

**MİKROPLASTİK TESPİTİ İÇİN KULLANILAN
MİKROSKOBİK YÖNTEMİN PERFORMANS
PARAMETRELERİNİN FARKLI GIDA MATRİSLERİNDE
İNCELENMESİ VE GELİŞTİRİLMESİ**

**EXAMINATION AND IMPROVEMENT OF THE
PERFORMANCE PARAMETERS OF THE
MICROSCOPIC METHOD FOR MICROPLASTIC
DETECTION IN VARIOUS FOOD MATRICES**

ESİN BAYAN KARAKADILAR

DOÇ. DR. FAHRİYE CEYDA DUDAK ŞEKER

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

ÖZET

MİKROPLASTİK TESPİTİ İÇİN KULLANILAN MİKROSKOBİK YÖNTEMİN PERFORMANS PARAMETRELERİNİN FARKLI GIDA MATRİSLERİNDE İNCELENMESİ VE GELİŞTİRİLMESİ

Esin BAYAN KARAKADILAR

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fahriye Ceyda DUDAK ŞEKER

Temmuz 2025, 65 sayfa

Plastik kirliliği, gıda zincirine dahil olan mikroplastikler (MP) yoluyla insan sağlığı için potansiyel bir risk oluşturan küresel bir sorundur. Gıdalar gibi kompleks matrislerden MP'lerin doğru bir şekilde tespiti, standart ve etkin izolasyon yöntemlerinin eksikliği nedeniyle önemli bir bilimsel zorluk teşkil etmektedir. Bu tez çalışması, gıdalardaki polistiren (PS) mikroplastiklerinin izolasyonu ve UV ışık altında optik mikroskop ile tespiti için etkin ve hızlı bir kimyasal sindirim protokolü geliştirmeyi amaçlamıştır.

Çalışma kapsamında, farklı kimyasalların (KOH, HCl), konsantrasyonların, sıcaklıkların ve sürelerin, normal (NM) ve yüksek yağlı (YM) gıda modelleri üzerindeki sindirim performansı sistematik olarak incelenmiştir. Geliştirilen protokollerin hedef PS partiküllerinin morfolojisine ve Nil Kırmızısı (NK) ile boyanma performansına olan etkileri de değerlendirilmiştir.

Sonuçlar, literatürde yaygın olarak kullanılan 24-48 saatlik sindirim sürelerinin, 85°C gibi yüksek sıcaklıklarda KOH kullanılarak 2-4 saate kadar düşürülebildiğini ve bu esnada %95'in üzerinde sindirim verimine ulaşıldığını göstermiştir. Hızlandırılmış bu koşulların, 40-560 µm boyut aralığındaki PS partiküllerinde mikroskopla tespit edilebilir bir hasara yol açmadığı doğrulanmıştır. Çalışmanın kritik bulgularından biri, asit (HCl) sindiriminin PS partiküllerinin yüzey kimyasını değiştirerek NK boyası ile etkileşimini bozması ve bu nedenle bu analitik iş akışı için uygun olmadığının tespit edilmesidir. Optimize edilen KOH bazlı protokoller ile yapılan doğrulama çalışmalarında, normal model için yaklaşık %97 ve yüksek yağlı model için yaklaşık %108 geri kazanım oranları elde edilmiştir.

Bu tez, PS mikroplastiklerinin gıda matrislerinden analizi için hem hızlı hem de yüksek geri kazanım verimine sahip bir ön işlem metodu sunmaktadır. Çalışma, yüksek sıcaklıkta sindirimin etkinliğini ortaya koyması ve asit sindiriminin belirli bir polimer-boya sistemiyle uyumsuzluğunu göstermesiyle literatüre özgün bir katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Mikroplastik, Gıda Matrisi, Polistiren, Potasyum Hidroksit, Hidroklorik Asit, Nil Kırmızısı

ABSTRACT

EXAMINATION AND IMPROVEMENT OF THE PERFORMANCE PARAMETERS OF THE MICROSCOPIC METHOD FOR MICROPLASTIC DETECTION IN VARIOUS FOOD MATRICES

Esin BAYAN KARAKADILAR

Master of Science, Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fahriye Ceyda DUDAK ŞEKER

July 2025, 65 pages

Plastic pollution is a global problem that poses a potential risk to human health through microplastics (MPs) that enter the food chain. The accurate detection of MPs from complex matrices such as foods constitutes a significant scientific challenge due to the lack of standard and effective isolation methods. This thesis study aimed to develop an effective and rapid chemical digestion protocol for the isolation and detection of polystyrene (PS) microplastics in foods via optical microscopy under UV light.

Within the scope of the study, the digestion performance of different chemicals (KOH, HCl), concentrations, temperatures, and durations was systematically investigated on normal (NM) and high-fat (YM) food models. The effects of the developed protocols on the morphology of the target PS particles and on the Nile Red (NR) staining performance were also evaluated.

The results have shown that the 24-48 hour digestion times commonly used in the literature could be reduced to 2-4 hours by using KOH at a high temperature of 85°C, while achieving a digestion efficiency of over 95%. It was confirmed that these accelerated conditions did not cause any microscopically detectable damage to the PS particles in the 40-560 µm size range. One of the critical findings of the study was the determination that acid (HCl) digestion is unsuitable for this analytical workflow, as it alters the surface chemistry of the PS particles, thereby impairing their interaction with the NR dye. In the validation studies conducted with the optimized KOH-based protocols, recovery rates of approximately 97% for the normal model and approximately 108% for the high-fat model were obtained.

This thesis presents a pre-treatment method for the analysis of PS microplastics from food matrices that is both rapid and has a high recovery efficiency. The study provides an original contribution to the literature by demonstrating the effectiveness of high-temperature digestion and showing the incompatibility of acid digestion with a specific polymer-dye system.

Keywords: Microplastic, Food Matrix, Polystyrene, Potassium Hydroxide (KOH), Hydrochloric Acid (HCl), Nile Red

TEŞEKKÜR

Her şeyden önce, hayatta örnek aldığım ve ideallerini benimsediğim yegâne insan olan danışmanım Doç. Dr. F. Ceyda DUDAK ŞEKER'e en içten teşekkürlerimi sunuyorum. Bana nitelikli bilim yapma disiplini aşıladığı, mükemmel bir çalışma ortamı sunduğu ve tüm süreç boyunca bana karşı daima hoşgörülü olduğu için kendisine minnettarım.

Akademik desteklerini ve bilimsel görüşlerini esirgemeyerek gelişimimde en büyük paya sahip olan değerli dostlarım Nazım Sergen MISIRLI, Hafize ÖZ ELRAİ ve Kamil URGUN'a; Çalışma mentalitesiyle bana ilham veren, akademik ve kişisel yolculuğunda adımlarını takip ettiğim, bana bir kardeş ve arkadaş olarak yaklaşan değerli hocam Dr. Seda ELİKOĞLU'na; Çalışma hayatımda en yoğun zamanlarda bile pozitif enerjileriyle günümü güzelleştiren Meltem YILDIRIM, İlkur YİĞİTAL ve Yelda ZENCİR'e; Hayata kendim olarak yeniden bağlanmamı sağlayan psikologum Damla GÜLMEZ'e; Sevgili dostlarım Elif Nur DİLBİRLİĞİ, Bilge YILMAZ, Barış DEMİR, İlayda ALTUN, Rabia Nur KATIRANCI, Selcan CANSU ve Yasemin AKINCI'ya; desteklerini daima hissettirdikleri için çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini asla esirgemeyen canım babam Muharrem BAYAN ve annem Sultan BAYAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Bana okumayı sevdiren abim Cem ve eşi Sultan BAYAN'a; hayatta çalışan, okuyan, güçlü bir kadın olarak var olmayı öğreten ablam Gamze ve eşi İsmail ATMACA'ya; bazen örnek olduğum bazen de örnek aldığım kardeşim Deniz ve eşi Gamze BAYAN'a minnettarım. Gelecekte benden daha iyisini yapmaları umuduyla en büyük motivasyon kaynağım olan sevgili yeğenlerim Atlas BAYAN, Günseli ATMACA, Nejat ALTINOK'a teşekkür ederim. Annem Aynur KAYA'ya samimi ve içten yaklaşımıyla bana güç verdiği, destek olduğu için çok teşekkür ederim.

Biricik eşim Ahmet Can KARAKADILAR'a bana inandığı, elimden tuttuğu ve beni sınırlarıma zorlayarak ilerlememde en büyük destekçim olduğu için çok teşekkür ederim. Zihnimi ve kendimi senin varlığında toparlayabildim. Seni çok seviyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Plastikler ve Plastik kirliliği	3
2.2. Mikroplastik ve Doğada yayılımları	4
2.3. MP'lerin Toksik Etkileri	6
2.3.1. Direkt Toksik Etkiler.....	7
2.3.2. İndirekt Toksik Etkiler	9
2.4. Gıdalarda Mikroplastikler	11
2.5. Mikroplastik Analiz Yöntemleri	14
2.5.1. Örnek Toplama.....	14
2.5.2. Matris Zayıflatma ve Sindirim	15
2.5.2.1.Kimyasal Sindirim.....	15
2.5.2.2. Oksidatif Sindirim	16
2.5.2.3. Enzimatik Sindirim	17
2.5.3. MP'lerin İzolasyonu.....	17
2.5.4. MP analiz yöntemleri	18
2.5.4.1. Mikroskopik teknikler:.....	18
2.5.4.2. Spektroskopik teknikler:	19
2.5.4.3. Termal Analiz:.....	20
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	21
3.1. Kimyasal Malzemeler	21
3.2. Metot 22	
3.2.1. Mikroplastik Üretimi ve Karakterizasyonu.....	22

3.2.1.1. Mikroplastik Üretimi	22
3.2.1.2. Mikroplastik kimyasal saflığının tespiti	22
3.2.1.3. Mikroplastik Boyut Analizi	22
3.2.1.4. MP'lerin Yüzey Morfolojisi	23
3.2.2. Gıda Modelinin Hazırlanması.....	23
3.2.2.1. Normal Model (NM).....	23
3.2.2.2. Yağlı Model (YM).....	24
3.2.3. Nil Kırmızısı ile Boyama.....	24
3.2.4. Kimyasal Sindirim Parametrelerinin Belirlenmesi	25
3.2.4.1. Gıda Modelinin Sindirimi.....	25
3.2.4.2. Sindirimin MP'ler Üzerine Etkisinin Belirlenmesi	26
3.2.5. Gıda Model Matrisinden MP İzolasyonu ve Sayımı	27
3.2.6. İstatistiksel Analiz	28
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	29
4.1. Mikroplastik Karakterizasyonu.....	29
4.1.1. Mp'lerin Kimyasal Saflığı	29
4.1.2. Mp'lerin Yüzey Morfolojisi	30
4.1.3. Mp'lerin Boyut Aralığı	31
4.2. Kimyasal Sindirim Optimizasyonu.....	32
4.2.1. Gıda Modelinin Sindirimi.....	32
4.2.3. Nil Kırmızısı İle Boyama Ve Sindirimin MP'ler Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi	38
4.3. Gıda Model Matrisinden MP İzolasyonu Ve Sayımı.....	42
5. YORUM.....	46
6. KAYNAKLAR	49
7. ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Laboratuvar ortamında üretilen PS MP'lerinin FTIR spektrumu.....	29
Şekil 4.2. Laboratuvar ortamında üretilen PS MP'lerinin E-SEM görüntüleri (10.00 kV).	31
Şekil 4.3. Laboratuvar ortamında üretilen PS MP'lerinin hacimsel ve kümülatif boyut dağılımı.....	32
Şekil 4.4. NM'in %5 KOH ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri	33
Şekil 4.5. NM'in %10 KOH ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri	33
Şekil 4.6. NM'in %10 HCl ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri	34
Şekil 4.7. NM'in %30 HCl ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri	35
Şekil 4.8. YM'in %5 KOH ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri.	36
Şekil 4.9. YM'in %10 KOH ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri	37
Şekil 4.10. YM'in %10 HCl ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri	37
Şekil 4.11. YM'in %30 HCl ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri	38
Şekil 4.12. Nil kırmızısı ile boyanan örneklerin boyama öncesi (A) ve boyama sonrası (B) ışık mikroskobu yüzey görüntüleri.	39
Şekil 4.13. Farklı sindirim parametrelerine maruz bırakılmış MP'lerin sindirim öncesi görünür ışıktaki, sindirim sonrası görünür ışıktaki ve sindirim sonrası UV (365nm) ışıktaki görüntüleri.	41
Şekil 4.14. NM matrisinden izole edilen farklı boyut grubundan MP'lerin sindirim öncesi görünür ışıktaki, sindirim sonrası görünür ışıktaki ve sindirim sonrası UV (365nm) ışıktaki görüntüleri.	43
Şekil 4.15. YM matrisinden izole edilen farklı boyut grubundan MP'ler. A) sindirim öncesi görünür ışıktaki >250 µm, B) sindirim öncesi görünür ışıktaki <250 µm, C) sindirim sonrası görünür ışıktaki >250 µm ve <250 µm bir arada, D) sindirim sonrası UV (365 nm) ışıktaki >250 µm ve <250 µm bir arada.	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Gıdalarda tespit edilen yaygın plastikler, kullanım yerleri, camsı geçiş sıcaklıkları (Tg) ve erime sıcaklıkları (Tm).....	16
Çizelge 3.1. Normal Model (NM) içeriği.....	24
Çizelge 3.2. Gıda modellerinin (NM; normal model, YM; yağlı model) kimyasal sindiriminde kullanılan sıcaklık, kimyasal tipi, kimyasal konsantrasyonu ve süre parametreleri.....	26
Çizelge 4.1. Normal model (NM) içerisinden izole edilerek sayılan PS MP'lerin boyut aralığına göre geri kazanım oranları. A: Tüp içine başta koyulan PS MP, B: Filtre yüzeyindeki PS MP, GK: Geri Kazanım.	42
Çizelge 4.2. Yağlı model (YM) içerisinden izole edilerek sayılan PS MP'lerin boyut aralığına göre geri kazanım oranları. A: Tüp içine başta koyulan PS MP, B: Filtre yüzeyindeki PS MP, GK: Geri Kazanım.	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μ	Mikro
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
$\sim$	Yaklaşık
h/h	Hacim/hacim
a/a	Ağırlık/ağırlık
a/h	Ağırlık/hacim

Kısaltmalar

MP	Mikroplastik
NM	Normal Model
YM	Yağlı Model
PS	Polistiren
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi (A.B.D.)
NK	Nil kırmızısı

1. GİRİŞ

Plastik üretimi ve tüketimi küresel ölçekte ivmelenerek artarken, bu artışa paralel bir hızda gelişemeyen atık yönetimi stratejileri, dünya genelini tehdit eden yaygın bir plastik kirliliği sorununu ortaya çıkarmıştır. Üretilen plastik atıkların tamamı geri dönüşüme uygun bir yapıya sahip olmadığı gibi, geri dönüştürülebilir nitelikteki atıkların da yalnızca küçük bir kısmı bu sürece dahil edilebilmektedir. Küresel verilere göre plastik atıkların yaklaşık %9'u geri dönüştürülmekte, %12'si yakılarak bertaraf edilmekte, geriye kalan %79'luk devasa bir kısmı ise toprağa gömülmekte veya okyanuslar başta olmak üzere çeşitli doğal habitatlara kontrolsüzce bırakılmaktadır.

Zamanla fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkenlerle bozunmaya uğrayan plastikler, boyutları 5 mm'nin altına indiğinde mikropplastik (MP), 0.1 µm'nin altına indiğinde ise nanoplastik (NP) olarak tanımlanmaktadır. Küçük ve hafif yapıları, bu parçacıkların su, toprak ve hava yoluyla kolayca taşınmasına olanak tanıyarak küresel bir yayılım göstermelerine neden olmaktadır. Bu yayılım neticesinde MP'ler, özellikle sucul canlılar aracılığıyla besin zincirine dahil olmakta ve hammadde, işleme, paketlenme ve servis gibi çeşitli aşamalarda gıdalara bulaşabilmektedir. Canlı organizmalarında biriken bu partiküller, hücresel düzeyde toksik etkiler yaratmanın yanı sıra, çeşitli çevresel toksinlerin biyolojik sistemlere taşınmasında birer vektör görevi de üstlenmektedir.

Gıdalardaki MP varlığının tespiti, analitik yöntemler açısından önemli zorluklar barındırmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 2022 tarihli raporunda [1], gıdalardaki MP analizleri için standart bir metodun bulunmadığını vurgulamış ve kontaminasyonun önlendiği kontrollü bir çalışma ortamının tasarlanması, negatif ve pozitif kontrollerin kullanılması gibi temel tavsiyelerde bulunmuştur.

Özellikle gıda gibi organik madde açısından zengin matrislerde, MP'lerin doğru bir şekilde tespit edilebilmesi için ön işlemlerle MP'leri çevreleyen organik bileşenlerin uzaklaştırılması kritik bir öneme sahiptir. Literatürde, organik maddeleri uzaklaştırmaya yönelik çeşitli ön işlem yöntemleri bulunmakla birlikte, performans ve maliyet etkinliği açısından en sık tercih edilen yöntem kimyasal sindirimdir. Ancak bu yöntemin de önemli

kısıtlamaları vardır. Kullanılan sert kimyasallar ve uygulanan yüksek sıcaklıklar, hedef MP'lerin yapısını bozabilmekte veya yüzeylerinde aşınmalara neden olabilmektedir. Bu riski minimize etme çabası ise analiz sürelerinin uzaması gibi bazı dezavantajı beraberinde getirmektedir. Yerleşik ve standardize edilmiş bir MP analiz prosedürünün eksikliği, farklı çalışmalar arasında sonuçların karşılaştırılmasını zorlaştırmakta ve bu alanda sistematik bir çalışmaya acil ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Bu tez çalışması, yukarıda belirtilen metodolojik boşluğu doldurmayı hedeflemektedir. Çalışmanın temel amacı, farklı gıda matrislerinden (normal diyet ve yüksek yağ içerikli) MP'lerin izolasyonu için optimize edilmiş, hızlı ve etkin bir kimyasal sindirim metodu geliştirmektir. Bu kapsamda, farklı kimyasalların, konsantrasyonların ve sıcaklıkların MP'ler üzerindeki etkileri sistematik olarak incelenmiştir. Geliştirilen ön işlem koşullarının, MP tespiti için yaygın olarak kullanılan ışık mikroskopuyla görüntüleme gibi analiz tekniklerinin performansını olumsuz etkilememesi ve yüksek bir geri kazanım oranı sunması, metodun başarısını belirlemede temel kriterlerdir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Plastikler ve Plastik kirliliği

Sentetik plastiklerin pek çok farklı türü bulunmaktadır. En temel sınıflandırma, plastiklerin ısıl işlem karşısındaki davranışlarına göre yapılmakta olup bu bağlamda plastikler termoplastikler ve termoset plastikler olmak üzere iki ana grupta incelenmektedir [2]. Termoset plastikler, ısı ve kimyasal etkileşim sonucu kalıcı olarak sertleşen ve bir kez şekillendirildikten sonra tekrar yumuşatılıp işlenemeyen polimerlerdir. Bu yapı özellikleri, onları yüksek sıcaklık ve kimyasal maddelere karşı son derece dirençli hale getirmektedir [3]. Epoksi reçineler, fenol-formaldehit (PF), üre-formaldehit (UF), melamin-formaldehit (MF) ve poliüretan (PU) bu grup içerisinde öne çıkan başlıca malzemelerdir [4]. Buna karşılık termoplastikler, ısıtıldıklarında yumuşayıp şekil verilebilmekte, soğuduklarında ise tekrar sertleşebilmektedirler. Bu termal davranışları sayesinde defalarca işlenebilmeleri mümkün olur ve bu da onları geri dönüşüm açısından avantajlı hale getirmektedir [5]. Endüstride yaygın olarak kullanılan termoplastikler arasında polietilen (PE), polipropilen (PP), polistiren (PS), polivinil klorür (PVC), polietilen tetraftalat (PET) ve polikarbonat (PC) bulunmaktadır [6].

PE, düşük yoğunluklu (LDPE) ve yüksek yoğunluklu (HDPE) olmak üzere ikiye ayrılır ve genellikle torba, şişe ve boru gibi ürünlerde tercih edilir; PP, yüksek sıcaklık ve kimyasallara karşı direnci sayesinde otomotiv parçaları, tekstil ürünleri ve gıda ambalajlarında kullanılmaktadır; PVC başta inşaat sektörü olmak üzere pencere profili ve boru üretiminde yaygın olarak kullanılır; PET şeffaflığı ve dayanıklılığıyla içecek şişelerinde ve tekstil ürünlerinde öne çıkar; PC darbe dayanımı yüksek bir malzeme olarak optik diskler, gözlük camları ve koruyucu ekipmanlarda tercih edilir; PS hem katı hem de köpük formda üretilebildiği için özellikle ambalaj ve tek kullanımlık ürünlerde sıkça yer bulur [7-10]. PE ve PS küresel plastik üretiminin %36'sını oluşturmaktadır [11]. Özellikle tek kullanımlık ürünlerde daha yaygın kullanılmaları çevresel plastik kirliliği açısından termoplastikleri başlıca kaynaklardan biri haline getirmektedir [12].

Artan dünya nüfusu ve sanayileşme pek çok avantaja sahip sentetik plastiklerin kullanımını modern hayatın önemli bir parçası haline getirmiştir. 2022 yılı itibari ile dünyada plastik üretimi 400 milyon tonun üzerine çıkmıştır [13]. Plastik üretimi ve

tüketimi hızla artarken plastik atık yönetimi iyi düzenlenememiş ve dünya genelini tehdit eden bir plastik kirliliği oluşmuştur. Plastik atıkların tümü geri dönüşüme uygun olmadığı gibi, geri dönüştürülebilir olanların da tamamı geri dönüşüm sürecine dahil edilememektedir. Dünya genelinde plastik atıklarının yalnızca %9'u geri dönüştürülmekte, %12'si yakılmakta ve kalan %79'luk kısmı toprağa gömülmekte ya da göller, ormanlar ve en önemlisi okyanuslar gibi pek çok canlının yaşadığı doğa alanlarına çöp olarak bırakılmaktadır [14]. Okyanuslardaki kirliliğin %75'ini plastik atıkları oluşturmaktadır [15]. Okyanuslar üzerinde büyük adalar şeklinde yüzen, herkes tarafından rahatlıkla görünen yığın halindeki plastik kirliliğinin mikroskoplar olmadan görünmeyen yüzü ise 2000'li yılların ortalarında keşfedilmiştir [16]. Yığın plastiklerden koparak oluşan daha küçük boyutlu plastikler tüm ekosistemi ve insan sağlığını tehdit eden küresel bir sorun haline gelmiştir.

2.2. Mikroplastik ve Doğada yayılımları

Plastiklerin boyutu 5000 mm'nin altına indiğinde mikroplastik (MP), 0.1 mm'nin altına indiğinde ise nanoplastik (NP) olarak adlandırılmaktadır [17]. MP'ler iki başlık altında incelenmektedir: mikro boyutlarda olması amaçlanarak özel olarak üretilen birincil MP'ler ve yığın plastiklerden koparak 5000 mm'nin altına inen ikincil MP'ler.

