kadar 2 mL/dak artış hızı ile B bileşimini % 90'a kadar arttır.
26. dakika alıkonma zamanına kadar mobil faz bileşimini sabit tut.
26,1. dakika analizi sonlandır.

Şekil 4.1'de (DCM) içerisinde hazırlanmış bilinen derişimlerdeki (10 ve 5 ppm) NDPhA standartları için HPLC kromatogramları verilmiştir. 16,8 dakika alıkonma zamanında pikler gözlenmiş olmasına karşın, bu piklerin alanları birbirine yakındır.



Şekil 4.1. DCM'de hazırlanmış 10 ppm ve 5 ppm standart NDPhA için HPLC kromatogramı.

Şekil 4.2’de, bilinen derişimlerdeki (0,25, 0,5, 1, 2 ppm) NDPhA, Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile 100 kat deriştirilerek (teorik olarak 25, 50, 100, 200 ppm) HPLC sistemine enjekte edilmiştir ve 16,8 dakika alıkonma zamanına ek olarak, 24. dakika alıkonma zamanında keskin ve şiddetli pikler gözlenmiş olup bu piklerin alanlarının dağılımının NDPhA derişimi ile doğru orantılı olarak değiştiği gözlenmiştir. Aynı zamanda 16,8 dakika alıkonma zamanındaki pik alanlarının dağılımının yine birbirine yakın olduğu gözlenmiştir. Bu kromatogramlar incelendikten sonra, bu yöntemin 10 ppm için sonuç vermediği, daha yüksek derişimler için sonuçlar verdiği düşünülerek yeni bir analitik program yapma gereksinimi doğmuştur.

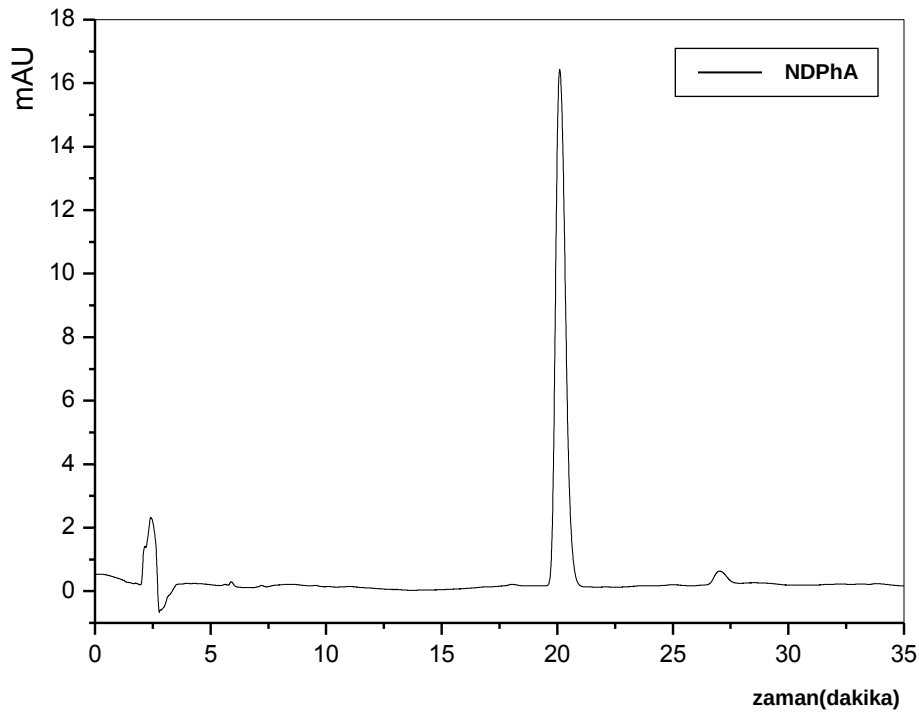


Şekil 4.2. Suda hazırlanan değişik derişimlerdeki NDPhA çözeltisinin Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici (100 kat deriştirme) ile diklorometana ekstrakte edildikten sonraki HPLC kromatogramları.

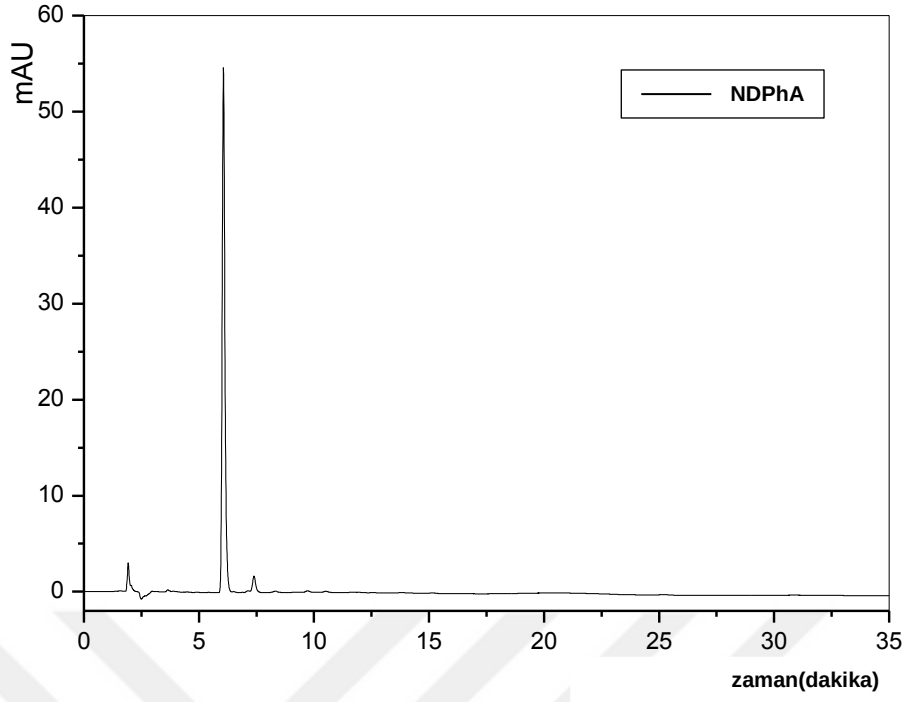
Diklorometanın asetonitril/su karışımı ile karışmadığı gözlendikten sonra, hazırlanan numunelerdeki diklorometan kontrollü bir biçimde azot atmosferi altında pyreks tüplerin içerisinde büyük oranda uçurulup tüpte kalan diklorometan çözeltisinin üzerine metil alkol eklenmiştir.

Metil alkol eklenen çözeltide, safsızlık olarak kalan diklorometanın tamamen uzaklaşması için yine bu çözelti için de azot atmosferi ile az miktarda çözelti kalıncaya kadar uzaklaştırma işlemi gerçekleştirilmiş, gerekli hacme kadar da tüpün içerisine metil alkol eklenmiştir. Bu durumda, NDPhA standartları ile olası ara ürünler diklorometandan metil alkol fazına geçmiştir.

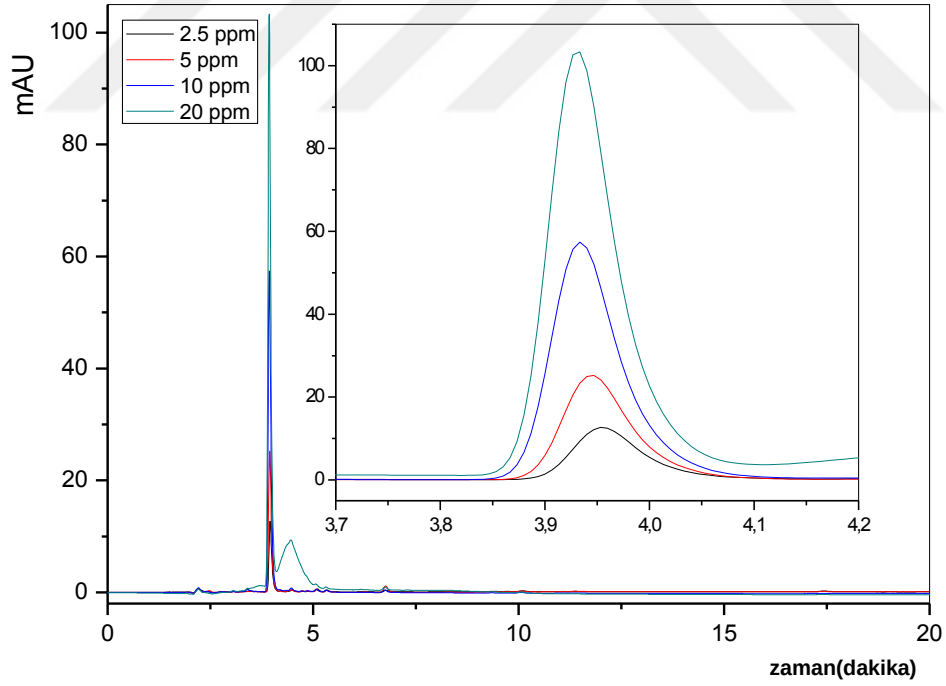
Mobil fazın asetonitril (ACN)/su oranının (%v/v) %50/%50 ve %65/%35 olduğu kromatogramlar sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te verilmiştir. Mobil fazın kolondaki akış hızı 1,1 mL/dakikadır. Alıkonma zamanları mobil faz bileşimi ACN/Su (%v/v) %50/%50 ve %65/%35 olan sistemler için sırası ile 20,8 ve 6,3 dakikadır. Şekillerden görüleceği üzere, mobil fazdaki asetonitril oranı arttıkça, piklerin alanlarının aynı kalmasına karşın şiddeti ve keskinliği artarak yayvanlığı azaltmakta, alıkonma zamanı düşmektedir. Bu gözlemler doğrultusunda, ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 olan mobil faz için de kromatogramlar alınmış, Şekil 4.5'te değişik derişimler için alınan sonuçlar verilmiştir. Alıkonma zamanı 3,95 dakikaya düşen pikler, daha keskin ve daha belirgin olarak gözlenmektedir. Dolayısıyla, düşük derişimlerle yapılan çalışmalarda analizin hassas olması bu durumda daha geçerlidir.



Şekil 4.3. 20 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %50/%50 ve metil alkol içinde hazırlanmış standart).

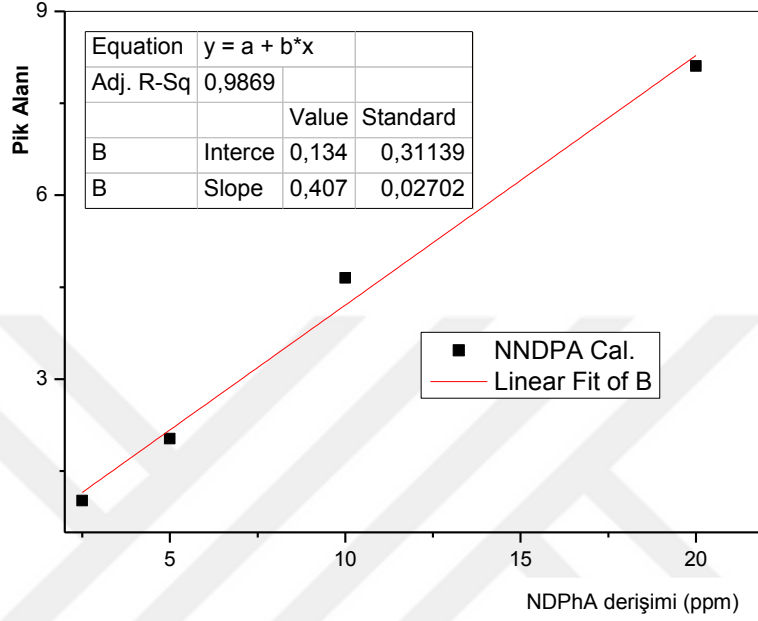


Şekil 4.4. 20 ppm NDPHA için HPLC kromatogramı (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %65/%35 ve metil alkol içinde hazırlanmış standart).



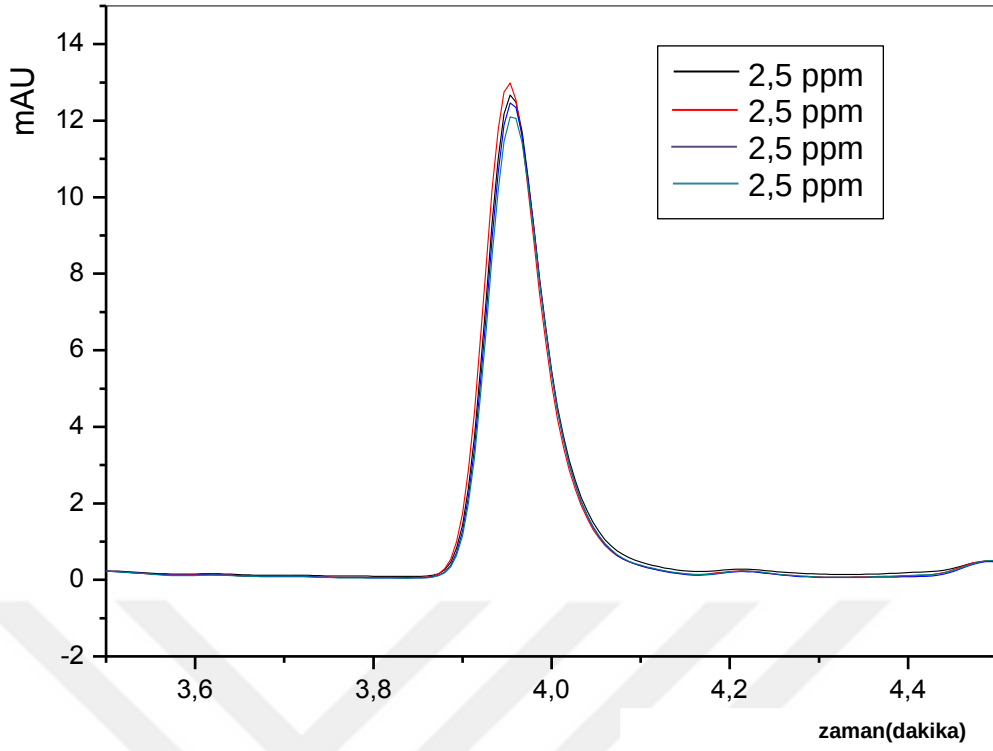
Şekil 4.5. NDPHA standartlarının kromatogramları (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkol içinde hazırlanmış standartlar).

Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı, ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 içeren mobil faz benimsenmiş, NDPhA için bu analitik yöntemin uygulanmasına karar verilmiştir. Şekil 4.6'da NDPhA için bilinen standartlardan oluşturulan kalibrasyon doğrusu verilmiştir.

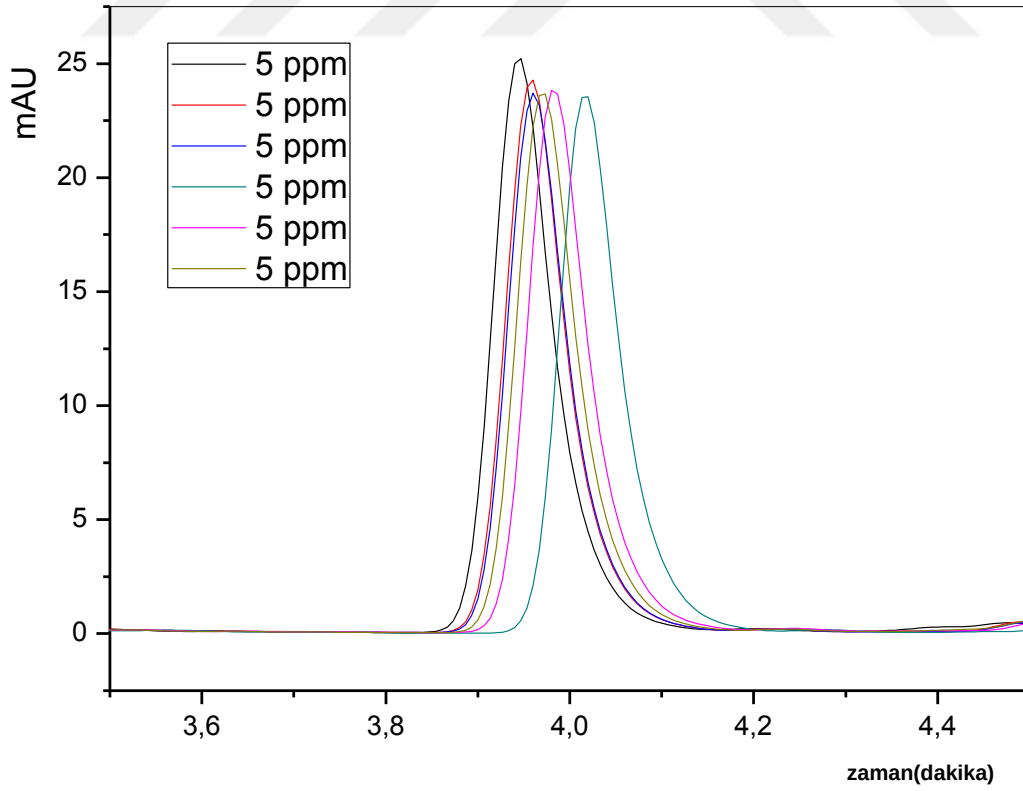


Şekil 4.6. NDPhA için oluşturulan kalibrasyon doğrusu (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkol içinde hazırlanmış standartlar).

IC3000 Dionex analitik cihazından alınan kromatogramların tekrarlanabilirliği için ise, 2,5 ve 5 ppm NDPhA içeren çözeltiler sırasıyla 4 ve 6 defa sisteme enjekte edilerek alınan kromatogramlar Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de verilmiştir. Çizelge 4.2 ve 4.3'de sırasıyla 2,5 ppm ve 5 ppm NDPhA analizi için hesaplanan analitik parametreler özetlenmiştir.



Şekil 4.7. 2,5 ppm NDPhA için HPLC kromatogramları (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkol içinde hazırlanmış standartlar).



Şekil 4.8. 5 ppm NDPhA için HPLC kromatogramları (Mobil faz ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkol içinde hazırlanmış standartlar).

Çizelge 4.2. 2,5 ppm NDPhA için kromatogramların analitik parametreleri.

Hazırlanan miktar (ppm)	Alan	Bulunan miktar (kalibrasyon eğrisine göre)	% Hata
2,5	1,12	2,42	3,20
2,5	1,13	2,44	2,40
2,5	1,10	2,37	5,20
2,5	1,07	2,30	8,00

Çizelge 4.3. 5 ppm NDPhA için kromatogramların analitik parametreleri.

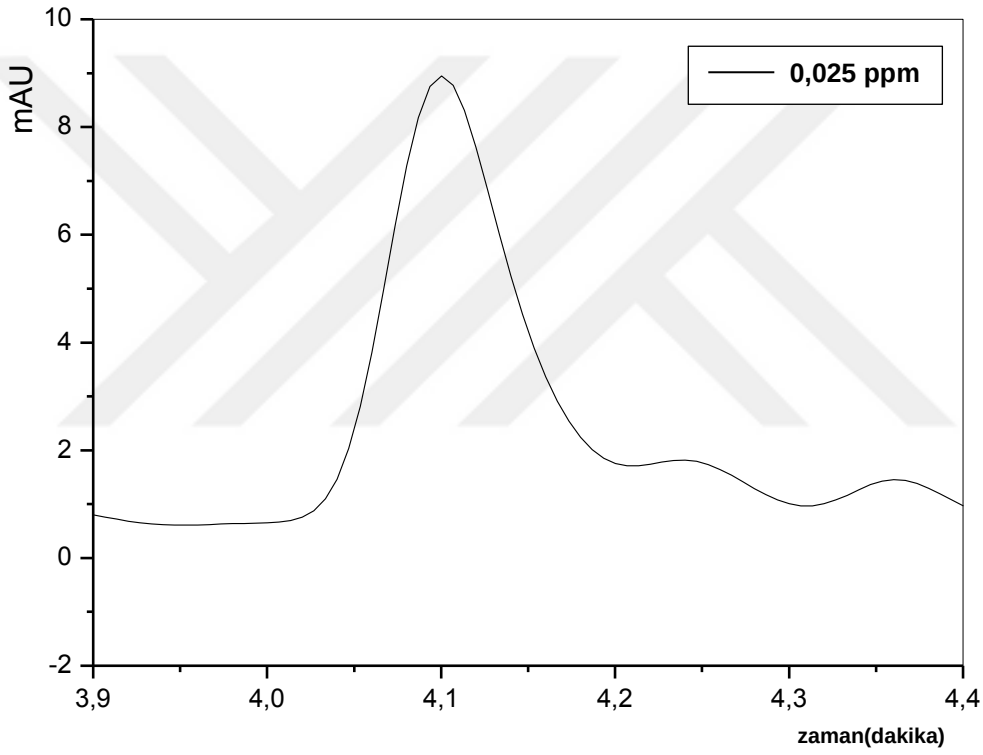
Hazırlanan miktar (ppm)	Alan	Bulunan miktar (kalibrasyon eğrisine göre)	% Hata
5	2,08	4,78	4,40
5	2,09	4,80	4,00
5	2,11	4,85	3,00
5	2,15	4,95	1,00
5	2,08	4,78	4,40
5	2,10	4,82	3,60

Thermo Dionex AT 280 oto deriştiriciden derişimi bilinen NDPhA standartları kartuşlardan geçirilerek (500 mL) hem oto deriştiricinin optimizasyonu, hem de katı faz ekstraksiyonu esnasında yüzde verim hesabı yapılmıştır. Çizelge 4.4'te otoderiştirici ile yapılan çalışmalarda cihazın hassaslığı ve çalışması ile ilgili bilgiler özet halinde verilmiştir.

