

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA ANA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SİGARA İZMARİTİNDEKİ FENOLÜN KATI FAZ EKSTRAKSİYON
SONRASI YÜKSEK BASINÇ SIVI KROMATOĞRAF/UV DETEKTÖR
SİSTEMİ İLE TAYİNİ**

Burcu MORKAN

EYLÜL 2010

Kimya Anabilim Dalı Burcu MORKAN tarafından hazırlanan SİĞARA İZMARİTİNDEKİ FENOLÜN KATI FAZ EKSTRAKSİYON SONRASI YÜKSEK BASINÇ SIVI KROMATOĞRAF/UV DETEKTÖR SİSTEMİ İLE TAYİNİ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Zeki ÖKTEM
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Yrd. Doç. Dr. Ayla DEMİRCİ
Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Mustafa ÖZCİMDER _____
Üye : Doç. Dr. Ş. Fatma AYGÜN _____
Üye (Danışman) : Yrd. Doç. Dr. Ayla DEMİRCİ _____

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. İhsan ULUER
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

SİGARA İZMARİTİNDEKİ FENOLÜN KATI FAZ EKSTRAKSİYON SONRASI YÜKSEK BASINÇ SIVI KROMATOĞRAF/UV DETEKTÖR SİSTEMİ İLE TAYİNİ

MORKAN, Burcu

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ayla DEMİRCİ

Eylül 2010, 53 sayfa

Sigara izmarit filtresinde bulunan fenol yüksek basınç sıvı kromatografi (HPLC) sistemi ile tayin edilmiştir. Çalışmada fenolün kantitatif tayini, katı-sıvı faz ekstraksiyon ve saflaştırma işlemlerinin ardından HPLC/UV spektrometresi ile yapılmıştır.

Bu amaçla izmaritten ayrılan filtre asetonitrilde çözülmüş ve ardından zenginleştirme, ön temizleme işlemleri yapılmıştır.

Ön temizleme ve zenginleştirme işlemlerinde XAD-4 polistren divinil benzen kopolimeri adsorban olarak kullanılmıştır. Sıvı-sıvı ve sıvı-katı ekstraksiyon işlemleri, önce model fenol çözeltisi ile denenmiştir. XAD-4 ile yapılan kazanım, geri alınabilirlik ve seçicilik çalışmalarında optimum koşullar; pH = 2, adsorban miktarı = 1 g, NaCl derişimi %5, geri alma çözücüsü MeOH olarak belirlenmiştir. Hazırlanan standart örnek HPLC (Ters faz C18 5 µm Phenomenex kolon, hareketli faz %1 HAc içeren %70 Su /MeOH, Detektör UV, 280 nm) ile analiz edilmiştir.

Çalışmanın son bölümünde gerçek izmarit örnekleri ile optimum analiz koşullarında yapılan deneylerle izmarit zifirinde fenol miktarı, çeşitli sigaralarda 6.08-13.02 µg/izmarit aralığında bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: HPLC, SPE, sigara, izmarit, UV, fenol, XAD-4

ABSTRACT

DETERMINATION OF PHENOL IN CIGARETTE FILTER TAR BY MEANS OF HPLC/UV DETECTION AFTER SOLID PHASE EXTRACTION

MORKAN, Burcu

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry, M. Sc. Thesis

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ayla DEMİRÇİ

September 2010, 53 pages

A Liquid Chromatographic Method (HPLC) was developed to determine phenol in cigarette filter tar. The method is mainly based on solid phase extraction of phenol using XAD-4 resin followed by quantification using HPLC/UV system.

A cigarette filter was first dissolved in acetonitrile, and then the dissolved material was subjected to enrichment and clean-up procedure.

Amberlite XAD-4 polystyrene divinyl benzene copolymer was used as a clean-up adsorption material for model and real samples. The optimum conditions for model samples were: pH, 2.0 ; adsorbent 1 gram ; salt, 5% NaCl ; eluting solvent, MeOH. Chromatographic conditions: C18 reversed phase column, 150 mm x 4.6 mm, particle size 5 μ m; Mobile phase, 70% water (1% HAc)/MeOH; Detector UV, 280 nm. The phenol found in the various types of cigarettes were 6.08 - 13.02 μ g/filter.

Key Words: HPLC, SPE, cigarette, filter, UV, phenol, XAD-4

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması esnasında deneylerin yapılmasına kadar hiçbir yardımcı esirgemeyen, tez danışmanı hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ayla DEMİRCİ'ye, biz genç araştırmacılara büyük destek olan, bilimsel deney imkanlarını sonuna kadar bizlerin hizmetine veren, Sayın Prof. Dr. Mustafa ÖZCİMDER'e, tez çalışmalarım esnasında daima yardımını gördüğüm Sayın Araş. Gör. Erol ALVER'e, büyük fedakarlıklarla bana destek olan Okul Müdürüm Sayın Mithat AYGÜN'e, tezimin birçok aşamasında yardım gördüğüm Erkam BİLGE'ye ve bana birçok konuda olduğu gibi, tezimi hazırlamam esnasında da yardımlarını esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

| | |
|--|------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| İÇİNDEKİLER DİZİNİ | iv |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | vi |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | vii |
| KISALTMALAR DİZİNİ | viii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Tütün | 1 |
| 1.1.1. Tütünün Tarihçesi | 1 |
| 1.1.2. Tütünün Kimyasal Bileşimi | 1 |
| 1.1.3. Sigara | 3 |
| 1.1.4. Duman ve Kimyasal Bileşimi | 4 |
| 1.1.5. İzmarit - Zifir ve Kimyasal Bileşimi | 5 |
| 1.1.6. Sigara Analizleri | 7 |
| 1.2. Fenol, Özellikleri ve Tayinleri | 9 |
| 1.3. Sigara Dumanı ve Zifirde Eser Madde ve Fenol Tayini | 13 |
| 1.3.1. Ekstraksiyon | 14 |
| 1.3.1.1. Sıvı - Sıvı Ekstraksiyon (LLE) | 14 |
| 1.3.1.2. Katı - Sıvı Ekstraksiyon | 15 |
| 1.3.2. Zenginleştirme ve Ön Temizleme | 16 |
| 1.3.3. Fenollerin Kalitatif ve Kantitatif Tayini | 21 |
| 1.4. Çalışmanın Amacı | 23 |