Birincil MP'ler, üretim aşamasında belirli biçim ve boyutta tasarlanan ve doğrudan çevreye karışma potansiyeli taşıyan MP'lerdir. Kozmetik ve kişisel bakım ürünleri (peeling jelleri, diş macunları, yüz temizleyiciler), sanayi ve temizlik ürünleri (aşındırıcı mikro boncuk içeren deterjanlar, boyalar, kaplamalar), tarım sektöründe kullanılan kaplamalı gübreler ve plastik bazlı ilaç taşıyıcıları birincil mikroplastik içeren başlıca ürünler arasındadır. Bu ürünler kullanıldıklarında ve kanalizasyon ağına karıştıklarında atık su arıtma tesislerinde tam olarak uzaklaştırılamayan MP'ler nehirlere, göllere ve denizlere ulaşarak plastik kirliliğinin bir parçası haline gelmektedir [18]. Birincil MP'ler çoğunlukla düzenli mikroboncuklar, granül ve pellet biçimindedir. Genellikle küre şeklinde olan mikroboncuk parçacıklarının perakende ürünlerde kullanımı 2018 yılında ilk olarak ABD'de ardından da Kanada, Güney Kore gibi birçok ülkede son olarak da 2022 yılında AB'de yasaklanmıştır [19]. Endüstriyel üretim sürecinde, özellikle plastik üretiminin erken aşamalarında kullanılan granül veya pellet formundaki tanecikler göl ve

akarsularda tespit edilmiştir [20]. Plastik üretiminde kullanılan bu tanecikler, küresel ya da oval biçimli ve yaklaşık 5 µm boyutlarında parçacıklardır. Bu granüller sucul canlılar için tehdit oluşturmaktadır. Büyük boyutları nedeniyle arıtılmış içme suyunda yer almaları beklenmez. Ancak zamanla daha küçük parçalara ayrışmaları durumunda, içme suyu arıtma sistemleri açısından daha ciddi bir risk oluşturabilmektedirler. Bu nedenle bazı polietilen (PE) üreticileri, proses ve yağmur sularının tahliye hatlarına ince gözenekli filtreler yerleştirerek bu salınımı önemli ölçüde azaltmayı hedeflemektedir [21].

İkincil MP'lerin oluşumu, halihazırda doğada olan büyük plastik atıkların çeşitli çevresel süreçler sonucu parçalanarak mikro boyutlara ulaşmasıyla gerçekleşir. Bu süreçler genellikle fiziksel, kimyasal ve biyolojik bozunma mekanizmalarının bir kombinasyonu ile meydana gelir [22]. Plastikler pek çok organik polimerin aksine doğada bozulmadan uzun yıllar boyunca kalabilirler. Ancak tamamen parçalanmasalar da bu süre zarfında yığın plastiklerden fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkilerle daha küçük plastiklerin yığından ayrıldığı bilinmektedir.

Plastiklerin çevresel bozunma süreçleri, polimer zincirlerinin parçalanmasına yol açan bir dizi fiziksel, kimyasal ve fotokimyasal etkiyle ilerler. UV ışınları ve yüksek sıcaklık gibi çevresel stresler, polimerin bağ enerjilerinde değişime neden olarak karbon-karbon (C–C) ve karbon-hidrojen (C–H) bağlarının zayıflamasına ve serbest radikal oluşumuna yol açmaktadır [23]. Oluşan bu radikaller oksijen varlığında foto-oksidatif zincir reaksiyonlarını tetikleyerek plastiğin kimyasal bütünlüğünü bozar ve yüzeyde çatlakların oluşmasına neden olmaktadır. Zamanla derinleşen bu çatlaklar, plastiğin fiziksel dayanımını azaltarak daha küçük parçalara ayrılmasına ve ikincil MP'lerin oluşmasına neden olmaktadır [24]. Bu süreç özellikle endüstriyel atıklarda veya açık havada uzun süre güneş ışığına maruz kalan plastiklerde görülmektedir [15]. Ayrıca sıcaklık ve UV radyasyonu, plastiklerin bozunması üzerinde sinerjik etkilere sahip olduğu gözlemlenmiştir [25]. Bulundukları ortamlardaki asidik ve bazik koşullar, kimyasallar, ağır metaller ve reaktif gazlar plastiklerin okside olmasını ya da iyon değişimleri ile yapının zayıflamasını tetikleyebilmektedir [26, 27]. Tüm bu etmenlerle zayıflayan plastik yüzeyinde rüzgarlar ve dalgalar gibi mekanik etkiler ile kırılmalar meydana getirmektedir. Mekanik bozunma, fiziksel aşınma ve sürtünmenin etkisiyle plastiklerin

daha küçük parçalara ayrılmasını içermektedir. Özellikle dalga hareketleri, rüzgâr ve kum sürtünmesi gibi doğal faktörler, plastik atıkların MP'lere dönüşmesini hızlandırmaktadır [28]. Biyobozunma ise mikroorganizmaların plastikleri parçalaması sürecidir. Mikroorganizmalar bazı plastikleri sınırlı ölçüde parçalayabilse de bu süreç genellikle çok yavaş ilerlemekte ve polimerler karbondioksit ve su gibi son ürünlere kadar indirgenememektedir. Bunun sonucunda plastikler yalnızca daha küçük parçalara ayrılarak MP formuna dönüşmekte ve çevredeki MP kirliliğine katkı sağlamaktadır [29]. Bu MP oluşum süreçlerinin hızını ve yönünü belirleyen temel etken, plastiğin bulunduğu çevresel ortamdaki kimyasal ve fiziksel koşullardır. Deniz ortamında dalga hareketleri ve tuzlu suyun aşındırıcı etkisi, plastiklerin bozunmasını hızlandırırken karasal ekosistemlerde toprak pH'ı, sıcaklık değişimleri ve mikroorganizma faaliyetleri bu sürece katkıda bulunabilmektedir. Hem denizde hem de karada güneş kaynaklı UV ışınlar parçalanma sürecini hızlandırmaktadır [30].

İkincil MP'ler farklı fiziksel biçimlerde bulunabilir. En yaygın görülen biçimler fragment, film, lif/fiber, pul, granül/pellet ve köpüktür [31]. Fragmentler, düzensiz ve köşeli parçalardır. Bu tür parçalar genellikle ambalaj atıkları, plastik kaplar veya ev eşyalarının parçalanmasıyla ortaya çıkmaktadır [32]. Film biçimindeki MP'ler ise ince, yassı ve esnek yapıdadır ve plastik torbalar, streç filmler ve gıda ambalajlarının ince tabakaları, bu formun başlıca kaynaklarını oluşturmaktadırlar [33]. Lif ya da fiber biçiminde tanımlanan MP'ler, iplik benzeri uzun ve ince yapılardır. Sentetik tekstil ürünlerinin üretimleri ve yıkanması, balık ağlarının aşınması ve halat parçalanmaları bu formun temel kaynakları arasında yer almaktadır [34]. Köpük yapısındaki MP'ler ise gözenekli ve hafif yapılarıyla dikkat çekmekte; genellikle genleştirilmiş PS (EPS) bazlı tek kullanımlık tabaklar, bardaklar ve paketlenme malzemelerinden türemektedir [35]. Benzer şekilde, özellikle eski boya yüzeylerinden dökülen ve genellikle geniş yüzeyli ama ince yapıdaki pul formundaki MP'ler de çevrede sıkça tespit edilmektedir [36].

2.3. MP'lerin Toksik Etkileri

Çeşitli etkiler sonucu oluşan, küçük ve hafif yapıları sayesinde su, toprak ve hava yolu ile taşınmaya uygun olan MP'ler kontrolsüz biçimde doğaya yayılmakta ve özellikle sucül canlılar aracılığıyla besin zincirine dahil olmaktadır [37]. Bu partiküller, canlı

organizmalarda hücrel ve moleküler düzeyde bir dizi toksik etkiyi tetikleyebilmektedir. Bu etkiler, genel olarak iki ana başlık altında ele alınmaktadır: direkt toksik etkiler ve indirekt toksik etkiler. Direkt toksik etkiler, MP'lerin hücrelere doğrudan etki etmesiyle, örneğin hücre içine girmesi, organel düzeyinde bozulmalara neden olması, oksidatif stres, inflamasyon ya da genetik hasar gibi biyolojik süreçleri tetiklemesiyle ortaya çıkar. Bu etkiler, genellikle partikülün boyutu, şekli, yüzey özellikleri ve biyolojik bariyerleri aşma kapasitesiyle ilişkilidir. İndirekt toksik etkiler ise, MP'lerin taşıyıcı ajan olarak hareket ettiği durumları kapsar; bu durumda MP'lerin yüzeyine adsorbe olmuş pestisitler, ağır metaller ya da endokrin bozucu katkı maddeleri gibi zararlı kimyasallar biyolojik sistemlere taşınabilir. Dolayısıyla MP'ler, doğrudan zarar vermenin ötesinde, çevresel toksinlerin biyolojik sistemlerde birikmesine de aracılık eden bir vektör rolü üstlenmektedir.

2.3.1. Direkt Toksik Etkiler

MP'lerin organizmalara maruziyeti genellikle iki temel yol üzerinden gerçekleşmektedir: sindirim sistemi ve solunum sistemi. Su ve besin yoluyla alınan MP'ler, sindirim sistemini geçerek bağırsak duvarından dolaşım sistemine katılabilirken; havada asılı halde bulunan MP'ler, solunum yoluyla alınarak akciğer dokusuna ulaşabilmektedir [38]. Bu yollarla vücuda giren MP partikülleri dolaşım sistemi aracılığıyla karaciğer, böbrek, beyin ve üreme organları gibi birçok dokuya taşınabilmektedir [39]. Yapılan çalışmalarda, 0.24 µm altındaki PS partiküllerinin insan plasenta bariyerini geçebildiği gösterilmiş [40], daha yakın tarihlerde de insan plasenta dokularında 5–10 µm çapında mikropplastik partiküller tespit edilmiştir [41]. MP'lerin hücre içine giriş mekanizmasının, partikül boyutuna bağlı olarak fagositoz ya da endositoz yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir [42]. Hücre içerisine girdikten sonra MP'ler genellikle endozom, otofagozom ve lizozom gibi veziküler yapılarla taşınmaktadır. Bu durum lizozomal membranlarda permeabilite bozuklukları oluşturmakta, proteazlar ve diğer yıkıcı enzimlerin sitoplazmaya sızarak mitokondri, endoplazmik retikulum ve çekirdek gibi kritik organellere zarar vermesine neden olmaktadır. Hücre içerisine giren MP'lerin neden olduğu bu süreç sonucunda mitokondride membran potansiyelinde düşüş, ATP üretiminde azalma ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimi gözlemlenmiştir [43].

MP'lerin insan vücuduna girişi başlıca; sindirim sistemi yoluyla yutulma, solunum sistemi yoluyla inhalasyon ve daha sınırlı olmakla birlikte deri teması yoluyla olmak üzere üç yol üzerinden gerçekleşmektedir. Solunum yoluyla mikropplastik alımı hava içerisinde asılı lif ve parçacıkların solunması ile gerçekleşmektedir. Özellikle tekstil ürünlerinden kaynaklanan elyaflar, şehir içi atmosferik çökeltme ve MP yüklü aerosoller iç ortam havasında partikül yoğunluğunu artırmaktadır [38]. Deri yoluyla maruziyet ise MP içeren kişisel bakım ürünleri, kirli sular ve endüstriyel temaslar sonucunda gündeme gelmektedir. Ancak insan derisinin en dış katmanı olan stratum corneum, büyük partiküllere karşı oldukça geçirimsizdir. Bu nedenle 100 nm'den küçük olanlar dışında, MP'lerin deri yoluyla geçişi oldukça sınırlı kabul edilmektedir [39]. Ancak açık yara, dermatit veya bariyer bütünlüğünün bozulduğu durumlarda dermal yol potansiyel bir risk oluşturabilmektedir. MP'lerin sistemik toksisite oluşturabilmeleri için ilk basamaklardan biri bağırsak epitelinden emilim yoluyla dolaşıma geçmeleridir. Sindirim sisteminde, 150 µm üzerindeki partiküller genellikle bağırsak mukozasında tutulurken daha küçük partiküller mukus tabakasını geçerek bağırsak epitel hücreleri tarafından emilebilmektedir. Bu süreçte fagositoz, transsitoz ya da inflamasyona bağlı geçirgenliğin artması gibi hücre/doku mekanizmaları rol oynamaktadır [38, 42]. İnsan bağırsak epitel hücrelerini temsil eden Caco-2 ve HT29 hücre hatlarıyla yapılan çalışmalarda, PS MP'lerin bu hücrelerin apikal membranına bağlandığı, veziküller aracılığıyla sitoplazmaya taşındığı ve hücre membran bütünlüğünü bozan yapısal değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir [44].

MP'lerin sistemik toksisite oluşturabilmesi, doku bariyerlerini geçtikten sonra kan dolaşımına katılmalarıyla mümkün olmaktadır. MP'ler kan dolaşımına geçtiklerinde çeşitli olumsuz biyolojik etkilere yol açabilmektedirler. Damar içinde kalan partiküllerin boyut, yüzey yükü ve kompozisyonuna bağlı olarak, inflamasyona, pulmoner hipertansiyona, vasküler tıkanıklıklara, pıhtılaşma artışına ve kan hücrelerinde sitotoksisiteye neden olabileceği belirtilmiştir [39]. Leslie, van Velzen [45] çalışmasında, 22 sağlıklı gönüllüden alınan kan örneklerinde piroliz-gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (Py-GC/MS) yöntemiyle PE, PS, PET ve polimetil metakrilat (PMMA) olmak üzere dört farklı polimer saptanmıştır. Tespit edilen partiküllerin büyüklükleri 0.7 ile 500µm arasında değişmektedir ve bu parçacıkların dolaşımda serbest ya da bağışıklık hücrelerine bağlı olarak bulunduğu bildirilmiştir. Bu durum kan dolaşımındaki MP'lerin

en somut kanıtı olarak literatürde yer bulmuştur. Kan içerisinde taşınan MP'ler dokulara ve organlara geçerek birikim yapabilmektedir. Bu durum, partikül boyutları ve yüzey özellikleri gibi fizikokimyasal parametrelerle doğrudan ilişkilidir. Kan-beyin bariyeri üzerine yapılan bir çalışmada MP'lerin doku bariyerini aşılabildiği görülmüştür. Bu süreçte partiküllerin yüzeyinde oluşan protein korona yapılarının hücrelerle etkileşiminin ve endositoz süreçlerinin kritik rol oynadığı tespit edilmiştir Wick, Malek [40], [46] çalışmasında 50–240 nm çapındaki PS MP'lerinin insan plasenta bariyerini geçebildiğini *in vitro* ortamda göstermiştir. İzleyen yıllarda yapılan ileri çalışmalarla bu durum *in vivo* olarak da desteklenmiştir. Ragusa, Svelato [41] yaptıkları araştırmada sağlıklı kadınlardan alınan plasenta örneklerinde MP'ler tespit edilmiştir. Üreme sistemi özelinde, insan testis dokularında ve semen örneklerinde MP varlığı doğrulanmış, bu partiküllerin sperm parametrelerinde azalma ve testiküler doku bütünlüğünde bozulma ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir [47]. Anne sütü üzerine yapılan bir çalışma MP'lerin vücut sıvılarına da geçebildiğini gösterilmiş ve 34 kadından alınan anne sütü örneklerinde PE, PP ve PVC gibi MP türlerinin varlığı saptanmıştır [48]. Bu bulgu, MP'lerin hem annenin hem de bebeğin ortak çevresel maruziyetini yansıttığı gibi, partiküllerin meme bezlerinden geçebileceğini de göstermektedir. Dokular ve vücut sıvılarına geçebildiği gösterilen MP'lerin organlara yerleşerek biriktiği ve kronik toksik etkilere neden olduğu da gözlemlenmiştir. Karaciğer dokusunda biriken MP'lerin oksidatif stres artışı, inflamasyon ve lipid metabolizmasında bozulmaya yol açtığı bildirilmiş [49], böbreklerde biriktiği tespit edilenlerin oksidatif stres, otofaji, inflamasyon, hücre ölüm (apoptoz) ve fibrozis gibi süreçleri tetiklediği saptanmıştır [50]. İskelet sisteminde, insan kemik dokusu örneklerinde PE ve PS partiküllerine rastlanmıştır, bu partiküllerin kemik büyüme plaklarında endokondral ossifikasyon süreçlerini bozarak kemik gelişimini olumsuz etkileyebileceği ileri sürülmüştür [51].

2.3.2. İndirekt Toksik Etkiler

Direkt toksik etkilerinin yanı sıra MP'ler çevreyi ve canlıları taşıdıkları toksik bileşenlerle de etkilemektedir. MP'ler yüzeylerine adsorplanabilen pestisitler gibi çeşitli toksik bileşenler, ağır metaller ve biyofilmler için taşıyıcı davranışı göstermektedir. Üretimlerinde kullanılan monomerler ve katkı maddeleri, plastiklerin yıkım süreçlerinde tekrar açığa çıkmakta ve çevre kirliliğinin bir parçası olmaktadır.

Plastik üretimi sırasında gerçekleşen polimerizasyon reaksiyonları genellikle tam olarak tamamlanmaz; bu da az miktarda monomerin yapı içerisinde kalmasına neden olmaktadır. Bu monomerler çevreye sızabilmekte ve ikincil MP oluşum süreçlerinde ortaya çıkabilmektedir. Plastiklerin degradasyonu sonucu toksik, karsinogenik ve mutajenik gibi etkilere sahip monomerler ve daha küçük polimer zincirleri oluşmaktadır [52]. Yapılan çalışmalarda, plastik monomerlerinin toksik etkileri tespit edilmiştir [52]. PS monomeri olan stiren, hem yaygınlığı hem de uçuculuğu nedeniyle çevresel örneklerde en sık rastlanan plastik monomeri olarak öne çıkmaktadır. Bu nedenle, stiren genellikle MP kirliliği çalışmalarında monomer varlığına dair model bileşik olarak kullanılmaktadır. Zhang ve ark. çalışmalarında plastik monomerlerinin hem hücresel düzeyde canlılık kaybına hem de organizma düzeyinde davranışsal değişikliklere neden olabildiğini göstermiştir [53].

Plastik katkı maddeleri arasında en çok dikkat çeken bisfenol A (BPA)'dır. BPA, özellikle plastiklerin ve epoksi reçinelerin üretiminde yaygın olarak kullanılan toksik bir bileşendir. Polimer yapıya katılmakta ancak zamanla ve aşındırıcı etkilerle çözünerek çevreye ve biyolojik sistemlere sızabilmektedir. BPA maruziyetinin beyinde hücresel düzeyde değişimlere yol açarak öğrenme güçlükleri, saldırganlık artışı, hiperaktivite, endokrin sistem bozuklukları ve doğurganlıkta azalma gibi çeşitli nörolojik ve davranışsal sorunlara neden olabildiği tespit edilmiştir [54]. Östrojen reseptörlerini taklit ederek hormonal dengesizliklere, üreme bozukluklarına ve bazı kanser türlerine yol açabildiği gösterilmiştir [55]. Avrupa Birliği (AB) BPA ile ilgili ilk yasağı 2011 yılında bebek biberonlarına getirmiştir ve düzenleme AB'den sonra Türkiye'de de uygulamaya geçmiştir [56]. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration-FDA) ise aynı kararı 2012 yılında almıştır [57]. AB 2024 yılının sonunda gıda ile temas eden malzemelerin üretiminde BPA kullanımını tamamen yasaklamıştır [58]. BPA gibi toksik etkilere neden olan bir diğer grup da fitalatlardır. Fitalatlar, özellikle PVC gibi plastikleri yumuşatmak ve esnek hale getirmek amacıyla yaygın olarak kullanılan kimyasallardır. Fitalatların toksik etkileri, endokrin sistem üzerinde bozulmalara yol açmalarıyla ilişkilendirilmiştir. Özellikle di(2-etilheksil) fitalat (DEHP), dibütil fitalat (DBP) ve benzil bütil fitalat (BBP) gibi türlerin, hormonal dengesizlikler, üreme sağlığı sorunları ve gelişimsel bozukluklar gibi sağlık problemleriyle bağlantılı olduğu gösterilmiştir [59].

Fitalat maruziyetinin dünya genelinde 350.000'den fazla kardiyovasküler hastalık kaynaklı ölüme katkıda bulunduğu düşünülmektedir [60].

Plastik kirliliğinin yaşandığı okyanus gibi sucul ortamlarda ağır metal kirliliği de yoğun olarak görülmektedir. Tek başlarına ağır metaller su yüzeyinde kalamazken plastiklere tutunmaları onları su içerisinde daha hareketli kılmaktadır. MP'lerin geniş yüzey alanları ve hidrofobik özellikleri kurşun, kadmiyum ve cıva gibi toksik ağır metallerin yüzeylerine adsorpsiyonunu kolaylaştırmaktadır [61]. Deniz ortamındaki plastik atıkların, uzun vadede su üstündeki ağır metal kontaminasyonunu artırarak deniz ekosisteminde daha geniş bir canlı grubunu ağır metal toksisitesinden etkilenmesine neden olduğunu göstermiştir [30].

MP'ler çevredeki pestisitleri adsorplayarak biyolojik ortamlara taşımakta ve sindirim sıvılarında tekrar salarak toksik maruziyeti artırabilmektedir. Yapılan simülasyon çalışmalarında mide ve bağırsak ortamlarında pestisitlerin MP'lerden kolayca desorbe olduğu gösterilmiştir; bu durum hem bağırsak geçirgenliğini artırmakta hem de pestisitlerin toksik etkilerini şiddetlendirebilmektedir [62].

Ağır metaller ve pestisitlerin yanı sıra MP yüzeyleri mikroorganizmalar için de uygun bir tutunma ortamı sunmaktadır. MP yüzeyine tutunan mikroorganizmalar biyofilm oluşturabilmektedirler. Biyofilm yapıları, patojenleri ve toksinleri taşımada bir vektör görevi gördüklerinden, MP'lerin toksik etkisini artırabilmektedirler [1]. Yüzeydeki bu biyofilm tabakası bir ekosistemin temelini oluşturabilmekte ve “plastisfer” olarak adlandırılan bu ekosistemde bakteri, alg, protozoa ve mantar türleri gibi çeşitli mikroorganizmalar üreyebilmektedir [63]. Bazı çalışmalar bu plastisferlerin uzun mesafelere taşınarak istilacı türlerin yayılmasına aracılık edebileceğini göstermektedir [64].