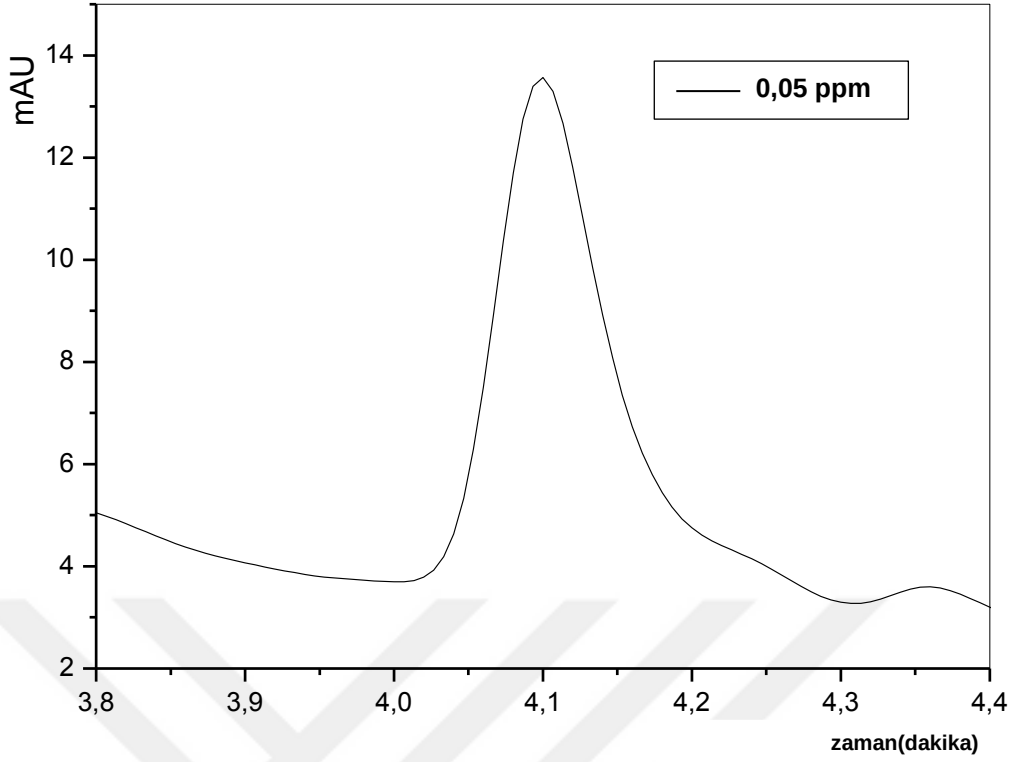
Çizelge 4.4. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile yapılan katı faz ekstraksiyonları sonucu elde edilen veriler.

Derişim (ppm)	Deriştirilme oranı	Cihazın sulu çözeltiden alması gereken miktar (mL)	Cihazın sulu çözeltiden aldığı miktar (mL)	Cihazın kartuşlardan geçirdiği diklorometan miktarı (mL) (geçirmesi gereken 5 mL)
0,010	100 kat	500	500,76	5
0,250	100 kat	500	498,99	5
0,100	100 kat	500	488,28	5
0,100	100 kat	500	492,85	5
0,100	100 kat	500	489,33	5
0,100	100 kat	500	494,74	5
0,100	100 kat	500	493,67	5
0,125	100 kat	500	503,53	5
0,050	100 kat	500	502,00	5
0,025	100 kat	500	502,75	5
0,500	100 kat	500	498,52	5
1,000	100 kat	500	501,50	5
2,000	100 kat	500	504,99	5
su	100 kat	500	496,97	5

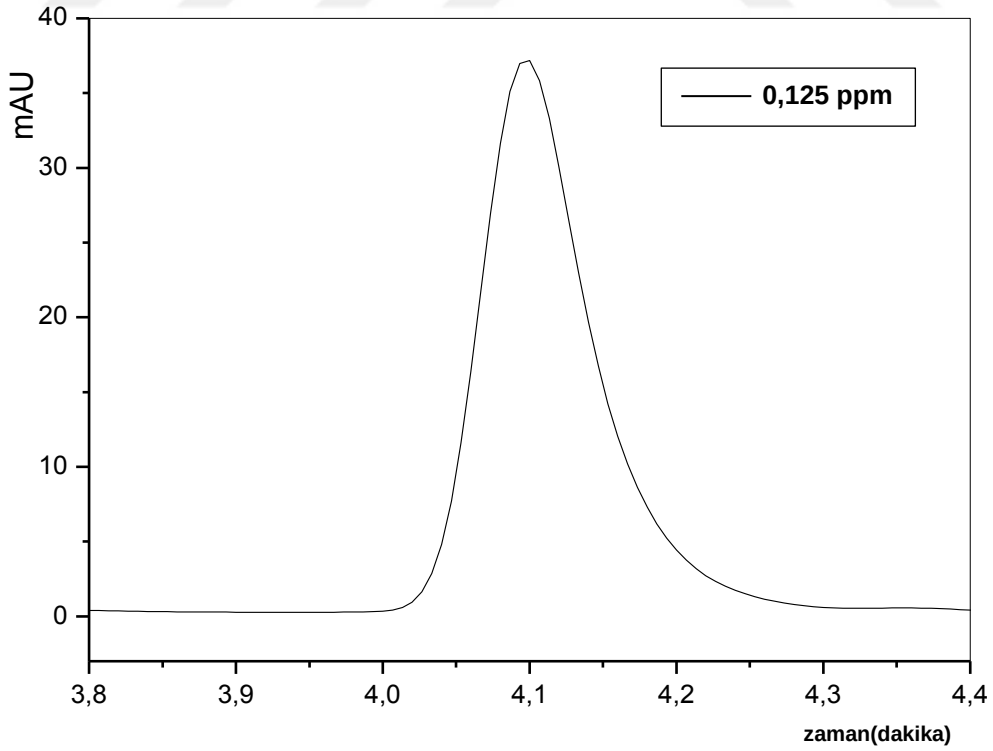
C18 kartuşun sudaki NDPhA'yı tutma verimi incelenmiş ve değişik derişimlerdeki NDPhA için kromatogramlar Şekil 4.9-4.15'te verilmiştir. 500 mL olarak hazırlanan değişik derişimlerdeki NDPhA standartları oto deriştiriciden geçirilip C18 kartuşa alınmıştır, daha sonra diklorometana alınıp, çözücüsü kontrollü olarak uçurulduktan sonra metil alkole alınan NDPhA HPLC sistemine enjekte edilmiştir. Bazı NDPhA standartları, katı faz ekstraksiyonundan sonra çok derişik olduğu için metil alkol ile seyreltilerek HPLC sistemine enjekte edilmiştir. Çizelge 4.5'te verildiği üzere C18 kartuş verimi %60-%66 arasındadır.



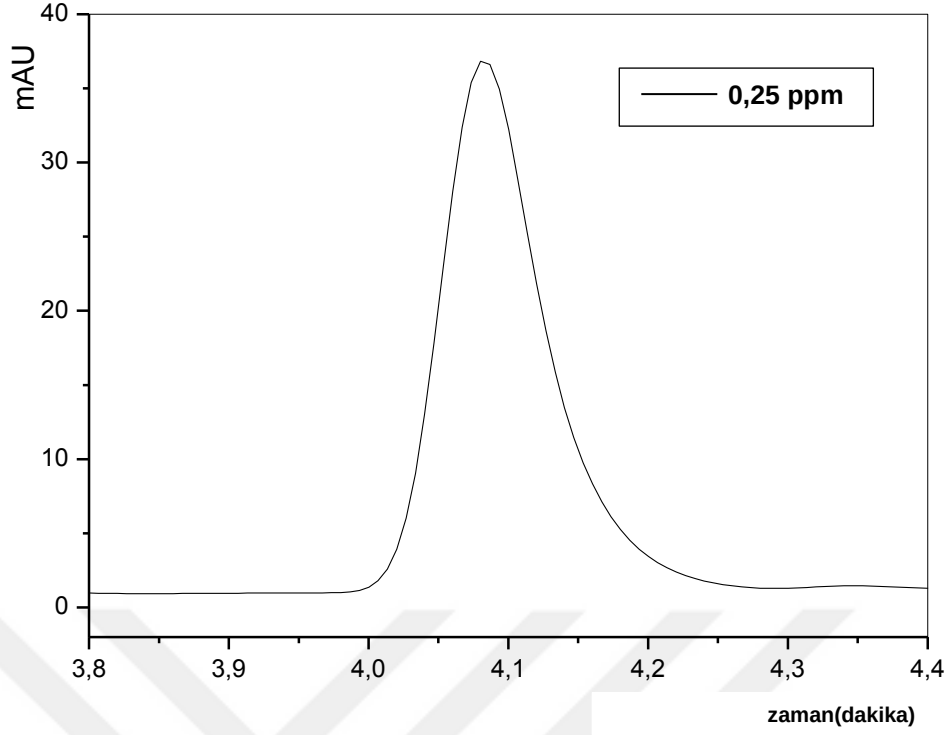
Şekil 4.9. 0,025 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standartı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme).



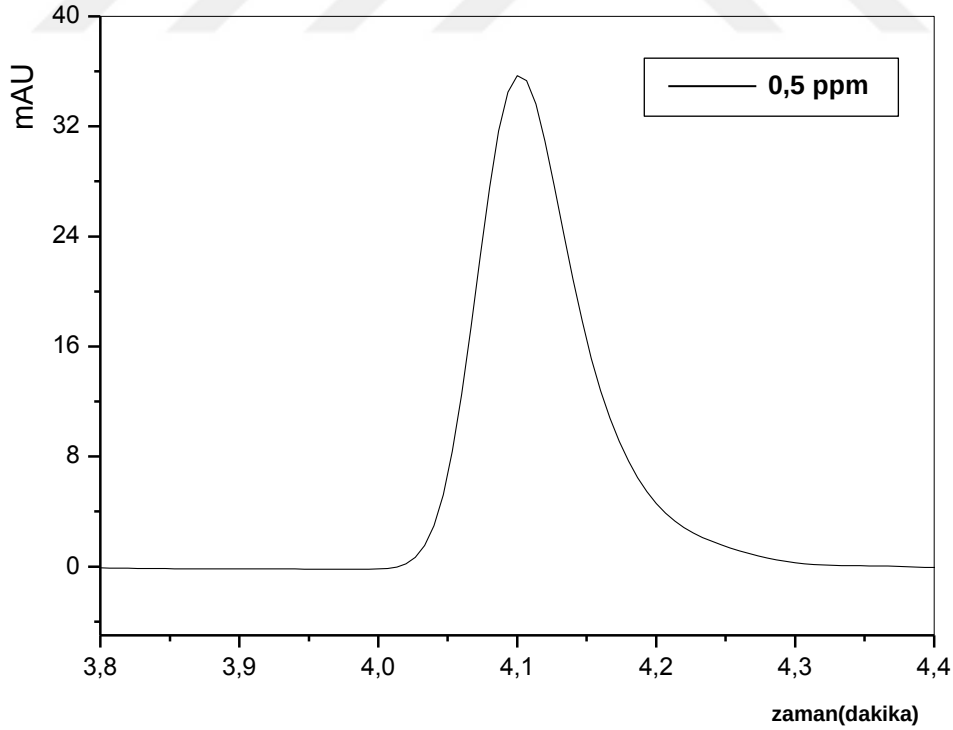
Şekil 4.10. 0,05 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme).



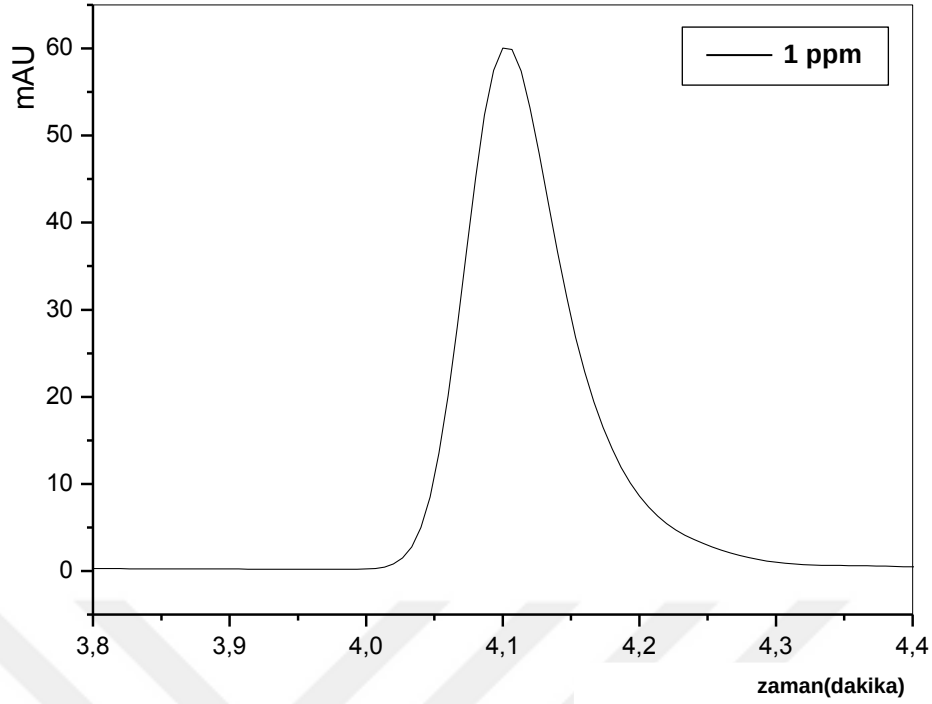
Şekil 4.11. 0,125 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme).



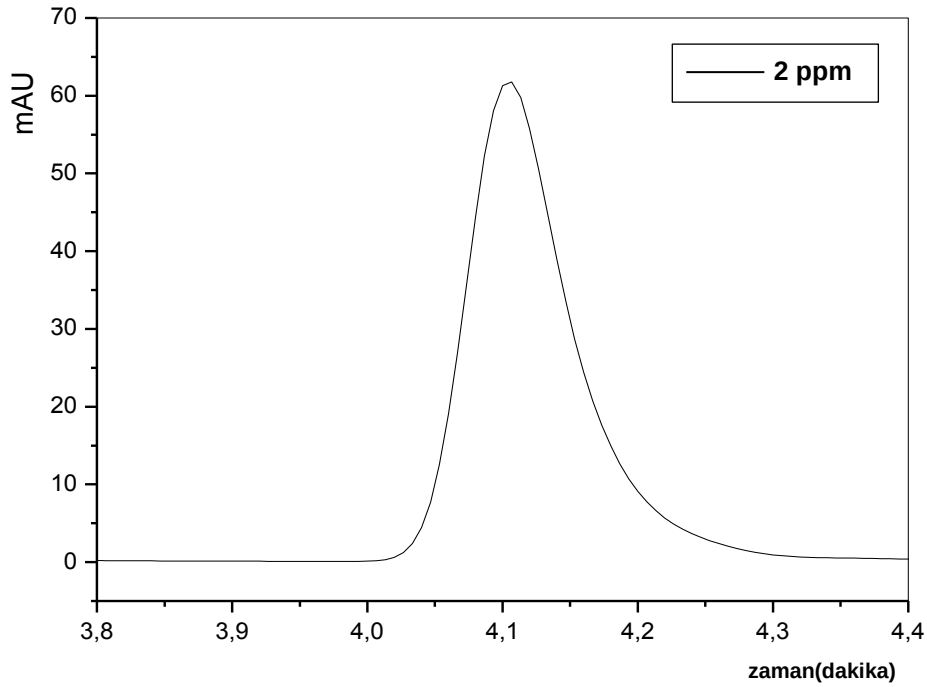
Şekil 4.12. 0,25 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme. NDPhA bu durumda çok derişik olduğu için metil alkol ile deriştirme oranı 50 kata düşürölmüştür.).



Şekil 4.13. 0,5 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standardı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme. NDPhA bu durumda çok derişik olduğu için metil alkol ile deriştirme oranı 25 kata düşürölmüştür.).



Şekil 4.14. 1 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standartı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme. NDPhA bu durumda çok derişik olduğu için metil alkol ile deriştirme oranı 20 kata düşürölmüşür.).

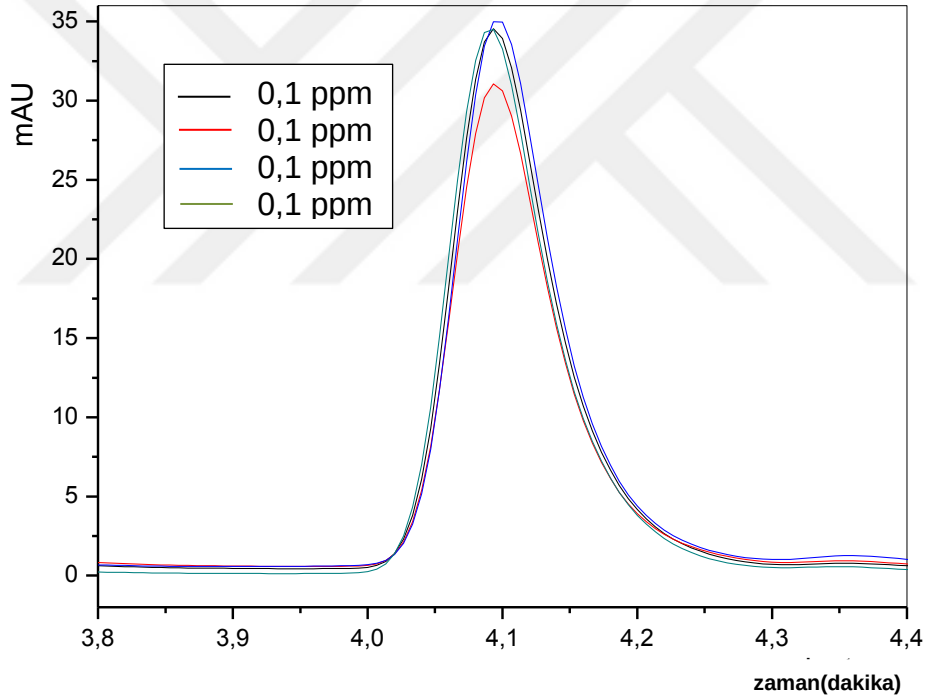


Şekil 4.15. 2 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (500 mL NDPhA standartı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme. NDPhA bu durumda çok derişik olduğu için metil alkol ile deriştirme oranı 10 kata düşürölmüşür.).

Çizelge 4.5. C18 kartuşun NDPhA tutulmasındaki verimi.

Hazırlanan miktar (ppm)	Bulunan miktar (kalibrasyon eğrisine göre) (ppm)	C18 kartuş verimi (%)
0,025	0,015	60
0,050	0,030	60
0,100 (ort.)	0,066	66
0,125	0,080	64
0,250	0,160	64
0,500	0,330	66
1,000	0,640	64
2,000	1,256	63

C18 kartuşun kararlılığının saptanması için 500 mL 0,1 ppm NDPhA AT 280 oto deriştiriciden geçirilmiş, Şekil 4.16 ve Çizelge 4.6'daki veriler elde edilmiştir.



Şekil 4.16. 0,1 ppm NDPhA için HPLC kromatogramları (500 mL NDPhA standartı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, 100 kat deriştirme).

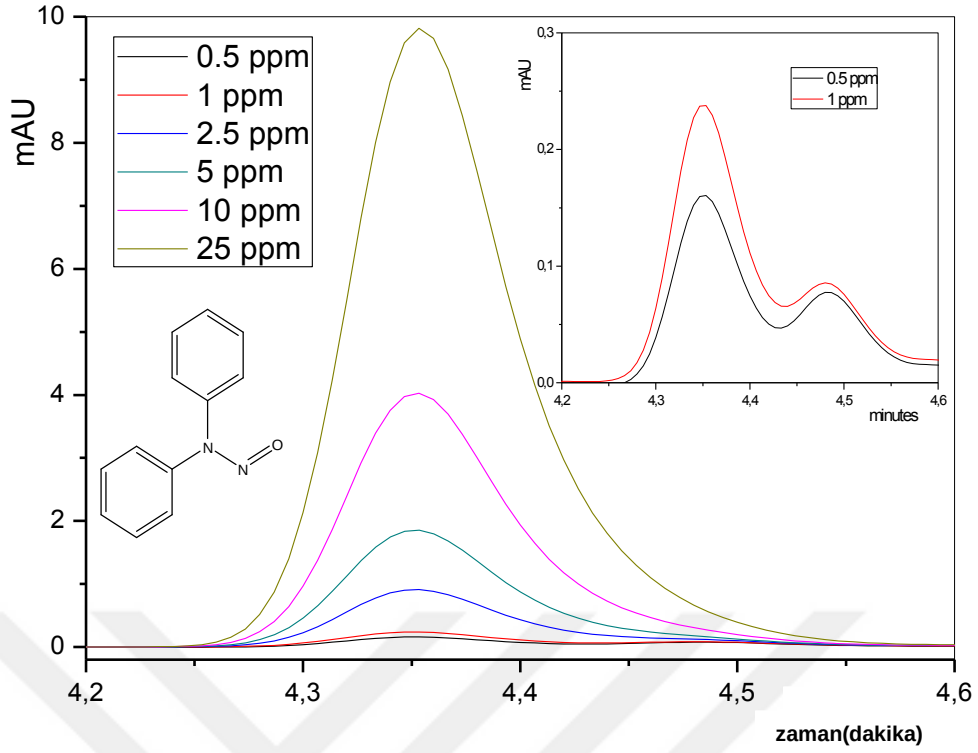
Çizelge 4.6. C18 kartuşun 0,1 ppm NDPhA'yı tutma verimi.

Hazırlanan miktar (ppm)	Bulunan miktar (kalibrasyon eğrisine göre) (ppm)	C18 kartuş verimi (%)
0,100	0,067	67
0,100	0,069	69
0,100	0,068	68
0,100	0,061	61

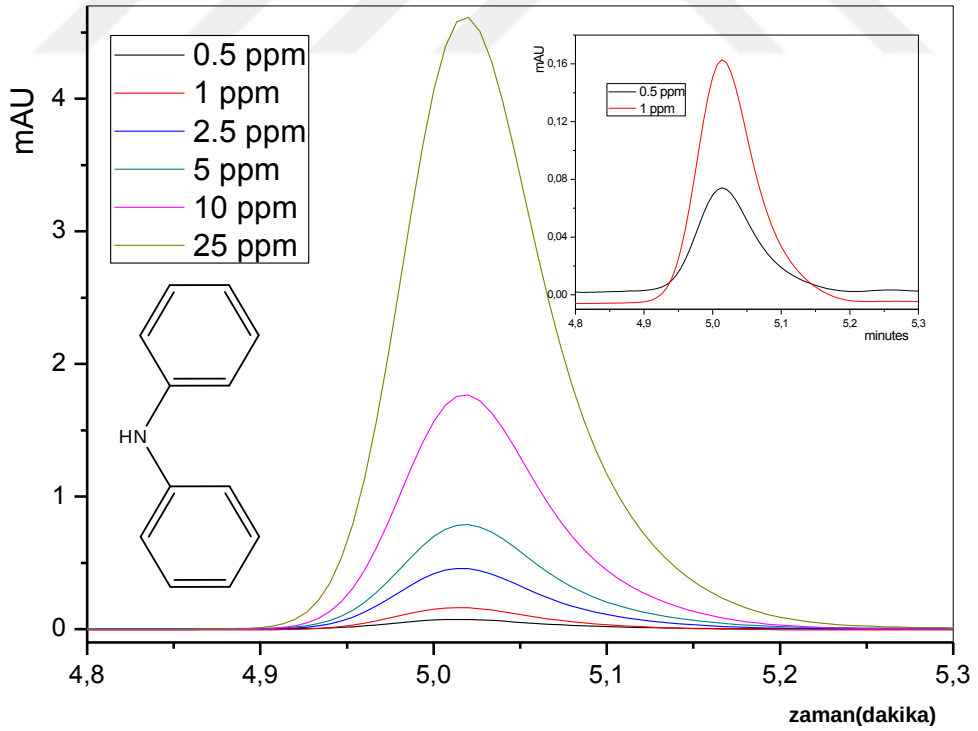
Çizelge 4.6 ve Şekil 4.16'da görüldüğü üzere, C18 kartuşun NDPhA'yı tutma verimi aynı örnek için çok büyük bir değişiklik göstermemektedir.