| | |
|---|----|
| 2. MATERYAL VE YÖNTEM | 24 |
| 2.1. Materyal | 24 |
| 2.1.1. Cihazlar | 24 |
| 2.1.2. Kimyasal Maddeler | 25 |
| 2.2. Yöntem | 26 |
| 2.2.1. Standart Çözeltiler | 26 |
| 2.2.2. XAD-4 Kolon | 27 |
| 2.2.3. UV ile Yapılan Ön Çalışmalar | 27 |
| 2.2.4. Kromatografik Koşullar | 27 |
| 3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA | 28 |
| 3.1. UV Spektrometresi ile Yapılan Ön Çalışmalar | 28 |
| 3.1.1. Farklı pH'larda Fenol Çözeltilisinin UV Spektrumu | 28 |
| 3.1.2. Tuz (NaCl) Derişiminin UV Spektrumuna Etkisi | 32 |
| 3.1.3. Çözücü Bileşiminin Fenolün UV Spektrumuna Etkisi | 35 |
| 3.1.4. Kalibrasyon Doğruları | 36 |
| 3.2. Fenolün XAD-4 Kolonundan Geri Alınabilirlik Çalışmaları | 37 |
| 3.2.1. Model Örnekte Geri Alınabilirlik Çalışmaları | 37 |
| 3.2.2. Gerçek Sigara Örneklerinde Geri Alınabilirlik Çalışmaları | 37 |
| 3.2.2.1. Gerçek Sigara Örnekleri Kullanılarak UV ile Yapılan Çalışmalar | 38 |
| 3.2.2.2. Gerçek Sigara Örnekleri Kullanılarak HPLC/UV Sistemi ile Yapılan Geri Alınabilirlik Çalışmaları | 39 |
| 3.3. İzmaritte Fenol Tayini | 43 |
| 4. SONUÇ VE ÖNERİLER | 46 |
| KAYNAKLAR | 47 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>ŞEKİL</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Şekil 1.1. : Fenol Molekül Modeli | 10 |
| Şekil 1.2. : Katı Faz Ekstraksiyon Kolonu | 16 |
| Şekil 3.1. : Fenolün UV Spektrumu, Koşullar: 10:90 ACN:H ₂ O, UV 200-400 nm, (a) pH = 2, (b) pH = 4, (c) pH = 6 | 29 |
| Şekil 3.2. : Fenolün UV Spektrumu, Koşullar: 30:70 ACN:H ₂ O, UV 200-400 nm, (a) pH = 2, (b) pH = 4, (c) pH = 6 | 30 |
| Şekil 3.3. : Fenolün pH-Absorpsiyon Değişimi, Koşullar: %NaCl: 0, (a) 10:90 ACN:H ₂ O, (b) 30:70 ACN:H ₂ O | 31 |
| Şekil 3.4. : Fenolün UV Spektrumu, Koşullar: MeOH, pH = 2, (a) %5 NaCl, (b) %10 NaCl, (c) %20 NaCl | 33 |
| Şekil 3.5. : Fenolün UV Spektrumu, Koşullar: 30:70 ACN:H ₂ O, pH = 2 (a) %5 NaCl, (b) %10 NaCl, (c) %20 NaCl | 34 |
| Şekil 3.6. : Tuz Etkisi, Koşullar: 10:90 ACN:H ₂ O, pH = 2 | 35 |
| Şekil 3.7. : UV Spektrumu: %1 HAc içeren MeOH, pH = 2, % NaCl: 0 | 36 |
| Şekil 3.8. : 0,5–5 ppm Fenolün Farklı Dalga Boylarındaki Kalibrasyon Doğruları, Koşullar: pH = 2, % NaCl: 0 | 36 |
| Şekil 3.9. : Kalibrasyon Doğrusu, Koşullar: %5 NaCl, 30:70 ACN:H ₂ O, pH = 2, UV 280 nm | 40 |
| Şekil 3.10. : Standart Fenol Çözeltisinin (7 ppm) Kromatogramı, Kromatografik Koşullar; %5 NaCl, 30:70 ACN:H ₂ O, pH = 2, UV 280 nm | 41 |
| Şekil 3.11. : Tip 1 Gerçek Sigara Filtre Ekstraktının Kromatogramı, Kromatografik Koşullar; Şekil 3.10.'da verilmiştir | 42 |
| Şekil 3.12. : 7 ppm Fenol Eklenmiş İzmarit Ekstraktının (Tip 1) Kromatogramı, Kromatografik Koşullar; Şekil 3.10.'da verilmiştir | 42 |
| Şekil 3.13. : Standart Ekleme Kalibrasyon Doğrusu, Koşullar: %5 NaCl, 30:70 ACN:H ₂ O, pH = 2, UV 280 nm, (a) Tip 3, (b) Tip 2, (c) Tip 1 ... | 45 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>ÇİZELGE</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Çizelge 1.1. : Dumanın %95'inin Kompozisyonu | 5 |
| Çizelge 1.2. : Sigaranın %5'lik Duman Kompozisyonu | 5 |
| Çizelge 1.3. : Zifirde Kimyasal Sınıflar | 7 |
| Çizelge 1.4. : Fenol ve Bileşenlerinin Kantitatif Tayin Limitleri | 9 |
| Çizelge 1.5. : Fenolün Genel Özellikleri | 10 |
| Çizelge 1.6. : XAD Reçinelerinin Fiziksel Özellikleri | 18 |
| Çizelge 3.1. : Farklı Tuz Bileşiminde R_T ve R_{ort} . Değerleri (280 nm) | 37 |
| Çizelge 3.2. : Farklı Tuz Bileşiminde Gerçek Sigara Örneklerinde R_T ve R_{ort} . Değerleri (280nm) | 38 |
| Çizelge 3.3. : Standart Fenol Çözeltilisinden Yüzde Geri Alınabilirlik Değerleri (n = 3) | 40 |
| Çizelge 3.4. : Farklı Tip Sigaralarda Zifir, CO, Nikotin İçerikleri ve Tayin Edilen Fenol Miktarları (n = 4) | 43 |

KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|---------|--|
| ACN | Asetonitril |
| BAT | British American Tobacco |
| BPA | Bisfenol A |
| CE | Kapiler Elektroforez |
| CFP | Cambridge filtre kağıdı |
| ECD | Elektrokimyasal detektörü |
| EP | Etanil piridin |
| ESTOC | Avrupa Dumansız Tütün Konseyi |
| FID | Alevde İyonlaşma Detektörü |
| GC | Gaz Kromatografi |
| HPLC | Yüksek Basınç Sıvı Kromatografi |
| ITMS | İyon Tuzaklama Hareketlilik Spektrometresi |
| LC | Sıvı Kromatografi |
| LLE | Sıvı Sıvı Ekstraksiyon |
| LOD | En Küçük Tayin Sınırı |
| LOQ | Tayin Sınırı |
| MS | Kütle Spektrometresi |
| OH-PDMS | Hidroksi Polidimetilsiloksan |
| PS-DVB | Polisitren Divinilbenzen |
| RP | Ters Faz |
| SPE | Katı Faz Ekstraksiyon |
| SPME | Katı Faz Mikroekstraksiyon |
| TMSPA | Trimethoksysilyl Propil Amin |
| UV | Ultraviyole Detektör |
| VIS | Görünür Bölge Detektörü |

1.GİRİŞ

1.1. Tütün

1.1.1. Tütünün Tarihçesi

Tütün bitkisi 1492 den önce Venezuela yakınlarında, Antiller'e bağı küçük bir ada olan Tobago'nun ilk yerlileri tarafından tedavi için ve dinî amaçlarla üretiliyordu (1). Yerliler kırmızı ya da erguvan rengi çiçekler açan tütün bitkisinin yapraklarını kurutuyor ve dinsel törenlerde bu kurumuş yaprakları ateşe atarak çıkan dumanları içlerine çekiyorlardı.