2.4. Gıdalarda Mikroplastikler

Gıdalarda MP bulaşısı çeşitli aşamalarda meydana gelebilmektedir. Bunlardan ilki, hammadde kaynaklı bulaşıdır. Gıdanın hammaddesini oluşturan canlılar, bulundukları

ortamdaki MP'leri çeşitli yollarla yapılarına dahil edebilmektedir. Bitkiler, toprakta bulunan MP'leri kök yüzeyindeki doğal mikro çatlaklar, hücreler arası boşluklar veya zedelenmiş dokular gibi fiziksel düzensizlikler yoluyla yapılarına alabilmekte ve ksilem aracılığıyla gövde ve yapraklara taşıyabilmektedir [65]. Dessi ve ark. çalışmasında ticari olarak satın aldıkları pirinçleri incelemiş ve MP tespit ettiğini bildirmiştir [66]. Çalışmada pirinç örneklerinin ambalaj materyalinden bağımsız olarak MP içermesi ve yıkama yapılmasına rağmen MP'lerin çoğunluğunun uzaklaştırılamaması dikkat çekmektedir.

Hayvanlar ise solunum, sindirim veya dermal yollarla çevredeki MP'leri yapılarına dahil edebilmekte, su ve kara ortamlarında yaşayan birçok tür, plastik parçacıkları gıda sanarak bilinçsizce tüketmektedir. Bu durum, besin zincirinin alt basamaklarındaki organizmalardan başlayarak trofik transfer yoluyla en üst düzeydeki insanlara kadar MP taşınmasına neden olmaktadır [67]. Bu durum, özellikle doğrudan tüketime sunulan deniz ürünlerinde daha da önem kazanmaktadır. Midye, istiridye, karides ve yengeç gibi su canlıları, bulundukları ortamdan geçen suyu filtreleyerek beslendikleri için çevredeki MP parçacıkları kolayca bünyelerine alabilmektedirler. Bu canlıların genellikle iç organlarıyla birlikte tüketilmesi, taşıdıkları MP'lerin herhangi bir işlem görmeden insanlara geçmesine yol açabilmektedir [68]. Li ve ark. Çin'de yürüttüğü bir çalışmada, sekiz farklı kıyı şehrinde toplanan deniz ürünleri örneklerinde geniş çaplı MP kirliliği tespit edilmiştir [69]. Tespit edilen MP'ler çoğunlukla PE, PP ve PS gibi yaygın polimerlerden oluşmaktadır. Biçimsel olarak ise çoğunlukla 1 mm'den küçük lif, film ve granül formları tespit edilmiştir. Çoğu vakada bu partiküller sindirim sisteminde yer alsa da bazı örneklerde dokulara geçme ihtimali de bildirilmiştir [70, 71]. Bu bulgular, deniz ürünlerinin yalnızca çevresel kirleticileri taşıyan birer araç olmadığını, aynı zamanda insan beslenmesinde doğrudan MP maruziyeti yaratan birincil kaynaklar arasında yer aldığını göstermektedir.

Deniz ürünlerinin yanı sıra kara hayvanlarından elde edilen gıda hammaddelerinde de MP tespit edilmiştir. Tarım yapılan topraklara MP bulaşısı başta atık su ile sulama olmak üzere plastik örtüler ve organik gübreler (özellikle kanalizasyon artığı kompostlar) gibi yollarla gerçekleşmektedir. Bitkilerle beslenen karasal hayvanlar bitkilerin hem metabolize ettikleri hem de özellikle sulama suları sebebiyle yüzeylerinde

bulundurdukları MP'lere maruz kalırlar. Hollanda'da tarımsal ürünler üzerine yapılan bir çalışmada inek sütünde, inek ve domuzların kanlarında ve etlerinde MP tespit edildiğini bildirmiştir. Bu çalışmada hem organik sertifikası olan hem de olmayan çiftliklerden alınan örnekler incelenmiştir. Canlıların yaşama ortamları kadar gıda ürünlerinin içerisinde satıldığı ambalajında MP bulaşışında önemli olduğu vurgulanmıştır [72]. Yapılan başka bir çalışmada yumurtada 50–100 µm boyutlarında çoğunluğu fragment olan MP'ler tespit edilmiştir [73].

Gıda ürünlerin en büyük hammaddelerinden birisi de sudur. Hem içme suyu olarak hem de hammadde olarak kullanılan tatlı su kaynaklarına MP girişi başlıca üç kaynaktan gerçekleşmektedir: karasal yüzey akışları, atık su deşarjları ve yanlış şekilde yönetilen plastik atıklar [74]. Yağmur suları zamanla aşınan yol çizgi boya ve lastik parçacıklarını tatlı su kaynaklarına taşıyabilmektedir. Sentetik ayakkabı tabanları ya da yapay çim yüzeylerin aşınması gibi çeşitli kaynaklardan gelen parçacıkları kapsayan “şehir tozu” da topluca ele alındığında yağmur ile oluşan yüzey yıkaması tatlı sulardaki MP kirliliğine dikkate değer bir katkı sunmaktadır [75, 76]. Karasal kaynaklar arasında dikkat çeken bir diğer unsur ise, tatlı su kaynaklarına deşarj edilen atık sulardır. Sentetik tekstil lifleri (kıyafet yıkama sonucu), kozmetik ürünlerdeki mikroboncuklar ve daha farklı tüketici ürünlerinin parçalanmış kalıntıları evsel kullanımlar sonucu lavabo veya tuvaletlere karışarak kanalizasyon sistemine ulaşmaktadır. Atık su arıtma tesislerinde yüksek hacimlerde su işleniyor olması, etkili bir uzaklaştırma sağlansa bile yüksek miktarlarda MP'lerin tatlı su kaynaklarına bırakılmasına neden olabilmektedir [77]. Şişelenen içme sularında MP yaygın olarak tespit edilmektedir. 2019 yılında DSÖ İçme Sularında MP'ler isimli raporunu yayınlamıştır [78] . Rapor, şişelenmiş sularda en sık saptanan polimerin, genellikle şişe kapaklarında kullanılan PP olduğunu belirtmekte ve bu durumun kontaminasyonun kısmen ambalajın kendisinden ve/veya şişeleme sürecinden kaynaklanabileceğini vurgulamaktadır.

Hammaddeden gelen bulaşı dışında gıdanın üretim ve işleme süreçlerinde de MP bulaşışı olduğu tespit edilmiştir. Gıdanın temas ettiği plastiğin türü ve maruz kaldığı prosese bağlı olarak sekonder MP oluşumu ya da bulaşışı gerçekleşebilmektedir. Gıda endüstrisinde kullanılan plastik ekipmanlar ve taşıma sistemlerinin MP bulaşısına neden olabildiği

bilinmektedir [79]. Gıdalardaki bir diğer önemli bulaşı kaynağı da gıdanın temas edeceği ambalaj materyalidir. Plastik ambalaj malzemelerinin raf ömrü içerisinde aşınması, yıpranması veya parçalanması sonucunda MP'ler gıdaya geçebilmektedir [80-82]. Gıda hazırlama, pişirme ve saklama işlemleri sırasında da plastik parçacıkların gıdalara bulaşma riski bulunmaktadır. Özellikle hazır yemek sektörünün kullandığı plastik servis ürünleri (tabak, çatal, bıçak, bardak vb.) MP'ler bulaşı kaynağı olabilmektedir [83, 84]. Gıdanın tüketimi öncesinde uygulanan mikrodalga gibi işlemler de saklama kaplarından gıdaya MP geçişine neden olmaktadır [85].

2.5. Mikroplastik Analiz Yöntemleri

Gıdalarda MP tespitinde standart metot bulunmasa da DSÖ 2022 yılında yayınladığı raporunda MP araştırmaları için tavsiyelerde bulunmuştur [1]. Rapora göre, tespit yöntemlerinin tamamında örnek kabulünden en son aşamaya kadar plastik bulaşısını minimize eden bir çalışma ortamı tasarlanmalıdır. Negatif ve pozitif kontroller kullanılmalıdır. Organik madde açısından zengin örneklerde ön işlemler ile plastik dışı organik maddelerin uzaklaştırılması gerektiği raporda vurgulanmıştır. Literatürde organik maddeleri uzaklaştırmaya yönelik ön işlemler üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır.

2.5.1. Örnek Toplama

MP analizinde örnek toplama aşaması, hedeflenen örnek türüne göre değişkenlik gösterebilmektedir. Örneğin, atmosferik örnekler paslanmaz çelik hunilerle [86, 87], kaşıklarla [88] veya filtreli pompa sistemleri ile [89], deniz akarsu göl gibi sıvı örneklerde ise yüzeyden manta trolü gibi elekli sistemlerle [90, 91] veya direkt belirli bir hacimde örnek alınarak [92] toplanmaktadır. Kum, toprak gibi sediment örnekler ise sıvılardaki gibi belirli bir hacimde örnek alınarak ileriki analizlere kadar saklanmaktadır [93]. Gıda örneklerinde ise ya ticari olarak paketli gıdalar satın alınmakta [94, 95] veya midye gibi canlılar doğal yaşadığı ortamdan toplanmaktadır [96].

2.5.2. Matris Zayıflatma ve Sindirim

MP'lerin analizi için örnekteki organik ve inorganik kirliliklerin mümkün olduğunca uzaklaştırılması gerekmektedir. Elde edilen örneğin türüne ve kaynağına göre literatürde çeşitli ayırma ve ekstraksiyon yöntemleri belirtilmesine rağmen genellikle hepsinde ilk önce eleme aşaması bulunmaktadır. Bu eleme aşamasından sonra organik örnekler farklı yöntemler ile sindirilmekte ve filtrelenmektedir. Örneklerin sindirim aşamasında literatürde genel olarak enzim ile sindirim [97], asit-baz [98, 99] ile kimyasal sindirim ve oksidatif [100] sindirim kullanılmaktadır. Bunların yanı sıra bazı çalışmalarda mekanik olarak ultrasonikasyon ile sindirim bulunmaktadır [101].

2.5.2.1. Kimyasal Sindirim

Toplanan örneklerde MP analizi genellikle örnekler farklı yöntemlerle sindirildikten sonra gerçekleştirilmektedir. Bu amaçla sık kullanılan yöntemlerden biri örnekteki organik bileşenlerin kimyasal sindirimidir. Literatürde MP analizi amacı ile hidroklorik asit (HCl) [102, 103], sülfirik asit (H₂SO₄) [104, 105], nitrik asit (HNO₃) [102, 106], perklorik asit (HClO₄) [98, 107], potasyum hidroksit (KOH) [101, 102, 108] ve sodyum hidroksit (NaOH) [102, 103, 109] gibi çeşitli kimyasallar kullanılmaktadır.

Literatürde yapılan çalışmalarda sindirim için kullanılan kimyasalların bazı avantaj ve dezavantajları bildirilmiştir. Karami ve ark. [102] farklı konsantrasyonlarda KOH, NaOH, HCl ve HNO₃ kullanarak sindirim gerçekleştirdikleri çalışmada, seyrek konsantrasyonlardaki asitlerin ve NaOH'in sindirim veriminin yetersiz kaldığı, yüksek konsantrasyonlardaki asitlerin ise yeterli sindirim oranına ulaşmalarına rağmen incelenilmek istenilen plastiklere aşındırıcı etki yaptıkları bildirilmiştir. %10 KOH ile 40 °C'de gerçekleştirilen sindirimin ise hem verimi yüksek bulunmuş hem de plastiklere inert olduğu gösterilmiştir. Ancak bu sindirimin 48 saat sürmesi yöntemin dezavantajı olmuştur. Benzer bir şekilde literatürde yapılan diğer çalışmalarda, HNO₃: HClO₄, HNO₃, HCl ve H₂SO₄ gibi asit çözeltilerinin bazı plastiklere zarar verdiği bildirilirken [105, 109, 110], baz çözeltilerinden özellikle KOH ile gerçekleştirilen çalışmalarda plastiklere zarar vermediği ancak çok uzun sindirim sürelerine ihtiyaç duyduğu bildirilmiştir [108, 109]. Sürenin uzamasındaki en temel sebep bu çalışmaların 40-60 °C gibi düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilmesi olduğu düşünülmektedir. Bu sıcaklıklar

özellikle gıdada yaygın olarak bulunan plastiklerin camsı geçiş sıcaklığı (T_g) ve erime noktası (T_m) arasında kalmaktadır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2. 1. Gıdalarda tespit edilen yaygın plastikler, kullanım yerleri, camsı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve erime sıcaklıkları (T_m).

Plastik türü	Kullanım Yerleri	Camsı geçiş sıcaklığı (T _g) [111] [112]	Erime sıcaklığı (T _m) [111] [112]
PP	Yoğurt ve margarin kapları, mikrodalgaya uygun saklama kapları, gıda ambalajları, şişe kapakları, plastik tabak ve bardaklar.	(-30 °C) - (-10 °C)	160-170 °C
PE	Yüksek yoğunluklu (HDPE): Süt ve deterjan şişeleri, kesme tahtaları. Düşük yoğunluklu (LDPE): Alışveriş poşetleri, streç filmler, gıda ambalaj filmleri.	(-125 °C) - (-90 °C)	105-135 °C
PET	Su ve gazlı içecek şişeleri, salata sosu kapları, plastik gıda kavanozları, fırına dayanıklı filmler ve tepsiler (kristalize-PET).	~ 80 °C	250-265 °C
PVC	Gıda streç filmleri, bitkisel yağ şişeleri, ilaçlar için blister ambalajlar, su ve gıda tesisat boruları.	~ 85 °C	170-210 °C
PS	Tek kullanımlık bardaklar, çatal-bıçaklar, CD/DVD kutuları. Genişletilmiş PS (EPS): Et ve tavuk satış ambalajları, yumurta kartonları, koruyucu ambalaj köpükleri, tek kullanımlık köpük yemek servis kapları	~ 100 °C	~ 240 °C

2.5.2.2. Oksidatif Sindirim

MP çalışmalarında kullanılan diğer ön sindirim oksidatif sindirimdir. Bu amaçla, hidrojen peroksit (H₂O₂) [113-115], sodyum hipoklorit (NaClO) [102] ve potasyum persülfat (K₂S₂O₈) [109] gibi oksidatif bileşenler kullanılmaktadır. Avio ve ark. balık dokuları ile yaptıkları bir çalışmada %30 ve %15 konsantrasyonlarında H₂O₂ kullanarak gerçekleştirdikleri sindirimde, %30 H₂O₂ geri kazanım yüzdesinin %15 H₂O₂'ye göre az olduğunu belirtmiştir [115]. Benzer bir şekilde literatürdeki çalışmalar H₂O₂ bazlı çözeltilerin organik bileşenlerinin sindiriminde etkili olduğunu gösterirken bazı plastiklerin geri kazanımını düşürdüğü ve aşındırıcı etki yaptığını göstermişlerdir [102, 116, 117].

2.5.2.3. Enzimatik Sindirim

MP çalışmalarında kullanılan bir diğer organik sindirici bileşenler ise enzimlerdir. Literatürdeki MP çalışmalarında genel olarak proteinaz K [103], tripsin, selüloz, papain [118], pepsin [109] ve korolaz [97] enzimleri kullanılmaktadır. Enzimlerin, belirli bağlara spesifik ve hassas olmaları onları ve bu sayede plastiklerin fiziko-kimyasal özelliklerini değiştirmeden onları karışık organik ortamdan ayırabilmelerini sağlamaları açısından büyük avantajdır [103, 118]. Ancak, birçok enzimin hem pahalı olması hem de MP çalışmalarında kullanılabilen sürelerin çok uzun olması, enzimlerin bu çalışmalarda kullanımını kısıtlamaktadır [119, 120].

2.5.3. MP'lerin izolasyonu

MP'lerin bulundukları ortamdan ayrılması için en sık kullanılan yöntem yoğunluk farkına dayanmaktadır. Plastiklerin yüzeyde kaldığı ancak diğer bileşenlerin çöktüğü bir konsantrasyonda hazırlanan tuzlu su (salamura) çözeltisi ile çalışılır. En yaygın kullanılan çözelti, özgül ağırlığı yaklaşık 1.2 g/cm³ olan doymuş sodyum klorür (NaCl) çözeltisidir. NaCl çözeltisinin ucuz, kolay ulaşılabilir ve çevresel açıdan zararsız olması önemli avantajları arasındadır (Hidalgo-Ruz ve ark., 2012). Ancak, polipropilen (PP), polietilen (PE), polistiren (PS) ve naylon olarak da bilinen poliamid gibi birçok mikropplastik türü 1.2 g/cm³'den düşük yoğunluğa sahip olup bu yöntemle yüzdürülerek ayrılabilirken, polivinil klorür (PVC) ve polietilen tereftalat (PET) gibi yoğunluğu daha yüksek olan diğer plastik türleri bu çözeltiyle ayrılamamaktadır. Bu sebeple yoğunluk temelli ayırmada hedeflenen plastik türlerine uygun bir tuz türü kullanılmalıdır. Literatürde kullanılan tuz türleri arasında sodyum politungstat (Na₆[H₂W₁₂O₄₀], 1.4 g/cm³), çinko klorür (ZnCl₂, 1.5–1.7 g/cm³), kalsiyum klorür (CaCl₂, 1.30–1.35 g/cm³) ve sodyum iyodür (NaI, 1.8 g/cm³) çözeltileri bulunmaktadır [121].

MP'lerin bulunduğu ortamdan izolasyonu filtreleme ile de gerçekleştirilebilmektedir. Filtreleme, temelde parçacıkları boyutlarına göre ayırmak için kullanılan fiziksel bir yöntemdir. Kirliliğin az olduğu örneklerde filtreleme direkt olarak uygulanabilmektedir [122]. Ancak organik veya inorganik madde yükü yüksek olan örneklerde (örneğin arıtma çamuru, sindirilmemiş gıda örnekleri) filtre gözeneklerinin hızla tıkanması ve MP'lerin filtre membranına yapışarak kaybolması gibi riskler mevcuttur [123]. Filtre materyalinin

seçimi, sonraki kimyasal analiz adımlarının güvenilirliğini doğrudan etkiler [124]. Bu nedenlerle filtrasyon, genellikle tek başına bir izolasyon yöntemi olmaktan çok, yoğunluk ayrımı veya kimyasal sindirim gibi diğer ön işlem basamaklarıyla birlikte kullanılan tamamlayıcı bir adımdır.

2.5.4. MP Analiz Yöntemleri

2.5.4.1. Mikroskopik Teknikler:

Mikroskopik teknikler, partiküllerin boyut, şekil ve yüzey morfolojisi gibi fiziksel özelliklerinin doğrudan görselleştirilmesini sağlayarak MP analizlerinde temel bir rol oynamaktadır. Stereoskopik mikroskopi gibi temel optik yöntemler, özellikle 50 µm'den büyük partiküllerin ön ayrıştırması için yaygın olarak kullanılsa da çözünürlük limitleri ve operatör deneyimine dayalı olmaları nedeniyle tek başlarına polimer tespiti için yeterli kabul edilmemektedirler [123]. Bu limitleri aşmak ve şeffaf partiküllerin tespitini kolaylaştırmak için Nil Kırmızısı (NK) ve Gül Bengal (RB) gibi floresan boyaların kullanıldığı floresans mikroskopi (FM) yaygın olarak uygulanmaktadır [125]. Bu yöntemle elde edilen floresan görüntüler, daha sonra bilgisayar ortamında görüntü işleme yazılımları kullanılarak analiz edilebilmektedir. Bu yaklaşım, partiküllerin otomatik veya yarı-otomatik olarak sayılmasına, alanlarının ve boyut parametrelerinin hesaplanmasına olanak tanımaktadır [126-129]. Ancak bu analizlerin doğruluğu, yazılımda gerçek partikülleri arka plan gürültüsünden ayırmak için doğru renk ve yoğunluk eşiklerinin ayarlanmasına kritik derecede bağlıdır [125]. Ayrıca, NK'nin hidrofobik etkileşimle boyama yapması nedeniyle, ortamdaki diğer hidrofobik yapıdaki doğal organik maddeleri (örn. lipidler, yağlar) de boyayarak yanlış pozitif sonuçlara yol açma riski devam etmektedir [130]. Bu sebeple, boyama ve görüntü işleme temelli bu yaklaşımın başarısı, hem temiz bir görüntüleme zemini sağlamak hem de boyanın özgüllüğünü artırmak için etkili bir ön işlem basamağını zorunlu kılar. Optik mikroskopinin çözünürlük limitlerinin yetersiz kaldığı mikro ve nano boyuttaki partiküllerin morfolojik karakterizasyonu için ise yüksek çözünürlüklü elektron mikroskobu (EM) teknikleri kullanılmaktadır. Bu grupta yer alan Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Çevresel Taramalı Elektron Mikroskobu (E-SEM) yüzey topografyası hakkında detaylı bilgi verirken, Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) en küçük nanopartiküllerin dahi görüntülenmesine olanak tanır [123]. Bu teknikler yüksek çözünürlükte morfolojik veri sunsalar da iletken olmayan

plastik numuneler genellikle analiz öncesi kaplama gibi ek hazırlık adımları gerektirirler. Bu teknikler tek başlarına kimyasal kimlik tespiti için yeterli doğrulama sağlamasalar da morfolojik incelemeler için tercih edilmektedirler.

2.5.4.2. Spektroskopik Teknikler:

Spektroskopik teknikler, partiküllerin kimyasal bileşimini belirlemek için ışığın madde ile etkileşimini temel alır. Bu yöntemlerle polimer türü, katkı maddeleri ve moleküler yapı hakkında bilgi edinilir. Spektroskopik yöntemler, MP analizlerinde en sık başvurulmuş teknikler arasında yer alır. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ve Raman Spektroskopisi gibi spektroskopik teknikler, mikroskopi ile birleştirildiğinde (mikro-FTIR; mikro-Raman) hem kimyasal yapı hem de parçacıkların boyut ve şekli gibi fiziksel özellikler hakkında ayrıntılı bilgi sunar [123]. Ancak güvenilir analiz sonuçları için bazı teknik sınırlamalar dikkate alınmalıdır. Özellikle ölçüm yapılacak parçacıkların belirli bir boyuttan büyük olması gerekir (FTIR için $>10\ \mu\text{m}$; Raman için $>1\ \mu\text{m}$) ve kullanılan filtreler, çözücüler veya taşıyıcı yüzeylerin, analiz edilen materyalle benzer spektral sinyaller üretmemesi önemlidir [131]. Bu tür faktörler, ölçüm doğruluğu açısından belirleyici rol oynar. X-ışını temelli tekniklerde (X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS); Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX)) MP analizlerinde elementel analizler için kullanılmaktadır. Ancak EDX düşük atom numaralı (<11) elementlerin analizinde yüksek hassasiyetle çalışmadığı için, çoğunlukla ^{12}C , ^{16}O ve ^1H içeren plastiklerin analizinde kullanıma uygun değildir [132]. XPS ise bu elementleri algılamakta başarılı olmasına rağmen yüzeyden itibaren ilk 10 nm ye kadar ölçüm alabildiği için kirlilikten etkilenir ve yüzey analizleri ile sınırlı kalmaktadır [133].

Yüzey ile etkileşime giren ışığın davranışını inceleyen spektral teknikler MP yüzeyine adsorplanmış su ve diğer organik maddelere karşı oldukça hassastır [101, 123]. MP'lerin çevrelerine çeşitli gıda matrislerini bağlayabildiği ve korona yapısı oluşturduğu bilinmektedir [134]. Bu sebeple, gıda ve biyolojik örneklerde MP parçacıkların tespitinde spektroskopik yöntemler ancak uygun ön işlemler sonrası etkin şekilde kullanılabilirler [123].