4.2. HPLC Yöntemi Kullanılarak NDPhA ve DPhA Standartlarının Kalibrasyon Eğrilerinin Oluşturulması

Şekil 4.17'de, hazırlanan NDPhA standartları için ve Şekil 4.18'de, DPhA standartları için HPLC kromatogramları verilmiştir. Şekil 4.17 ve 4.18'den görüldüğü üzere, NDPhA ve DPhA için alıkonma zamanları, sırasıyla 4,353 dakika ve 5,020 dakika olarak gözlenmiştir. HPLC sistemine belirli zaman aralıklarında, numune enjeksiyonundan önce NDPhA ve DPhA standartları verilerek alıkonma zamanları saptanmış ve derişimle değişip değişmediği kontrol edilmiştir, kalibrasyon eğrileri de gözlenen alıkonma zamanlarına göre ve piklerin alanlarına göre güncellenmiştir. 0,5 ve 1 ppm seviyelerindeki seyreltik standartların kromatogramları, şekil içerisinde daha belirgin olarak verilmiştir. Seyreltik bölgede piklerin gözlenmesi analizlerin hassaslığı açısından önem arz etmektedir; analizi yapılacak NDPhA çözeltileri ışınlama ile bozunmadan sonra AT 280 oto deriştirici ile 100 kat deriştirilmektedir. Dolayısıyla, $5,0 \times 10^{-4}$ ppm mertebesindeki NDPhA ve DPhA miktar tayini için gözlenebilme sınırlarımızda olacaktır. Kalibrasyon eğrisinden pozitif yönde sapan NDPhA ve DPhA çözeltileri için, uygun oranda seyrelme işlemleri yapılarak miktar tayinleri yapılmıştır.

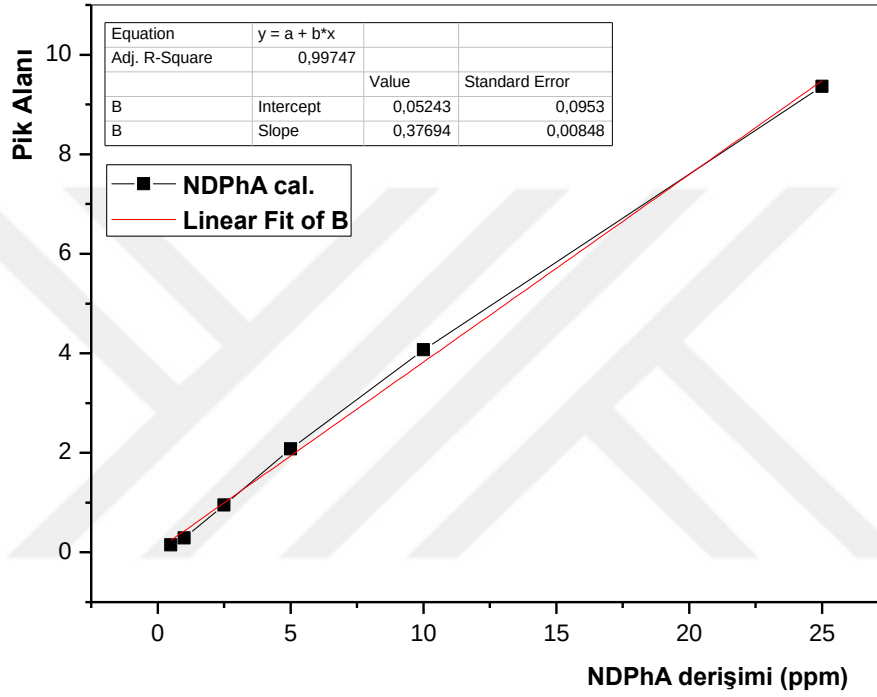


Şekil 4.17. NDPHA standartları için HPLC kromatogramları (Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkolde hazırlanmış standartlar).

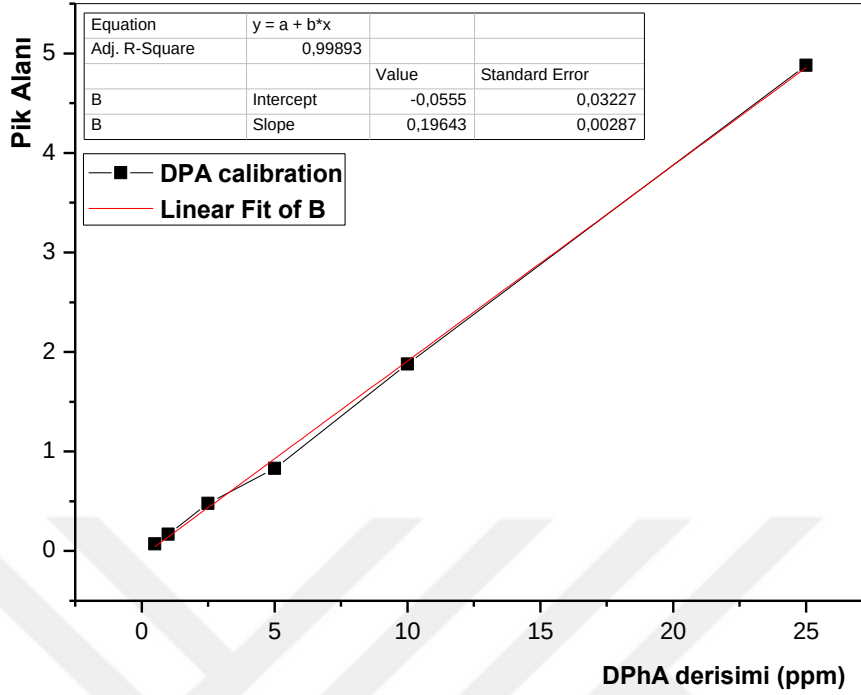


Şekil 4.18. DPHA standartları için HPLC kromatogramları (Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkolde hazırlanmış standartlar).

Şekil 4.17 ve 4.18'de yapılan değerlendirmeler ışığında, yapılacak enjeksiyonlardan önce yeni ve güncel bir kalibrasyon eğrisi oluşturularak (Şekil 4.19 ve Şekil 4.20) miktar tayinlerinin yapılmasında kullanılmıştır. Hem NDPhA için, hem de DPhA için 0,5-25 ppm aralığında oluşturulan kalibrasyon doğrusunda herhangi bir sapma gözlenmediğinden bu derişim aralığı miktar tayinlerinde kullanılmıştır.



Şekil 4.19. NDPhA için oluşturulan kalibrasyon doğrusu (Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkolde hazırlanmış standartlar).

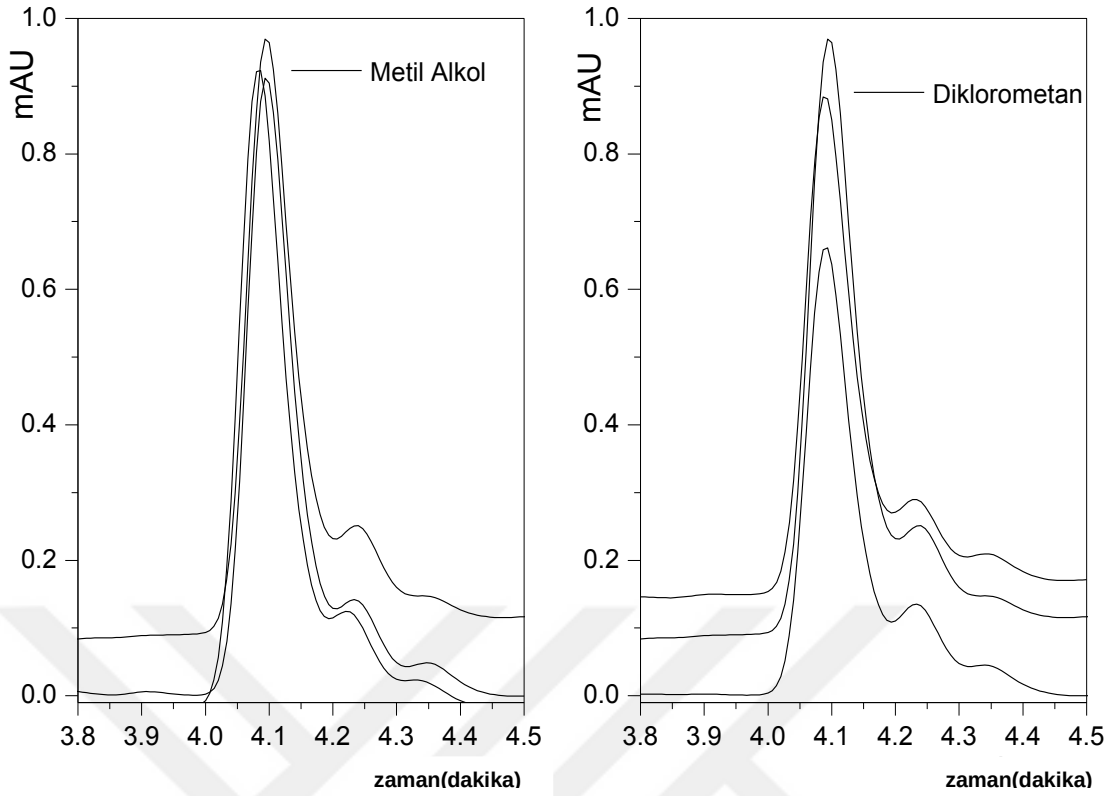


Şekil 4.20. DPhA için oluşturulan kalibrasyon doğrusu (Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 ve metil alkolde hazırlanmış standartlar).

4.3. Otomatik Katı Faz Ekstraksiyonu Dolgu Malzemesi Optimizasyonu

4.3.1. Alternatif Kolon Dolgu Maddelerinin Optimizasyonu

Karboksen dolgu maddesinden geçirilen 500 mL 0,1 ppm NDPhA, hem 5 mL diklorometan hem de 5 mL metil alkole alınmıştır. Şekil 4.21’de karboksenden geçirildikten sonra diklorometan ve metil alkol içerisinde deriştirilen NDPhA için HPLC kromatogramı verilmiştir. Çizelge 4.7’de Şekil 4.21’den elde edilen yüzde dönüşüm ve miktar tayinleri ile ilgili bulgular özetlenmiştir. Çizelge 4.7’den görüldüğü üzere, karboksen dolgu malzemesinden NDPhA metil alkol ve diklorometan için sırasıyla yaklaşık olarak % 20 ve % 14 verimle alınmaktadır. Bu gözlem üzerine, karboksen dolgu maddesinin AT 280 oto deriştiricide kullanılamayacağı anlaşılmış olup, yeni dolgu malzemeleri denenmiştir.

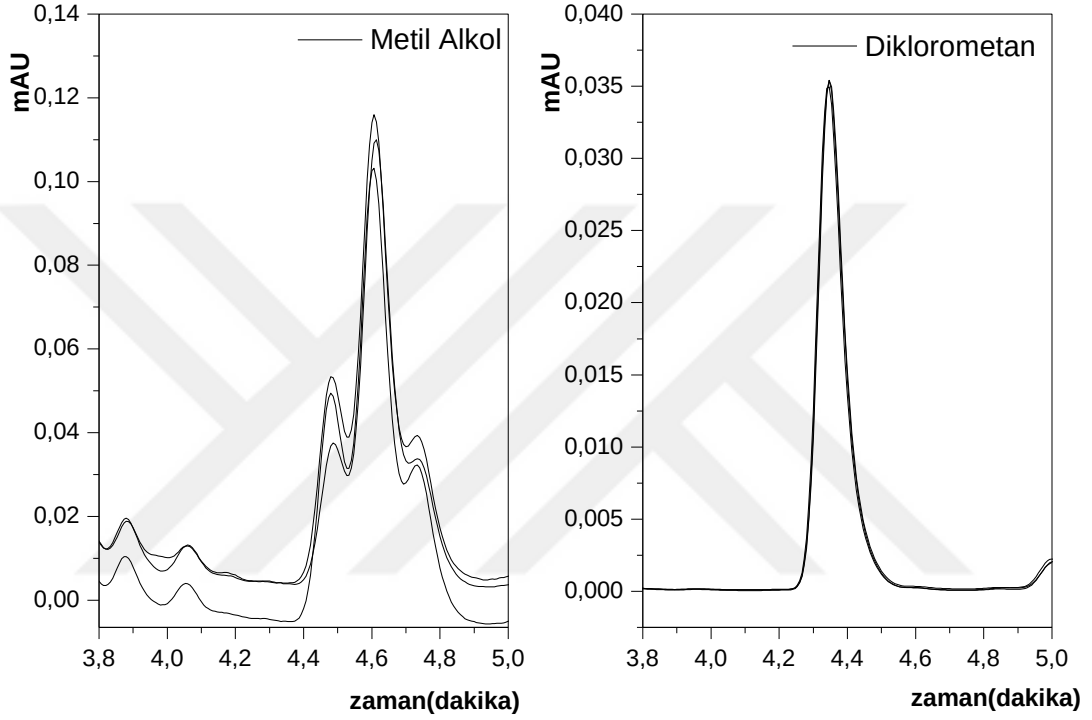


Şekil 4.21. Karboksen dolgu maddesinden geçirilen 0,1 ppm NDPhA için metil alkol ve diklorometana ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı(%v/v) %80/%20).

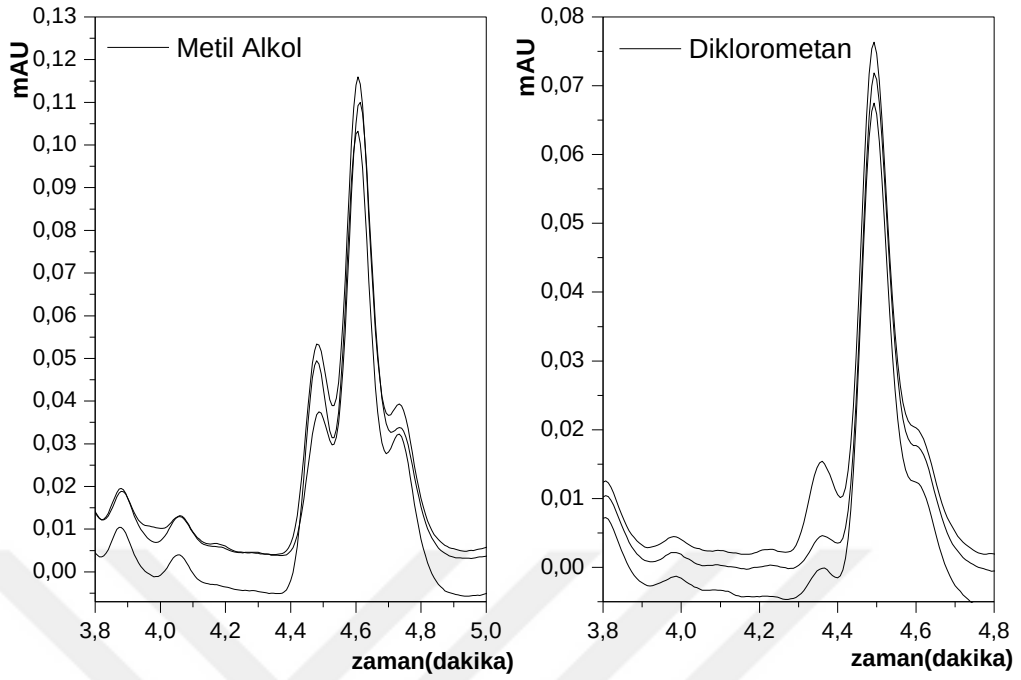
Çizelge 4.7. Karboksen dolgu malzemesi için NDPhA ekstraksiyon verimi.

Sudaki NDPhA		Oto deriştirici			HPLC		
Derişim (ppm)	Hacim (mL)	Çözücü	Çözücü Hacmi (mL)	Deriştirme Oranı	Alan	Bulunan Miktar (ppm)	% Ekstraksiyon verimi
0,120	500	Metil Alkol	5	100 kat	0,880	0,022	18,3
0,120	500	Metil Alkol	5	100 kat	0,950	0,024	20,0
0,120	500	Metil Alkol	5	100 kat	0,890	0,022	18,3
0,120	500	Diklorometan	5	100 kat	0,680	0,017	14,1
0,120	500	Diklorometan	5	100 kat	0,700	0,017	14,1
0,120	500	Diklorometan	5	100 kat	0,660	0,016	13,3

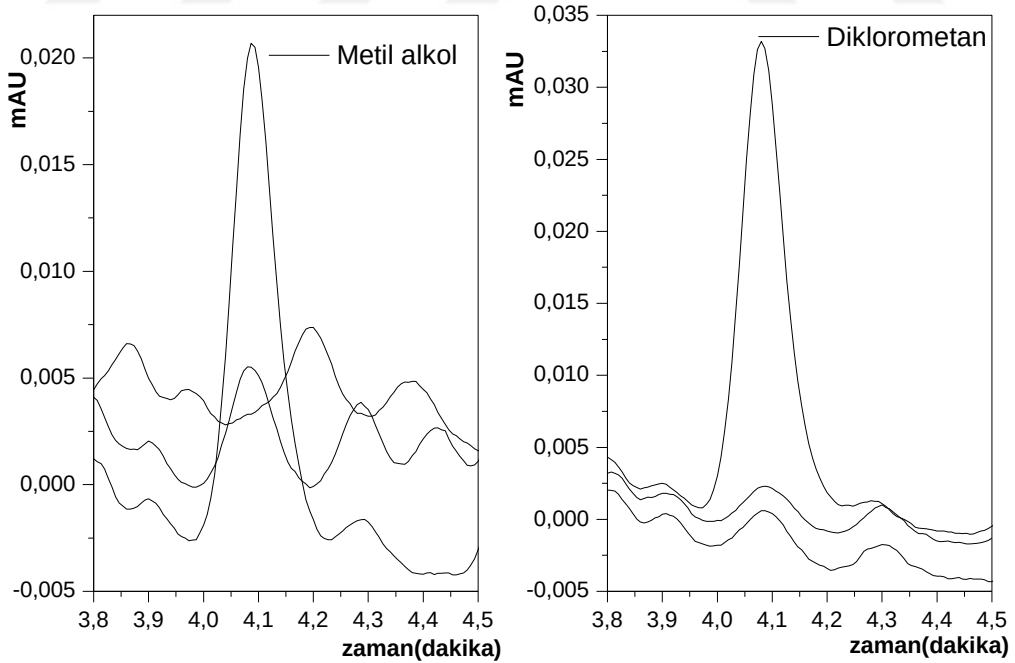
İki tür alümina ve aktif kömür için elde edilen HPLC kromatogramları Şekil 4.22 - 24'te verilmiştir. Şekillerden görüldüğü üzere, hem alüminalar (kromatografik analize uygun saflıkta ve kalsine) hem de aktif kömür, polar ve apolar çözücülerin organik faz olarak kullanılmasına rağmen NDPhA için herhangi bir seçicilik sağlamamaktadır.



Şekil 4.22. Alümina (kromatografik analize uygun saflıkta) dolgu maddesinden geçirilen 0,1 ppm NDPhA için metil alkol ve diklorometana ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).



Şekil 4.23. Alümina (kalsine) dolgu maddesinden geçirilen 0,1 ppm NDPhA için metil alkol ve diklorometana ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).



Şekil 4.24. Aktif kömür dolgu maddesinden geçirilen 0,1 ppm NDPhA için metil alkol ve diklorometana ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).

4.3.2. C18 Kartuşlarının Optimizasyonu

Thermo Scientific Solex C18 kartuşlarının (500 mg) NDPhA için tutma özelliği gösterdiği ve yaklaşık % 66 oranındaki NDPhA'yı sudan ayırdığı gözlenmiştir. Laboratuvar ortamında hazırlanan dolgu maddelerinden karboksenin düşük verimli olması, bunun yanında alüminalar ve aktif kömürün NDPhA için düşük seçicilik göstermesi, C18 kartuşlarının yeniden denenmesini zorunlu hale getirmiştir.

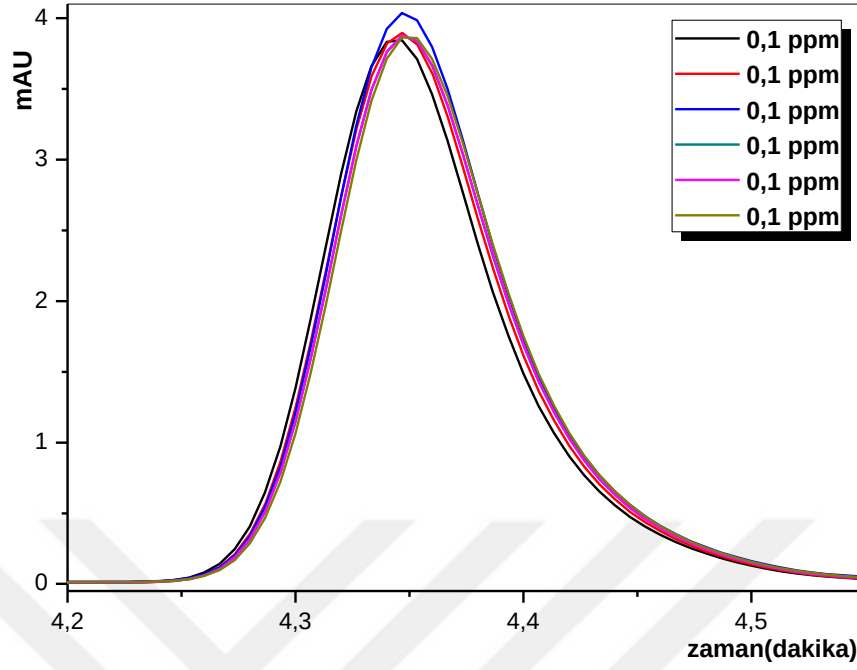
Sudan alınan NDPhA yüzdesini arttırmak için kullanılan yöntemlerde bazı değişiklikler yapılması gerekliliği ortaya çıkmıştır ve başlıca şu değişiklikler yapılmıştır:

- C18 kartuşun etkin maddesi 500 mg yerine 1000 mg olarak kullanılmıştır. Bu durumda, hem C18-NDPhA etkileşim sayısı artırılmış hem de sulu çözeltinin kolonda katedeceği yol 2 katına çıkarılarak NDPhA tutunmasına pozitif etkisi olacağı düşünülmüştür.
- Çizelge 3.3'te verilen yeni bir kartuş şartlandırma programı yapılmıştır.
- C18 kartuşta tutunan NDPhA organik faza diklorometan yerine daha polar bir çözücü olan metil alkol ile alınmıştır. Bu durumda, daha polar bir çözücü ile C18-NDPhA etkileşiminin kırılacağı düşünülmüştür. Buna ek olarak, diklorometanın uçurulmasına gerek kalmadığı gibi negatif sapmaların da önüne geçilmiş olunmuştur.