1492 yılında Kristof Kolomb Amerika'yı keşfettiğinde daha önce görülmemiş olan tütün tohumlarını ve yapraklarını da keşfetmişti aslında. XVI. yüzyılın sonlarında Jean Nicot de Villemain tarafından Avrupa'ya getirilen tütün bitkisi ve tütün kullanma alışkanlığı hızla yayılarak moda oldu. Portekiz'deki Fransa elçisi Jean Nicot de Villemain 1560 yılında bitkiyi Avrupa'ya getirmiş ve tıbbi kullanımı hakkında raporlar yazmıştır (2). Bu nedenle ismi bitkiye verilmiş (Nicotiana Tabacum) ve uyarıcı alkaloidin adı nikotin olmuştur.

Tütün Türkiye'ye ise İngiliz, Venedik ve İspanyol gemici ve tacirleri tarafından 17.yy.'ın başında gelmiştir. Böylece tütün yurdumuzda Avrupa'ya gelişinden 50 yıl sonra kullanılmaya başlanmıştır. Ancak tütün tarımının ne zaman başladığı konusunda kesin bir bilgi yoktur. O zamanlar tütün ya pipoyla içilir ya da çok ince kıyıldıktan sonra enfiye halinde burna çekilirdi. Tütünden sigara yapılması çok daha sonraki yıllara rastlamaktadır.

1.1.2. Tütünün Kimyasal Bileşimi

Tütün patlıcangiller familyasından Solanaceae ailesine üye olan tek yıllık bir kültür bitkisidir. Tütün bitkisi kimyasal kompozisyon bakımından aşağıda sıralandığı şekilde son derece karmaşık bir yapıya sahiptir (3).

1. İnorganikler: Tütünün tam olarak yanması sonucu organik bileşikler tam olarak parçalanır ve geride kül denilen anyon ve katyonlardan oluşan inorganik bir kalıntı oluşturur. Külün büyük bir bölümü K, Na, Mg, Fe, P, S, Si ve Cl, geri kalan kısmı ise Al, As, Ba, B, Cs, Cr, Cu, Pb, Li, Mn, Ni, Rb, Sr, Ti, Zn gibi eser elementlerden oluşur.
2. Kaba Lifler: Selluloz ve lignin
3. Pentosanlar
4. Pektinler : Metil D-galakturonik asidin polimerize olmasından meydana gelmiştir
5. Eterde çözünen bileşikler : Uçucu yağlar, reçineler, vaks ve parafinler
6. Polifenoller, fenolik asitler ve türevleri (Tanenler dahil)
7. Eterde çözünen organik asitler: Oksalik asit, sitrik asit, maleik asit vb.
8. Proteinler (Suda çözünmeyen büyük molekülü ve karmaşık yapılu bazı azotlu bileşikler de bu guruba dahildir.)
9. Suda çözünen azotlu bileşikler: Aminoasitler, amidler, amonyak, nitrat bileşikleri ve alkaloidler.
10. Dinamik karbonhidratlar: Şekerler, nişasta ve dekstrin gibi kolay hidroliz olabilen polisakkaritler.
11. Yapısı tam olarak aydınlatılmayan bileşikler: Bunlar şekerlerin bazı özelliklerini gösterirler.

Yeşil tütün yaprakları, kurutma ve fermantasyon işlemi sonrasında endüstri ham maddesi haline gelir. Kurutulmuş tütünün kimyasal bileşimi ise şöyledir:

1. Miktarca en fazla K ve Ca elementleri bulunur. Diğer mineral maddeler; MgO, Na₂O, Fe₂O₃, P₂O₅, SO₃, SiO₂ ve Cl'dir. Eser elementler; Al, As, B, Ba, Cs, Cr, Cu, Pb vb. dir.
2. Hidrokarbonlar:
 - a) Parafinler
 - b) Terpenik hidrokarbonlar
 - c) Aromatik hidrokarbonlar
3. Alkoller ve esterler : metanol, etanol, benzilalkol, gliserin, solanesol, etil asetat ve metil palmitat
4. Karbonil bileşikleri: Aldehit ve ketonlar

5. Organik asitler: Sitrik, maleik, oksalik asit
6. Fenoller, polifenoller
7. Alkaloidler: Büyük kısmını pirimidin sınıfı oluşturur. Alkaloidlerden miktarı en yüksek olan nikotindir.
8. Amino asitler ve proteinler
9. Karbonhidratlar: Şekerler, dekstrin, selluloz

1.1.3. Sigara

Sigaranın M.Ö. 18. yüzyılda Avrupa'ya İspanya yoluyla Amerika kıtasından geldiği sanılmaktadır (4). Sigara ilk yıllarda tütün yaprağına daha sonra keten ve kendir saplarının liflerinden oluşan bir kağıda rulo şeklinde sarılmasıyla hazırlanmaktadır.

Sigaranın bir ucunda genellikle selluloz asetattan yapılmış bir filtre bulunur. Ancak son yıllarda tütün harmanına nikotin oranını artırmak, light sigaralar üretmek ve değişik tatlar elde etmek için çok sayıda katkı maddesi eklenmektedir

Sigara, kısa bir sürede bağımlılık yapar ve bırakılması zor olan bir maddedir. 1965 yılına kadar sigara tüketimi yükseliş eğilimi göstermiş ama zararları hakkında bilinçlenme yayıldıkça tüketim azalmıştır. Gelişmekte olan ülkelerde ise halen sigara tüketimi yükseliş eğilimindedir.

Sigara kullanan kişilerin bulunduğu ortamlarda bulunan kişiler pasif içici olarak adlandırılır ve sigaranın zararlarından bazen içen kişiden daha çok etkilenirler. Bu durumu biraz olsun engellemek için toplu olarak bulunulan yerlerde içen ve içmeyen kişileri ayrı ortamlarda tutmaya yönelik çalışmalar vardır. Örneğin birçok restoranda sigara içilen ve içilmeyen bölümler ayrılır. Toplu taşıma araçları ve bazı kapalı mekânlarda hiç içilmez. Ancak bu önlemlere rağmen sigara açık havada bile içmeyenlere zarar vermekte ve rahatsız etmektedir.

65 ülke sigara içimine çeşitli sınırlamalar getirmiştir. Dünya üzerinde bilinen ilk uygulama 1993 yılında ABD'nin Kaliforniya eyaletinde başlamıştır.

Türkiye'de sigara tüketimine ilişkin ilk yasal kısıtlama, 26 Kasım 1996 tarih ve 22829 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan 4207 sayılı Tütün Mamullerinin Zararlarının Önlenmesine Dair Kanun ile öngörülmüştür. Bu Kanun ile sigara başta olmak üzere tütün ürünlerinin zararlarının anlatılması ve tüketiminin önlenmesine ilişkin tanıtım, vb. uygulamalar gündelik hayatta yer bulmaya başlamıştır.