2.5.4.3. Termal Analiz:

Termal analiz yöntemleri, plastiklerin sıcaklığa karşı gösterdiği fiziksel ve kimyasal değişimleri inceleyerek kütle tayini ve bileşen ayrıştırması sağlamaktadır [135]. Bu teknikler özellikle polimer ayrışımı ve katkı maddelerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Ancak doğaları gereği tahrip edicidirler, yani numune analiz sırasında yok edilir. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC), polimerlerin camsı geçiş ve erime sıcaklıklarını belirleyerek karışım içindeki farklı polimer türlerini ayırt etme ve kütlelerini ölçme olanağı tanımaktadır [136]. Kütle Spektrometrisi (MS) ile birleştirilmiş Piroloiz Gaz Kromatografisi (Pyr-GC-MS) ise, polimerlerin termal olarak parçalanmasıyla oluşan spesifik kimyasal parçacıkları (marker) tespit ederek polimerin kimliğini ve içeriğindeki katkı maddelerini yüksek bir kesinlikle doğrular [137]. Termal tekniklerin en temel sınırlaması tahrip edici olmalarıdır. Analiz edilen örnek geri kazanılamaz, bu nedenle genellikle doğrulama amaçlı son analiz adımı olarak tercih edilirler [123].

Literatürde detaylandırıldığı üzere, mikroskobik, spektroskopik ve termal yöntemlerin başarısı, örnekteki plastiklerin ne kadar etkin izole edildiğine ve uygulanan ön işlemin uygunluğuna sıkı sıkıya bağlıdır. Bu durum, güvenilir sonuçlar elde edebilmek için, ileri enstrümantal analiz tekniklerinden önce ön işlem adımlarının optimize edilmesini zorunlu kılmaktadır.

Bu tez çalışması, gıdalardaki MP'lerin özellikle mikroskobik analizler öncesi izolasyonu için kimyasal sindirim yöntemini sistematik bir şekilde incelemeyi amaçlamaktadır. Bu hedef doğrultusunda, kimyasal türü, konsantrasyon, sıcaklık ve süre gibi temel sindirim parametrelerinin, farklı gıda matrisleri (normal ve yüksek yağlı) üzerindeki etkinliği ve yöntemin genel performansı detaylı olarak değerlendirilecektir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kimyasal Malzemeler

Çalışmada kullanılan PS plastik materyal 5 mm çapında mikrobuncuk olarak Petkim Petrokimya Holding A.Ş. (Aliğa, İzmir, Türkiye) firmasından sağlanmıştır. Pektin ve mısır nişastası Kimbiotek Kimyevi Maddeler San. Tic. A.Ş. (İstanbul, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Cam elyafı filtre (GF-B, por çapı 1 mm) Whatman (Marlborough, MA, A.B.D.) firmasından temin edilmiştir. Metal dokuma elekler ve filtreler Tekpun Çelik Hasır Sanayi A.Ş. (İstanbul, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Mısır yağı (Sırma, SAVOLA GIDA, İstanbul, Türkiye) metal tenekede yerel marketten alınmıştır. Etanol, hidroklorik asit (HCl), potasyum hidroksit (KOH), izo-propanol (IPA), n-hekzan, nil kırmızısı (NK), aseton, sodyum kazeinat, glukoz, sodyum klorür (NaCl) ve diğer kimyasallar Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, A.B.D.) firmasından temin edilmiştir. Mikroskop görüntüleri, değişken diyaframlı (f/1.5–f/2.4) ve optik görüntü sabitleme özellikli 12 MP kamera (SAMSUNG, Seul, Güney Kore) ile 4032×3024 piksel çözünürlükte kaydedilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen bütün analizlerde, çözeltilerin ve model gıdanın hazırlanmasında, analiz öncesi ve sonrasında gerçekleştirilen temizlik aşamalarında kullanılan saf su, etanol ve IPA kullanım öncesi 1µm por çaplı cam elyafı filtre ile filtrelenmiştir. Tüm çözeltiler cam malzemeler içerisinde hazırlanmış ve cam şişe içinde ağzları alüminyum folyo ile kapatılarak saklanmıştır. Deneysel süreçte kullanılan plastik pipet uçları kullanım öncesi 5 kez filtrelenmiş saf su ile yıkanmıştır. Deneyler hava akışının kısıtlandığı ve sadece bu tez çalışmasına ayrılan bir laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresince kişisel koruyucu ekipman olarak %100 pamuklu laboratuvar önlüğü, filtrelenmiş saf su ile yıkanmış nitril eldivenler ve 3 katlı cerrahi maske kullanılmıştır. MP çalışması için uygun ortam oluşturulmuştur. Çalışma koşulları hazırlanırken DSÖ raporunda belirtilen öneriler dikkate alınmıştır [1].

3.2. Metot

3.2.1. Mikroplastik Üretimi ve Karakterizasyonu

3.2.1.1. Mikroplastik Üretimi

PS MP'lerini üretmek amacı ile ilk önce, PS boncukları %50'lik etanol çözeltisi içerisinde -80 °C'de 24 saat soğumaya bırakılmıştır. 24 saat sonunda mikroboncuklar metal uçlu el blenderı (Arçelik RHB 6050., İstanbul, Türkiye) ile parçalanmıştır. Oluşan karışım 560 µm ve 40 µm metal dokuma elekler aracılığı ile süzölmüş ve 560 µm elek üstü için parçalama işlemi tekrarlanmıştır. 40 µm altı PS MP'leri uzaklaştırmak için elde edilen 40 µm elek üstü %50'lik etanol çözeltisi ile tekrardan yıkanmıştır. 40 µm yıkanmış elek üstü cam şişe içerisinde ağzı alüminyum folyo ile kapatılarak 60°C'de etüvde kurutulmuştur. Kurutma sonrasında 4 °C'de stok PS MP olarak ileriki analizlerde kullanmak üzere depolanmıştır.

3.2.1.2. Mikroplastik Kimyasal Saflığının Tespiti

MP örneklerinin fonksiyonel gruplarının ve kimyasal saflığının karakterizasyonu FTIR spektroskopisi (Tensor37, Bruker, MA, A.B.D.) ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, stok toz MP spektrumları 4 cm⁻¹ çözünürlükte, 4000-650 cm⁻¹ aralığında, 32 tarama sayısı ile taranarak elde edilmiştir. Ölçümler ATR modunda alınmıştır.

3.2.1.3. Mikroplastik Boyut Analizi

PS MP partiküllerinin boyut dağılımlarının ölçölmesi amacıyla, lazer kırılım prensibine dayayan Mastersizer 3000 (Malvern Panalytical Ltd., Malvern, B.K) cihazı ile analiz gerçekleştirilmiş, cihaza ait "HYDRO EV" örnek ünitesi ile çalışılmıştır. Stoktan kuru olarak alınan MP partiküllerinin (Reflektif indeks:1.590), dispersiyon ortamı olarak hazırlanan etanol/su (1/1; h/h, Reflektif indeks:1.330) çözeltisinde, ünitenin kendi karıştırıcısı ve sonikasyon probu kullanılarak homojen dağılması sağlanmıştır. Kümülatif boyut dağılımı belirlenmiştir. Bu amaçla Hacettepe Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (HÜNİTEK, Ankara, Türkiye) hizmet alınmıştır.

3.2.1.4. MP'lerin Yüzey Morfolojisi

Partiküllerin ayrıntılı yüzey morfolojisinin görüntülenmesi amacıyla E-SEM (FEI-Quanta 200 FEG, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, A.B.D) kullanılmıştır. Analizi gerçekleştirmek için örnek tablasına karbon bant yerleştirilmiş ve stoktan alınan kuru haldeki MP'ler üzerine sabitlenmiştir. Daha sonra iletkenlik sağlamak amacıyla kaplama cihazı kullanılarak (Precision Etching and Coating System 682, Gatan, Pleasanton, CA, A.B.D.) üzeri 10 nm altın-paladyum ile kaplanmıştır. Görüntüler 3 spot genişliğinde 10 kV'da elde edilmiştir. E-SEM analizleri Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi'nde (UNAM, Ankara, Türkiye) gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Gıda Modelinin Hazırlanması

3.2.2.1. Normal Model (NM)

Gıda modeli hazırlanırken bir bireyin günlük diyetinde bulunan bileşenler dikkate alınmıştır. Bu amaçla 'Normal Model (NM)' olarak Zhang, Zhang [138]'ın hazırladığı %17.81 kuru maddeye sahip, protein, besinsel lif, kompleks karbonhidrat, yağ, şeker ve tuz içeren model modifiye edilerek hazırlanmıştır (Çizelge 3.1). 10mM fosfat tamponu (PB) (pH=7.0) içerisinde sodyum kazeinat (%1.0 a/a) oda sıcaklığında 2 saat sürekli karıştırma ile çözündürülmüştür. Ardından bitkisel yağ eklenmiştir ve çözelti T 25 Digital ULTRA-TURRAX cihazında (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen / Almanya) 14000 rpm de 5 dakika homojenize edilmiştir. Homojenize edilen çözelti içerisine kalan sodyum kazeinat (son ağırlıkta %7.68 a/a) ile diğer bileşenler eklenmiş (Çizelge 3.1) ve oda sıcaklığında 1 saat sürekli karıştırma gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan çözelti dondurarak kurutulmuş ve -18 °C'de cam şişe içerisinde alüminyum kapak ile ileri analizlerde NM stoğu olarak kullanmak üzere saklanmıştır. Tez çalışması süresince aynı stok kullanılmıştır. Analiz öncesinde ihtiyaç duyulan miktar stok NM'den %17.81 kuru madde oranına uyacak şekilde saf su ile hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1. Normal Model (NM) içeriği

NORMAL MODEL	100 g
Protein (Sodyum Kazeinat)	3.440 g
Yağ (Mısırözü yağı)	3.420 g
Karbonhidrat (Mısır Nişastası)	5.150 g
Besinsel Lif (Pektin)	0.700 g
Şeker (Sakkaroz)	4.570 g
Tuz (Sodyum klorür)	0.534 g

3.2.2.2. Yağlı Model (YM)

Yüksek yağ oranına sahip gıdaların modellenmesi için %100 mısır yağı kullanılmıştır. Yağlı model (YM) için tez çalışması süresince serin ve karanlık bir ortamda saklanan aynı şişe yağ kullanılmıştır.

3.2.3. Nil Kırmızısı ile Boyama

MP'lerin boyanması amacıyla stok NK 1 mg/ml konsantrasyonunda aseton içinde hazırlanmıştır [73, 128]. 2 saat karıştırma sonrasında 1.0 µm por çapına sahip cam elyafı filtreden geçirilmiş ve süzüntü ışık geçirmeyen bir şişede 4°C'de saklanmıştır. Boyama çözeltisi, aseton içerisinde hazırlanmış stok NK çözeltisinin üzerine hacimce 1:9 oranında n-hekzan eklenmesiyle hazırlanmıştır [139, 140]. Kristallenmeyi önlemek amacıyla, n-hekzan ekleme işlemi stok üzerine yavaş ve sürekli karıştırma eşliğinde gerçekleştirilmiştir. Boyama çözeltisi her boyama öncesi taze olarak hazırlanmıştır.

Tez çalışmasının ileri aşamalarında MP'leri optik mikroskop ile incelenmesi öncesi boyama yapılmıştır. Boyama çözeltisi her bir analiz için 1.0 ml hazırlanmış ve cam şırınga ile üzerinde MP'ler bulunan 40 µm por çaplı metal dokuma filtreden 5 dakika süresince 60°C sabit sıcaklıkta geçirilmiştir. Boyama sonrasında, önce 5 ml %60 IPA çözeltisi, ardından 2 ml saf su ile yıkama yapılmıştır. Boyanın fazlasından arındırılan filtre 60 °C'deki etüvde 2 saat kurumaya bırakılmıştır. Kuru filtre üzerindeki PS MP'ler optik mikroskop ile görünür ve UV (365 nm) ışık altında incelenmiştir. Parlak turuncu renk

literatürde polistiren için karakteristik tipik görünümle görsel olarak örtüşmektedir [128, 130, 139].

3.2.4. Kimyasal Sindirim Parametrelerinin Belirlenmesi

3.2.4.1. Gıda Modelinin Sindirimi

Hazırlanan gıda örnekleri son konsantrasyonda %5-%10 KOH ve %10-%30 HCl olacak biçimde stok KOH ve HCl çözeltisi ile karıştırılarak hazırlanmıştır. Daha sonra örnekler 3 farklı sıcaklıkta (45°C, 65°C, 85°C) ve 5 farklı sürede (2sa, 4sa, 12sa, 24sa ve 48sa) çalkalayıcılı su banyosunda sindirilmiştir (Çizelge 3.2).

Sindirim oranının hesaplanması için Karami ve ark. çalışmalarında kullandığı gravimetrik analiz uygulanmıştır [102]. Sindirim işlemi sonlandırılan örneklerden 0.5 ml alınmış ve önceden 100°C’de sabit tartıma getirilmiş 1 µm por çapında cam elyafı filtreden geçirilmiştir. Ardından filtre 5 ml 80°C’deki saf su ile kalıntıların uzaklaştırılması amacıyla yıkanmış ve 100°C’de sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Filtrasyon işlemi öncesi ve sonrasındaki filtrenin kuru ağırlığı belirlenmiştir. Tüp içerisindeki gıda modelinin ne kadar sindirildiğini hesaplamak için Eşitlik 1 kullanılmıştır.

$$\text{Sindirim Oranı (\%)} = \frac{M_G - (M_{Fs} - M_{Fi})}{M_G} * 10 \quad (1)$$

M_G : Filtrelenen hacim içerisindeki gıda modelinin kütlesi

M_{Fs} : Filtrenin son kütlesi

M_{Fi} : Filtrenin ilk kütlesi

Çizelge 3.2. Gıda modellerinin (NM; normal model, YM; yağlı model) kimyasal sindiriminde kullanılan sıcaklık, kimyasal tipi, kimyasal konsantrasyonu ve süre parametreleri.

SICAKLIK	MODEL	KİMYASAL	KONSANTRASYON	SÜRE (sa)
45°C	NM	KOH	%5 a/h	2,4,12,24,48
			%10 a/h	2,4,12,24,48
		HCl	%10 h/h	2,4,12,24,48
			%30 h/h	2,4,12,24,48
	YM	KOH	%5 a/h	2,4,12,24,48
			%10 a/h	2,4,12,24,48
		HCl	%10 h/h	2,4,12,24,48
			%30 h/h	2,4,12,24,48
65°C	NM	KOH	%5 a/h	2,4,12,24,48
			%10 a/h	2,4,12,24,48
		HCl	%10 h/h	2,4,12,24,48
			%30 h/h	2,4,12,24,48
	YM	KOH	%5 a/h	2,4,12,24,48
			%10 a/h	2,4,12,24,48
		HCl	%10 h/h	2,4,12,24,48
			%30 h/h	2,4,12,24,48
85°C	NM	KOH	%5 a/h	2,4,12,24,48
			%10 a/h	2,4,12,24,48
		HCl	%10 h/h	2,4,12,24,48
			%30 h/h	2,4,12,24,48
	YM	KOH	%5 a/h	2,4,12,24,48
			%10 a/h	2,4,12,24,48
		HCl	%10 h/h	2,4,12,24,48
			%30 h/h	2,4,12,24,48

3.2.4.2. Sindirimin MP'ler Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Sindirimin MP'ler üzerine olan etkisinin belirlenmesi için gıda modellerinin sindirimi için gerçekleştirilen analizlerde sindirim oranının yüksek olduğu parametreler (sindirim oranı>%95) NM ve YM için ayrı ayrı belirlenmiştir. Seçilen parametreler, MP analizine uygunluklarının belirlenebilmesi için ortamda yalnızca MP varken tekrarlanmıştır.

MP'ler sindirim öncesi optik mikroskop ile incelenmiştir. İncelenen MP'lerin kalibrasyon lamı üzerinde görüntüleri alınmıştır. Bu sayede incelenen her bir MP'in boyutu ve yüzey yapısı optik mikroskop ile belirlenmiştir. MP'ler tüp içerisine aktarılmış ve seçilen sindirim parametreleri uygulanmıştır. Sindirim sonunda tüp içeriğinin tamamı 40 µm por çaplı metal dokuma filtreden geçirilmiştir. NK ile boyama yapılmış ve optik mikroskopta incelenmiştir. Sindirim sonunda optik mikroskoptan alınan görüntüler ile partiküllerin yüzey morfolojisinde en az değişime neden olan parametreler belirlenmiştir. MP'lere en az zararı veren koşullar gıda modeli içerisinde MP tayin edilmesinde kullanılmıştır.

3.2.5. Gıda Model Matrisinden MP İzolasyonu ve Sayımı

Gıda modelinden MP tayininde sindirim oranı yüksek ve PS MP'lere zarar vermediği belirlenen parametrelerde analiz gerçekleştirilmiştir. PS MP partikülleri optik mikroskop ile herhangi bir işleme tabi tutulmadan önce incelenmiştir. İncelenen PS MP'lerin kalibrasyon lamı üzerinde boyutları belirlenmiştir. Lam üzerindeki PS MP'ler sayılarak tüp içerisine aktarılmıştır. Tüp içerisindeki PS MP'lerin üzerine hazırlanan gıda modeli eklenmiştir ve karışım homojen hale getirilmiştir. Devamında bir önceki basamakta belirlenen parametrelerde kimyasal sindirim gerçekleştirilmiştir. Sindirim sonunda tüp içeriği 40 µm por çaplı metal dokuma filtreden geçirilmiştir. Ardından filtre 5 ml 80°C'deki saf su ile kalıntıların uzaklaştırılması amacıyla yıkanmıştır. Ardından boyama protokolü uygulanmıştır. Boyanıp kurutulan filtreler optik mikroskop ile görünür ve UV (365 nm) ışık altında incelenmiştir. Gıda modeli içerisinde MP tayininde değerlendirme geri kazanım üzerinden yapılmıştır. 4 tekrar ve 3 negatif kontrol ile çalışılmıştır. Geri kazanım hesaplaması için Eşitlik 2 kullanılmıştır.

$$\text{Geri kazanım (\%)} = \frac{B}{A} * 100 \quad (2)$$

A= Tüp içerisine başlangıçta eklenen MP sayısı

B= Filtre üzerinde sayılan MP

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Çalışma süresince elde edilen veriler SPSS 23.0.0.0.320 (IBM SPSS Statistic 23, IBM, Armonk, NY, A.B.D.) programı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılığın kontrolü $p < 0.05$ anlamlılık düzeyine göre, ANOVA takibinde Tukey-HSD post-hoc testi kullanılarak belirlenmiştir. Aksi belirtilmediği sürece deneyler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir

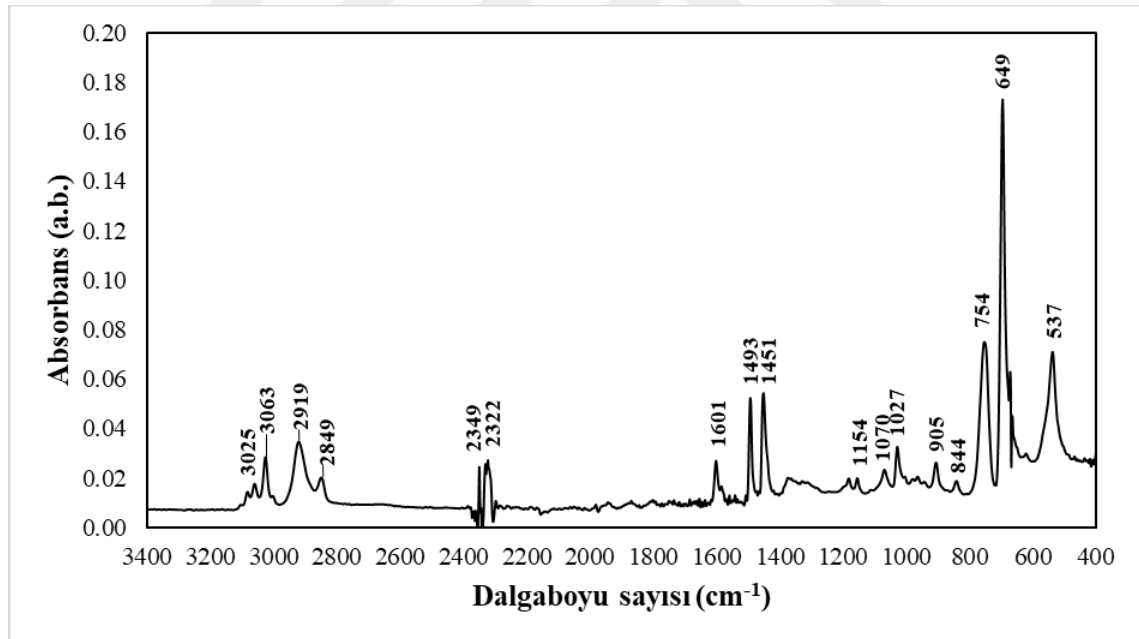


4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Mikroplastik Karakterizasyonu

4.1.1. MP'lerin Kimyasal Saflığı

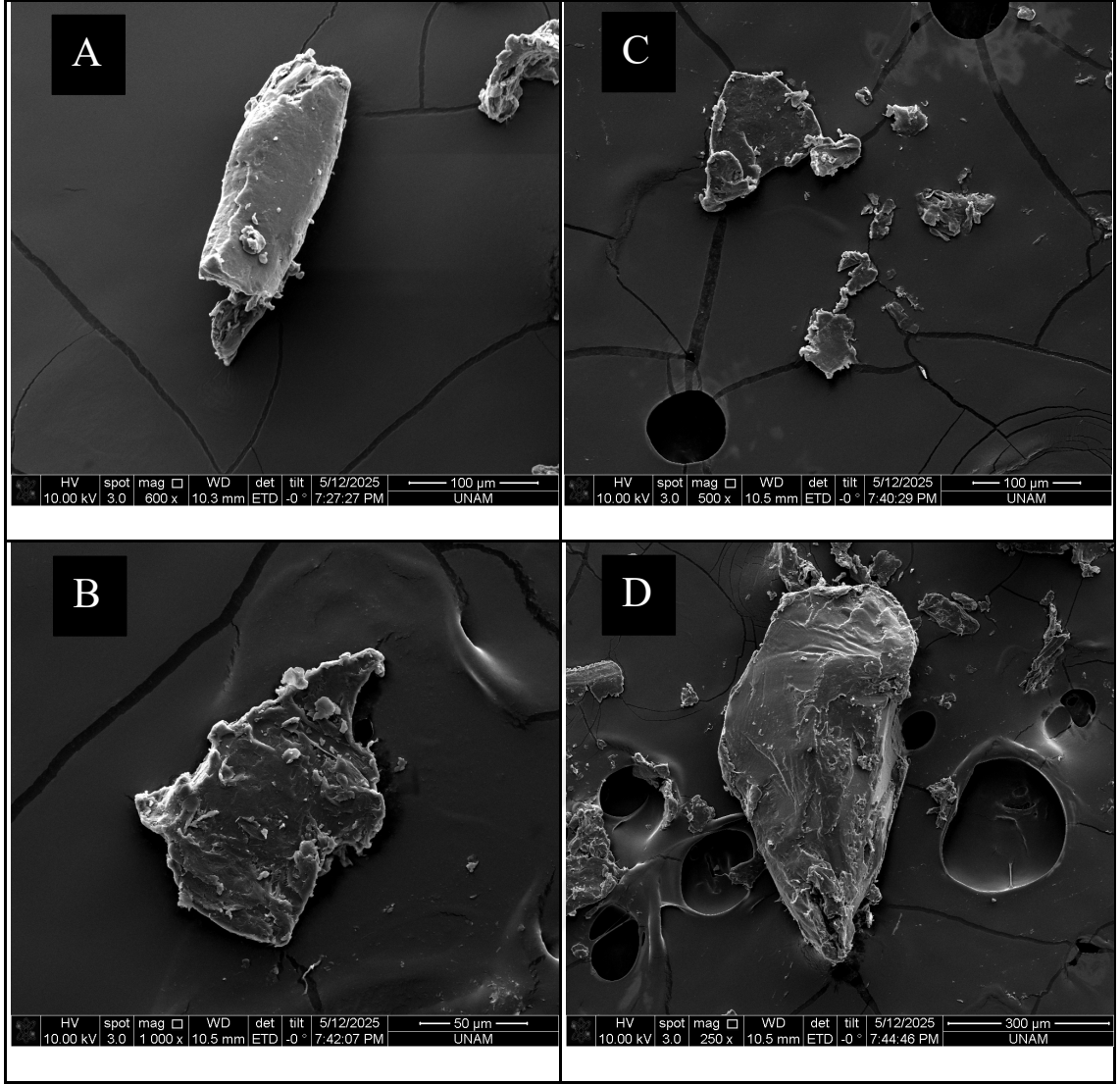
Mikroboncuklardan üretilen PS MP'lerin kimyasal yapısını belirlemek için FTIR analizi gerçekleştirilmiştir. Örneklerin FTIR spektrumu Şekil 4.1'de verilmiştir. Fenil halka yapısının varlığını gösteren üç ayırt edici aromatik C–H gerilme bandı, 3083 cm^{-1} , 3059 cm^{-1} ve 3025 cm^{-1} dalga sayılarında açık bir şekilde gözlemlenmiştir. Alifatik C–H gerilme titreşimleri 2919 cm^{-1} ve 2849 cm^{-1} 'de belirgin olarak saptanmıştır. Aromatik C=C gerilme bantları 1601 cm^{-1} ve 1493 cm^{-1} 'de, CH₂ makaslama titreşimi ise 1451 cm^{-1} 'de tespit edilmiştir. Ayrıca, spektrumda 752 cm^{-1} ve 694 cm^{-1} 'de karakteristik düzlem dışı C–H bükülme bandı gözlenmiştir [141]. Gözlemlenen karakteristik piklerin, polistirenin literatürde tanımlanmış spektral özellikleriyle örtüşmesi, analiz edilen mikroplastik örneğinin polistiren olduğunu doğrulamaktadır [111, 142, 143].