Çizelge 3.3. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için C18 (1000 mg) kartuşu ile yapılan katı faz ekstraksiyonu programı.

1. C18 kartuşları 6 mL hekzan ile şartlandırma
2. C18 kartuşları 12 mL metil alkol ile şartlandırma
3. C18 kartuşları 6 mL deiyonize su ile yıkama
4. 500 mL numuneyi C18 kartuşlardan geçirme (10 mL numune/dakika)
5. C18 kartuşları 2 dakika boyunca azot atmosferi altında kurutma
6. Şiringayı 2 mL metil alkol ile yıkama
7. C18 kartuştan 5 mL metil alkol geçirerek numuneyi tüplere toplama

Şekil 4.25'te 500 mL 0,1 ppm sulu NDPhA çözeltisinin C18 kartuşundan geçirildikten sonra 5 mL metil alkole alınması sonucunda HPLC sistemindeki kromatogramları görülmektedir. Çizelge 4.7'de, elde edilen kromatogramların analitik parametrelerini özetlemektedir. Çizelge 4.7'den görüldüğü üzere, ortalama % 97 verim ile NDPhA sudan C18 kartuşlara alınabilmektedir.

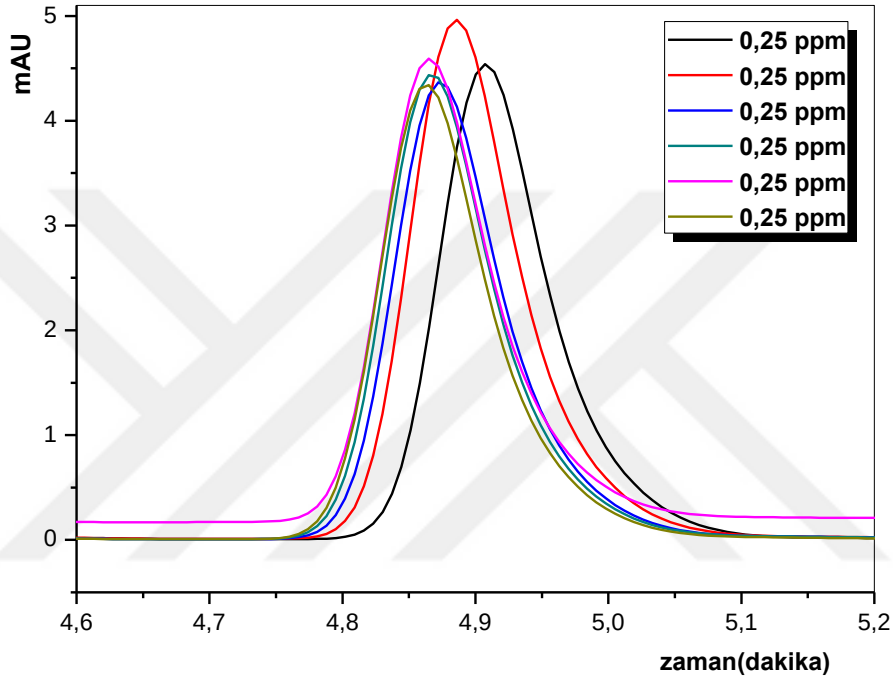


Şekil 4.25. C18 kartuşundan geçirilen 0,1 ppm NDPhA için metil alkole ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).

Çizelge 4.8. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için C18 (1000 mg) kartuşu ile yapılan katı faz ekstraksiyonu sonucu elde edilen HPLC kromatogramlarının analitik parametreleri.

Hazırlanan miktar (ppm)	Pik Alanı	Bulunan miktar (kalibrasyon doğrusuna göre, ppm)	% Tutma
0,10	3,64	0,095	95
0,10	3,70	0,096	96
0,10	3,83	0,102	100
0,10	3,70	0,096	96
0,10	3,70	0,096	96
0,10	3,69	0,097	97

NDPhA'nın oluşmasında öncül bileşik olan DPhA'nın sulu çözeltileri için C18 kartuşlarının tutma verimi ve analitik parametreleri incelenmiştir. Şekil 4.26'da 500 mL 0,25 ppm sulu DPhA çözeltisinin C18 kartuşundan geçirildikten sonra 5 mL metil alkole alınması sonucunda HPLC sistemindeki kromatogramları görülmektedir. Çizelge 4.9'da, elde edilen kromatogramların analitik parametrelerini özetlemektedir.



Şekil 4.26. C18 kartuşundan geçirilen 0,25 ppm DPhA için metil alkole ekstraksiyon verimi (100 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).

Çizelge 4.9. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile DPhA için C18 (1000 mg) kartuşu ile yapılan katı faz ekstraksiyonu sonucu elde edilen HPLC kromatogramlarının analitik parametreleri.

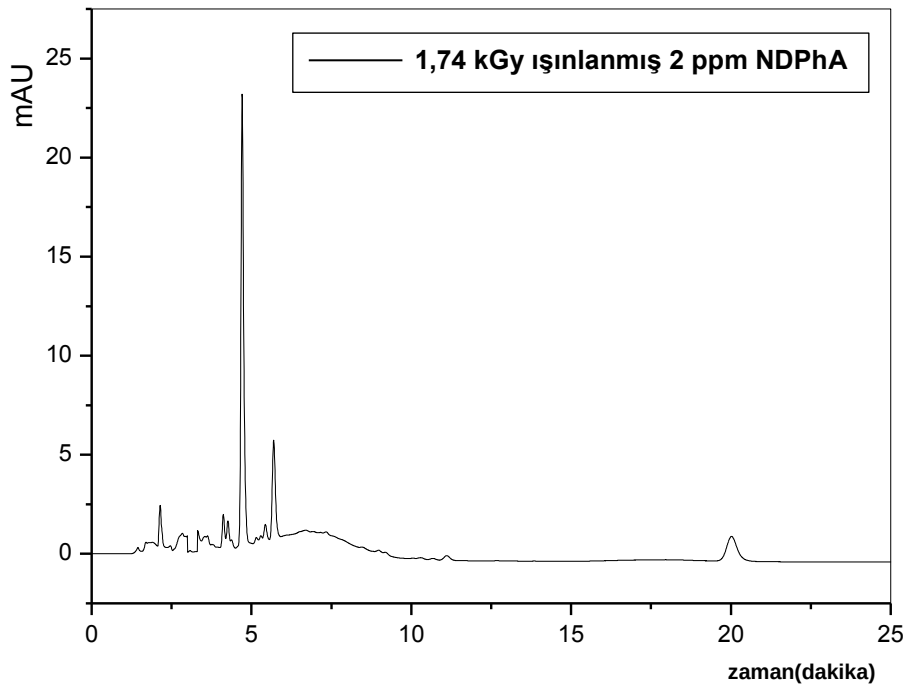
Hazırlanan miktar (ppm)	Pik Alanı	Bulunan miktar (kalibrasyon doğrusuna göre, ppm)	% Tutma
0,25	4,35	0,22	88
0,25	4,22	0,22	88
0,25	4,24	0,22	88
0,25	4,37	0,23	92
0,25	4,35	0,22	88
0,25	4,24	0,22	88

4.4. Gama Işınlamasıyla NDPhA'nın Bozunması

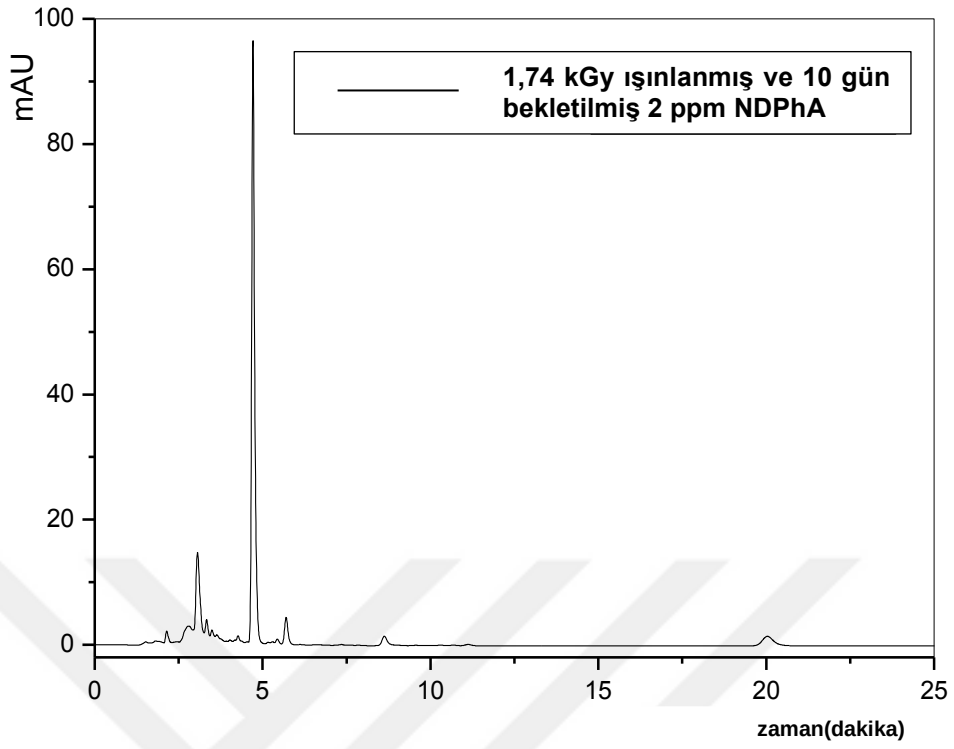
4.4.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi Kullanılarak Miktar Tayini

4.4.1.1. HPLC Yöntemi Kullanılarak NDPhA ve DPhA Miktar Tayini

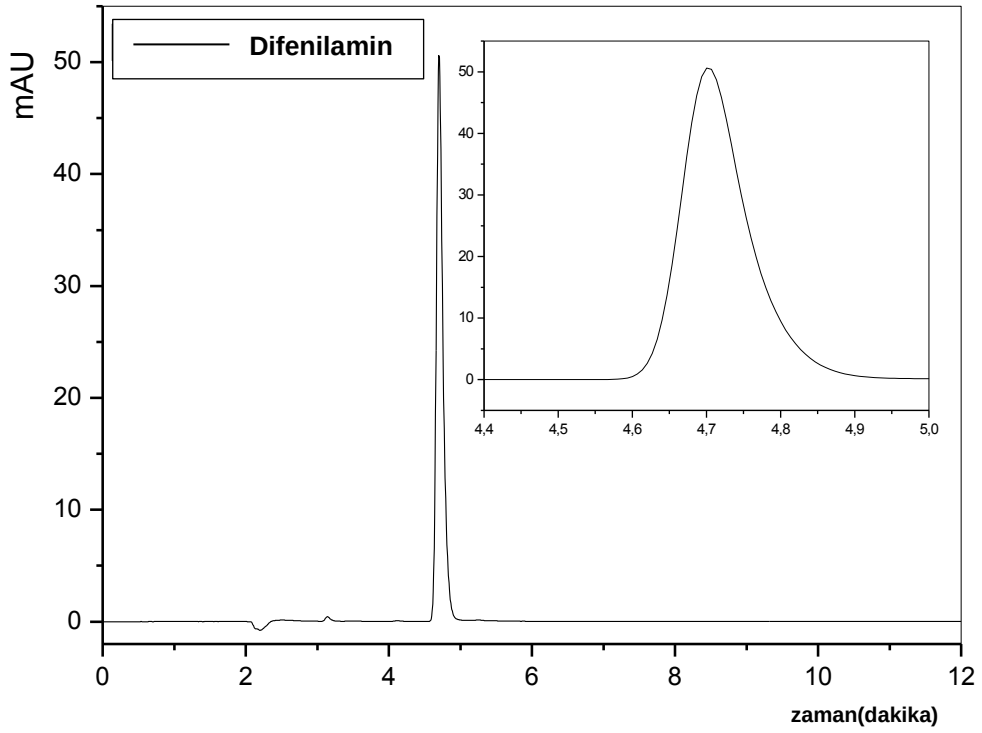
Şekil 4.27'de 1,74 kGy ışınlanmış 2 ppm NDPhA çözeltisine ait kromatogram görülmektedir. Gama ışınları ile ışınlanmamış NDPhA için alıkonma zamanı 4,53 dakika olarak bulunmuştur (Şekil 4.17). 0,026 kGy/saat doz hızına sahip Co-60 gama kaynağında 1,74 kGy ışınlama dozu 2 ppm NDPhA'nın bozunması için yeterlidir. Şekil 4.28'de ise 0,026 kGy/saat doz hızına sahip Co-60 gama kaynağında 1,74 kGy ışınlanan 2 ppm NDPhA çözeltisi 10 gün boyunca havaya kapalı pyreks şişede ve karanlık bir ortamda bekletildikten sonraki kromatogramı görülmektedir. Bu çözeltide NDPhA olmamasına rağmen, 4,72 dakika alıkonma zamanında şiddetli ve keskin bir pik gözlenmiştir. Bu pikin ne olduğunun anlaşılması için 20 ppm difenilamin metil alkol içerisinde hazırlanarak aynı koşullarda HPLC sistemine enjekte edilmiş olup 4,70 dakika alıkonma zamanında bu bileşiğe ait pik gözlenmiştir (Şekil 4.29). Sonuç olarak, 1,74 kGy ışınlama dozunda NDPhA'nın bozunduğu tespit edilmiş ve aynı ışınlama dozunda ışınlanmış-bekletilen çözeltide NDPhA oluşmadığı ancak difenilamin oluştuğu gözlenmiştir.



Şekil 4.27. 1,74 kGy ışınlanmış 2 ppm NDPhA (100 kat deriştirilmiş) için HPLC kromatogramı.

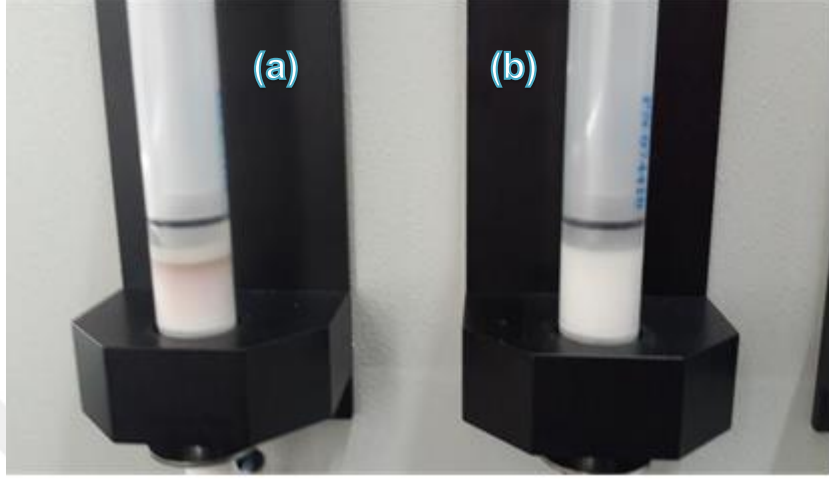


Şekil 4.28. 1,74 kGy ışınlanmış ve 10 gün karanlıkta bekletilmiş 2 ppm NDPPhA (100 kat deriştirilmiş) için HPLC kromatogramı.

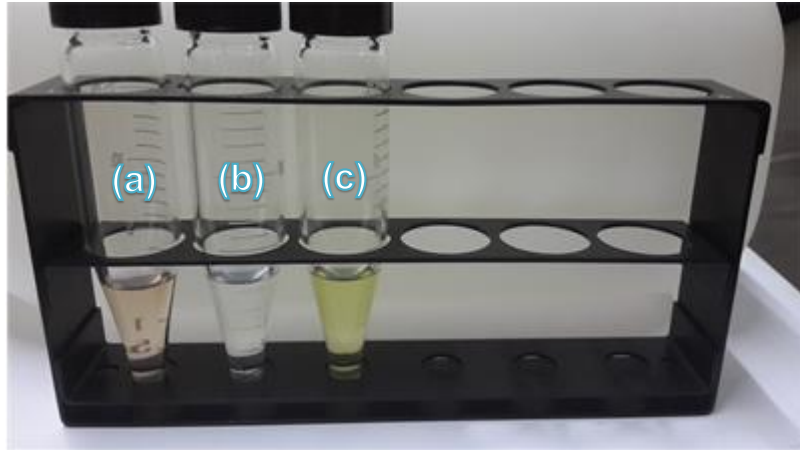


Şekil 4. 29. 20 ppm DPhA için HPLC kromatogramı.

Şekil 4.30'da, ışınlanmış ve ışınlanmamış NDPhA'nın C18 kartuşta adsorplanmış görüntüsü ile Şekil 4.31'de ise C18 kartuştan diklorometan fazına geçirilmiş 1,74 kGy ışınlanmış NDPhA (10 gün bekletilen) ve (bekletilmeyen) ve ışınlanmamış NDPhA örneklerinin görüntüleri verilmiştir.



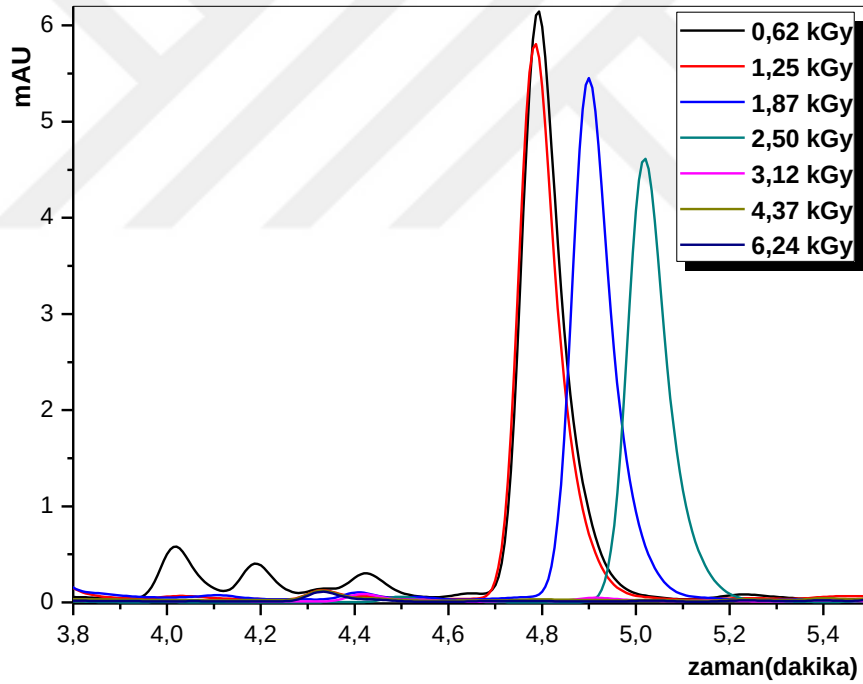
Şekil 4.30. (a) 1,74 kGy ışınlanmış ve 10 gün bekletilmiş NDPhA numunesinin C18 kartuşta tutunmuş görüntüsü, (b) 1,74 kGy ışınlanmamış (bekletilmemiş) NDPhA numunesinin C18 kartuşta tutunmuş görüntüsü.



Şekil 4.31. C18 kartuş ile sudan diklorometan fazına geçirilmiş (a) 1,74 kGy ışınlanmış NDPhA (10 gün karanlıkta ve ağzı kapalı bekletilen), (b) 1,74 kGy ışınlanmış NDPhA (bekletilmeyen), (c) ışınlanmamış NDPhA örneklerinin görüntüsü.

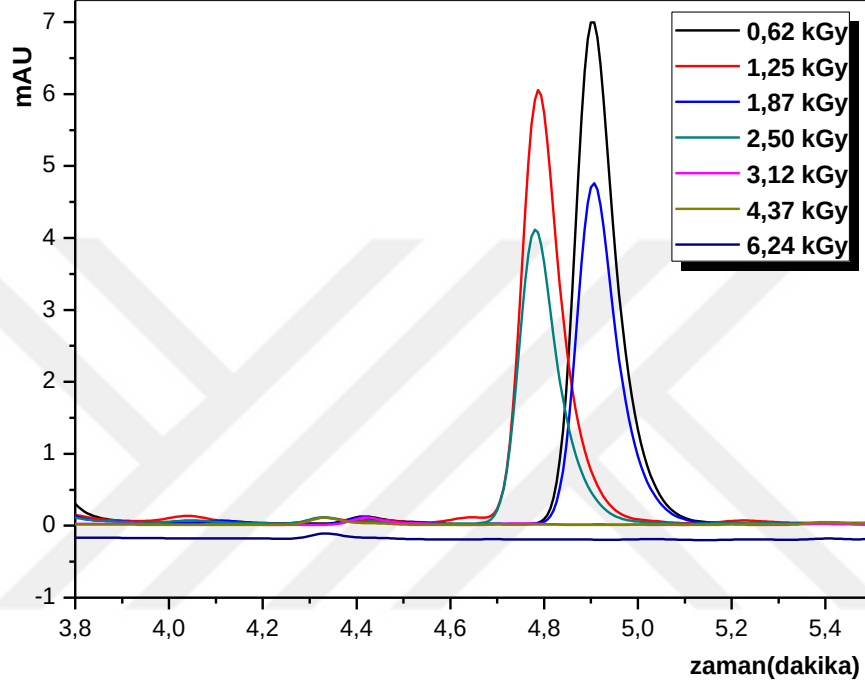
Sonuç olarak, otomatik numune hazırlama sisteminin çalışma parametreleri NDPhA için belirlenmiş, tekrarlanabilir sonuçlar elde edilebildiği tespit edilmiştir. Ayrıca NDPhA sulu çözeltileri ışılandıktan sonra yapısının bozunduğu ve 10 gün bekletilmesine rağmen tekrar nitrozamin oluşumunun gerçekleşmediği anlaşılmıştır.