4207 sayılı Kanunda 19 Ocak 2008 tarih ve 26761 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan 5727 sayılı Kanunla esaslı değişikliklere gidilmiş, sigara başta olmak üzere tütün ürünlerinin, evler hariç, her türlü kapalı ortamda tüketimi yasaklanmıştır. 5727 sayılı Kanunun bu hükümleri, anılan Kanunun yayımından 1,5 yıl sonra tam olarak yürürlüğe girmiştir. Bu bağlamda Türkiye'de 19 Temmuz 2009 tarihinden beri evler hariç her türlü kapalı ortamda sigara tüketimi yasaktır. Sonuç olarak Türkiye, sigara tüketimi ile en sert mücadele eden ülkeler arasında sayılmaktadır.

Sigara yandığında izmarit ve gaz faz (duman) olmak üzere iki kısımdan oluşur:

1.1.4. Duman ve Kimyasal Bileşimi

Sigaranın yanması ile, içeriğindeki maddeler parçalanır ve buharlaşır. Böylece çok karmaşık yapıya sahip bir gaz karışımı meydana gelir. Bu karışım; nefes çekme aralarında sigaranın ucundan dışarı doğru (yan duman) ve nefes çekme sırasında ise ağza gelerek içe doğru (asal duman) hareket eder. Buhar halinde bulunan katı ve sıvı maddelerin bir kısmı yoğunlaşarak çok küçük tanecikler oluşturur. Böylece birisi katı ve sıvıların karışımı olan tanecikler, diğeri ise gaz ve buharların bir karışımı olan gaz fazı olmak üzere iki fazlı bir sistem oluşur. Dağılan faz "tanecik fazı", dağıtıcı faz da "gaz fazı" dır.

Sigaralarda asal dumanın gaz fazının hacimce %95'ini gaz oluşturur. Bunların başında nefes çekme esnasında sigara içine giren havadaki O₂, N₂ ve CO₂ gelir. Diğer gazların çeşitleri ve miktarları Çizelge 1.1.'de (5) gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. : Dumanın %95'inin Kompozisyonu

| Gaz | Hacim (%) |
|-----------------|------------------|
| N ₂ | 73.0 |
| O ₂ | 10.0 |
| CO ₂ | 9.5 |
| CO | 4.2 |
| H ₂ | 1.0 |
| Ar | 0.6 |
| CH ₄ | 0.6 |

Duman bileşiminin geri kalan kısmında ise bazı gazlar ve uçucu maddelerin buharları vardır. Bunlar Çizelge 1.2.'de (6) gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. : Sigaranın %5'lik Duman Kompozisyonu

| Gaz ve Buharlar | Miktar (ppm) |
|------------------------|---------------------|
| Parafinler | 87000 |
| Asetilen, Etilen | 31000 |
| Asetaldehit | 3200 |
| Hidrojen Siyanür | 1600 |
| Metilklorür | 1200 |
| Aseton | 1100 |
| Metanol | 700 |
| Metiletil Keton | 500 |
| Amonyak | 300 |
| Azotdioksit | 250 |
| Metilnitrik | 200 |
| Hidrojen Sülfür | 40 |
| Formaldehit | 30 |

1.1.5. İzmarit- Zifir ve Kimyasal Bileşimi

İzmarit, sigara içimi sonrasında bir miktar yanmamış tütün ve filtreden oluşan kısımdır. İzmaritte duman miktarının ve sertliğinin azaltılması amacı vardır.

İzmariti ilk kez 1925 yılında Macar mucit Boris Aivaz, krepon kağıdı ve selüloz kullanılarak oluşturmuştur (7). Ancak Aivaz izmariti sigarayla birleştiren bir teknoloji oluşturamadığı için çalışması yarım kalmıştır. 1935 yılında bir İngiliz şirketi sigarayı izmaritle birleştiren bir makine geliştirmiştir. 1954 yılında bu makinelerin daha geniş bir alana yayılması ve sigaranın akciğer hastalıkları ile ilişkilendirilmesi sonucu, izmaritli sigaralar “daha güvenli” olarak market raflarında yerlerini almışlardır.

1950’lerden önce Kent Sigaralarında ısıya dayanıklı ve son derece ince olan krosidolit asbest izmarit kullanılmaktaydı. Ancak bu tür izmaritlerin içine çekildiğinde akciğer kanserine neden olduğu kanıtlanmıştır (8). Bir diğer izmarit çeşidi olan aktif karbon granülleri de Lark Sigaralarında kullanılmaktaydı (9). Ancak günümüzde yaygın olarak kullanılan izmarit ham maddesi selülozdur.

İzmarit; sigara artığı ve filtreden oluşur. Çalışmamızda çoğu yerde izmarit olarak bahsedilen aslında sigara filtresidir.

İzmaritteki koyu renkli kısım zifirdir. Zifirde 3-4 mg su bulunur. Geri kalan kısmı Çizelge1.3.’de (10) gösterilmiştir. Zifirde bulunan diğer kimyasal maddeler ise aşağıda sıralanmıştır:

1. Heterosiklik maddeler
2. Alkaloidler ve Bazlar: Nikotin, Kotin, Nornikotin vb.
3. Hidrokarbonlar
4. Alkoller: Benzil alkol, glikol, etanol, etilenglikol vb.
5. Esterler: Etilasetat, etil n-bütirat, etil n-kaproat
6. Karbonil bileşikleri: Asetaldehit, propiyon aldehit, aseton, metil etil keton vb.
7. Asitler: Asetik asit, formik asit, vb.
8. Fenoller ve polifenoller
9. Aminoasitler
10. Karbonhidratlar

Çizelge 1.3. : Zifirde Kimyasal Sınıflar

| Kimyasal Sınıflar | Tanecik Fazın Kütlesine Göre (%) |
|--------------------------|---|
| Asitler | 7.7-12.8 |
| Alkoller | 5.3-8.3 |
| Karbonil Bileşikleri | 8.5 |
| Alifatik Hidrokarbonlar | 4.9 |
| Aromatik Hidrokarbonlar | 0.4 |
| Fenoller | 1.0-3.8 |

Günümüzde yaygın olarak kullanılan bir diğer sigara grubu ise “light” sigaralardır. Light sigaralar, izmaritleri üzerinde küçük delikler içermektedir. Böylece duman bu deliklerden çıkabilmekte ve bir diğer deyişle havayla seyreltilmektedir. Teoriye göre bu şekilde içe çekilen duman daha az katran ve nikotin içermektedir ve böylece daha güvenlidir. Ancak pratikte bazı içiciler bu durumu telafi etmek için sigarayı daha derin içlerine çekmektedirler. Ayrıca deliklerden çıkan duman parmaklara ve dudaklara temas etmektedir. Bu yüzden light sigara içicileri diğer sigara içicileri ile eşit veya daha fazla dozda kanserojene maruz kalmaktadır (11).

1.1.6. Sigara Analizleri

Sigara ile ilgili yapılan analizlerde güvenilir ve tekrarlanabilir analitik ölçümlerin geliştirilmesi birçok araştırma programının önemli bir parçasıdır. Ancak sigara ile yapılan analizler karmaşık ve kararsız karışımların analizini içerdiği için bu pek de mümkün değildir.