Şekil 4.1. Laboratuvar ortamında üretilen PS MP'lerinin FTIR spektrumu.

4.1.2. MP'lerin Yüzey Morfolojisi

Laboratuvar ortamında üretilen PS MP'ler doğadan izole edilen MP'lerde yaygın olarak tespit edilen morfolojik özellikleri göstermektedir [144]. ESEM ile gerçekleştirilen morfolojik analizler (şekil 4.2), 40-560 µm boyut aralığına indirgenmiş MP stoğunun heterojenlik sergilediğini ortaya koymuştur. Lifsi (şekil 4.2-A), keskin köşeli (şekil 4.2-B) ve fragment yapılarını (şekil 4.2-B-C-D) içeren çeşitli geometriler tespit edilmiştir. Partikül yüzeylerinde konkoidal kırıklar (şekil 4.2-C), katlanmalar ve aşınma izleri görülmüştür. Bu karmaşık yüzey morfolojisinin, daha küçük partiküllerin büyüklerin yüzeyine tutunarak agregatlar oluşturmaya zemin hazırladığı gözlemlenmiştir (şekil 4.2). Bu gözlemin, partiküller arası adezyon kuvvetlerinin, özellikle de Van der Waals etkileşimlerinin, mikro ölçekte baskın olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir [145, 146]. Doğada daha küçük plastik partiküllerin büyükler ile homoagregat oluşturduğu bilinmektedir [147]. Bu durum, laboratuvar ortamında üretilen MP'lerin doğal ortamlardaki potansiyel kaderini ve taşıyıcı rolünü anlamak için önemli bir model sunmaktadır.

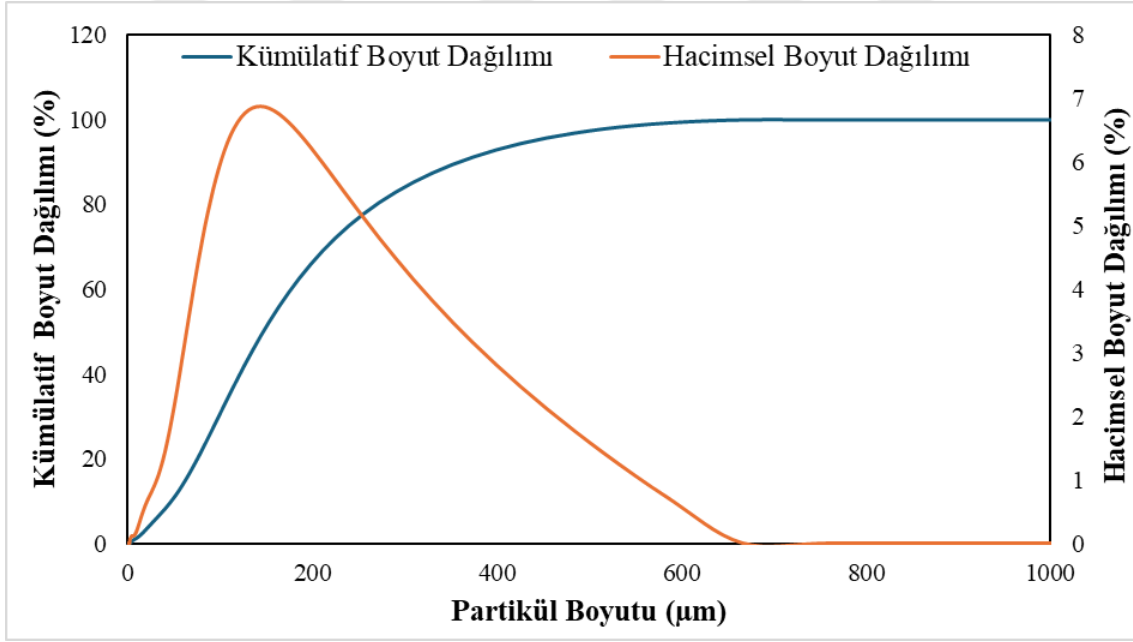


Şekil 4.2. Laboratuvar ortamında üretilen PS MP'lerinin E-SEM görüntüleri (10.00 kV).

4.1.3. MP'lerin Boyut Aralığı

PS MP'lerin boyut dağılımının belirlenmesi amacıyla lazer kırınım analizi gerçekleştirilmiştir. Gıdalarda yaygın olarak tespit edilmesi [148-152] ve yapılan ön denemelerde optik mikroskop ile yüzeyi incelenebilen en küçük boyut olması sebebiyle 40 µm alt sınır olarak belirlenmiştir. Literatürde MP için genel kabul gören üst sınır 5000 µm olsa da bu tez çalışmasında üst sınır, alt sınır ile benzer davranış göstermesi beklenen bir boyut aralığı sağlamak için 560 µm olarak belirlenmiştir.

PS MP'lerin kümülatif boyut dağılımı Şekil 4.3'te verilmiştir. Eleme üst sınırı olan 560 μm üzerinde anlamlı bir partikül hacmi ($\sim \% 0.7$) gözlemlenmemiştir. Ancak elek üstü yıkamalara rağmen uzaklaştırılamayan 40 μm altı partikül hacmi ($\sim \% 6.9$) tespit edilmiştir. ESEM görüntüleri, daha büyük partiküllerin pürüzlü yüzeylerinde çok sayıda küçük partikülün agregat formunda bulunduğunu göstermektedir (Şekil 4.2). Mastersizer cihazının uyguladığı yüksek kayma geriliminin ve ultrasonikasyon içeren yüksek enerjili dispersiyon metodolojisinin bu agregatları kırarak ölçümde küçük partiküllerin tespit edilmesini sağladığı düşünülmektedir [153]. Hedeflenen boyut aralığı $\%100$ sağlanamamıştır. Ancak doğada bulunan MP'in, agregatlar olarak bulunmasından dolayı [147], küçük boyutlu partiküllerin yarattığı bu hacmin giderilmesi için ekstra bir eleme gerçekleştirilmemiştir. Hacimsel boyut dağılımı tez kapsamında gerçekleştirilen PS MP analizleri için uygun kabul edilmiştir.



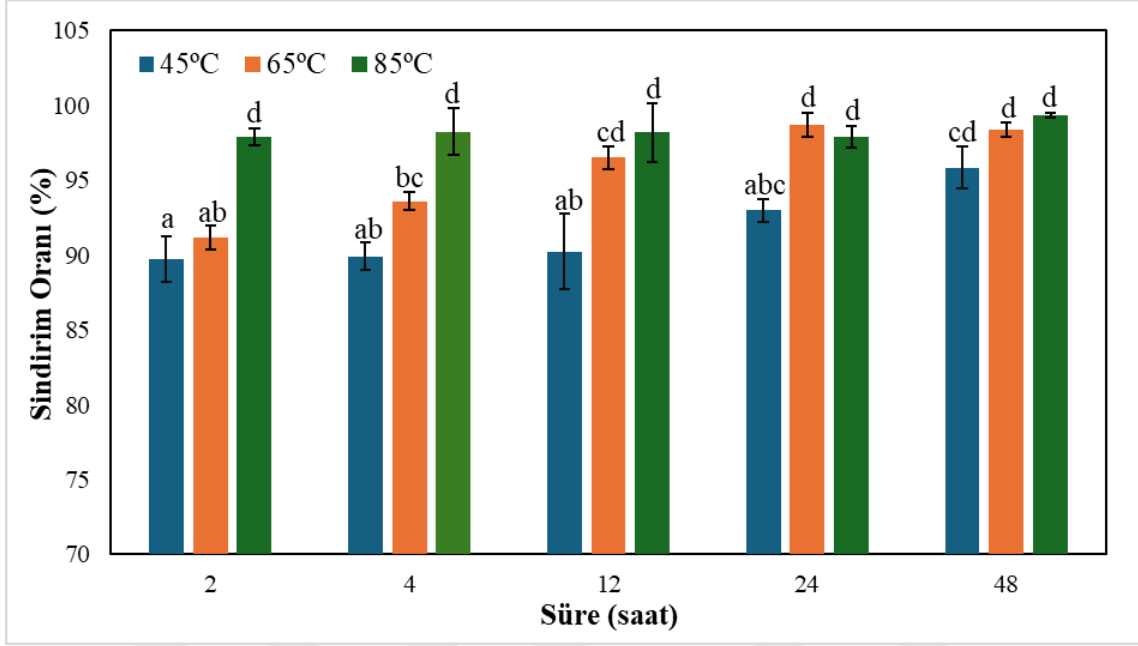
Şekil 4.3. Laboratuvar ortamında üretilen PS MP'lerinin hacimsel ve kümülatif boyut dağılımı

4.2. Kimyasal Sindirim Optimizasyonu

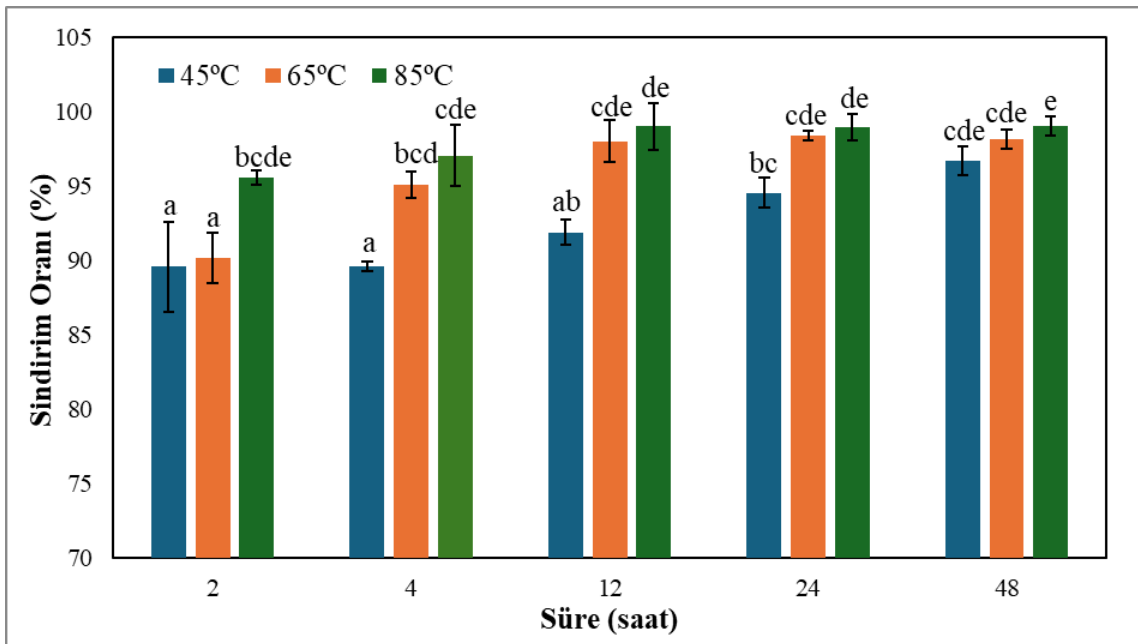
4.2.1. Gıda Modelinin Sindirimi

Gıda model matrisinin, PS MP tayini öncesinde uzaklaştırılabilmesi için sindirim işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla MP analizlerinde yaygın olarak kullanılan iki kimyasalın ikişer konsantrasyonu ($\%5 \text{ KOH (a/h)}$, $\%10 \text{ KOH (a/h)}$, $\%10 \text{ HCl (h/h)}$ ve $\%30 \text{ HCl (h/h)}$)

ile çalışılmıştır. Bu çözeltilerin farklı sıcaklıklarda ve sürelerde gösterdikleri sindirim verimi tespit edilmiş ve gıda matrisinden MP tayininde kullanılmaya uygunlukları incelenmiştir. Karami ve ark. çalışmalarında efektif bir sindirim için sindirim oranının $>95\%$ olması gerektiğini vurgulamıştır [102]. Sindirim verimi bu değer göze alınarak tartışılmıştır.



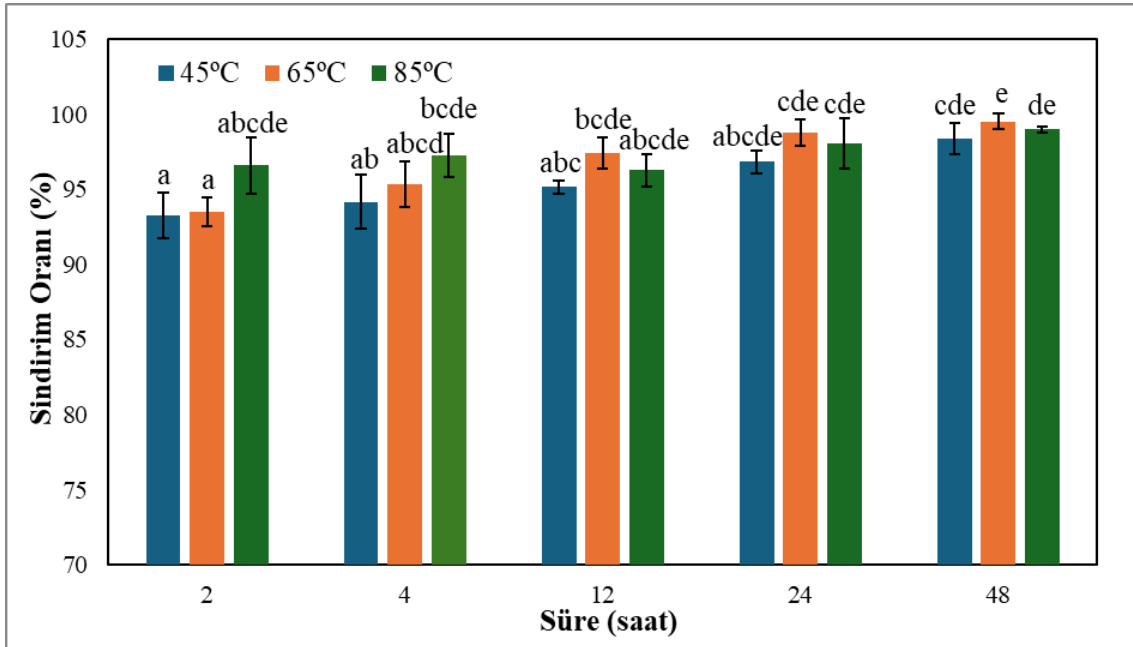
Şekil 4.4. NM'in %5 KOH ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri



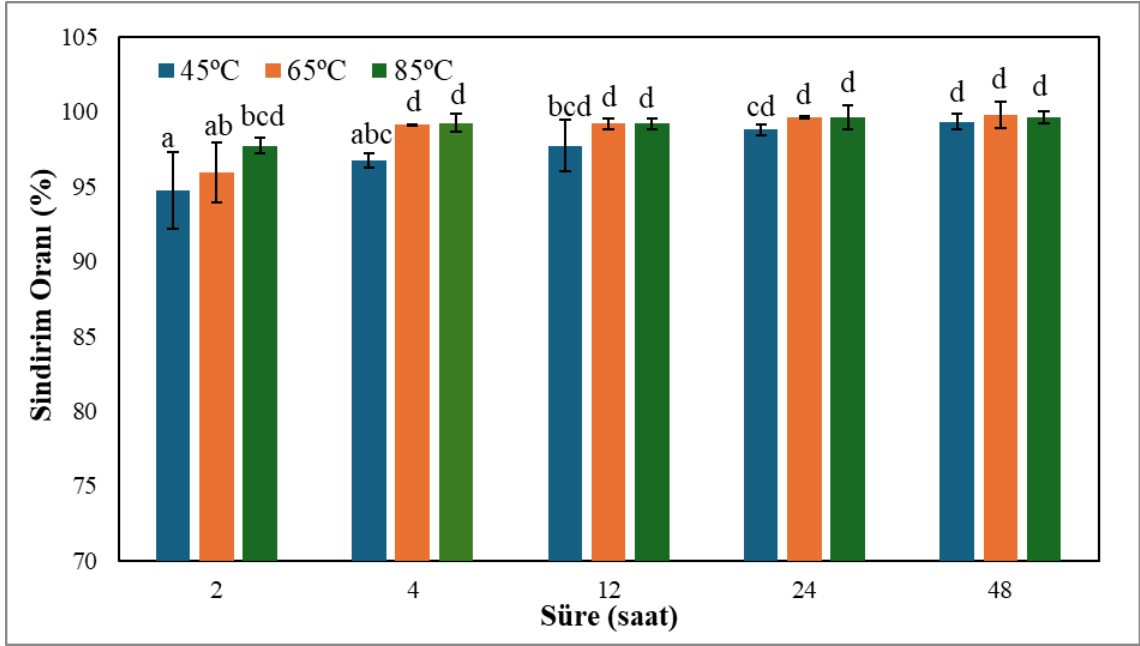
Şekil 4.5. NM'in %10 KOH ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri

NM'in son hacimde %5 KOH (a/h) (şekil 4.4) ve %10 KOH (a/h) (şekil 4.5) içeren çözelti ile gerçekleştirilen sindirimde sıcaklık artışının sindirim oranını ilk 4 saatte ciddi biçimde arttırdığı görülmektedir. 12 saatten sonra ise 65 °C ve 85 °C gerçekleştirilen analizler arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. 48 saatin sonunda uygulanan kimyasal sindirim çözeltisinin gösterdiği en yüksek sindirim oranı tüm sıcaklıklarda benzer hesaplanmıştır. Her iki konsantrasyonda da en yüksek sindirim oranına en kısa sürede 85 °C'de ulaşılmıştır. %5 KOH çözeltisi 85 °C'de 2 saatin sonunda >%95 sindirim oranı (~ %98), %10 KOH çözeltisi ise 85 °C'de 2 saatin sonunda >%95 sindirim oranı (~ %96) göstermiştir.