Şekil 4.32'de 0,026 kGy/saat doz hızına sahip Co-60 gama kaynağında farklı ışınlama dozlarında ışınlanan 2 ppm sulu NDPhA çözeltilerinin metil alkole 50 kat seyreltildikten sonra elde edilen HPLC kromatogramları görülmektedir. 0,62 kGy ışınlama dozunda, 0,009 ppm NDPhA çözeltide kalırken, 0,68 ppm DPhA oluşmuştur. Daha yüksek ışınlama dozlarında DPhA miktarı azalırken, 3,12 kGy ışınlama dozunda çözeltiden oluşan DPhA tamamen uzaklaşmaktadır.

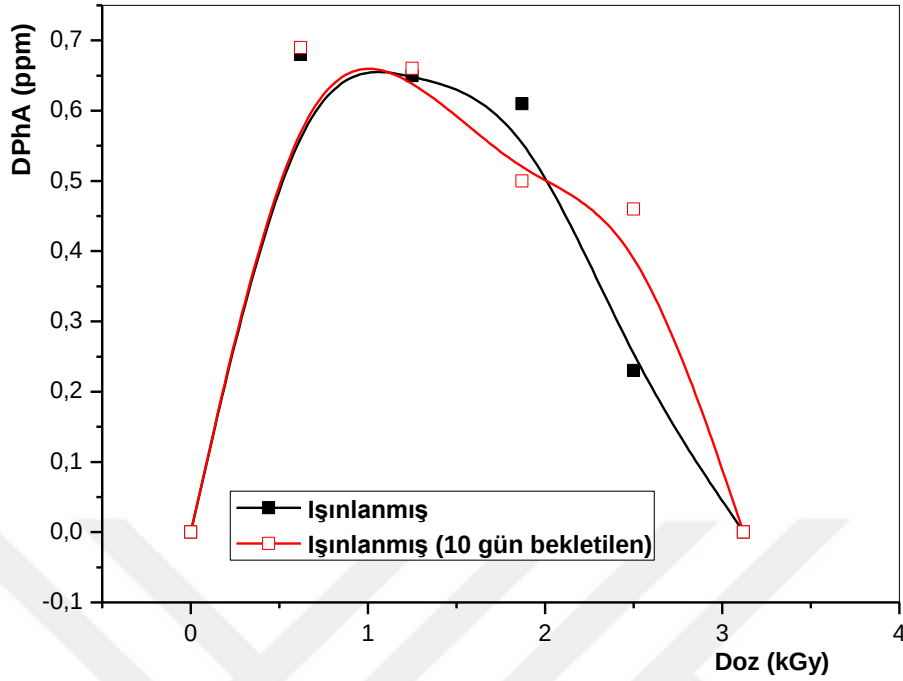


Şekil 4.32. C18 kartuşundan geçirilen ışınlanmış sulu 2 ppm NDPhA için HPLC kromatogramı (50 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).

Şekil 4.33'te ışınlandıktan sonra kapalı bir şişede ve karanlıkta 10 gün boyunca bekletilen 2 ppm NDPhA çözeltilerine (metil alkole 50 kat deriştirilmiş) ait HPLC kromatogramları görölmektedir. Yine burada, NDPhA oluşumu gözlenmediği gibi 3,12 kGy ışınlama dozunda beklemiş çözeltideki NDPhA oluşmadığı tespit edilmiştir.

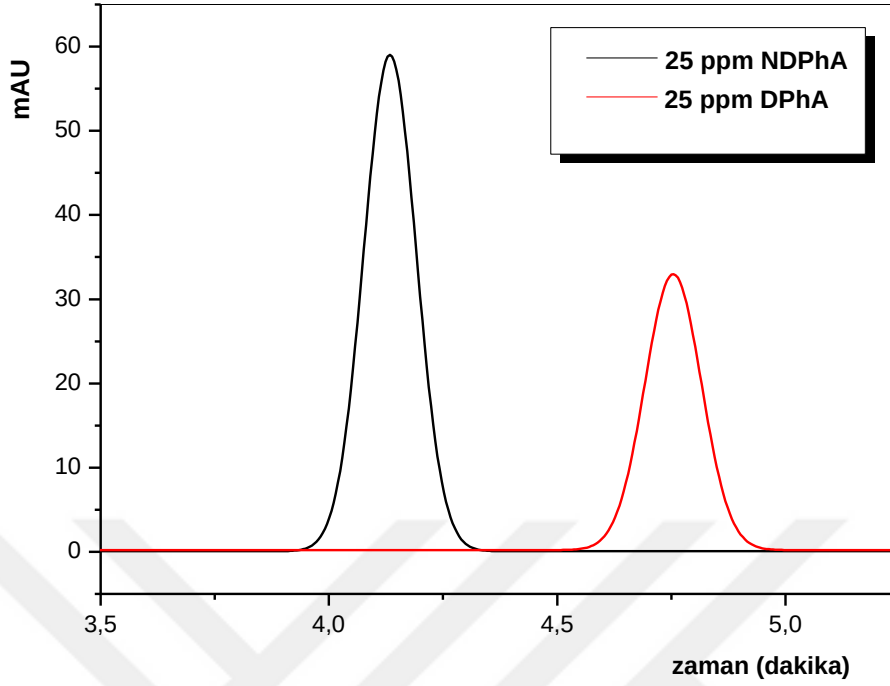


Şekil 4.33. C18 kartuşundan geçirilen ışınlanmış sulu 2 ppm NDPhA (ışınlandıktan sonra 10 gün kapalı bir şişede ve karanlık ortamda bekletilmiş) için HPLC kromatogramı (50 kat deriştirme, Mobil faz: ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20).



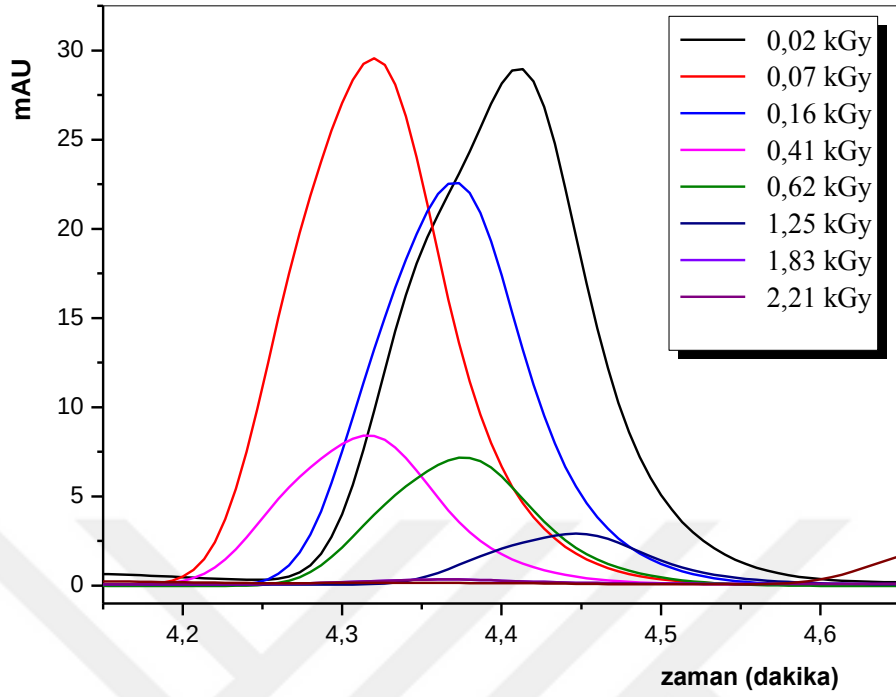
Şekil 4.34. 2 ppm NDPhA çözeltilerinin ışınlaması sonucu oluşan ara ürün DPhA miktarının ışınlama dozu ile değişimi.

Co-60 gama kaynağının belli zaman aralıklarında doz hızı tespiti sonucu, doz hızı 0,023 kGy/saat olarak bulunmuştur. Çalışmanın bundan sonraki kısmında gama ışınlarının 2 ppm sulu NDPhA çözeltisine etkisini incelemek için 0,02-2,21 kGy aralığındaki ışınlama dozları belirtilen doz hızı esas alınarak yapılmıştır. NDPhA ve DPhA'nın C16 kolonda alıkonma sürelerinin farklı olabileceği düşünülerek metil alkolde hazırlanan 25 ppm standartlar C16 kolonuna enjekte edilmiştir (Şekil 4.35). Kalibrasyon doğruları güncellenerek miktar tayinleri yapılmıştır.

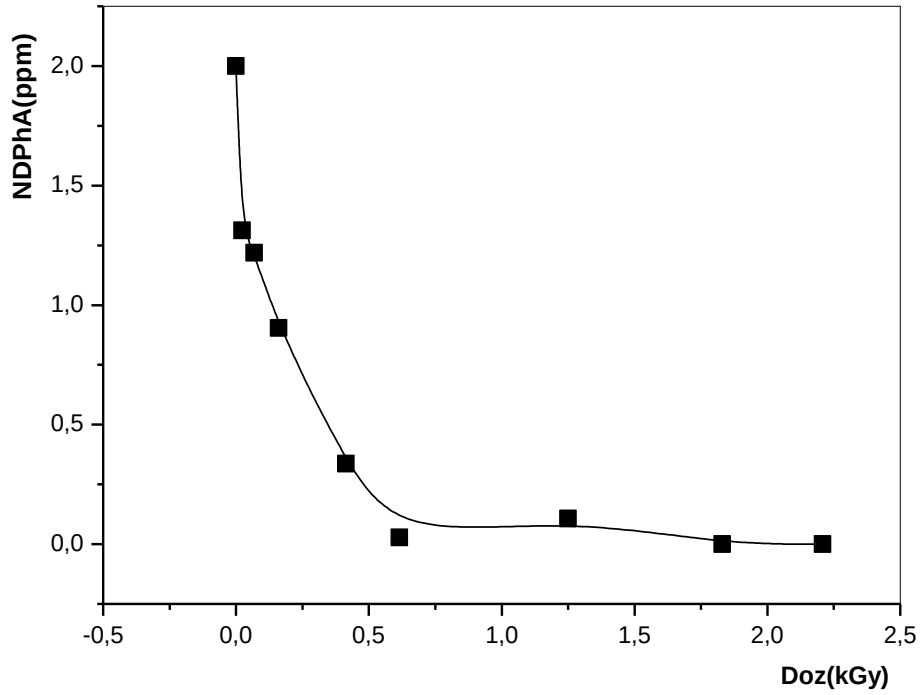


Şekil 4.35. NDPhA ve DPhA için C16 kolonda alıkonma zamanlarının belirlenmesi.

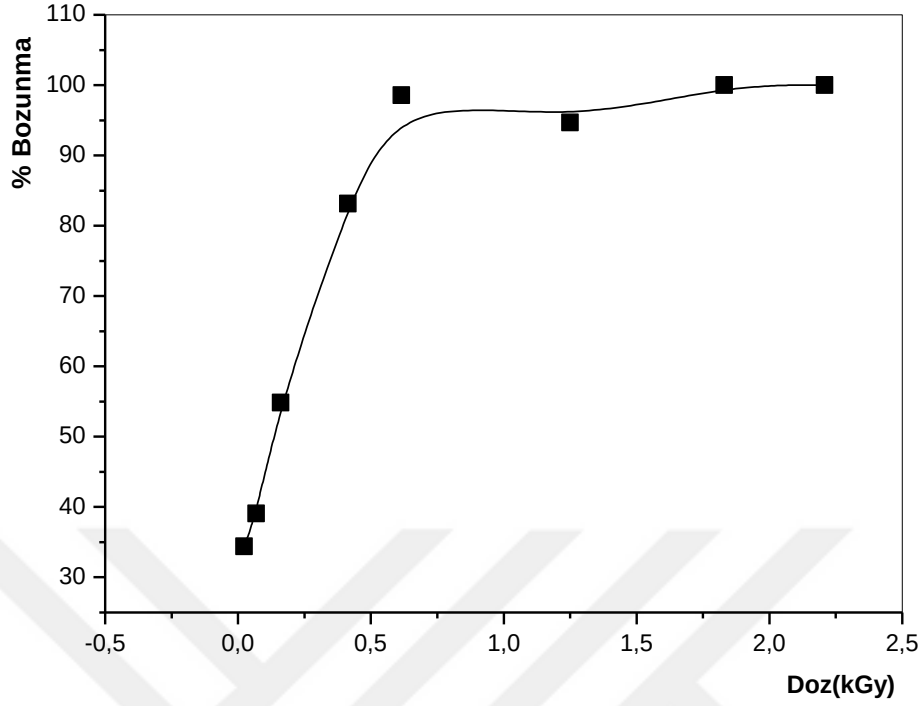
Şekil 4.36'da ışınlanmış sulu 2 ppm NDPhA çözeltileri için HPLC kromatogramları verilmiştir. Şekil 4.37'de sulu NDPhA çözelti derişiminin ışınlama dozu ile değişimi verilmiştir. 0,62 kGy ışınlama dozunda sudaki 2 ppm NDPhA tamamıyla bozunmuştur. NDPhA için başlangıç radyolitik bozunma verimi (G_i) hesaplanmış ve $1,55 \times 10^{-2}$ bulunmuştur (G değeri 100 eV absorplanan enerji başına bozunan molekül sayısı). Şekil 4.38'de ise 2 ppm sulu NDPhA'nın bozunma yüzdesinin ışınlama dozu ile değişimi görölmektedir.



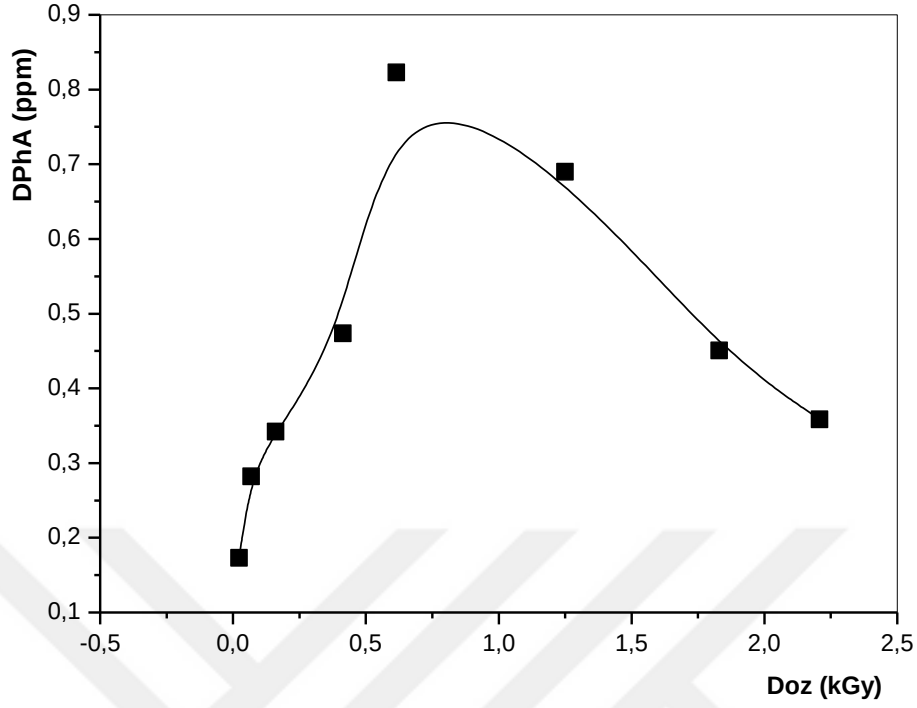
Şekil 4.36. 2 ppm sulu NDPhA için HPLC kromatogramlarının ışınlama dozu ile değişimi (7,5 kat deriştirme).



Şekil 4.37. 2 ppm sulu NDPhA miktarının ışınlama dozu ile değişimi.



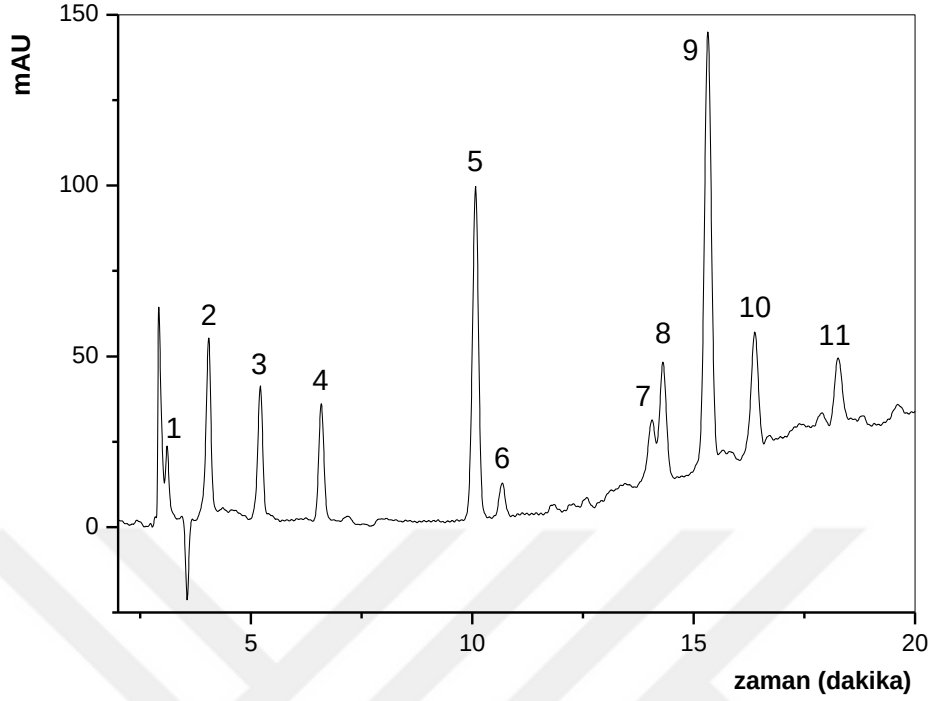
Şekil 4.38. 2 ppm sulu NDPhA'nın bozunma yüzdesinin ışınlama dozu ile değişimi. NDPhA'nın radyasyonla bozunması sonucu en önemli bozunma ürünlerinden birisi olan DPhA miktarının ışınlama dozu ile değişimi Şekil 4.39'da verilmiştir. NDPhA'nın bozunmasının neredeyse tamamlandığı ışınlama dozu olan 0,62 kGy değerinde, DPhA oluşumunun maksimum değerine (0,82 ppm) ulaştıkları Şekil 4.37 ve Şekil 4.39'da görülmektedir ve daha yüksek ışınlama dozlarında DPhA bozunmaya başlamaktadır. 2,21 kGy ışınlama dozunda DPhA'nın değeri 0,36 ppm'e düşmektedir. Maksimum oluşan DPhA miktarı (0,62 kGy ışınlama dozundaki) başlangıçtaki NDPhA'nın yaklaşık olarak %40'ına karşılık gelmektedir. NDPhA 0,62 kGy ışınlama dozunda neredeyse tamamen bozunduğu için, geriye kalan kısım diğer aromatik bileşikler, alifatik asitler, nitrit-nitrat ve mineralleşen yapılardan oluşmaktadır.



Şekil 4.39. 2 ppm sulu NDPhA'nın ışınlanması sonucu oluşan ara ürün DPhA miktarının ışınlama dozu ile değişimi.

4.4.1.2. HPLC Yöntemi Kullanılarak Fenolik Bileşiklerin Tayini

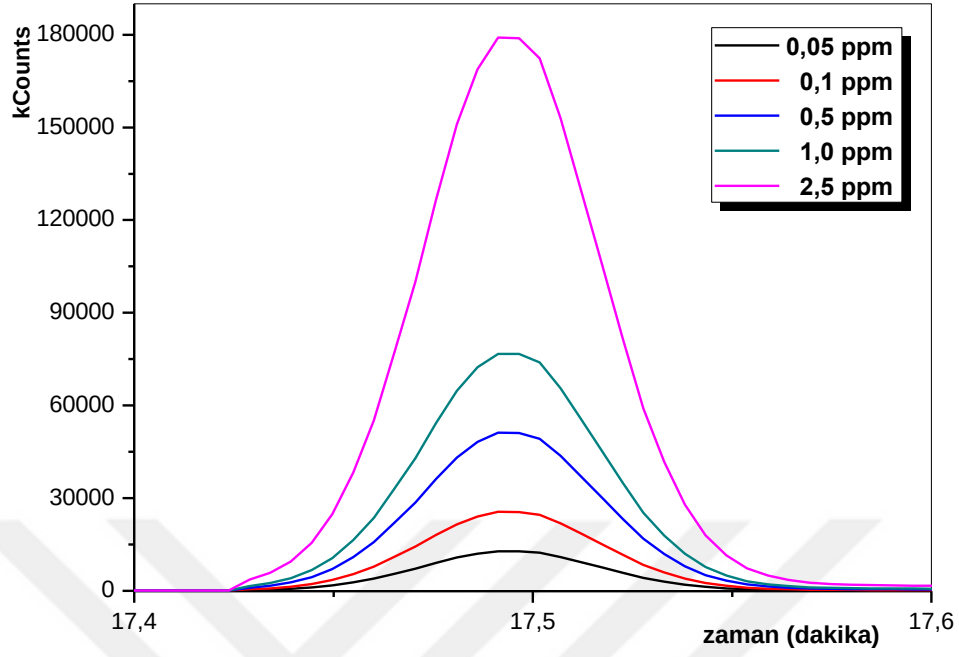
HPLC sistemine olası bazı aromatik bileşikler verilerek alıkonma zamanları saptanmıştır. (Şekil 4.40). Bu fenolik bileşikler, NDPhA ve DPhA için kullanılan C16 analitik kolondan farklı olarak C18 kolona verilmişlerdir. Hareketli faz olarak su (asetik asit-amonyum asetat tamponu)-metil alkol karışımı kullanılmıştır. HPLC ile yapılan analizlerde, bu olası araürünlerden herhangi birisine rastlanılmamıştır.