Günümüzde sigara ile ilgili yapılan analizleri aşağıdaki gibi özetleyebiliriz (12) :

1- Mevcut ürünlerdeki tütün içermeyen materyallerin analizi.

2- Sigara içme makinesi ile zifir, nikotin ve karbon monoksit ölçümleri;

Sigaranın bir makineye içirildiği yöntemde, sigara filtrenin ucuna yakın bir noktaya kadar yanıp bitinceye dek dakikada bir kez, iki saniye boyunca 35 ml duman çeker. Bu standartlaşma sayesinde ölçüm her yerde aynı şekilde yapılır ve sigara paketlerinin üzerinde sigara başına miligram olarak ifade edilen zifir ve nikotin ölçümü değerleri yazılır.

ISO'nun makineli ölçümü, farklı sigara gruplarının zifir, nikotin ve karbonmonoksit seviyeleri açısından tutarlı ve standartlaştırılmış bir yöntemle sınıflandırılmasını sağlamaktadır. Bu durum, sigara kullanıcılarının farklı sertlik ve tatlar arasında ayırım yapması için bir temel oluşturabilir. Ancak makineler insanların gerçekte sigaradan ne kadar zifir aldıklarını ölçmemektedir. Diğer bir deyişle, ISO verileri bir sigara kullanıcısının içine çektiği gerçek zifir değerini göstermemektedir.

Dolayısıyla, örneğin üzerinde "5 mg zifir" yazan bir sigarayı içen bir kişinin, üzerinde "10 mg zifir" yazan bir sigaradakinin yarısı kadar zifir içerdiği düşünülmemelidir (13).

3- Tütündeki yaygın analit ölçümleri aşağıdaki gibidir;

-Nikotin

-Şekerler

*Bertrand Yöntemi

*Otoanaliz Yöntemi

-Nitrat

-Klorid

4- Avrupa Dumansız Tütün Konseyi (ESTOC) standart öğeleri;

ESTOC, Avrupa Dumansız Tütün Konseyi;1989 yılında kurulmuş ve dumansız tütün üreticisi ve pazarlayıcısı olarak tütün ticaret birlikleri çıkarlarını temsil etmektedir (14).

Analizi yapılan dumansız tütün türlerinden bazıları; İsveç-snus (ağızdan alınan nemli enfiye), İskandinav çiğnenen tütünü, çiğneme tütünü, tütün sakızı, kuru enfiye, nemli enfiye, sert enfiye vb. dir. Genelde erkeklerin tercih ettiği dumansız tütün ürünleri sigaraya alternatif olarak tercih edilmektedir (15).

5- Hoffmann yöntemi ile ölçülen Duman Analitleri,

Hoffmann Metoduyla yapılan analizler aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- Amonyak

- Aromatik Aminler

- Benzo(a) piren

- Karbonil

- Hidrojen Siyanür

- Nitrik Oksit

- Metaller

- Nitrozamin
- Fenol
- Yarı uçucu, Uçucu Maddeler
- Zifir, Nikotin ve Karbon Monoksit

Hoffmann Analitler Metoduyla GC/MS sistem ile sigara dumanındaki fenol, o-kresol, m-kresol, p-kresol, kateşol, resorkinol ve hidrokinonun kantitatif tayini yapılabilmektedir. Analizin detayları aşağıdaki gibidir:

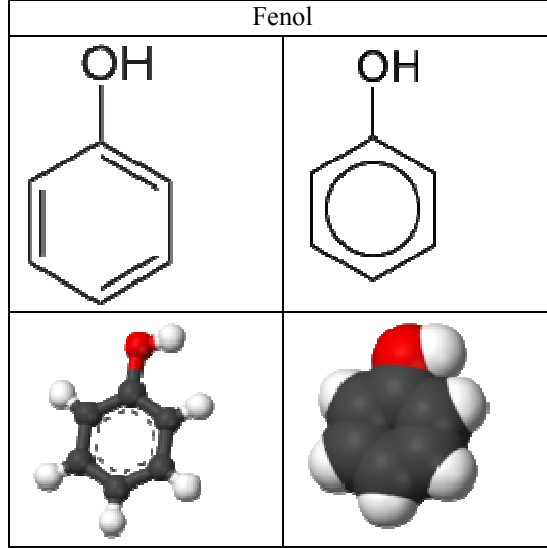
Yöntemde 5 sigara, sigara içme makinesine çirilmiş, ana dumanı Cambridge Filtre Kağıdı'nda (CFP) toplanmıştır. Sigara içiminden sonra CFP, o-klorofenol standardı içeren tert-bütül metil eterle ekstrakte edilmiş ve ekstrakt GC/MS ile tayin edilmiştir. Metodun kantitatif tayin sınırlarını içeren değerler Çizelge 1.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.4. : Fenol ve bileşenlerinin kantitatif tayin limitleri (16)

| Bileşik | LOD (µg/sigara) | LOQ (µg/sigara) |
|----------------|----------------------------|----------------------------|
| Fenol | 0.11 | 1.6 |
| o-Kresol | 0.03 | 0.4 |
| m-Kresol | 0.03 | 0.4 |
| p-Kresol | 0.07 | 0.4 |
| Kateşol | 0.24 | 4.0 |
| Resorkinol | 0.06 | 0.4 |
| Hidrokinon | 0.19 | 3.2 |

1.2. Fenol, Özellikleri ve Tayini

Fenol C_6H_5OH formülüyle bilinen, hidroksibenzen, fenil Asit, karbolik asit, benzenol, fenik asit, fenil alkol olarak da adlandırılan organik bir bileşiktir. Oda sıcaklığında beyaz kristalli bir katıdır. Fenol molekülü Şekil 1.1.'de görülmektedir. Fenol bir fenil molekülü ile bağlı hidroksilden (-OH) oluşur.



Şekil 1.1. : Fenol Molekül Modeli

Fenol boyacılıkta, plastik maddelerin ve bazı ilaçların yapımında vb. birçok alanda kullanılır. Fenolün genel özellikleri Çizelge 1.5.'de özetlenmiştir:

Çizelge 1.5. : Fenolün Genel Özellikleri

| Fenolün Özellikleri | |
|----------------------------|---------------------------------|
| Moleküler Formül | C ₆ H ₆ O |
| Molar Kütle | 94.11 g mol ⁻¹ |
| Görünüm | Beyaz kristal katı |
| Yoğunluk | 1.07 g/cm ³ |
| Erime Noktası | 40.5 °C, 314 K, 105 °F |
| Kaynama Noktası | 181.7 °C, 455 K, 359 °F |
| Sudaki Çözünürlüğü | 8.3 g/ 100ml (20 °C) |
| Asitlik (pK _a) | 9.95 |

Fenol hafif asidik özellikte olduğu için dikkatli kullanmayı gerektirir. Fenol molekülü zayıf olarak hidroksil grubundaki H⁺ iyonunu kaybetme eğilimindedir. Alifatik alkollerle karşılaştırıldığında; fenol çok daha fazla asidiktir (Yaklaşık bir milyon kere daha fazla), ancak karboksilik asitlerden ise daha az asidiktir.