NM'in son hacimde %10 HCl (h/h) (şekil 4.6) içeren çözelti ile gerçekleştirilen sindirimde tüm sıcaklıklarda 4 saatin sonunda sindirim oranı yaklaşık %95 olarak hesaplanmıştır. Bu durum sindirimin düşük sıcaklıklarda (45 °C) KOH ile sindirime göre (şekil 4.4 - şekil 4.5) daha hızlı gerçekleştiğini göstermektedir. %10 HCl çözeltisi ile 24 saatin sonunda tüm sıcaklıklarda en yüksek sindirim oranına ulaşılmıştır. 85 °C'de 2 saatlik sindirim sonunda >%95 sindirim oranı (~ %97) gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6. NM'in %10 HCl ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri

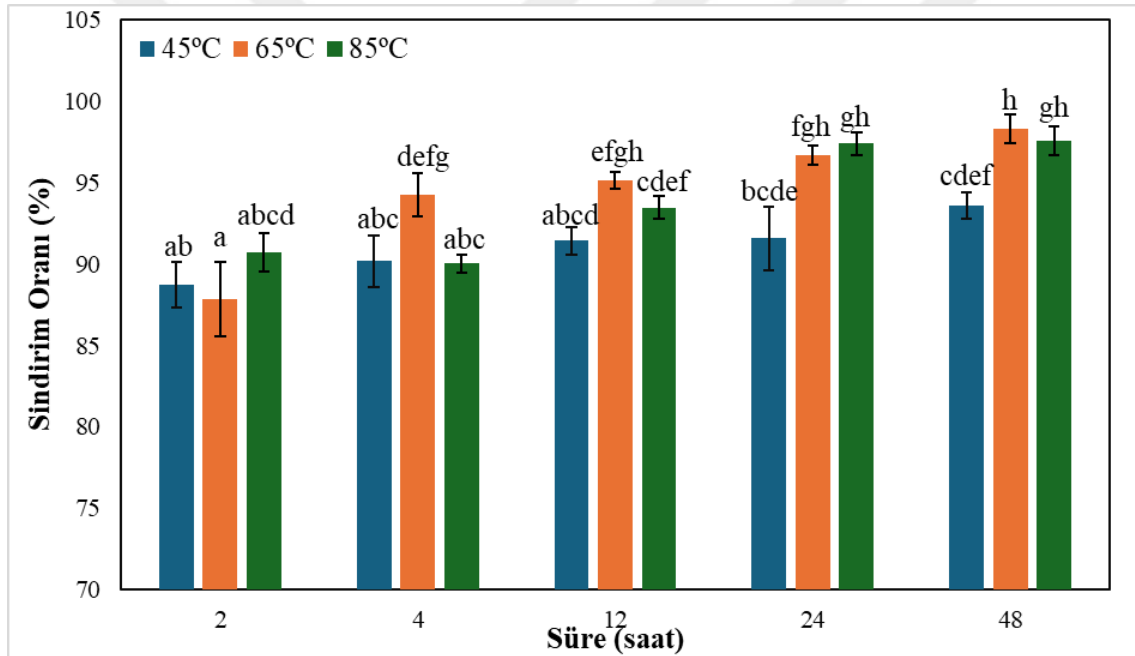


Şekil 4.7. NM'in %30 HCl ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri

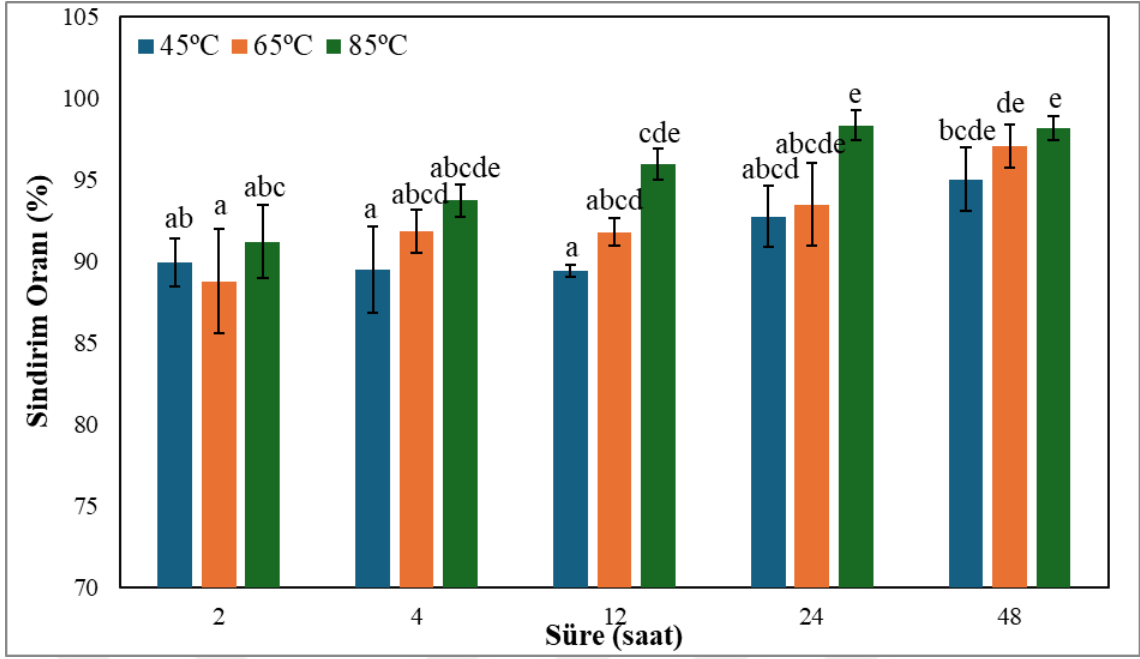
Son hacimde %30 HCl (h/h) (şekil 4.7) içeren çözelti ile gerçekleştirilen sindirim, kimyasal sindirim çözeltileri arasından en yüksek sindirim oranını göstermiştir. 12 saat sonunda tüm sıcaklıklarda en yüksek sindirim oranı (~ %100) hesaplanmıştır. 2 saatin sonunda sindirim oranı tüm sıcaklıklarda %95'in üzerindedir. Ancak 85 °C'de 2. saatten, 65 °C'de 4. saatten ve 45 °C 24. saatten itibaren tüp içeriğindeki rengin siyaha döndüğü gözlemlenmiştir. Sindirim esnasında gıdanın asitle yanması sonucu ortaya çıkan elementel karbon partiküllerinin [154] renk değişimine neden olduğu düşünülmektedir. Tüp içeriğindeki siyah renk sonraki aşamalarda filtre yüzeyinde de gözlemlenmiştir. Filtre materyalinin (borosilikat cam) HCl'e karşı inert olması [155] ve rengin yıkama ile giderilememesi, bu partiküllerin filtre yüzeyinde kalıntı oluşturduğunu göstermiştir. Bu kalıntı gravimetrik analizi etkileyecek kadar yüksek miktarda olmasa da gözle görülür bir renk değişimine neden olmuştur.

NM sindiriminde kullanılan çözeltilerde sıcaklık artışının sindirimi hızlandırdığı görülmüştür. Tüm çözeltilerde 85 °C'de 2 saat çözeltinin ulaştığı en yüksek sindirim oranı ile benzerlik göstermiştir. Bu doğrultuda asit ve baz kimyasal konsantrasyonlarından düşük olanların (%5 KOH ve %10 HCl), hem uygulama kolaylığı ve güvenliği sağlaması hem de daha az sarf kullanması sebepleri ile sonraki aşamalarda tercih edilmesine karar verilmiştir.

YM'in sindiriminde son konsantrasyonda %5 ve %10 KOH içeren çözeltiler ile sindirim esnasında tüp içerisinde sabunlaşma reaksiyonun gerçekleştiği görülmüştür. Bu durum ön denemelerde de tespit edilmiş ve literatürde de raporlanmıştır [70]. Sabunlaşma filtre yüzeyinde kalıntı miktarını arttırmıştır. Bu etkinin ortadan kaldırılması için 80 °C'deki su ile yapılan yıkamada su miktarı NM göre arttırılmıştır ve sabunlaşmanın negatif etkisi giderilmiştir. %5 KOH konsantrasyonunda çözeltinin ulaştığı en yüksek sindirim oranına gelinmesi en yüksek sıcaklıkta 12 saat sürmüştür (şekil 4.8). Bu süre %10 KOH çözeltisi için 4 saat olarak belirlenmiştir (şekil 4.9). Analiz süresinin 4 saatten 12 saate çıkması istenmeyen bir zaman artışı olduğu için %5'lik KOH çözeltisi ileri aşamalarda tercih edilmemiştir ve YM sindirimi için %10 KOH çözeltisi ile çalışılmıştır.

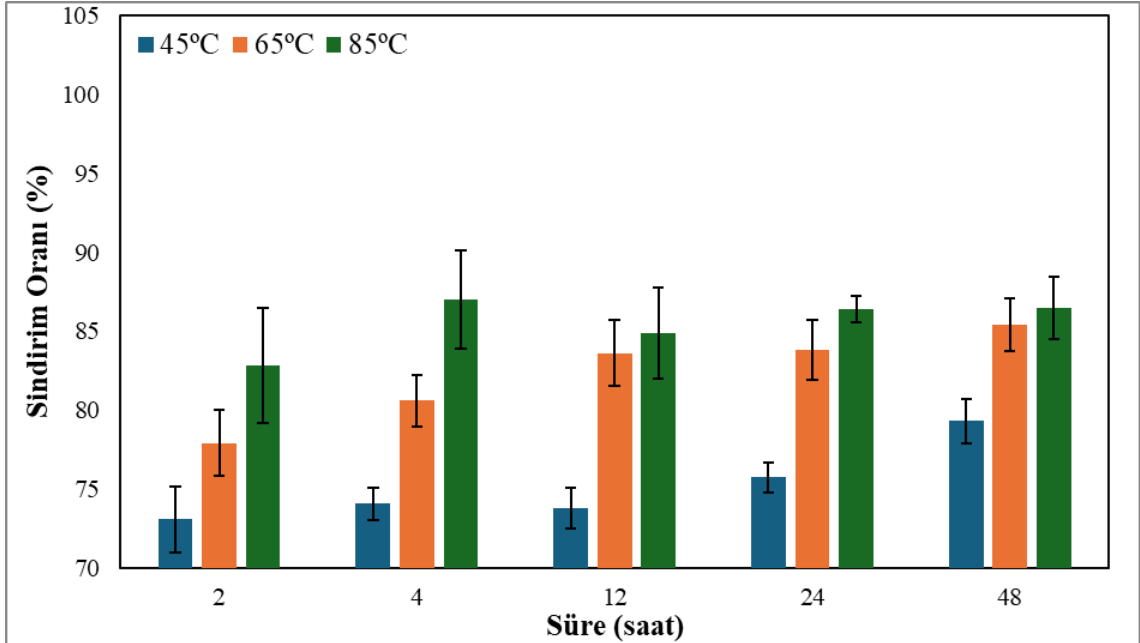


Şekil 4.8. YM'in %5 KOH ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri.

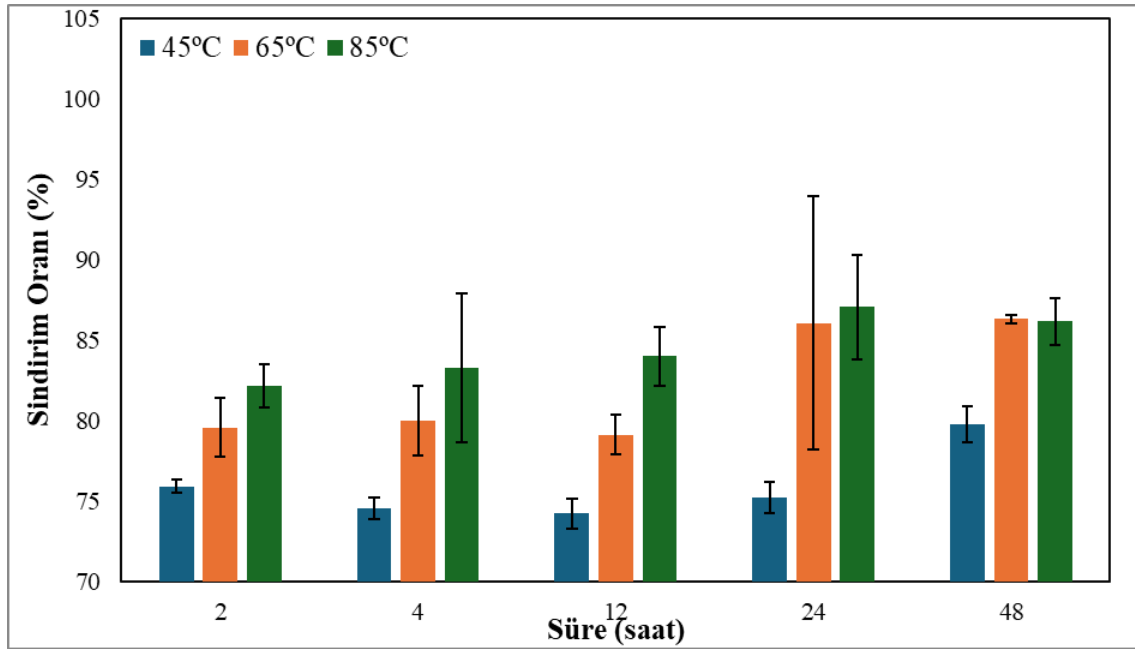


Şekil 4.9. YM'in %10 KOH ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri

YM'de asit sindirim çözeltilerinin değişen konsantrasyon ve sıcaklıklara rağmen 48 saatin sonunda sindirim oranının %90'ın altında kaldığı görülmüştür (şekil 4.10 – şekil 4.11). Bu sebeple ileri aşamalarda YM sindiriminde HCl çözeltileri ile çalışılmamıştır.



Şekil 4.10. YM'in %10 HCl ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri



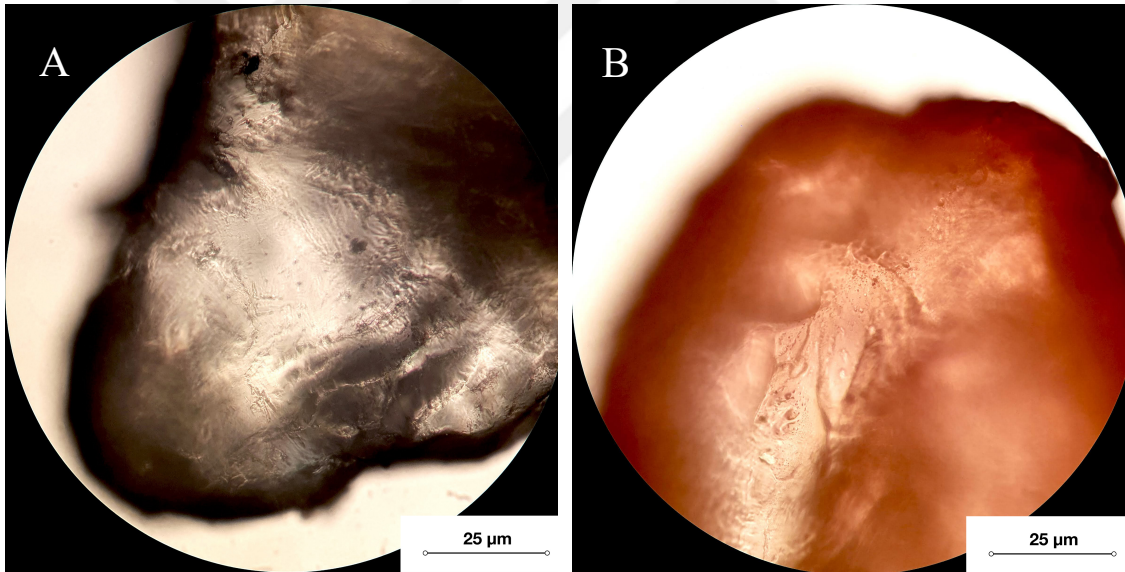
Şekil 4.11. YM'in %30 HCl ile farklı sürelerde elde edilen sindirim oranı değerleri

4.2.3. Nil Kırmızısı İle Boyama Ve Sindirimin MP'ler Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi

Sindirim aşamasında kararlaştırılan kimyasal sindirim çözeltilerinin, MP'ler üzerine olan etkilerinin tespit edilmesi için gıda modeli olmayan ortamda sindirim öncesi ve sonrası MP'lerin yüzey yapıları ve NK ile boyama etkinliği incelenmiştir. Bu amaçla MP'ler %5 KOH ve %10 HCl içeren çözeltilerde 85 °C'de 2 saat, %10 KOH içeren çözeltide 4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda optik mikroskop ile gerçekleştirilen incelemelerde hiçbir sindirim protokolünde MP'lerin biçimsel olarak tanımlanmasını engelleyen belirgin hasar tespit edilmemiştir. Karami ve ark. çalışmalarında 40°C'de 48 saat süren %10'luk KOH çözeltisiyle yaptıkları muamelenin PS dahil olmak üzere test ettikleri polimerlerin yüzey morfolojisinde veya renginde hiçbir değişikliğe yol açmadığını ve KOH çözeltisinin polimerlere karşı inert davrandığını rapor etmiştir [102]. Yüksek sıcaklıkta KOH kullanımının polimerler üzerindeki etkisi, literatürdeki diğer çalışmalarla da uyumluluk göstermektedir. Örneğin, Gulizia ve ark., 90 °C'de KOH kullanarak gerçekleştirdikleri sindirimde KOH ve plastik partikülleri arasındaki inert davranışı doğrulamışlardır [156]. Ancak, 48 saati aşan uzun inkübasyon sürelerinde bazı polimerlerde şişme gibi boyutsal değişime yol açabilecek morfolojik bozulmalar tespit etmişlerdir. Mevcut tez çalışmasında, 85 °C gibi yüksek bir sıcaklık kullanılmasına rağmen inkübasyon süresinin 2-4 saat ile sınırlı tutulması sayesinde, optik mikroskopla

yapılan incelemelerde bu tür bir hasar gözlemlenmemiştir (Şekil 4.13). HCl çözeltisi ile yapılan muamelede ise MP'lerin genel formunun ve dış hatlarının korunduğu, parçalanma gibi büyük morfolojik hasarların oluşmadığı görülmüştür (Şekil 4.13). Yüzeyde meydana gelen opaklaşma, detaylı bir yüzey incelemesine olanak tanımasa da, partiküllerin genel bütünlüğünün korunduğu tespit edilmiştir. Bu anlamda tüm çözeltiler MP analizi için uygun görünse de sindirim çözeltilerinin MP'lerin NK ile boyanma sürecini etkilediği tespit edilmiştir.

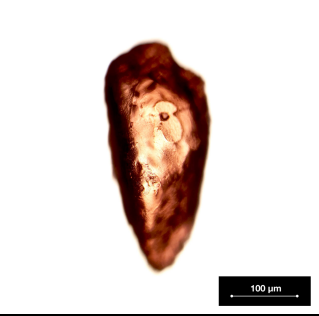
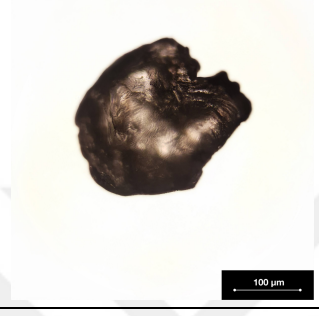
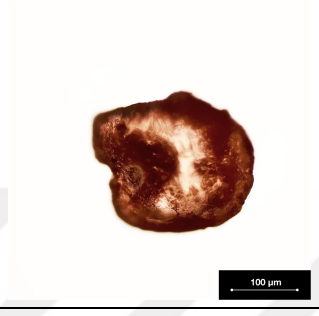
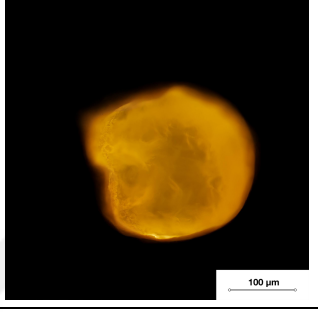
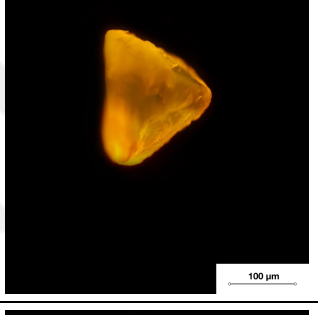
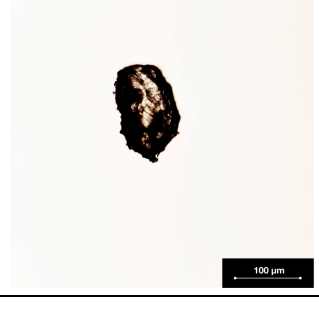
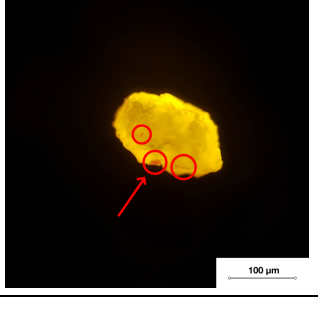
Partiküllerin, %5 KOH ve %10 KOH içeren çözeltilerde boyanması kontrole benzer biçimde (şekil 4.12) homojen olarak gerçekleşmiştir (şekil 4.13). Bu doğrultuda %5 KOH çözeltisi ile 85 °C'de 2 saat parametresinin NM sindiriminde ve %10 KOH çözeltisi ile 85 °C'de 4 saat parametresinin YM sindiriminde kullanılması uygun bulunmuştur.



Şekil 4.12. Nil kırmızısı ile boyanan örneklerin boyama öncesi (A) ve boyama sonrası (B) ışık mikroskobu yüzey görüntüleri.

Boyama aşaması sonunda, %10 HCl içeren çözeltide, kontrol ve KOH çözeltilerine kıyasla görünür ışıktaki daha opak bir renk gözlemlenmiştir (şekil 4.13). UV ışık altında ise floresans ışımaya renginin diğer çözeltilerden farklı olduğu ve boyamanın homojen gerçekleşmediği görülmüştür. Lokal boya kristalleri partikül yüzeyinde seçilebilmektedir (şekil 4.13). Literatür, aromatik yapıların güçlü asitlerle muamele edildiğinde

protonlanarak polar bir karakter kazandığını ortaya koymaktadır [157]. Benzer şekilde, NK boyasının da protonlanmış yüzeylerde farklı floresans özellikleri sergilediği bilinmektedir [158]. Bu doğrultuda, çalışmamızda kullanılan PS yüzeyindeki aromatik halkaların asidik işlemle protonlanmasının NK boyasının karakteristik davranışını değiştirdiği düşünülmektedir. NK boyasının bu atipik davranışı ve sonuç olarak ortaya çıkan heterojen boyanma, HCl ile sindirim yöntemini özellikle görsel analiz yaklaşımları açısından uygunsuz kılmaktadır. Nitekim, analiz süreçlerini hızlandırmak ve araştırmacı yanlışlığını azaltmak amacıyla, otomatik veya yarı-otomatik görüntü analiz sistemleri, floresans mikroskopi görüntülerinden MP'lerin sayımı ve boyutlandırılması literatürde giderek yaygınlaşan bir yaklaşımdır [126-129]. Bu sistemlerin doğruluğu ise partiküllerin homojen bir şekilde boyanmasına ve yazılımda tutarlı renk/yoğunluk eşikleri ayarlanabilmesine kritik derecede bağlı olduğundan [125], HCl muamelesi sonrası gözlemlenen bu durum, otomasyona dayalı analizlerde doğrudan hatalı sonuçlara yol açma riski taşımaktadır. Bu durum, HCl protokolünün sadece bu çalışma için değil, aynı zamanda gelecekteki yüksek verimli analiz yaklaşımları için de uygun olmadığını göstermektedir. Bu sebeple çalışma kapsamında denenen parametreler için asit sindiriminin NM'den PS MP izolasyonunda uygun bir sindirim metodu olmadığına karar verilmiştir.

	Sindirim Öncesi Görünür Işık	Sindirim Sonrası Görünür Işık	Sindirim Sonrası UV (365 nm) Işık
SU (Kontrol)			
%5 KOH			
%10 KOH			
%10 HCl			

Şekil 4.13. Farklı sindirim parametrelerine maruz bırakılmış PS MP'lerin sindirim öncesi görünür ışıktaki, sindirim sonrası görünür ışıktaki ve sindirim sonrası UV (365nm) ışıktaki görüntüleri.