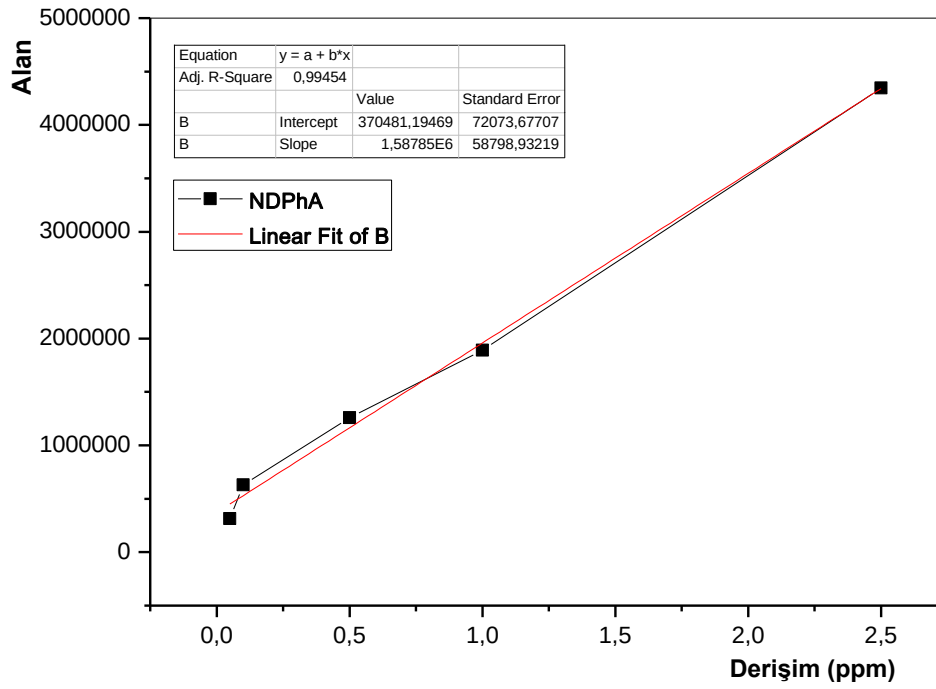
Şekil 4.40. NDPhA bozunması sonucu oluşabilecek bazı olası araürünlerin alıkonma zamanı: Kolon C18, hareketli faz su (asetik asit-amonyum asetat tamponu)-metil alkol. Standartlar ; 1: p-amino fenol 2: hidrokinon 3: resorsinol 4: katekol 5: benzoik asit 5: fenol 7: benzaldehit 8: p-nitro fenol 9. m-nitro fenol 10: asetofenon 11: o-nitro fenol (her biri 20 ppm)

4.4.2. Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

HPLC ile yapılan çalışmalara ek olarak Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) ve İyon Kromatografisi (IC) ile çalışmalar yapılmıştır. GC/MS ile olası organik ara ürünlerin tespiti, IC ile de olası organik alifatik asitlerin tespiti yapılmıştır. GC/MS ile yapılan tayinlerde 0,01 ppm NDPhA çözeltileri için tekrarlanabilirlik testleri yapılmıştır. Şekil 4.41’de değişik derişimlerdeki NDPhA için GC kromatogramları verilmektedir. Şekil 4.42’de oluşturulan kalibrasyon doğrusu yer almaktadır. Şekil 4.43’te 0,01 ppm NDPhA için alınan tekrar kromatogramları verilmektedir. Çizelge 4.9’da bulunan parametreler özetlenmiştir.

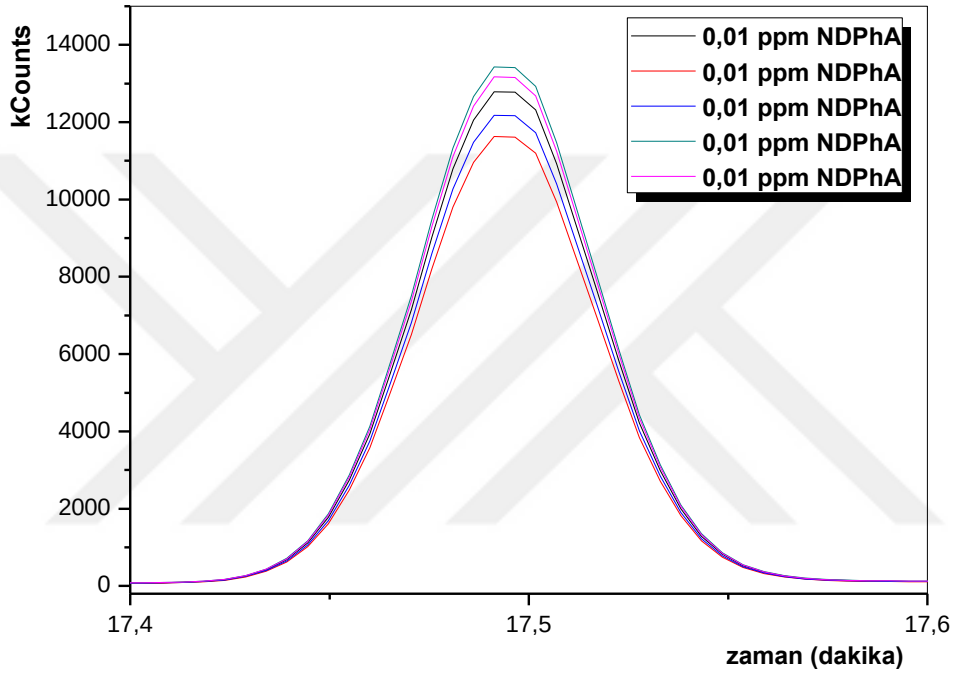


Şekil 4.41. Değişik derişimlerdeki NDPhA için GC kromatogramları.



Şekil 4.42. NDPhA için oluşturulan kalibrasyon doğrusu.

Kalibrasyon doğrusu oluşturulup, uygun bir R^2 değeri elde edildiği gözlenmiştir ve bu aralıkta analitik hesaplamalar yapılması uygun görülmüştür. 17,48 alıkonma zamanında gelen pikin NDPhA'ya ait olduğu belirlendikten sonra, tekrarlanabilirlik çalışmaları yapılmıştır. Tekrarlanabilirlik çalışmaları, 500 mL hazırlanan 0,01 ppm NDPhA çözeltisini AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirdikten sonra elde edilen NDPhA ile (100 kat deriştirme sonucu 1 ppm NDPhA) ile yapılmıştır.



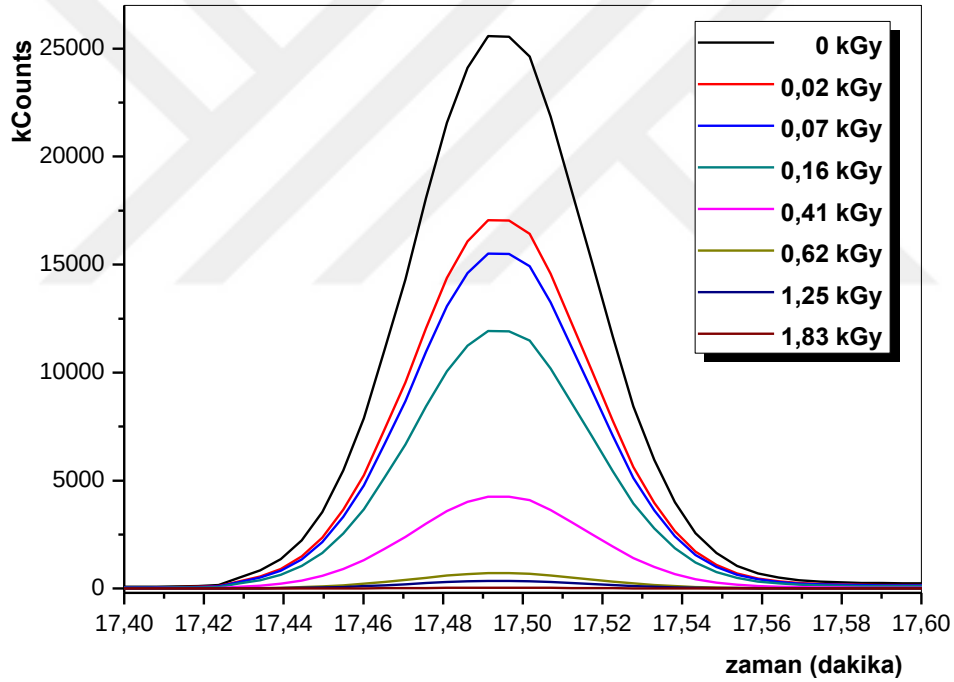
Şekil 4.43. 0,01 ppm NDPhA için GC kromatogramları (500 mL NDPhA standartı AT 280 oto deriştirici ile 5 mL'ye deriştirilmiştir, sonraki işlemler sonucu 100 kat deriştirme sonucu 1 ppm NDPhA).

Çizelge 4.10. Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici ile NDPhA için C18 (1000 mg) kartuşu ile yapılan katı faz ekstraksiyonu sonucu elde edilen GC/MS kromatogramlarının analitik parametreleri.

Hazırlanan miktar (ppm)	Pik Alanı	Bulunan miktar (kalibrasyon doğrusuna göre, ppm)	% Tutma
0,01	$1,76 \times 10^6$	0,0095	95
0,01	$1,89 \times 10^6$	0,0100	100
0,01	$1,92 \times 10^6$	0,0105	100
0,01	$1,71 \times 10^6$	0,0094	94
0,01	$1,66 \times 10^6$	0,0091	91
0,01	$1,76 \times 10^6$	0,0095	95

Elde edilen verilerin uyumlu olduğu ve hata sınırları içerisinde kaldığı anlaşıldıktan sonra, gama ışınlarına maruz bırakılan NDPhA sulu çözeltilerinden ekstrakte edilip türevlendirilen numunelerin analizleri yapılmıştır.

Şekil 4.44'te gama ışınlaması ile bozulan 2 ppm NDPhA için GC kromatogramları verilmektedir. GC analizleri için, deriştirilen örnekler yeniden seyreltilerek önceki derişim değeriine dönüştürülmüştür çünkü GC hassasiyetinin düşük derişimlere ineceğı gözlenmiştir ve yüksek derişimlerde yapılan enjeksiyonların dedektöre kirlilik olarak zarar vereceğı açıktır. Çizelge 4.11'de görüldüğü üzere, 1,83 kGy ışınlama dozuna kadar NDPhA miktarı azalmakta ve 1,83 kGy ışınlama dozunda tamamen bozunmaktadır. Bu sonuçlar, HPLC analizleri sonucu bulunan NDPhA miktarı ile uyumluluk göstermektedir.



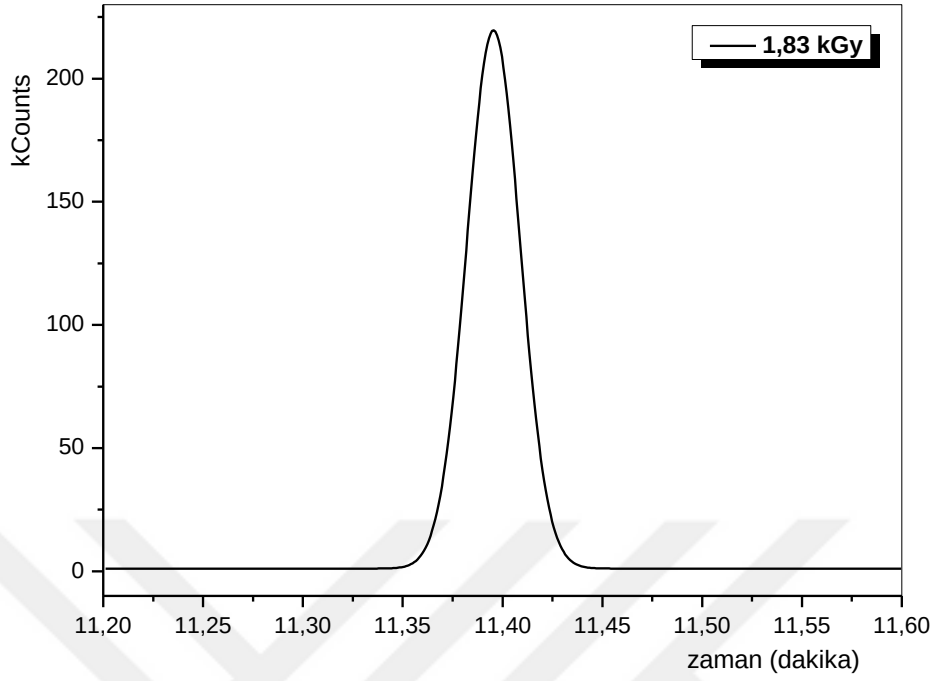
Şekil 4.44. 2 ppm sulu NDPhA için GC kromatogramlarının ışınlama dozu ile değişimi.

Çizelge 4.11. Işınlama dozu ile bozunmadan geriye kalan NDPhA derişimi değişiminin HPLC ve GC/MS ile sonuçlarının karşılaştırılması.

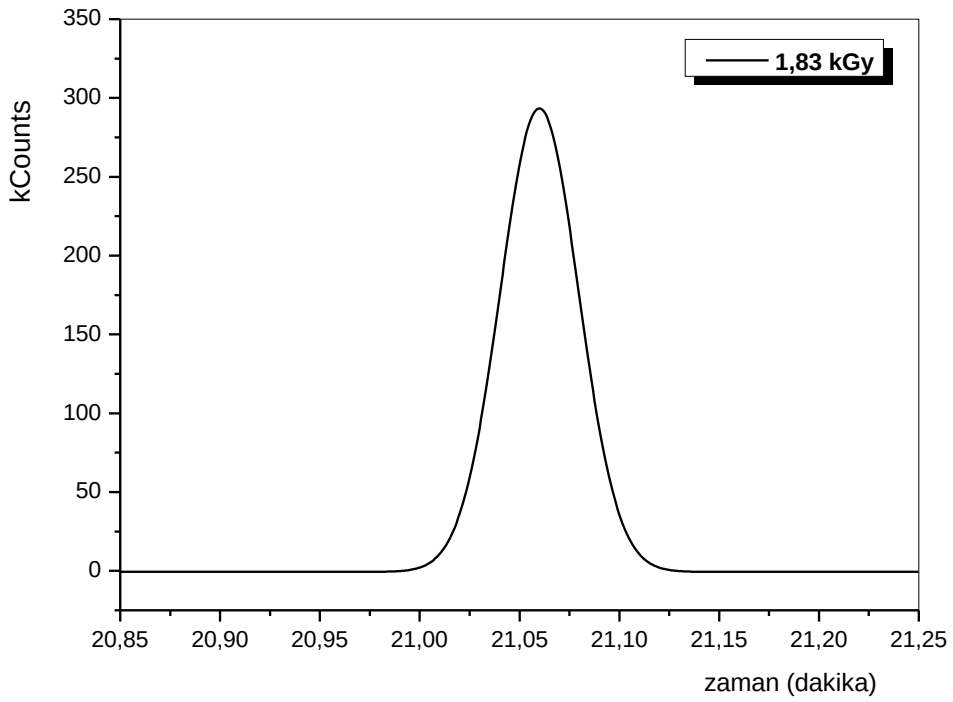
Işınlama Dozu	Saptanan NDPhA miktarı (ppm)	
	HPLC	GC/MS
0	2	2
0,02	1,31	1,36
0,07	1,21	1,19
0,16	0,90	0,97
0,41	0,33	0,35
0,62	0,028	0,031
1,25	0,011	0,013
1,83	≈0	≈0
2,21	≈0	≈0

NDPhA ışınladığı zaman olası ara ürünler $-NH_2$, $-OH$ ve $COOH$ bağlı organik bileşikler olabilir. Bu grupların GC kromatogramını daha duyarlı hale getirmek için bütün proseslerde N-metil-N-trimetilsililtrifloroasetamit (MSTFA) kullanılarak trimetilsilil esterleri oluşturulmuş ve ara ürün analizleri yapılmıştır. NDPhA'nın ana bozunma ürünü olan DPhA daha önce verildiği üzere iki benzen halkasına ve bir hidrojene bağlı azottan oluşmaktadır. DPhA için sadece HPLC sonuçları mevcuttur.

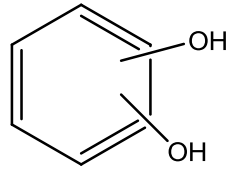
Şekil 4.45 ve 4.46'da 1,83 kGy ışınlama dozunda oluşan iki ara ürünün gaz kromatogramları verilmektedir. GC/MS kütüphanesinden (NIST) ve kromatogramların yorumlarından elde edilen bulgular sonucunda bazı standartlar GC/MS sistemine enjekte edilerek bu ara ürünlerin yapıları aydınlatılmıştır ve Şekil 4.47'de verilmiştir. Şekil 4.48 ve Şekil 4.49'da bu ara ürünlere ait kütle spektrumları verilmiştir.



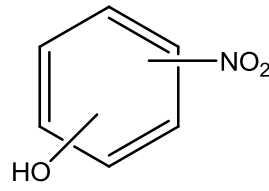
Şekil 4.45. 2 ppm sulu NDPhA'nın 1,83 kGy ışınlaması sonucu gözlenen ara ürün gaz kromatogramı (11,38 ve 11,40 dakika).



Şekil 4.46. 2 ppm sulu NDPhA'nın 1,83 kGy ışınlaması sonucu gözlenen ara ürün gaz kromatogramı (21,05 ve 21,08 dakika).

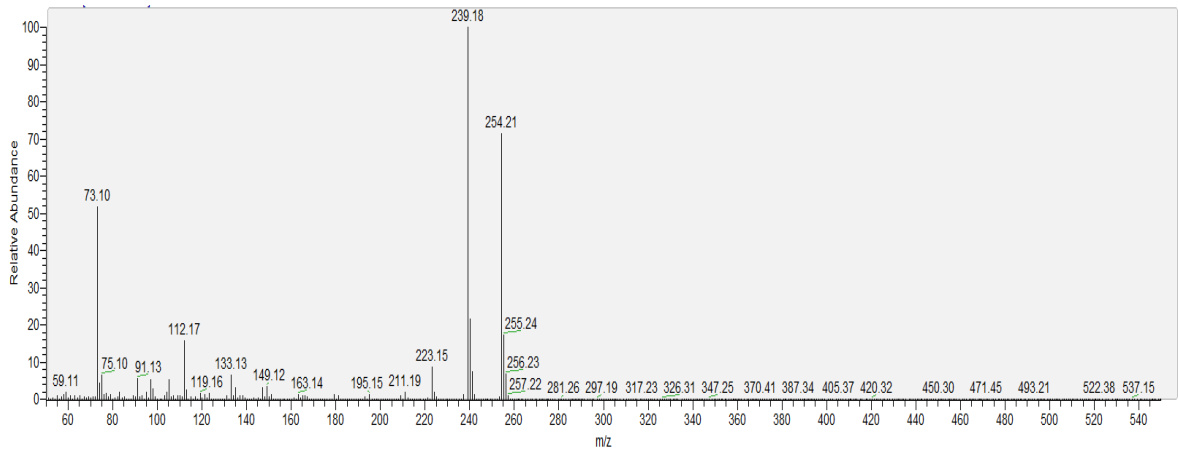


11,38 ve 11,40 dakika

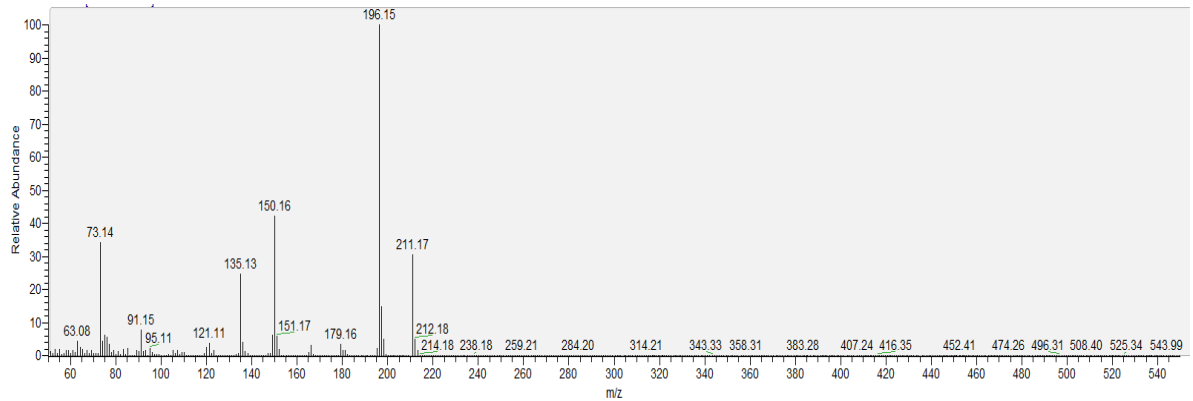


21,05 ve 21,08 dakika

Şekil 4.47. 2 ppm NDPhA'nın 1,83 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürünler. (Ara ürünler TMS esteri olarak ve verilen bileşiklerin izomerleri olarak gözlenmiştir.)

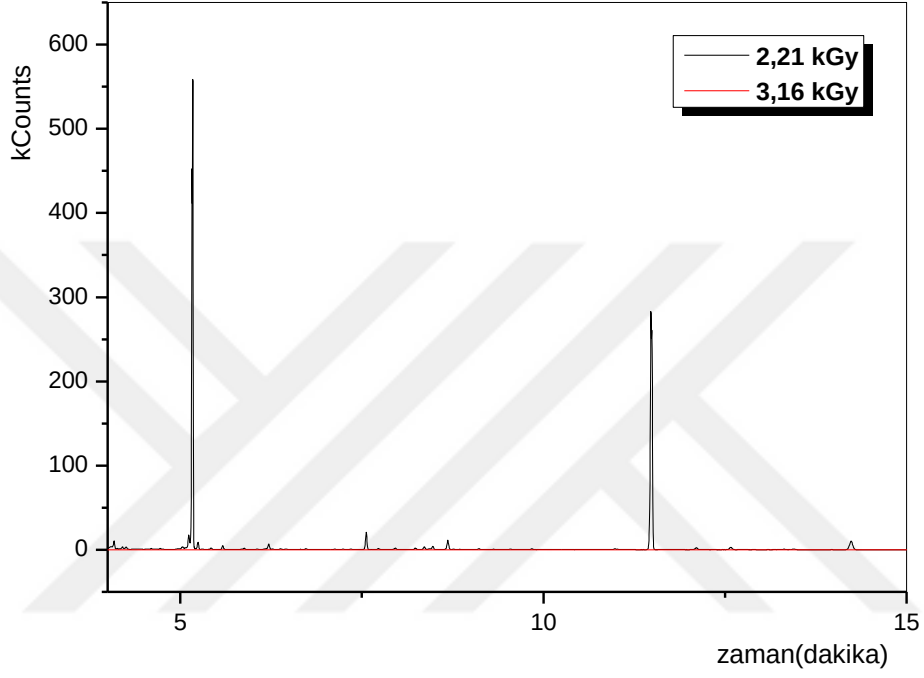


Şekil 4.48. 2 ppm NDPhA'nın 1,83 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürüne ait kütle spektrumu. (Alıkonma süresi: 11,38, Resorsinol).