Ayrıca fenolle ilgili yapılan çalışmalar sonucunda toksin ve kanserojen olduğu kabul edilmektedir.

Çeşitli örneklerde; hava, su, gıda maddeleri, vb. fenol tayinleri çeşitli enstrümantal yöntemlerle yapılmaktadır. Kullanılan yöntemlerin başında spektroskopik ve kromatografik yöntemler gelmektedir.

Rios vd. , 2005 (17) saf zeytinyağında bulunan fenolik bileşenleri katı faz ekstraksiyonu gaz kromatografi/ kütle spektrometresi (ITMS) ile analiz etmişlerdir. Çalışmada zeytin yaprağında bulunan, kozmetik ve özellikle kanser tedavisinde kullanılan oleuropein maddesinin ve oksidasyon ürünlerinin de yapısal analizi yapılmıştır.

Bagheri vd. , 2008 (18) çevresel örneklerde bulunan fenol ve klorofenolü katı faz mikro ekstraksiyon yöntemiyle tayin etmişlerdir. Çalışmada sol-gel teknolojisiyle eritilmiş silika; fiber 3-(trimethoksilyl), propil amin (TMSPA) ve hidrokspolidimetilsiloksan (OH-PDMS) ile kaplanmıştır. Sulu örneklerdeki bu yeni kaplama yönteminin verimliliği gaz kromatografi- kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. Yöntemde verimi etkileyen ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, iyon şiddeti ve pH gibi farklı parametrelerin etkisi araştırılmış ve optimize edilmiştir.

Rezaee vd. , 2009 (19) sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemini kullanarak HPLC-UV detektörde; polikarbonat plastiklerde, epoksi reçinelerinde ve çeşitli endüstriyel ürünlerde kullanılan bir kimyasal olan, şeffaf ve katı plastik özellikteki bisfenol A (BPA)'yı basit, duyarlı ve hızlı bir şekilde tayin etmeye çalışmışlardır. Çalışma Tahran'daki musluk ve nehir suyundaki BPA'nın tayini için kullanılmıştır.

Vinas vd. , 2009 (20) katı faz mikro ekstraksiyon yöntemiyle gaz kromatografi/ kütle spektrometresi ile şarap ve üzümdeki cis-resveratrol, trans-resveratrol, epikateşin, kateşin ve pikeatannol gibi polifenollerini tayin etmişlerdir. Çalışmada on çeşit şarap (kırmızı, beyaz, tatlı ve gül) ve iki çeşit üzüm (kırmızı ve beyaz) kullanılmıştır.

Li vd. , 2009 (21) elektroforetik biriktirme yöntemini kullanarak katı faz mikro ekstraksiyon fiberlerinin tek cidarlı karbon nano tüpleriyle kaplamışlar ve bu fiberleri sulu çözeltilerdeki fenollerin ekstraksiyonu için kullanılmışlardır.

Çalışmada SPME-HPLC-UV yöntemi kullanılmıştır. Fenol, p-nitrofenol, m-metilfenol, bisfenol A, 2-klorofenol ve 2,4-diklorofenol olmak üzere altı çeşit fenol kullanılmıştır.

Simones vd. , 2007 (22) katı faz mikro ekstraksiyon- gaz kromatografi- kütle spektrometresi (SPME-GC-MS) yöntemiyle ham ve işlenmiş sulardaki fenol ve klorofenollerini tayin etmişlerdir. Çalışmada fenol, 2-klorofenol, 4-klorofenol, 2, 4, 5-triklorofenol, 2, 4, 6-triklorofenol, 2, 4, 6-tribromofenol, 2, 3, 4, 6-tetraklorofenol, 2, 4-diklorofenol, 2, 6-diklorofenol, 4-kloro-3-metilfenol olmak üzere 10 çeşit fenol ve klorofenol tayin edilmiştir.

Faraji, 2005 (23) gaz kromatografi/alevde iyonlaşma ve kütle spektrometresi detektör kullanılarak, β -Siklodekstrin bağlı silika parçacıkla katı faz ekstraksiyon yöntemiyle sudaki fenol bileşenlerini tayin etmiştir. Çalışmada katı faz ekstraksiyonu için yeni bir adsorban olan β -Siklodekstrin bağlı silika sabit fazı 250 mg kullanılarak hazırlanmıştır.

Ahmaruzzaman, 2008 (24) doğal adsorbanlar, endüstriyel ve zirai atık adsorbanlar, bioadsorbanlar olmak üzere ucuz adsorbanların fenolik bileşenleri adsorpsiyonunu incelemiştir. Çalışmada bu materyallerin karakteristik özellikleri, avantajları ve limitleri analiz edilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre; fenolün sulu çözeltilerde geri alınabilirliğinde en yüksek adsorpsiyon gösteren adsorbanlardan bazıları; ticari aktif karbon, kül, yanmadan kalan kömür, lağım pisliği, kül, mantar, modifiye bentonit, kurutulmuş aktif çamur, silika boncuklar, modifiye nişasta, kömürleşmiş talaş vb. olarak bulunmuştur.

Coman ve Moldovan, 2000 (25) RP-HPLC metodunu kullanarak gradiyent elüsyon ve UV detektörle bazı fenol türevlerini ayırmışlardır.

Çalışmada 4-hidroksifenol, 3-hidroksifenol, fenol, 4-nitrofenol, 4-metilfenol, 2-metilfenol, 2, 3-dimetilfenol, 2, 4-dimetilfenol, 1-naftol olmak üzere dokuz çeşit fenol türevi içme ve atık sularda ve toprakta ayrılmıştır.

Smith, 2008 (26) Gaz kromatografi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) yöntemiyle Avustralya, Port Stephens'de bulunan beş farklı istiridye çiftliğindeki kereste, su, istiridye dokusunda ve posadaki fenol ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar tayin etmiştir.

1.3. Sigara Dumanı ve Zifirde Eser Madde ve Fenol Tayini

Tütün mamullerinde sigaranın içimi sonrası yan ve asıl dumanında fenol tayinleri için çeşitli yöntemler geliştirildiği literatürde görülmektedir. Örneğin;

Vainiotalo vd. , 2008 (27) sigara dumanıyla kirlenmiş Helsinki restoranlarında, havadaki 16 uçucu organik bileşeni tayin etmişlerdir. Çalışmada 2005 Aralık-2006 Mayıs tarihleri arasında sigara içilen ve içilmeyen bölümleri iyi ayrılmış 90-300 m² büyüklüğünde beş restoran, dört birahane (pub) ve bir kafe kullanılmıştır. Sigara içilen bölümlerde organik bileşenlerin konsantrasyonlarının ortalaması ($\mu\text{g}/\text{m}^3$); nikotin 18.1; toluen 10.6; izopren 10.2; m,p ksilen 5.0; limonen 4.8; benzen 3.3; furfural aldehit 3.2; 1,3-bütadien 2.7; 3- etanil piridin (EP) 2.5; fenol 2.1 ; etil benzen 1.7 ; piridin 1.6; o-ksilen 1.5 ; 3-pikolin 1.4 ; stiren 1.2 ve naftalin 0.45 olarak bulunmuştur.