4.3. Gıda Model Matrisinden MP İzolasyonu ve Sayımı

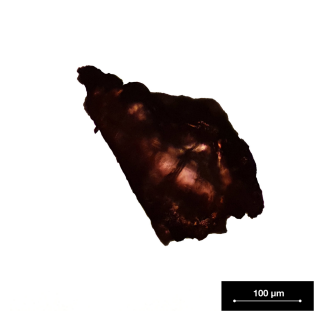
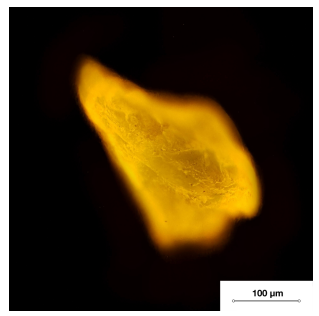
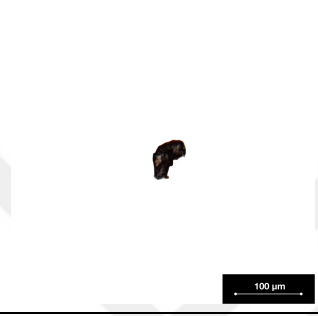
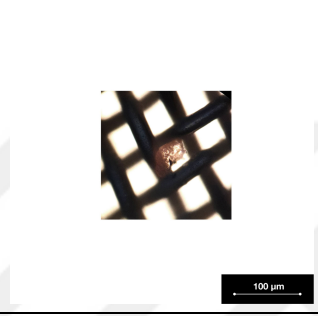
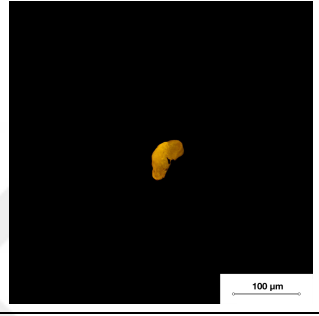
Gıda modelinin varlığında gerçekleştirilen MP izolasyonu ve sayımı deneylerinde NM için %5 KOH 85 °C’de 2 saat (n=4) ve YM için %10 KOH 85 °C’de 4 saat (n=4) parametreleri kullanılmıştır. Tüp içerisine eklenmeden önce PS MP’lerin kalibrasyon lamı üzerinde sayısı ve yaklaşık boyutları belirlenmiştir. Analizin son aşamasında filtre üzerindeki boyanmış PS MP’lerin sayısı ve yaklaşık boyutları ile karşılaştırılarak geri kazanım oranı hesaplanmıştır. Boyutlar <250 µm ve >250 µm olarak değerlendirilmiştir.

Gerçekleştirilen negatif kontrollerde (n=3) alt sınır olan 40 µm’ye yakın boyutlarda tüp başına ortalama 1.7 ± 0.58 partikül tespit edilmiştir.

Normal model (NM) matrisinde gerçekleştirilen PS MP izolasyonu ve sayımı analizi sonucunda, toplam geri kazanım oranı ortalama 97.4 ± 9.9 olarak hesaplanmıştır. Partikül boyut fraksiyonları incelendiğinde, 250-560 µm aralığı için geri kazanım oranı 97.7 ± 4.5 olarak tespit edilirken, 40-250 µm aralığında bu oranın 109.5 ± 15.1 ’e ulaştığı görülmüştür (Çizelge 4.1). Her iki boyut grubuna ait MP’ler yöntemde başarılı biçimde yakalanabilmiştir (şekil 4.14).

Çizelge 4.1. Normal model (NM) içerisinden izole edilerek sayılan PS MP’lerin boyut aralığına göre geri kazanım oranları. A: Tüp içine başta koyulan PS MP, B: Filtre yüzeyindeki PS MP, GK: Geri Kazanım

NM	A <250µm	A >250µm	B <250µm	B >250µm	GK (%) <250µm	GK (%) >250µm	GK (%) Toplam
1	4	12	3	12	75	100	93.8
2	7	12	8	12	114.3	100	105.3
3	9	11	8	9	88.9	81.8	85.0
4	10	8	11	8	110	100	105.6
Ortalama Geri Kazanım (%)					109.5±15.1	97.7±4.5	101.8±7.9

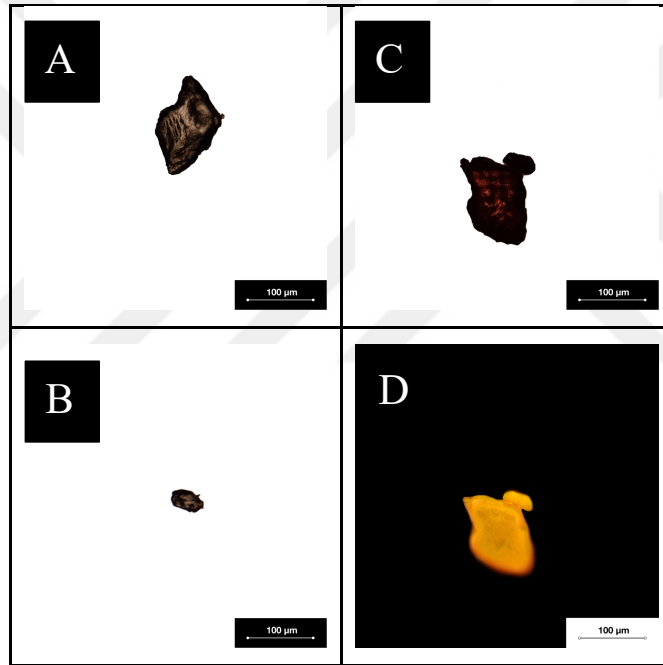
	Sindirim Öncesi Görünür Işık	Sindirim Sonrası Görünür Işık	Sindirim Sonrası UV (365 nm) Işık
>250 µm			
<250 µm			

Şekil 4.14. NM matrisinden izole edilen farklı boyut grubundan MP'lerin sindirim öncesi görünür ışıktaki, sindirim sonrası görünür ışıktaki ve sindirim sonrası UV (365nm) ışıktaki görüntüleri.

YM matrisinde yürütülen analizler sonucunda, toplam geri kazanım oranı ortalama 107.6 ± 3.9 gibi yüksek bir değerde hesaplanmıştır. Boyut fraksiyonları temelinde, 250-560 µm aralığındaki büyük partiküller için %100'lük tam bir geri kazanım sağlanırken, 40-250 µm aralığındaki daha küçük partiküller için bu oranın 119.4 ± 10.6 olarak ölçüldüğü görülmüştür (Çizelge 4.2). Her iki boyut grubuna ait MP'ler yöntemde başarılı biçimde yakalanabilmiştir (şekil 4.15).

Çizelge 4.2. Yağlı model (YM) içerisinde izole edilerek sayılan PS MP'lerin boyut aralığına göre geri kazanım oranları. A: Tüp içine başta koyulan PS MP, B: Filtre yüzeyindeki PS MP, GK: Geri Kazanım

YM	A <250µm	A >250µm	B <250µm	B >250µm	GK (%) <250µm	GK (%) >250µm	GK (%) Toplam
1	13	8	14	8	107.7	100.0	104.8
2	6	9	8	9	133.3	100.0	113.3
3	5	11	6	11	120.0	100.0	106.3
4	6	11	7	11	116.7	100.0	105.9
Ortalama Geri Kazanım (%)					119.4±10.6	100.0±0.0	107.6±3.9



Şekil 4.15. YM matrisinden izole edilen farklı boyut grubundan MP'ler. A) sindirim öncesi görünür ışıktaki >250 µm, B) sindirim öncesi görünür ışıktaki <250 µm, C) sindirim sonrası görünür ışıktaki >250 µm ve <250 µm bir arada, D) sindirim sonrası UV (365 nm) ışıktaki >250 µm ve <250 µm bir arada.

Tezin son aşamasında elde edilen geri kazanım oranı sonuçları, farklı gıda matrisleri ve partikül boyutlarının analiz doğruluğu üzerindeki etkileşimini ortaya koyan önemli bulgular sunmuştur. Her iki gıda modelinde de küçük partikül (<250 µm) fraksiyonu için hesaplanan geri kazanım oranlarının %100'ü aşması (NM için %109.5 ± 15.1, YM için %119.4 ± 10.6), MP araştırmalarının en temel zorluklarından biri olan [159] laboratuvar

kaynaklı arka plan kontaminasyonuna işaret etmektedir. Nitekim, negatif kontrol deneylerinde tespit edilen ve boyutları bu fraksiyonla örtüşen dış kaynaklı MP'lerin, başlangıçta eklenen partikül sayısında yapay bir artışa neden olarak geri kazanım oranını matematiksel olarak %100'ün üzerine çıkarttığı düşünülmektedir.

Daha büyük partikül (>250 µm) grupları arasındaki fark ise yöntemin matrisle olan etkileşimini gözler önüne sermektedir. Normal diyeti yansıtan, protein, karbonhidrat, yağ ve tuz gibi farklı bileşenleri içeren NM'de, geri kazanımın 97.7 ± 4.5 gibi %100'ün hemen altında kalması, partiküller arası aglomerasyon davranışı ile açıklanabilir. Analiz sırasında birden fazla partikülün birbirine yapışarak tek bir küme oluşturması, mikroskopik sayım esnasında bunların tek bir partikül olarak algılanmasına ve dolayısıyla eksik sayıma yol açarak geri kazanım oranını matematiksel olarak düşürmektedir. Buna karşın, %100 yağ içeren YM için aynı boyuttaki partiküllerde %100'lük mükemmel bir geri kazanım oranına ulaşılmıştır. YM'in %10'luk KOH çözeltisiyle sindirimi sırasında meydana gelen sabunlaşma reaksiyonu sonucu ortamda oluşan sabun benzeri moleküllerin [70], yüzey aktif bir etki yaratarak partikül yüzeylerini kapladığı ve aralarındaki çekim kuvvetlerini azaltarak aglomerasyonu engellediği düşünülmektedir. Bu sonuçlar, gıda matrisinin kimyasal kompozisyonunun analitik sonuçları doğrudan etkilediğini ve metot standardizasyonunda matris farklılıklarının dikkate alınmasının kritik bir gereklilik olduğunu göstermektedir.

5. YORUM

Mikroplastikler (MP), son yıllarda hem çevresel kalıcılıkları hem de gıda zincirine dahil olarak insan sağlığı için oluşturdukları potansiyel riskler nedeniyle küresel bir endişe kaynağı haline gelmiştir. Bu parçacıkların toksik etkileri, yalnızca kendi kimyasal yapılarından değil, aynı zamanda yüzeylerinde taşıdıkları pestisitler, ağır metaller veya zararlı mikroorganizmalar gibi kirleticilerden de kaynaklanmaktadır. İnsanlar bu maruziyete büyük ölçüde kontamine olmuş gıdaların tüketimi yoluyla uğramaktadır. Ancak gıdalardaki MP kirliliğinin boyutunu ve riskini doğru bir şekilde belirlemeyi zorlaştıran en temel sorun, evrensel olarak kabul görmüş, standartlaşmış bir analiz metodunun bulunmamasıdır. Özellikle Türkiye'de, Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından hazırlatılan bilimsel görüşün de işaret ettiği gibi, gıda matrislerine odaklanan sistematik metodolojik çalışmalar oldukça sınırlıdır [160]. Bu tez çalışması, literatürdeki bu kritik boşluğu doldurmak amacıyla, farklı gıda matrislerinden MP'lerin izolasyonu ve tespiti için sistematik, hızlı ve etkin bir ön işlem metodolojisi geliştirmeyi ve doğrulamayı hedeflemiştir.

Bu kapsamda, tez çalışması çok adımlı sistematik bir yaklaşımla yürütülmüştür. İlk olarak, doğadaki ikincil MP'lerin heterojen morfolojisini taklit eden polistiren (PS) partiküller laboratuvar ortamında üretilmiş ve karakterize edilmiştir. Ardından, MP analizlerinde yaygın olarak kullanılan kimyasal sindirim yöntemi; iki farklı kimyasal (KOH ve HCl), iki farklı konsantrasyon, üç farklı sıcaklık ve beş farklı süre parametresi kullanılarak normal (NM) ve yüksek yağlı (YM) olmak üzere iki temel gıda modelinde sistematik olarak test edilmiştir. Çalışmanın en kritik adımlarından biri, sindirim verimliliği yüksek bulunan protokollerin, hedef MP'lerin morfolojisine ve daha da önemlisi, sonraki analiz adımı olan Nil Kırmızısı (NK) ile boyanma performansına olan etkisinin incelenmesi olmuştur. Son olarak, optimize edilen yöntemlerin güvenilirliği, gıda modellerine eklenmiş MP'lerin geri kazanım oranları hesaplanarak doğrulanmıştır. Bu bütüncül yaklaşım, yalnızca bir metot sunmakla kalmayıp, metot geliştirme sürecinin kendisini de detaylı bir şekilde ortaya koymaktadır.

Çalışmanın en önemli bulgularından biri, literatürde yaygın olarak 24-48 saat gibi uzun süreler gerektiren kimyasal sindirim işlemlerinin [102, 108, 109], sıcaklık optimizasyonu

ile önemli ölçüde hızlandırılabilceğinin gösterilmesidir. Bu tezde, 85°C gibi yüksek bir sıcaklıkta KOH kullanılarak, normal model (NM) için 2 saatte, yüksek yağlı model (YM) için ise 4 saatte %95'in üzerinde sindirim verimine ulaşılmıştır. Ayrıca bu hızlandırılmış koşulların, incelenen 40-560 µm boyut aralığındaki PS partiküllerinin morfolojisi üzerinde mikroskopla tespit edilebilir belirgin bir hasar yaratmadığı doğrulanmıştır. Bu sonuç, analiz süresini dramatik şekilde kısaltarak yöntemin pratikliğini ve verimliliğini artıran önemli bir adımdır. Bir diğer kritik bulgu ise, asit (HCl) ile sindirimin, PS MP'lerinin analizi için seçilen floresans mikroskopi iş akışıyla uyumsuz olduğunun tespit edilmesidir. Her ne kadar HCl ile sindirim hızlı olsa da, PS yüzeyinin kimyasal yapısını değiştirerek NK boyasının homojen bağlanmasını engellediği ve floresan özelliklerini bozduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgu, MP analizlerinde ön işlem seçilirken, işlemin sadece sindirim verimine değil, aynı zamanda sonraki tespit tekniğinin performansına olan etkisinin de mutlaka değerlendirilmesi gerektiğini açıkça ortaya koymaktadır.

Geliştirilen ön işlem protokollerinin etkinliğinin nihai testi, bilinen miktarda MP içeren gıda modellerinden partiküllerin ne ölçüde geri kazanılabildiğinin belirlenmesidir. Metot doğrulama aşamasında, optimize edilen KOH bazlı protokollerin hem normal (97.4 ± 9.9) hem de yüksek yağlı (107.6 ± 3.9) modeller için yüksek geri kazanım oranları sağladığı görülmüştür. MP analizlerinin en temel zorluklarından biri olan laboratuvar kaynaklı arka plan kirliliği, bu çalışmada negatif kontrollerle titizlikle takip edilmiştir. Özellikle küçük partikül (<250 µm) gruplarında gözlemlenen %100'ün üzerindeki geri kazanım oranlarının, bu kirlilikten kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu tez çalışması, PS MP'lerinin kompleks gıda matrislerinden izolasyonu ve mikroskobik analizi için hızlı ve yüksek verimli bir protokol sunmaktadır. Yüksek sıcaklıkta kimyasal sindirimin etkinliğini göstermesi ve asit sindiriminin NK ile boyama üzerindeki olumsuz etkisini belirlemesi, çalışmanın literatüre yaptığı özgün katkılar olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmada geliştirilen ve etkinliği gösterilen metodolojinin, gelecekteki çalışmalar için bir başlangıç noktası oluşturabileceği düşünülmektedir. Önerilen protokolün PE, PP ve PET gibi diğer yaygın polimer türleri için de test edilmesi, yöntemin uygulama alanını genişletme potansiyeli taşımaktadır. Takiben, bu metodolojinin Türkiye pazarındaki ticari gıda ürünlerine uygulanmasıyla,

ülkedeeki gıda kaynaklı MP kirliliğinin boyutunun haritalandırılması ve risk değeriendirmeleri için kritik öneme sahip verilerin üretilmesi hedeflenmektedir.



6. KAYNAKLAR

- [1] WHO, *Dietary and inhalation exposure to nano- and microplastic particles and potential implications for human health*, World Health Organization, **2022**.
- [2] Hopewell, J., R. Dvorak, ve E. Kosior, *Plastics recycling: challenges and opportunities*. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 364(1526): p. 2115-2126, **2009**.
- [3] Grande, D., ve ark., *Synthesis and Characterization of Thermosetting Polymers: An Electrospinning Approach*, in *Advances in Nanofiber Research - Properties and Uses*, S. Ameen, M.S. Akhtar, and I. Kong, Editors, IntechOpen: Rijeka, **2024**.
- [4] Ratna, D., *Chapter 1 - Chemistry and general applications of thermoset resins*, in *Recent Advances and Applications of Thermoset Resins (Second Edition)*, D. Ratna, Editor, Elsevier. p. 1-172, **2022**.
- [5] Singh, N., ve ark., *Recycling of plastic solid waste: A state of art review and future applications*. Composites Part B: Engineering. 115: p. 409-422, **2017**.
- [6] Andrady, A.L. ve M.A. Neal, *Applications and societal benefits of plastics*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 364(1526): p. 1977-84, **2009**.
- [7] Chen, Y., ve ark., *Single-use plastics: Production, usage, disposal, and adverse impacts*. Science of The Total Environment. 752: p. 141772, **2021**.
- [8] Piergiovanni, L. and S. Limbo, *Plastic Packaging Materials*, in *Food Packaging Materials*, L. Piergiovanni and S. Limbo, Editors, Springer International Publishing: Cham. p. 33-49, **2016**.
- [9] Mnyango, J.I. and S.P. Hlangothi, *Polyvinyl chloride applications along with methods for managing its end-of-life items: A review*. Progress in Rubber, Plastics and Recycling Technology: p. 14777606241308652, **2024**.
- [10] Park, S.-J. ve M.-K. Seo, *Chapter 6 - Element and Processing*, in *Interface Science and Technology*, S.-J. Park and M.-K. Seo, Editors, Elsevier. p. 431-499, **2011**.
- [11] Gao, Z., K. Wontor, ve J.V. Cizdziel, *Labeling Microplastics with Fluorescent Dyes for Detection, Recovery, and Degradation Experiments*. Molecules. 27(21): p. 7415, **2022**.
- [12] Geyer, R., J.R. Jambeck, ve K.L. Law, *Production, use, and fate of all plastics ever made*. Science Advances. 3(7): p. e1700782, **2017**.

- [13] Nayanathara Thathsarani Pilapitiya, P.G.C. ve A.S. Ratnayake, *The world of plastic waste: A review*. Cleaner Materials. 11: p. 100220, **2024**.
- [14] Bui, X.-T., ve ark., *Microplastics pollution in wastewater: Characteristics, occurrence and removal technologies*. Environmental Technology & Innovation. 19: p. 101013, **2020**.
- [15] Zhang, K., ve ark., *Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment: A review*. Environmental Pollution. 274: p. 116554, **2021**.
- [16] Schmid, C., L. Cozzarini, ve E. Zambello, *Microplastic's story*. Marine Pollution Bulletin. 162: p. 111820, **2021**.
- [17] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), *Presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood*. EFSA Journal. 14(6): p. e04501, **2016**.
- [18] Boucher, J. ve D. Friot, *Primary Microplastics in the Oceans: A Global Evaluation of Sources*. **2017**.
- [19] Kukkola, A., ve ark., *Beyond microbeads: Examining the role of cosmetics in microplastic pollution and spotlighting unanswered questions*. Journal of Hazardous Materials. 476: p. 135053, **2024**.
- [20] Eerkes-Medrano, D., R.C. Thompson, ve D.C. Aldridge, *Microplastics in freshwater systems: A review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs*. Water Research. 75: p. 63-82, **2015**.
- [21] Lassen, C., ve ark., *Microplastics: Occurrence, effects and sources of releases to the environment in Denmark*. **2015**.
- [22] Singh, B. ve N. Sharma, *Mechanistic implications of plastic degradation*. Polymer Degradation and Stability. 93(3): p. 561-584, **2008**.
- [23] Feldman, D., *Polymer Weathering: Photo-Oxidation*. Journal of Polymers and the Environment. 10(4): p. 163-173, **2002**.
- [24] Xu, Y., ve ark., *Photo-oxidation of Micro- and Nanoplastics: Physical, Chemical, and Biological Effects in Environments*. Environmental Science & Technology. 58(2): p. 991-1009, **2024**.
- [25] Kamweru, P.K., ve ark., *Study of Temperature and UV Wavelength Range Effects on Degradation of Photo-Irradiated Polyethylene Films Using DMA*. Journal of Macromolecular Science, Part B. 50(7): p. 1338-1349, **2011**.

- [26] Lin, Z., ve ark., *Current progress on plastic/microplastic degradation: Fact influences and mechanism*. Environmental Pollution. 304: p. 119159, **2022**.
- [27] Liu, G., ve ark., *Sorption behavior and mechanism of hydrophilic organic chemicals to virgin and aged microplastics in freshwater and seawater*. Environmental Pollution. 246: p. 26-33, **2019**.
- [28] Song, Y.K., ve ark., *Combined Effects of UV Exposure Duration and Mechanical Abrasion on Microplastic Fragmentation by Polymer Type*. Environmental Science & Technology. 51(8): p. 4368-4376, **2017**.
- [29] Chigwada, A.D. ve M. Tekere, *The plastic and microplastic waste menace and bacterial biodegradation for sustainable environmental clean-up a review*. Environmental Research. 231: p. 116110, **2023**.
- [30] Alimi, O.S., ve ark., *Microplastics and Nanoplastics in Aquatic Environments: Aggregation, Deposition, and Enhanced Contaminant Transport*. Environmental Science & Technology. 52(4): p. 1704-1724, **2018**.
- [31] Acharya, S., ve ark., *Microfibers from synthetic textiles as a major source of microplastics in the environment: A review*. Textile Research Journal. 91(17-18): p. 2136-2156, **2021**.
- [32] Shi, H., ve ark., *Small plastic fragments: A bridge between large plastic debris and micro- & nano-plastics*. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 168: p. 117308, **2023**.
- [33] Wang, L., ve ark., *Rapid Generation of Microplastics and Plastic-Derived Dissolved Organic Matter from Food Packaging Films under Simulated Aging Conditions*. Environmental Science & Technology. 58(45): p. 20147-20159, **2024**.
- [34] Gliaudelytė, U., M. Persson, ve V. Daukantienė, *Impact of textile composition, structure, and treatment on microplastic release during washing: a review*. Textile Research Journal. 95(1-2): p. 220-232, **2025**.
- [35] Kuroda, M., ve ark., *Abundance and potential sources of floating polystyrene foam macro- and microplastics around Japan*. Science of The Total Environment. 925: p. 171421, **2024**.
- [36] Turner, A., C. Ostle, ve M. Wootton, *Occurrence and chemical characteristics of microplastic paint flakes in the North Atlantic Ocean*. Science of The Total Environment. 806: p. 150375, **2022**.