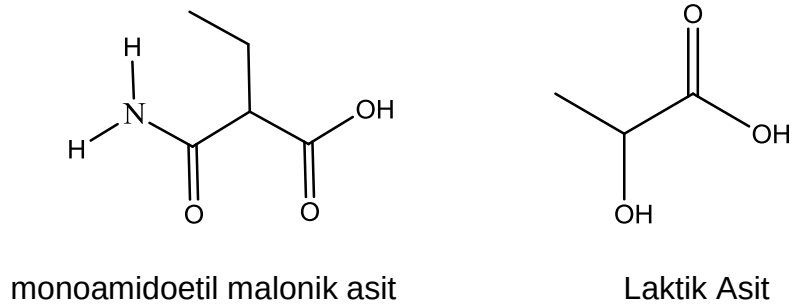


Şekil 4.49. 2 ppm NDPhA'nın 1,83 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürüne ait kütle spektrumu (Alıkonma süresi: 21,05, p-nitro fenol).

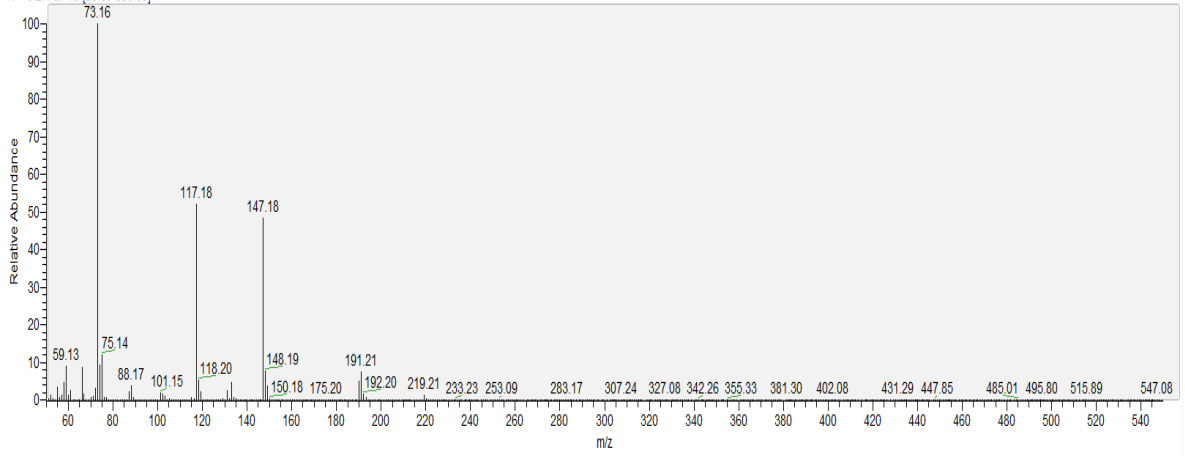
Şekil 4.50’de 2,21 kGy ışınlama dozunda oluşan iki ara ürünün gaz kromatogramı verilmektedir. 3,16 kGy ışınlama dozunda bu ara ürünlere ait pikler gözlenmemektedir. Şekil 4.51’de 2 ppm NDPhA’nın 2,21 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürünlerin yapıları verilmiş olup Şekil 4.52 ve Şekil 4.53’te bu ara ürünlere ait kütle spektrumları verilmiştir.



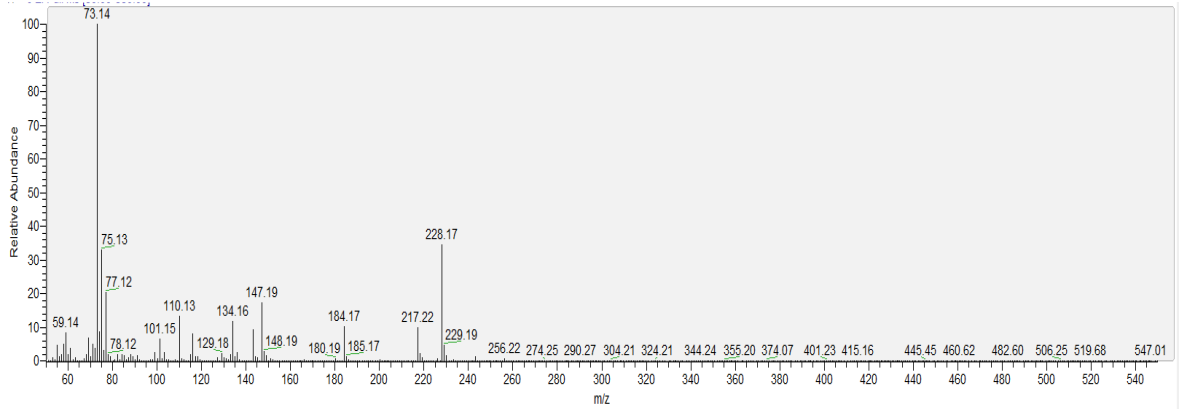
Şekil 4.50. 2 ppm NDPhA’nın 2,21 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürünlerin gaz kromatogramı.



Şekil 4.51. 2 ppm NDPhA’nın 2,21 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürünler. (Ara ürünler TMS esteri olarak gözlenmiştir.)



Şekil 4.52. 2 ppm NDPhA'nın 2,21 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürüne ait kütle spektrumu (Alıkonma süresi: 5,17 dk, Laktik Asit).

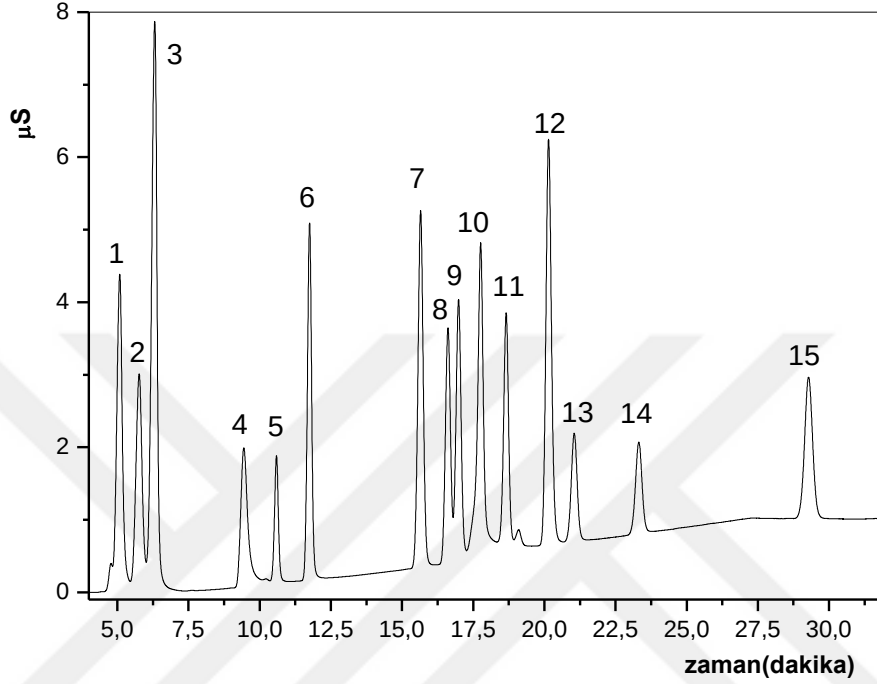


Şekil 4.53. 2 ppm NDPhA'nın 2,21 kGy ışınlanması sonucu gözlenen ara ürüne ait kütle spektrumu (Alıkonma süresi: 11,48 dk, monoamidoetil malonik asit).

NDPhA'nın gama-ışınları ile bozunmasında ağırlıklı olarak $\bullet\text{OH}$ radikallerinin etkisi gözlenmiştir. NDPhA gama ışınlarına maruz bırakıldıktan sonra ilk gözlenen ana bozunma ürünü DPhA olup, daha sonra bu iki bileşiğe hidroksil radikallerinin saldırması sonucunda ortamda resorsinol ve p-amino fenol yapılarının olduğu GC/MS sistemiyle tespit edilmiştir. Bu türlerden resorsinol ara ürünü ile hidroksil radikalleri tepkimeye girerek aromatik yapıların halka açılması mekanizmasına uğramasına neden olur ve halka açılması ürünü olan monoamidoetil malonik asit oluşur.

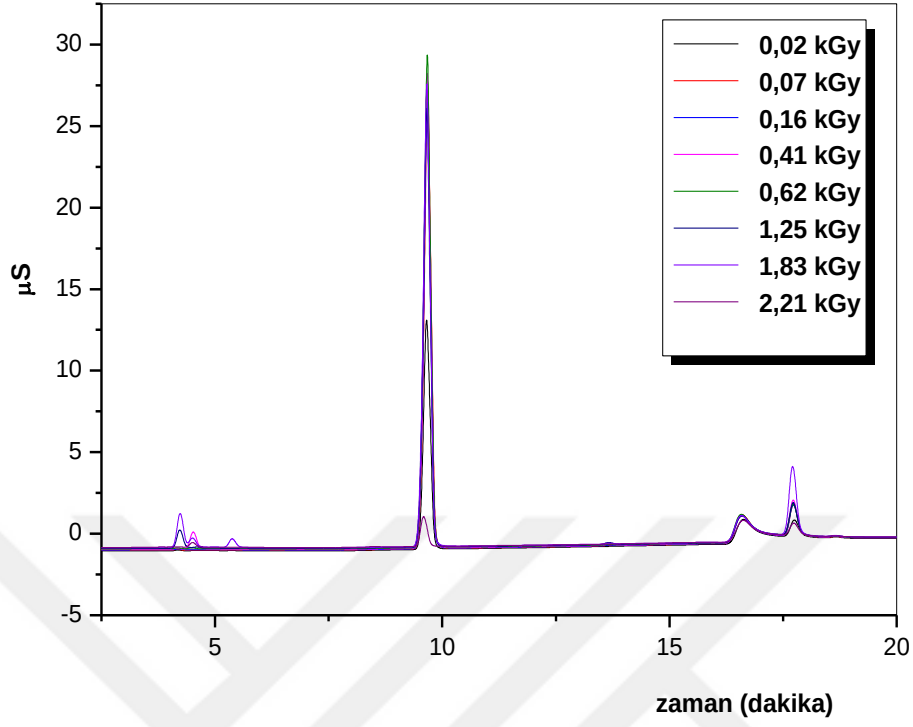
4.4.3. İyon Kromatografisi Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 4.54'te NDPhA'nın ışınlanması sonrası oluşabilecek bazı organik asitler ile inorganik bileşiklere ait standartların iyon kromatogramı verilmiştir.

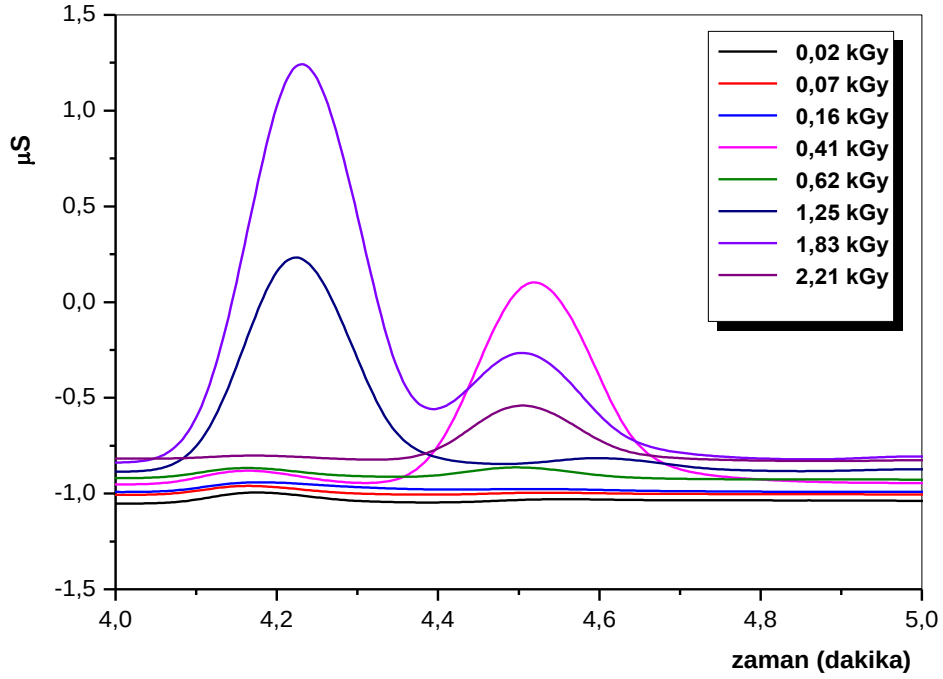


Şekil 4.54. NDPhA'nın ışınlama ile bozunma sonrası oluşabilecek olası ara ürünler için iyon kromatogramı; 1: asetik asit, 2: formik asit, 3: propiyonik asit 4: valerik asit, 5: c,t-mukonik asit: 6: nitrit, 7: nitrat, 8: glutarik asit 9: süksinik asit, 10: malonik asit, 11: maleik asit, 12: okzalik asit, 13: c,c-mukonik asit, 14: t,t-mukonik asit, 15: sitrik asit. (Bütün bileşiklerin derişimi 3 ppm).

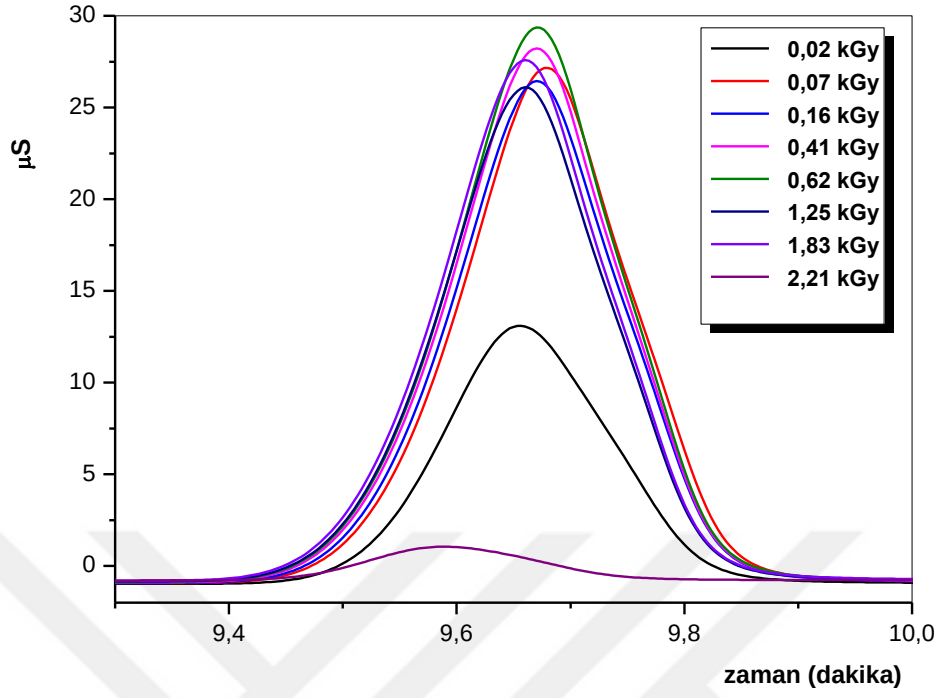
Bozunma ve mineralleşmenin anlaşılması için olası alifatik asitler ile nitrat ve nitrit tayinleri IC ile yapılmıştır. Şekil 4.55'te gama-ışınları ile değişik ışınlama dozlarında ışınlanmış 2 ppm NDPhA için IC kromatogramları verilmiştir. Şekil 4.56'da aromatik yapının bozunması sonucu oluşan asetik asit ve formik asite ait pikler, Şekil 4.57'de NDPhA'yı birbirine bağlayan azot atomlarından oluşan nitrit iyonları, Şekil 4.58'de ise aromatik yapının bozunması sonucu oluşan ilk ara ürünlerden malonik ve maleik asite ait iyon kromatogramı görülmektedir. Şekillerden de görüleceği üzere, ışınlama dozu ile miktarlardaki sürekli değişim olmaktadır. Çünkü alifatik asitler bir yandan oluşurken bir yandan da daha küçük gruplara dönüşmektedir. Devamında karbondioksit ile suya dönüştüğü düşünülmektedir.



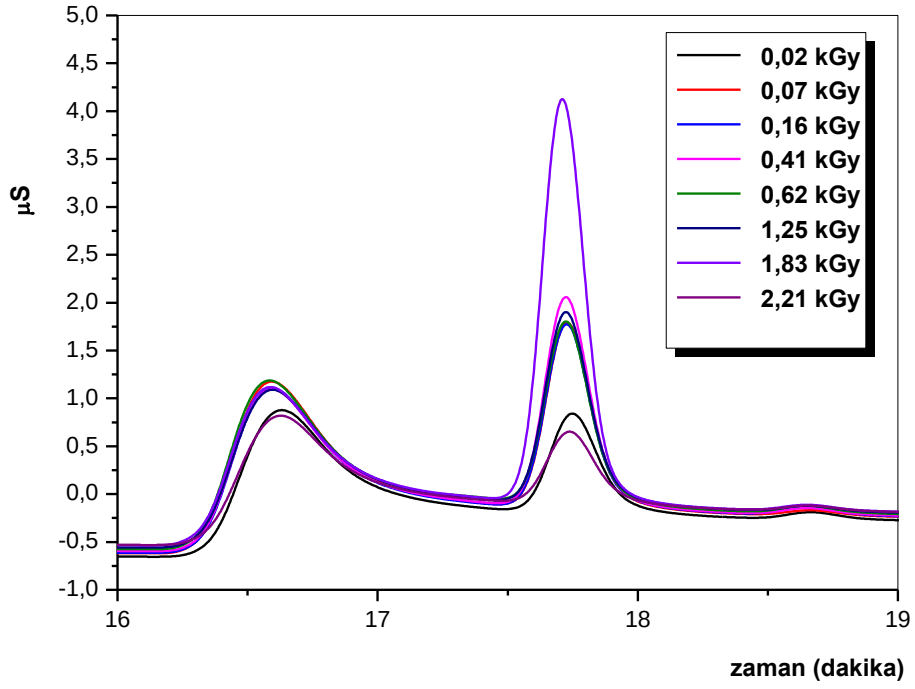
Şekil 4.55. 2 ppm NDPhA'nın gama ışınları ile ışınlanması sonucu IC ile gözlenen olası ürünler.



Şekil 4.56. 2 ppm NDPhA'nın gama ışınları ile ışınlanması sonucu IC ile gözlenen olası ürünler (4,2 dak, asetik asit ve 4,6 dak, formik asit).



Şekil 4.57. 2 ppm NDPhA'nın gama ışınları ile ışınlanması sonucu IC ile gözlenen olası ürünü (9,7 dak, nitrit).



Şekil 4.58. 2 ppm NDPhA'nın gama ışınları ile ışınlanması sonucu IC ile gözlenen olası ürünleri (16,7 dak, malonik asit; 17,7 dak, maleik asit).

Seçilen bazı örneklerle yapılan analizlerde asetik asit, formik asit ile nitrit iyonları gözlenmiştir. Nitrit iyonları yapının bozunduğunu gösteren önemli bir bulgudur. Asetik asit ile formik asitin gözlenmesi NDPhA'nın ışınlanması sonucu mineralleşme basamağının başladığını göstermektedir.

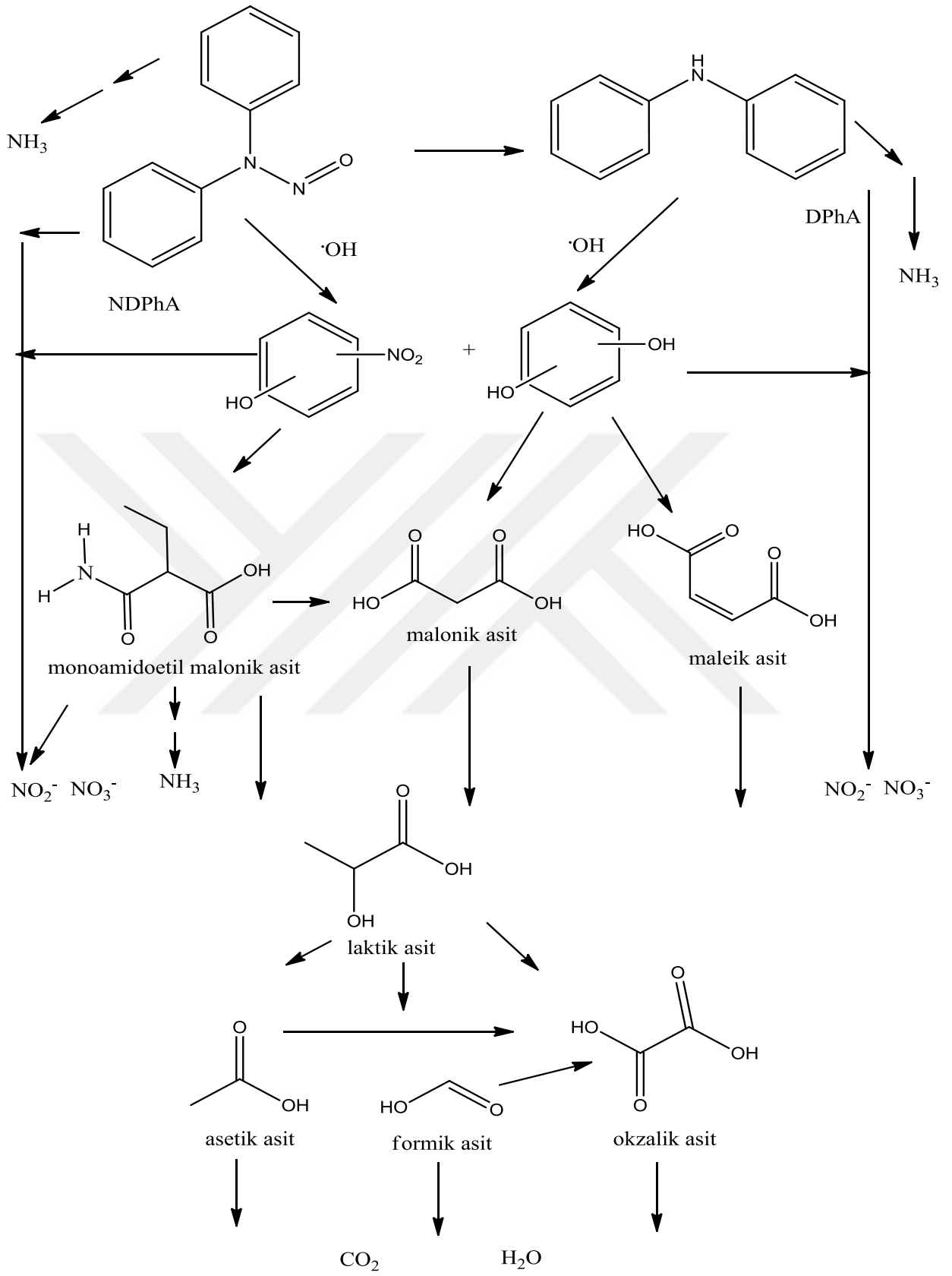
Farklı dozlarda ışınlanan NDPhA zltilerinin pH değerleri ölçülmüş olup izelge 4.12'de ışınlama dozunun 2 ppm NDPhA zltilerinin pH değerlerindeki değişimine etkisi verilmiştir. pH değerlerine bakıldığında 2,21 kGy ışınlama dozuna kadar pH değerlerinde azalma görülürken 2,21 kGy ışınlama dozunda pH 3,86 olup bu pH'ın 2,21 kGy ışınlama dozunda tamamen bozunma gerçekleşmiş olmasından dolayı oluşan alifatik asitlerden kaynaklı olduğu söylenebilir. 3,16 kGy ışınlama dozunda pH değerindeki artış, iyon kromatografi sonuçlarına göre gözlenen asit türlerinin artan ışınlama dozlarında azalmasına ve ortamda bulunan nitrit iyonlarının ışınlama ile amonyağa dönüşebileceğinden ortamın bazikleştiği dşnlmştir

Çizelge 4.12. ışınlama dozunun 2 ppm NDPhA zltilerinin pH değerlerindeki değişimine etkisi.