McGrath vd. , 2009 (28) farklı tütün tiplerinin 350 ve 600 °C sıcaklıkları arasındaki pirolizi sonucu elde edilen bileşendeki; hidrokinon, resorkinol, kateşol, fenol, 4-metilkateşol, 3-metilkateşol, guaiakol, o-, m- ve p-kresol olmak üzere on farklı fenolik bileşeni tayin etmişlerdir. Çalışmada üç farklı tütün kullanılmış, fenol ve kresol bu üç örnek içinde benzer verimde sonuçlar vermiştir. Ancak tütünün suyla yapılan ekstraksiyonları fenol bileşenlerinin geri alınabilirliğinde önemli ölçüde azalmaya neden olmuştur.

Moldoveanu ve Kiser, 2007 (29) sigara dumanında bulunan fenollerini direk elde etme yoluyla etkili bir şekilde toplamışlardır. Bunun için beş farklı sigara kullanılmış ve her bir sigara duman makinesi ile 3 mm kalana kadar içilmiştir. Bu beş sigaradan elde edilen dumanlar 92 mm Cambridge tampon kullanılarak toplanmıştır. 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 4-klorofenol içeren 100 μl 'lik standart çözücü tampona eklenmiştir.

Tampon %1 asetik asit ve %0,1 askorbik asit içeren 25 ml su ile 30 dakika bir mekanik karıştırıcı ile ekstrakte edilmiştir. Ekstrakt solüsyonu, 0.45 µm gözenekli filtreden süzöldükten sonra HPLC analizi için kullanıldı.

Pieraccini vd. , 2008 (30) katı faz mikro ekstraksiyon/gaz kromatografi/kütle spektrometresi yöntemiyle değişik marka ve türdeki sigaralarda ana ve yan dumandaki bileşenleri belirlemişlerdir. Çalışmada ana ve yan dumanda altmış yedi bileşen tespit edilmiş ve bu analizler fiber polimer türü, pozlama, sıcaklık ve zaman kriterleri optimize edilerek yapılmış ve sigaralara profillerinin dumanlarının kimyasal bileşenleri karşılaştırılmıştır.

1.3.1. Ekstraksiyon

Genel olarak bir analitik yöntem;

- a) ekstraksiyon
- b) saflaştırma
- c) zenginleştirme
- d) kalitatif-kantitatif tayin, basamaklarından oluşmaktadır.

Örneğimiz sigara zifiridir ve bir katı üzerine adsorplanma durumundadır. Öncelikle ortamdan fenolün alınması (ekstrakte edilmesi) gerekmektedir. Daha sonra safsızlıklardan (matriks etkisinden) kurtarılmalı, kullanılan tayin cihazına göre zenginleştirmenin ardından tayin aşamasına geçilebilir.

1.3.1.1. Sıvı- Sıvı Ekstraksiyon (LLE)

Sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemini genel anlamda tanımlamak istersek; bir çözelti içerisinde bulunan bir veya daha fazla bileşenin, uygun bir çözücü ile çözülden uzaklaştırılması işlemidir diyebiliriz. Sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminde genellikle fazlardan biri sudur (31). Bu yöntemin en yaygın kullanım biçimi ekonomik ve basit olması nedeniyle ayırma hunisidir.

Sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminin dezavantajları; çok miktarda çözücü kullanılması, kullanılan çözücülerin sağlık problemlerine neden olması, zaman alıcı olması ve daha pahalı bir yöntem olması gösterilebilir.

1.3.1.2. Katı-Sıvı Ekstraksiyon

Katı-sıvı ekstraksiyon yöntemi, bir cam veya plastik tüpe doldurulan adsorbanın üzerinden örneğin geçirilmesi ve daha sonra tutulan maddenin uygun çözücü ile geri alınması esasına dayanır. Sıvı-sıvı ekstraksiyona göre daha az çözücü kullanılması, kolay ve sistematik olarak sonuç verebilmesi üstün taraflarıdır. Ancak bu yöntemin de dezavantajları vardır. Adsorbanların üretiminin tekrarlanabilir olmayışı bu yöntemin dezavantajıdır, bu durum deneylerin tekrarlanabilirliğini etkilemektedir.

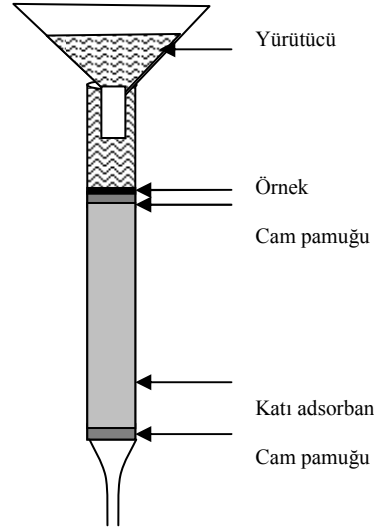
Katı-sıvı ekstraksiyon yönteminde kullanılan çeşitli adsorbanlar aşağıdaki gibidir;

- Silika, alumina gibi inorganik adsorbanlar,
- İyon değiştiriciler,
- Oktadesil, oktil, etil fenil, diol, sulfonil propil gibi siloksan bağlı silika maddeler,
- Aktif karbon
- Poröz polimer adsorbanlar (XAD'ler)

Şekil 1.2.'de (32) bir katı faz ekstraksiyon kolonu görülmektedir. Örnek adsorban üzerinden yerçekimi etkisiyle geçirilebileceği gibi vakum uygulanarak da geçirilebilir. Kullanılan adsorbanın özelliğine göre kullanım öncesi temizleme de yapılmalıdır. Bunların yanı sıra örnek geçirilirken dikkat edilmesi gereken diğer hususlar;

- Sıcaklık,
- pH,
- İyon şiddeti ,
- Akış hızı,
- Adsorbanın ıslak tutulması sayılabilir.

Örnek geçirildikten sonra adsorbanın üzerinde tutunan madde veya maddelerin geri alınmasında kullanılan çözücülerde, yalnızca istenilen maddeyi çözme özelliği aranmalıdır. Ayrıca tepkimeye girmeyen, kolay buharlaşabilen ve ucuz çözücüler kullanılmalıdır.



Şekil 1.2. : Katı Faz Ekstraksiyon Kolonu

1.3.2. Zenginleştirme ve Ön Temizleme

Zenginleştirme, analiz edilecek eser elementin örnekteki derişimini artırmaktır. Ön temizleme (clean-up) ise; tayini yapılacak madde/maddeleri enstrümantal tayin sırasında girişim yapabilecek maddelerden ayırmaktır. Zenginleştirme ve ön temizleme genellikle birlikte uygulanmaktadır. Ayırma ve zenginleştirme metotlarını genel olarak sınıflandırırsak; bir katı üzerine adsorpsiyon birlikte çöktürme, çözücü ekstraksiyonu, buharlaştırma, iyon değiştirme ile zenginleştirmedir (33).