- [37] Cole, M., ve ark., *Microplastics as contaminants in the marine environment: A review*. Marine Pollution Bulletin. 62(12): p. 2588-2597, **2011**.
- [38] Li, Y., ve ark., *Microplastics in the human body: A comprehensive review of exposure, distribution, migration mechanisms, and toxicity*. Science of The Total Environment. 946: p. 174215, **2024**.
- [39] Prata, J.C., ve ark., *Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects*. Science of The Total Environment. 702: p. 134455, **2020**.
- [40] Wick, P., ve ark., *Barrier Capacity of Human Placenta for Nanosized Materials*. Environmental Health Perspectives. 118(3): p. 432-436, **2010**.
- [41] Ragusa, A., ve ark., *Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta*. Environment International. 146: p. 106274, **2021**.
- [42] Revel, M., A. Châtel, ve C. Mouneyrac, *Micro(nano)plastics: A threat to human health?* Current Opinion in Environmental Science & Health. 1: p. 17-23, **2018**.
- [43] Hua, X. and D. Wang, *Cellular Uptake, Transport, and Organelle Response After Exposure to Microplastics and Nanoplastics: Current Knowledge and Perspectives for Environmental and Health Risks*. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. 260(1): p. 12, **2022**.
- [44] Osman, A.I., ve ark., *Microplastic sources, formation, toxicity and remediation: a review*. Environmental Chemistry Letters. 21(4): p. 2129-2169, **2023**.
- [45] Leslie, H.A., ve ark., *Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood*. Environment International. 163: p. 107199, **2022**.
- [46] Kopatz, V., ve ark., *Micro- and Nanoplastics Breach the Blood–Brain Barrier (BBB): Biomolecular Corona’s Role Revealed*. Nanomaterials. 13(8): p. 1404, **2023**.
- [47] Zhao, Q., ve ark., *Detection and characterization of microplastics in the human testis and semen*. Science of The Total Environment. 877: p. 162713, **2023**.
- [48] Ragusa, A., ve ark., *Raman Microspectroscopy Detection and Characterisation of Microplastics in Human Breastmilk*. Polymers. 14(13): p. 2700, **2022**.
- [49] Liu, W., ve ark., *Toxicological effects of micro/nano-plastics on mouse/rat models: a systematic review and meta-analysis*. Frontiers in Public Health. Volume 11 - 2023**2023**.

- [50] La Porta, E., ve ark., *Microplastics and Kidneys: An Update on the Evidence for Deposition of Plastic Microparticles in Human Organs, Tissues and Fluids and Renal Toxicity Concern*. Int J Mol Sci. 24(18)**2023**.
- [51] Yang, Q., ve ark., *Microplastics in human skeletal tissues: Presence, distribution and health implications*. Environment International. 196: p. 109316, **2025**.
- [52] Lithner, D., Å. Larsson, ve G. Dave, *Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition*. Science of The Total Environment. 409(18): p. 3309-3324, **2011**.
- [53] Zhang, Y., ve ark., *Role of Residual Monomers in the Manifestation of (Cyto)toxicity by Polystyrene Microplastic Model Particles*. Environmental Science & Technology. 57(27): p. 9925-9933, **2023**.
- [54] Ighalo, J.O., ve ark., *Bisphenol A (BPA) toxicity assessment and insights into current remediation strategies*. RSC Advances. 14(47): p. 35128-35162, **2024**.
- [55] Michałowicz, J., *Bisphenol A – Sources, toxicity and biotransformation*. Environmental Toxicology and Pharmacology. 37(2): p. 738-758, **2014**.
- [56] EU, Plastic Materials and Articles Intended to Come Into Contact with Food **2011**
- [57] FDA, Bisphenol A (BPA): Use in Food Contact Application, **2014**
- [58] EU, European Commission Regulation (EU) 2024/3190, **2024**
- [59] EFSA Panel on Food Contact Materials, E., ve ark., *Identification and prioritisation for risk assessment of phthalates, structurally similar substances and replacement substances potentially used as plasticisers in materials and articles intended to come into contact with food*. EFSA Journal. 20(5): p. e07231, **2022**.
- [60] Hyman, S., ve ark., *Phthalate exposure from plastics and cardiovascular disease: global estimates of attributable mortality and years life lost*. eBioMedicine, **2025**.
- [61] Prakash Ranjan, V., ve ark., *From cosmetics to Contamination: Microplastics in personal care products as vectors for chromium in aquatic environments*. Waste Management Bulletin. 2(3): p. 229-240, **2024**.
- [62] Bao, X., ve ark., *Microplastics derived from plastic mulch films and their carrier function effect on the environmental risk of pesticides*. Science of The Total Environment. 924: p. 171472, **2024**.

- [63] Metcalf, R., ve ark., *Quantifying the importance of plastic pollution for the dissemination of human pathogens: The challenges of choosing an appropriate 'control' material*. Science of The Total Environment. 810: p. 152292, **2022**.
- [64] Audrézet, F., ve ark., *Biosecurity implications of drifting marine plastic debris: Current knowledge and future research*. Marine Pollution Bulletin. 162: p. 111835, **2021**.
- [65] Li, L., ve ark., *Effective uptake of submicrometre plastics by crop plants via a crack-entry mode*. Nature Sustainability. 3(11): p. 929-937, **2020**.
- [66] Dessì, C., ve ark., *Plastics contamination of store-bought rice*. Journal of Hazardous Materials. 416: p. 125778, **2021**.
- [67] Mercogliano, R., ve ark., *Occurrence of Microplastics in Commercial Seafood under the Perspective of the Human Food Chain. A Review*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 68(19): p. 5296-5301, **2020**.
- [68] Danopoulos, E., ve ark., *Microplastic Contamination of Seafood Intended for Human Consumption: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Environmental Health Perspectives. 128(12): p. 126002, **2020**.
- [69] Li, J., ve ark., *Microplastics in mussels along the coastal waters of China*. Environmental Pollution. 214: p. 177-184, **2016**.
- [70] Lopes, C., ve ark., *Microplastic distribution in different tissues of small pelagic fish of the Northeast Atlantic Ocean*. Science of The Total Environment. 901: p. 166050, **2023**.
- [71] Su, L., ve ark., *The occurrence of microplastic in specific organs in commercially caught fishes from coast and estuary area of east China*. Journal of Hazardous Materials. 365: p. 716-724, **2019**.
- [72] I. van der Veen, L.v.M., MJM van Velzen , Q.R. Groenewoud, H.A. Leslie, *Plastic Particles in Livestock Feed, Milk, Meat and Blood - A Pilot Study*. 2022, Department of Environment & Health, Vrije Universiteit Amsterdam.
- [73] Liu, Q., ve ark., *Microplastics contamination in eggs: Detection, occurrence and status*. Food Chemistry. 397: p. 133771, **2022**.
- [74] van Emmerik, T. and A. Schwarz, *Plastic debris in rivers*. WIREs Water. 7(1): p. e1398, **2020**.

- [75] Gündoğdu, S., ve ark., *How microplastics quantities increase with flood events? An example from Mersin Bay NE Levantine coast of Turkey*. Environmental Pollution. 239: p. 342-350, **2018**.
- [76] Dehghani, S., F. Moore, and R. Akhbarizadeh, *Microplastic pollution in deposited urban dust, Tehran metropolis, Iran*. Environmental Science and Pollution Research. 24(25): p. 20360-20371, **2017**.
- [77] Murphy, F., ve ark., *Wastewater Treatment Works (WwTW) as a Source of Microplastics in the Aquatic Environment*. Environmental Science & Technology. 50(11): p. 5800-5808, **2016**.
- [78] WHO, *Microplastics in Drinking-Water*, World Health Organization, **2019**
- [79] Toussaint, B., ve ark., *Review of micro- and nanoplastic contamination in the food chain*. Food Additives & Contaminants: Part A. 36(5): p. 639-673, **2019**.
- [80] Rainieri, S. and A. Barranco, *Microplastics, a food safety issue?* Trends in Food Science & Technology. 84: p. 55-57, **2019**.
- [81] Fadare, O.O., ve ark., *Microplastics from consumer plastic food containers: Are we consuming it?* Chemosphere. 253: p. 126787, **2020**.
- [82] Du, F., ve ark., *Microplastics in take-out food containers*. Journal of Hazardous Materials. 399: p. 122969, **2020**.
- [83] Hu, J.-L., ve ark., *Analysis of microplastics released from plastic take-out food containers based on thermal properties and morphology study*. Food Additives & Contaminants: Part A. 40(2): p. 305-318, **2023**.
- [84] Caponigro, V., ve ark., *Evaluating microplastic emission from takeaway containers: A Micro-Raman approach across diverse exposure scenarios*. Food Chemistry. 464: p. 141716, **2025**.
- [85] Marazuela, M.D., ve ark., *Safety assessment of commercial antimicrobial food packaging: Triclosan and microplastics, a closer look*. Food Packaging and Shelf Life. 31: p. 100780, **2022**.
- [86] Dris, R., ve ark., *Synthetic fibers in atmospheric fallout: A source of microplastics in the environment?* Marine Pollution Bulletin. 104(1): p. 290-293, **2016**.
- [87] Allen, S., ve ark., *Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment*. Nature Geoscience. 12(5): p. 339-344, **2019**.

- [88] Su, L., ve ark., *Temporal and spatial variations of microplastics in roadside dust from rural and urban Victoria, Australia: Implications for diffuse pollution*. Chemosphere. 252: p. 126567, **2020**.
- [89] Dris, R., ve ark., *A first overview of textile fibers, including microplastics, in indoor and outdoor environments*. Environmental Pollution. 221: p. 453-458, **2017**.
- [90] Mani, T., ve ark., *Microplastics profile along the Rhine River*. Scientific Reports. 5(1): p. 17988, **2015**.
- [91] Baini, M., ve ark., *Abundance and characterization of microplastics in the coastal waters of Tuscany (Italy): The application of the MSFD monitoring protocol in the Mediterranean Sea*. Marine Pollution Bulletin. 133: p. 543-552, **2018**.
- [92] Ter Halle, A., ve ark., *Nanoplastic in the North Atlantic Subtropical Gyre*. Environmental Science & Technology. 51(23): p. 13689-13697, **2017**.
- [93] Corti, A., ve ark., *Thorough Multianalytical Characterization and Quantification of Micro- and Nanoplastics from Bracciano Lake's Sediments*. Sustainability. 12(3): p. 878, **2020**.
- [94] Kedzierski, M., ve ark., *Microplastic contamination of packaged meat: Occurrence and associated risks*. Food Packaging and Shelf Life. 24: p. 100489, **2020**.
- [95] Hernandez, L.M., ve ark., *Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea*. Environmental Science & Technology. 53(21): p. 12300-12310, **2019**.
- [96] Li, J., ve ark., *Microplastics in mussels sampled from coastal waters and supermarkets in the United Kingdom*. Environmental Pollution. 241: p. 35-44, **2018**.
- [97] Catarino, A.I., ve ark., *Development and optimization of a standard method for extraction of microplastics in mussels by enzyme digestion of soft tissues*. Environmental Toxicology and Chemistry. 36(4): p. 947-951, **2016**.
- [98] De Witte, B., ve ark., *Quality assessment of the blue mussel (Mytilus edulis): Comparison between commercial and wild types*. Marine Pollution Bulletin. 85(1): p. 146-155, **2014**.
- [99] Van Cauwenberghe, L. and C.R. Janssen, *Microplastics in bivalves cultured for human consumption*. Environmental Pollution. 193: p. 65-70, **2014**.

- [100] Hurley, R.R., ve ark., *Validation of a Method for Extracting Microplastics from Complex, Organic-Rich, Environmental Matrices*. Environmental Science & Technology. 52(13): p. 7409-7417, **2018**.
- [101] Wagner, J., ve ark., *Novel method for the extraction and identification of microplastics in ocean trawl and fish gut matrices*. Analytical Methods. 9(9): p. 1479-1490, **2017**.
- [102] Karami, A., ve ark., *A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish*. Science of The Total Environment. 578: p. 485-494, **2017**.
- [103] Cole, M., ve ark., *Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms*. Scientific Reports. 4(1): p. 4528, **2014**.
- [104] Scheurer, M. and M. Bigalke, *Microplastics in Swiss Floodplain Soils*. Environmental Science & Technology. 52(6): p. 3591-3598, **2018**.
- [105] Waddell, E.N., *Development and Use of a Tissue-destruction Method to Extract Microplastics in Blue Crabs (Callinectes sapidus)*. 2018, Texas A&M University - Corpus Christi: United States -- Texas. p. 55.
- [106] Nel, H.A., T. Dalu, and R.J. Wasserman, *Sinks and sources: Assessing microplastic abundance in river sediment and deposit feeders in an Austral temperate urban river system*. Science of The Total Environment. 612: p. 950-956, **2018**.
- [107] Devriese, L.I., ve ark., *Microplastic contamination in brown shrimp (Crangon crangon, Linnaeus 1758) from coastal waters of the Southern North Sea and Channel area*. Marine Pollution Bulletin. 98(1): p. 179-187, **2015**.
- [108] Kühn, S., ve ark., *The use of potassium hydroxide (KOH) solution as a suitable approach to isolate plastics ingested by marine organisms*. Marine Pollution Bulletin. 115(1): p. 86-90, **2017**.
- [109] Dehaut, A., ve ark., *Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization*. Environmental Pollution. 215: p. 223-233, **2016**.
- [110] Enders, K., ve ark., *Extraction of microplastic from biota: recommended acidic digestion destroys common plastic polymers*. ICES Journal of Marine Science. 74(1): p. 326-331, **2016**.
- [111] Grigorescu, R., ve ark., *Waste Electrical and Electronic Equipment: A Review on the Identification Methods for Polymeric Materials*. Recycling. 4: p. 32, **2019**.

- [112] Greene, J.P., 3 - *Microstructures of Polymers*, in *Automotive Plastics and Composites*, J.P. Greene, Editor, William Andrew Publishing. p. 27-37, **2021**.
- [113] Lares, M., ve ark., *Occurrence, identification and removal of microplastic particles and fibers in conventional activated sludge process and advanced MBR technology*. Water Research. 133: p. 236-246, **2018**.
- [114] Mathalon, A. and P. Hill, *Microplastic fibers in the intertidal ecosystem surrounding Halifax Harbor, Nova Scotia*. Marine Pollution Bulletin. 81(1): p. 69-79, **2014**.
- [115] Avio, C.G., S. Gorbi, and F. Regoli, *Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: First observations in commercial species from Adriatic Sea*. Marine Environmental Research. 111: p. 18-26, **2015**.
- [116] Prata, J.C., ve ark., *Identifying a quick and efficient method of removing organic matter without damaging microplastic samples*. Science of The Total Environment. 686: p. 131-139, **2019**.
- [117] Geppner, L., ve ark., *Testing of Different Digestion Solutions on Tissue Samples and the Effects of Used Potassium Hydroxide Solution on Polystyrene Microspheres*. Toxics. 11(9): p. 790, **2023**.
- [118] Courtene-Jones, W., ve ark., *Optimisation of enzymatic digestion and validation of specimen preservation methods for the analysis of ingested microplastics*. Analytical Methods. 9(9): p. 1437-1445, **2017**.
- [119] Tuuri, E.M., J.R. Gascooke, and S.C. Leterme, *Efficacy of chemical digestion methods to reveal undamaged microplastics from planktonic samples*. Science of The Total Environment. 947: p. 174279, **2024**.
- [120] López-Rosales, A., ve ark., *Development of a fast and efficient method to analyze microplastics in planktonic samples*. Marine Pollution Bulletin. 168: p. 112379, **2021**.
- [121] Quinn, B., F. Murphy, and C. Ewins, *Validation of density separation for the rapid recovery of microplastics from sediment*. Analytical Methods. 9(9): p. 1491-1498, **2017**.
- [122] Kankanige, D. ve S. Babel, *Smaller-sized micro-plastics (MPs) contamination in single-use PET-bottled water in Thailand*. Science of The Total Environment. 717: p. 137232, **2020**.

- [123] Caldwell, J., ve ark., *The micro-, submicron-, and nanoplastic hunt: A review of detection methods for plastic particles*. Chemosphere. 293: p. 133514, **2022**.
- [124] Shruti, V.C., ve ark., *Analyzing microplastics with Nile Red: Emerging trends, challenges, and prospects*. Journal of Hazardous Materials. 423: p. 127171, **2022**.
- [125] Prata, J.C., ve ark., *A new approach for routine quantification of microplastics using Nile Red and automated software (MP-VAT)*. Science of The Total Environment. 690: p. 1277-1283, **2019**.
- [126] Chen, S., ve ark., *Quantification of microplastics by count, size and morphology in beverage containers using Nile Red and ImageJ*. Journal of Water and Health. 19(1): p. 79-88, **2020**.
- [127] Meyers, N., ve ark., *Microplastic detection and identification by Nile red staining: Towards a semi-automated, cost- and time-effective technique*. Science of The Total Environment. 823: p. 153441, **2022**.
- [128] Maes, T., ve ark., *A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red*. Scientific Reports. 7(1): p. 44501, **2017**.
- [129] Parać, M., ve ark., *Microplastic Distribution through the Salinity Gradient in a Stratified Estuary*. Water. 14(20): p. 3255, **2022**.
- [130] Prasad, S., A. Bennett, and M. Triantafyllou, *Characterization of Nile Red-Stained Microplastics through Fluorescence Spectroscopy*. Journal of Marine Science and Engineering. 12(8): p. 1403, **2024**.
- [131] Käßler, A., ve ark., *Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both?* Analytical and Bioanalytical Chemistry. 408(29): p. 8377-8391, **2016**.
- [132] Roodbar Shojaei, T., S. Soltani, ve M. Derakhshani, *Chapter 6 - Synthesis, properties, and biomedical applications of inorganic bionanomaterials*, in *Fundamentals of Bionanomaterials*, A. Barhoum, J. Jeevanandam, and M.K. Danquah, Editors, Elsevier. p. 139-174, **2022**.
- [133] Krishna, D.N.G. ve J. Philip, *Review on surface-characterization applications of X-ray photoelectron spectroscopy (XPS): Recent developments and challenges*. Applied Surface Science Advances. 12: p. 100332, **2022**.

- [134] Mısırlı, N.S., ve ark., *Impact of a real food matrix and in vitro digestion on properties and acute toxicity of polystyrene microparticles*. NanoImpact. 32: p. 100482, **2023**.
- [135] Skoog, D.A., F.J. Holler, ve S.R. Crouch, *Textbook “principles of instrumental analysis”*. Cengage learning, **2019**.
- [136] Bitter, H. ve S. Lackner, *Fast and easy quantification of semi-crystalline microplastics in exemplary environmental matrices by differential scanning calorimetry (DSC)*. Chemical Engineering Journal. 423: p. 129941, **2021**.
- [137] Fries, E., ve ark., *Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy*. Environmental Science: Processes & Impacts. 15(10): p. 1949-1956, **2013**.
- [138] Zhang, Z., ve ark., *Development of a standardized food model for studying the impact of food matrix effects on the gastrointestinal fate and toxicity of ingested nanomaterials*. NanoImpact. 13: p. 13-25, **2019**.
- [139] Tamminga, M., E. Hengstmann, ve E. Fischer, *Nile Red Staining as a Subsidiary Method for Microplastic Quantification: A Comparison of Three Solvents and Factors Influencing Application Reliability*. Journal of Earth Sciences & Environmental Studies, **2017**.
- [140] Shim, W.J., ve ark., *Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining*. Marine Pollution Bulletin. 113(1): p. 469-476, **2016**.
- [141] Colthup, N.B., L.H. Daly, ve S.E. Wiberley, *CHAPTER 8 - AROMATIC AND HETEROAROMATIC RINGS*, in *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy (Third Edition)*, N.B. Colthup, L.H. Daly, and S.E. Wiberley, Editors, Academic Press: San Diego. p. 261-288, **1990**.
- [142] Al-Kadhemy, M.F.H., Z.S. Rasheed, ve S.R. Salim, *Fourier transform infrared spectroscopy for irradiation coumarin doped polystyrene polymer films by alpha ray*. Journal of Radiation Research and Applied Sciences. 9(3): p. 321-331, **2016**.
- [143] Olmos, D., E.V. Martín, ve J. González-Benito, *New molecular-scale information on polystyrene dynamics in PS and PS–BaTiO₃ composites from FTIR spectroscopy*. Physical Chemistry Chemical Physics. 16(44): p. 24339-24349, **2014**.
- [144] Zhou, Q., ve ark., *The distribution and morphology of microplastics in coastal soils adjacent to the Bohai Sea and the Yellow Sea*. Geoderma. 322: p. 201-208, **2018**.

- [145] Shah, D.S., ve ark., *A concise summary of powder processing methodologies for flow enhancement*. Heliyon. 9(6): p. e16498, **2023**.
- [146] Tomas, J., *Particle Adhesion Fundamentals and Bulk Powder Consolidation*. KONA Powder and Particle Journal. 18: p. 157-169, **2000**.
- [147] Pradel, A., C. Catrouillet, and J. Gigault, *The environmental fate of nanoplastics: What we know and what we need to know about aggregation*. NanoImpact. 29: p. 100453, **2023**.
- [148] Kosuth, M., S.A. Mason, and E.V. Wattenberg, *Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt*. PLOS ONE. 13(4): p. e0194970, **2018**.
- [149] Karami, A., ve ark., *The presence of microplastics in commercial salts from different countries*. Scientific Reports. 7(1): p. 46173, **2017**.
- [150] Makhdoumi, P., ve ark., *Occurrence and exposure analysis of microplastic in the gut and muscle tissue of riverine fish in Kermanshah province of Iran*. Marine Pollution Bulletin. 173: p. 112915, **2021**.
- [151] Leung, M.M.-L., ve ark., *Improved Raman spectroscopy-based approach to assess microplastics in seafood*. Environmental Pollution. 289: p. 117648, **2021**.
- [152] Liebezeit, G. ve E. Liebezeit, *Non-pollen particulates in honey and sugar*. Food Additives & Contaminants: Part A. 30(12): p. 2136-2140, **2013**.
- [153] MALVERN, *MASTERSIZER 3000 Smarter particle sizing Manuel*, MALVERN PANALYTICAL, **2018**
- [154] Patiny, L., *Organic Chemistry: Structure and Function*. K. Peter C. Vollhardt. Molecules. 4(10): p. 316-317, **1999**.
- [155] DIN12116, *Testing of glass - Resistance to attack by a boiling aqueous solution of hydrochloric acid - Method of test and classification*, **2001**.
- [156] Gulizia, Alexandra M., ve ark., *Evaluating the Effect of Chemical Digestion Treatments on Polystyrene Microplastics: Recommended Updates to Chemical Digestion Protocols*, Macromolecular Chemistry and Physics: 223 (13), **2022**
- [157] Bruckner, R., *Substitution Reactions on Aromatic Compounds*, in *Organic Mechanisms: Reactions, Stereochemistry and Synthesis*, R. Bruckner and M.

Harmata, Editors, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 201-257, **2010.**

- [158] Moreno, E.M. and D. Levy, *Role of the Comonomer GLYMO in ORMOSILs As Reflected by Nile Red Spectroscopy*. Chemistry of Materials. 12(8): p. 2334-2340, **2000.**
- [159] Gao, Wei, ve ark., *Assessment of quality control measures in the monitoring of microplastic: a critical review*, Environmental Pollutants and Bioavailability: 35 (1), **2023.**
- [160] GKGM T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Mikroplastiklerin İnsan ve Çevre Sağlığı Üzerindeki Etkileri Hakkında Bilimsel Görüş, ANKARA, **2023.**