Doz (kGy)	pH
0,02	5,27
0,07	6,13
0,16	5,56
0,41	5,84
0,62	5,66
1,25	5,34
1,83	5,39
2,21	3,86
3,16	5,34

4.5. HPLC, GC-MS ve IC Sonuçlarına göre Gama ışınlanması sonucu NDPhA için önerilen bozunma mekanizması

şekil 4.54'te elde edilen HPLC, GC ve IC bulgularından yola çıkarak NDPhA için radyolitik bozunma mekanizması önerilmiştir. ışınlama dozu arttığa hem NDPhA hem de DPhA üzerinden küçük alifatik asitlere dönüşerek bozunma ve mineralleşmenin gerçekleştiği dşnlmştir.



Şekil 4.59. Gama ışınları ile NDPhA'nın bozunması için önerilen mekanizma.

5. SONUÇLAR

- Bu çalışmada, toksik etki gösteren NDPhA'nın sulu ortamdan uzaklaştırılması ve bozunmasında gama radyasyonunun etkisi incelenmiştir.
- Bozunma ürünlerinin tespiti ve miktar tayinleri için analitik yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır.
- HPLC sistemi için mobil faz oranları değiştirilerek, elde edilen piklerin alıkonma zamanı ve keskinliği açısından optimum analiz koşulları saptanmıştır.
- Mobil faz bileşiminin asetonitril (ACN)/su oranının (%v/v) %50/%50, %65/%35 ve %80/%20 olduğu sistemlerdeki kromatogramlar incelenmiş olup piklerin alanlarının aynı kalmasına karşın şiddeti ve keskinliği artarak yayvanlığı azaltmakta olan ACN/Su oranı (%v/v) %80/%20 içeren mobil faz benimsenmiş olup NDPhA için bilinen standartlardan oluşturulan kalibrasyon doğrusu oluşturulmuştur.
- Otomatik katı faz ekstraksiyon sistemi olan Thermo Dionex AT 280 oto deriştirici kullanılarak derişimi bilinen NDPhA standartları C18 (500 mg) kartuşlardan geçirilerek (500 mL) hem oto deriştiricinin optimizasyonu, hem de katı faz ekstraksiyonu esnasında yüzde verim hesabı yapılmıştır.
- C18 (500 mg) kartuşunun NDPhA'yı tutma verimi %60-%66 arasındadır.

- C18 (500 mg) kartuşunun NDPhA'yı tutma verimi %60-%66 arasında bulunduğundan sonra farklı alternatif kolon dolgu maddeleri denenmiştir.
- Karboksen dolgu maddesinin kullanıldığı katı faz ekstraksiyonu sonucunda karboksen dolgu malzemesinin NDPhA için metil alkol ve diklorometan organik fazlarına yaklaşık olarak % 20 ve % 14 verimle alınmaktadır. Bu gözlem üzerine, karboksen dolgu maddesinin AT 280 oto deriştiricide kullanılamayacağı anlaşılmış olup, yeni dolgu malzemeleri denenmiştir.
- İki tür alümina ve aktif kömür dolgu maddeleri denenmiş olup hem alüminalar (kromatografik analize uygun saflıkta ve kalsine) hem de aktif kömür, polar ve apolar çözücülerin organik faz olarak kullanılmasına rağmen NDPhA için herhangi bir seçicilik sağlamamaktadır.
- Laboratuvar ortamında hazırlanan dolgu maddelerinin NDPhA için düşük seçicilik göstermesi, C18 kartuşlarının yeniden denenmesini zorunlu hale getirmiştir.
- C18 kartuşun etkin maddesi 500 mg yerine 1000 mg olarak kullanılmış olup yeni bir kartuş şartlandırma programı yapılmıştır.
- 500 mL 0,1 ppm sulu NDPhA çözeltisinin C18 (1000mg) kartuşundan geçirildikten sonra metil alkole alınması sonucunda HPLC sistemindeki kromatogramlarına göre ortalama % 97 verim ile NDPhA sudan C18 kartuşlara alınabilmektedir.
- Gama ışınlamasıyla NDPhA'nın bozunması sağlanarak olası ara ürün ve ortamda kalan NDPhA miktarları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir.

- 0,026 kGy/saat doz hızına sahip Co-60 gama kaynağında 1,74 kGy ışınlama dozu 2 ppm NDPhA'nın bozunması için yeterlidir. Işınlanan 2 ppm NDPhA çözeltisi 10 gün boyunca havaya kapalı pyreks şişede ve karanlık bir ortamda bekletildikten sonra 1,74 kGy ışınlama dozunda NDPhA'nın bozunduğu tespit edilmiş ve aynı ışınlama dozunda ışınlanmış-bekletilen çözeltide NDPhA oluşmadığı ancak difenilamin oluştuğu gözlenmiştir.
- 0,026 kGy/saat doz hızına sahip Co-60 gama kaynağında farklı ışınlama dozlarında ışınlanan 2 ppm sulu NDPhA çözeltilerinde 0,62 kGy ışınlama dozunda, 0,009 ppm NDPhA çözeltide kalırken, 0,68 ppm DPhA oluşmuştur. Daha yüksek ışınlama dozlarında DPhA miktarı azalırken, 3,12 kGy ışınlama dozunda çözeltiden oluşan DPhA tamamen uzaklaşmaktadır.
- Işınlandıktan sonra kapalı bir şişede ve karanlıkta 10 gün boyunca bekletilen 2 ppm NDPhA çözeltilerinde NDPhA oluşumu gözlenmediği gibi 3,12 kGy ışınlama dozunda beklemiş çözeltideki NDPhA oluşmadığı tespit edilmiştir.
- NDPhA'nın radyasyonla bozunması sonucu en önemli bozunma ürünlerinden birisi olan DPhA miktarının ışınlama dozu ile değişimi takip edilmiş olup NDPhA'nın bozunmasının neredeyse tamamlandığı ışınlama dozu olan 0,62 kGy değerinde, DPhA oluşumunun maksimum değerine (0,82 ppm) ulaştığı tespit edilmiş olup daha yüksek ışınlama dozlarında DPhA bozunmaya başlamaktadır. 2,21 kGy ışınlama dozunda DPhA'nın değeri 0,36 ppm'e düşmektedir.
- Maksimum oluşan DPhA miktarı (0,62 kGy ışınlama dozundaki) başlangıçtaki NDPhA'nın yaklaşık olarak %40'ına karşılık gelmektedir.

- NDPhA 0,62 kGy ışınlama dozunda neredeyse tamamen bozunduğu için, geriye kalan kısım diğer aromatik bileşikler, alifatik asitler, nitrit-nitrat ve mineralleşen yapılardan oluşmaktadır.
- Alifatik asitler ve iyonik türlerin standartlarını içeren karışımın iyon kromatogramı ve alıkonma süreleri iyon kromatografisi (IC) kullanılarak kaydedilmiştir.
- Gama-ışınları ile değişik ışınlama dozlarında ışınlanmış 2 ppm NDPhA için IC kromatogramlarında aromatik yapının bozunması sonucu oluşan asetik asit, formik asit, malonik asit ve maleik asite ait pikler, NDPhA'yı birbirine bağlayan azot atomlarından oluşan nitrit iyonlarına ait pikler tespit edilmiştir.
- NDPhA'nın bozunması sonucunda oluşan ara ürünler GC-MS ve IC kullanılarak tespit edilip bu ara ürünlerden yola çıkarak NDPhA'nın olası bozunma mekanizması verilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Lijinsky, W., Epstein S.S., Nitrosamines as environmental carcinogens, *Nature*, 225, 21-23, **1970**.
- [2] Tarımcı, N., İlaç, Gıda Maddeleri Ve Kozmetik Yapımlarda Nitrozamin Bileşiklerinin Oluşması Ve Sağlık Açısından Önemi, *Pharmacia JTPA*, 24, 5(3), 198-203, **1984**.
- [3] Zhao, Yuan-Yuan., Boyd, Jessica., Formation of N-nitrosamines from eleven disinfection treatments of seven different surface waters, *Environ.Sci.Technol.*, 42, 4857-4862, **2008**.
- [4] Walse, S.S., Mitch, W.A., Nitrosamine carcinogens also swim in chlorinated pools, *Environ. Sci. Technol.*, 42, 1032-1037, **2008**.
- [5] Muellner, M.G., Wagner, E.D., McCalla, K., Richardson, S.D., Woo, Y.T., Plewa, M.J., Haloacetonitriles vs. regulated haloacetic acids: are nitrogen-containing DBP's more toxic, *Environ. Sci. Technol.*, 41, 645-651, **2007**.
- [6] Planas, C., Palacios, O., Ventura, F., Rivera, J., Caixach, J., Analysis of nitrosamines in water by automated SPE and isotope dilution GC/HRMS. Occurrence in the different steps of a drinking water treatment plant and in chlorinated samples from a reservoir and a sewage treatment plant effluent, *Talanta*, 76, 906-913, **2008**.
- [7] Akın, M., Akın, G., Suyun önemi, Türkiye'de su potansiyeli, su havzaları ve su kirliliği, *Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi*, 47, 105-118, **2007**.
- [8] Güler, Ç., Çobanoğlu, Z., *Su Kirliliği*, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, No:12, Birinci Baskı, TC Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, TC Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara, **1994**.
- [9] Karadağ, A., *Gama Işınlarının Kıyma ve Köftelerin Kalitesi Üzerine Etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, **2005**.
- [10] Kandilcik, S., *Radyasyona Bağlı Serbest Radikal Hasarının İncelenmesi*, Bitirme Ödevi, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, **2010**.
- [11] Şolpan Özbay D., First Intensive Course, Enhancing development and transfer knowledge of application of ionizing radiation in materials processing, Joint innovative training and teaching/learning program, Polonya, Varşova, **2015**.
- [12] Coşkun, Ö., İyonize Radyasyonun Biyolojik Etkileri, *SDU Teknik Bilimler Dergisi*, 1(2), 13-17, **2011**.
- [13] Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, *Endüstriyel Atık Suların Radyasyon Prosesi Teknolojisiyle Arıtılması*, Teknik Rapor, Ankara, **2011**.
- [14] Gehringer, P., Advances in radiation processing of wastewater-basics of the process, *Status of Industrial Scale Radiation Treatment of Wastewater and Its Future*, IAEA meeting, Daejeon, 7, 13-16 October, **2003**.

- [15] Le Caër, S., Water Radiolysis: Influence of Oxide Surfaces on H₂ Production under Ionizing Radiation, *Water*, 3, 235-253, **2011**.
- [16] Snguanmith, S., *Low-linear Energy Transfer Radiolysis of Liquid Water at Elevated Temperatures up to 350 °C: Monte-Carlo Simulations*, Master Thesis, Faculty of Medicine and Health Sciences, Quebec, **2012**.
- [17] Palamutoğlu, R., Sarıçoban, C., Et Ürünlerinde Nitrat ve Nitrite Alternatif Doğal Kürleme Maddeleri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Cilt: 7, No: 3, 46-58, **2012**.
- [18] Kodamatani, H., Yamazaki, S., Saito, K., Amponsaa-Karikari, A., Kishikawa, N., Kuroda, N., Tomiyasu, T., Komatsu, Y., Highly sensitive method for determination of N-nitrosamines using high-performance liquid chromatography with online UV irradiation and luminol chemiluminescence detection, *Journal of Chromatography A*, 1216, 92–98, **2009**.
- [19] Romina, P., Bocchini, P., Pinelli, F., Galletti, G., Determination of nitrosamines in water by gas chromatography/chemical ionization/selective ion trapping mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1218, 1808-1814, **2011**.
- [20] Sanchez, B.J., Ballesteros, E., Gallego, M., Screening of N-nitrosamines in tap and swimming pool waters using fast gas chromatography, *J. Sep. Sci.*, 33, 610-616, **2010**.
- [21] Nawrocki, J., Andrzejewski, P., Nitrosamines and water, *Journal of Hazardous Materials*, 189, 1-18, **2011**.
- [22] Boyd, J.M., Hrudey, S.E., Richardson, S.D., Li, X.-F., Solid-phase extraction and high performance liquid chromatography mass spectrometry analysis of nitrosamines in treated drinking water and wastewater, *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 30, No. 9, **2011**.
- [23] Cemek, M., Akkaya, L., Birdane, Y., Seyrek, K., Bulut, S., Konuk, M., Nitrate and nitrite levels in fruity and natural mineral waters marketed in western Turkey, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 236–240, **2007**.
- [24] Özçelik, Sami., Bazı Gıdalarda Nitrit ve Nitrozamin Oluşumu ve Sağlığa Zararlı Etkileri, *Gıda*, (7)4, 183-188, **1982**.
- [25] Çakmak, Ö., İşleyen, A., Usca, A., N-Nitrozo Bileşikleri ve Halk Sağlığına Etkileri, *TAF Prev. Med. Bull.*, 8(6), 521-526, **2009**.
- [26] Wang, W., Ren, S., Zhang, H., Yu, J., An, W., Hu, J., Yang, M., Occurrence of nine nitrosamines and secondary amines in source water and drinking water: Potential of secondary amines as nitrosamines precursors, *Water Research*, 45, 4930-4938, **2011**.
- [27] MA, Q., XI, H., WANG, C., BAI, H., XI, G., SU, N., XU, L., WANG J., Determination of Ten Volatile Nitrosamines in Cosmetics by Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, Volume 39, Issue 8, **2011**.
- [28] Wu, Q., Shi, H., Ma, Y., Adams, C., Eichhols, T., Timmons, T., Jiang, H., Determination of secondary and tertiary amines as N-nitrosamine precursors in drinking water system using ultra-fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Talanta*, 131, 736–741, **2015**.

- [29] Yoon, S., Tanaka, H., Formation of N-nitroamines by chloramination or ozonation of amines listed in Pollutant Release and Transfer Registers (PRTRs), *Chemosphere*, Volume 95, 88-95, **2014**.
- [30] Choi, J., Valentine, R.L., Formation of N-nitrosodimethylamine (NDMA) from reaction of monochloramine: a new disinfection by-product, *Water Research*, 36, 817–824, **2002**.
- [31] Lijinsky, W., *Chemistry and Biology of N-nitroso Compounds*, Cambridge Univ. Pres, **1992**.
- [32] Preussmann, R., Stewart, B.W., N-Nitroso carcinogens, Eds: Searle CE. In: *Chemical Carcinogens*, American Chemical Society Monograph, 182, 643-828, **1984**.
- [33] Ekici, L., Sağdıç, O., Yetim, H., Et tüketimi ve kanser, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(2), 136-145, **2012**.
- [34] Walse, S.S., Mitch, W.A., Nitrosamine Carcinogens Also Swim in Chlorinated Pools, *Environ. Sci. Technol*, 42, 1032-1037, **2008**.
- [35] Lijinsky, W., Taylor H.W., Nitrosamines and their precursors in food, *Cold Spring Harbor Symposium on the Origins of Human Cancer*, Book C, 1579-1590, **1977**.
- [36] Ekici, K., Aliyaşarlı, M., Sancak, Y.C., Peynir Çeşitlerinde Nitrit ve Nitrozaminler, *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2, 71-72, **2008**.
- [37] Gökalp, H.Y., Et Ürünlerine Katılan Nitrat, Nitrit Miktarının Azaltılması, N-Nitrosamin Oluşum Reaksiyonlarının Engellenmesi ve Gıdalarda N-Nitrosaminlerin Saptanması, *Gıda*, 10, 161-167, **1985**.
- [38] Getoff, N., Radiation-induced degradation of water pollutants, State of the art, *Radiat. Phys. Chem.*, 47(4), 581-593, **1996**.
- [39] Mezyk, S., Cooper, W.J., Madden, K.P., Bartels, D.M., Free radical destruction of n-nitrosodimethylamine in water, *Environ.Sci.Technol.*, 38, 3161-3167, **2004**.
- [40] Byun, M., Ahn,H., Kim,J., Lee,J., Yook, H., Han, S., Determination of volatile N-nitrosamines in irradiated fermented sausage by gas chromatography coupled to a thermel energy analyzer, *Journal of Chromatography A*, 1054, 403-407, **2004**.
- [41] Gerecke, A.C., Sedlak, D.L., Precursors of N-nitrosodimethylamine in natural waters, *Environ.Sci.Technol.*, 37, 1331-1336, **2003**.
- [42] Andrzejewski, P., Kasprzyk-Hordern, B., Nawrocki, J., The hazard of N-nitrosodimethylamine (NDMA) formation during water disinfection with strong oxidants, *Desalination*, 176, 37-45, **2005**.
- [43] Ahn, H.J., Yook, H.S., Rhee, M.S., Lee, C.H., Cho, Y.J., Byun, M.W., Application of gamma irradiation on breakdown of hazardous volatile N-nitrosamines, *J.Food Chem Technol.*, 67(2),596-599, **2002**.
- [44] Öztıp,H., Cengiz,N., Candan, F., The Effect Of Cigarettes Nitrosamines, Nitrit And Cigarette Smoke On Erythrocyte Glutathione (GSH) Levels, *Tur.J. Med.Biol.Res.*, 2(1), 31-38, **1991**.

- [45] Dönderici, Z.S., Dönderici, A., Başarı, F., An investigation on physical and chemical quality of spring water, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67(4), 167-172, 2010.
- [46] Malkoçoğlu, B., Kıvanç, M., Eskişehir’de Porsuk çayı ile sulanan bazı sebzelerde nitrat-nitrit miktarının belirlenmesi, *Gıda*, 22(6), 428-431, **1997**.
- [47] Zhou, W., Boyd, J.M., Qin, F., Hrudey, S.E., Li, X., Formation of N-Nitrosodiphenylamine and Two New N-Containing Disinfection Byproducts from Chloramination of Water Containing Diphenylamine, *Environ. Sci. Technol.*, 43(21), 8443–8448, **2009**.
- [48] Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Division of Toxicology and Environmental Medicine, ADDENDUM for N-Nitrosodiphenylamine, Atlanta, **2010**.
- [49] Yavuz, O., Aksoy, A., Örnek Hazırlamada Katı Faz Ekstraksiyonu Metodu, *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 20(3), 259-269, **2006**.
- [50] Açılı, Z.A., Saç Boyası Örneklerinde Aromatik Aminlerin İyon Çifti Ekstraksiyonu ve GC-FID/GC-MS Metoduyla Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Mayıs, **2006**.
- [51] Zief, M., Kiser, R., Solid Phase Extraction for Sample Preparation, Phillipsburg: JT Baker, **2005**.
- [52] Macherey-Nagel, Sample Preparation, Solid Phase Extraction. In: Macherey-Nagel Catalogue, 184-241, **2004**.
- [53] Thermo Scientific AT 280 Autotrace Otomatik SPE Sistemi, <http://www.redokslab.com/tr/urunler/?productName=otomatik-spe-at280>, **(2013)**.
- [54] Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., *Principles of Instrumental Analysis*, (5th ed.), Orlando, Florida, 675-777, **1998**.
- [55] Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, (çev: Kılıç E., Köseoğlu F., ve Yılmaz H.), Bilim Yayıncılık, Ankara, 701, **2000**.
- [56] Skoog D.A., Holler F.J., ve Nieman T.A., *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, (çev: Kılıç E., Köseoğlu F., ve Yılmaz H.), Bilim Yayıncılık, Ankara, 750, **2000**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Sinem Demir
Doğum Yeri : Karadeniz Ereğli
Medeni Hali : Bekar
E-posta : sinemdemir835@gmail.com
Adres : Kocaeli/Türkiye

Eğitim

Lisans : Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü, Ankara (2008-2012)
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü, Ankara (2013-2016)

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce – Çok iyi derecede

İş Deneyimi

UNİGUM GIDA MADDELERİ SANAYİİ VE TİCARET A.Ş. (12/2015-...)
Ar-Ge Departmanı / Enstrümantal Analiz Uzmanı

Deneyim Alanları

-

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

“Suda Oluşan Farklı Nitrozaminlerin Gama-Işınlarıyla Bozunması”
TÜBİTAK 2012 EYLÜL DÖNEMİ 1001 ARAŞTIRMA PROJESİ (2013-2016)

Tezden Üretilmiş Yayınlar

-

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

“Optimum Conditions For Chromatographic Separation of N-nitrosodiphenylamine From Its Intermediates”, S. DEMİR, M. TORUN, D. ŞOLPAN, Sayfa 75, 1st International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies, October 27 - November 1, Sarajevo, BOSNIA and HERZEGOVINA, 2015.



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 21/12/2016

Tez Başlığı / Konusu: SULU ÇÖZELTİLERDEKİ N-NİTROZODİFENİLAMİNİN GAMA-IŞINLARI İLE BOZUNMASI

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç ve e)Kaynakça kısımlarından oluşan toplam 92 sayfalık kısmına ilişkin, 21/12/2016 tarihinde tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

21/12/2016

Adı Soyadı: SİNEM DEMİR

Öğrenci No: N12228177

Anabilim Dalı: KİMYA

Programı: YÜKSEK LİSANS

Statüsü: ☒ Y.Lisans ☐ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Dilek ŞOLPAN ÖZBAY