Birlikte çöktürme yöntemi; yüzeyi büyük çökelek meydana getirerek eser elementlerin bu çökelek yüzeyine absorplanmasına dayanmaktadır. Organik ve inorganik toparlayıcılar yöntem için kullanılır. İnorganik çöktürücüler; $Al(OH)_3$, $La(OH)_4$, $Zr(OH)_4$, $Mg(OH)_2$ gibi geniş yüzeyli bileşikler örnek verilebilir.

Organik çöktürücüler ise çözeltilerde çok düşük derişimlerde bulunsalar bile yüksek verim elde edildiği görölmüştür. Yöntemin; yavaş ve zahmetli olması, çökeleğin parçalanmama ihtimali dezavantajlarıdır (34).

Çözücü ekstraksiyonu yöntemi; organik çözücülerden oluşan, birbirine karışmayan sıvı fazın dağılımı ile ilgilidir. Yöntemde ya ana bileşenler ortamdaki uzaklaştırılır ve eser elementler fazda bırakılır ya da tam tersi uygulanır.

Yöntemin dezavantajı; kimyasal maddenin fazla kullanılması ve kap değiştirmelerde önlenemeyen kayıplardır (34).

Buharlaştırma yönteminde; tayini yapılan element veya matriksler buharlaştırılır. Yöntemin uygulanabilmesi için uçuculuk farkının büyük olması gerekir. Bu nedenle yöntemin kullanımı sınırlıdır.

İyon değiştirme yöntemi; içinde iyon değiştirici bulunan küçük bir kolondan geçirilen çözeltilerdeki eser elementlerin seçimli olarak alıkonması sağlanır. Alıkonan elementler uygun çözücü ile alınarak zenginleştirilir. İyon değiştiricilere örnek; proteinler, yapay reçineler, selüloz, karbon, pamuk, silikat mineralleri ve bazı toprak türleri verilebilir. İyon değiştirme yöntemi; dinamik (kolon) ve statik (batch) olarak uygulanabilir.

Batch metodunda bir miktar çözeltiliye iyon değiştirici ilave edilerek tayin elementleri reçineye bağlanana kadar çalkalanır. Kolon metodunda ise örnek çözeltili reçine doldurulmuş kolondan geçirilir, tutulan iyonlar eluent ile geri alınır (35).

Eser elementlerin her iki yolla da zenginleştirilmesi için organik iyon değiştiriciler kullanılır. Organik iyon değiştiricilerin diğer adı reçinelerdir. Reçineler yapılarındaki iyonik gruplardan dolayı çözeltilerdeki anyon ve katyonları değiştirme kabiliyetine sahip maddelerdir (36). Sentetik primer reçineler, selülozlar, dekstrinler organik iyon değiştiricilere örneklerdir.

Çalışmamızda eser elementin miktarını artırmak için iyon değiştirme ile zenginleştirme/ dinamik (kolon) yöntemi uygulanmıştır. Yöntemde kolonun dolgu maddesi olarak kullanılacak reçine fenolün geri alınabilirliğinde yüksek verim gösterebilmelidir. Bu nedenle polistiren divinil benzen (PS-DVB) bazlı adsorbanın kullanılması tercih edilmiştir. PS-DVB reçinelerinin genel özellikleri Çizelge 1.6.'da verilmiştir.

XAD-4 REÇİNELERİ

PS-DVB reçineleri diğer adıyla; Amberlit XAD ve XAD reçineleri Filedelfiya'da Rohm-Hass (Amerika) firması tarafından imal edilmektedir (37, 38). Genellikle beyaz boncuk şeklindedir.

Çizelge 1.6. : XAD Reçinelerinin Fiziksel Özellikleri (37)

| | Matrix | Özgül Yüzey (m²g⁻¹) | Yoğunluk (g/ml) | Tanecik Boyutu (mesh) | Gözenek Hacmi (ml/g) | Gözenek Büyükliği (Å) |
|--------------|--------------------------|--|----------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| XAD-2 | Stiren- divinilbenzen | 300 | 1.08 | 20-60 | 0.65 | 90 |
| XAD-4 | Stiren- divinilbenzen | 725 | 1.08 | 20-50 | 0.98 | 40 |
| XAD- 7HP | Akrilik ester | 450 | 1.24 | 20-60 | 1.14 | 90 |
| XAD- 16HP | Stiren- divinilbenzen | 800 | 1.08 | 20-60 | 1.82 | 100 |
| XAD- 761 | Fenol- formaldehit | 300 | 1.24 | 16-50 | 0.43 | 600 |

Organik moleküller reçinelere fiziksel olarak adsorbe olurlar. Adsorplanan madde ile adsorban arasında zayıf bir bağ oluşur.

XAD reçinelerinin XAD-2-4-7-8-16-1180 gibi türleri vardır. XAD-2-4-1180 reçineleri apolar, XAD-7 ve 8 orta derecede polar, XAD-16 polardır. Reçinelerin kullanım alanları aşağıdaki gibidir (39):

XAD-2 poliaromatik reçineleri; fenol, aromatik bileşenler ve metallerin taşınmasında yada katalizör olarak kullanılabilirler.

XAD-4 poliaromatik reçine ; ilaç imalatı, fenoller, klorlu organikler, pestisitlerin taşınmasında ve sulu gıdalardaki organiklerin taşınmasında kullanılabilirler.

XAD-7 HP zayıf polar alifatik reçine adsorbanı; insülin, fulvik ve hümik bileşenler, antibiyotikler ve kuru atık taşınmasında kullanılabilirler.

XAD-16 HP poliaromatik reçine; antibiyotikler ve ilaçların imalatında kullanılır. Büyük moleküllerin özellikle proteinlerin ayrılmasında XAD-2'den daha etkilidir.

XAD-761 reçine ; proteinler, renklendiriciler, organik safsızlıklar ve ilaçların saflaştırılması için kullanılırlar.

Kullanım öncesi safsızlıkların giderilmesi amacıyla reçineler çeşitli çözücülerle ardı ardına yıkanır. Metanol, aseton, n-heksan, asetonitril, diklorometan kullanılan çözücüler arasındadır. Çalışmamızda metanol ve deiyonize su daha iyi sonuç verdiği için tercih edildi.

XAD reçinelerinde rastlanan en büyük zorluk havadan, sıcaklıktan, çözücülerden ve adsorbe edilen maddelerden etkilenmeleridir.

Çalışmamızda yapılan araştırmalar sonucu fenolün geri alınabilirliğinde yüksek verim gösteren apolar XAD-4 reçinesi tercih edilmiştir.

XAD-4 reçinesinin kolon dolgu maddesi olarak kullanıldığı çalışmalardan bazıları aşağıdaki gibidir:

Kujawski vd. , 2003 (40) atık sularda bulunan fenollerini farklı membranları kullanarak en iyi tayin aralığını bulmuşlardır. Yapılan çalışmada en iyi sonuçların PEBA membranının kullanılmasıyla elde edildiği görülmüştür. Çalışmada ayrıca çeşitli Amberlite reçineleri de incelenmiştir. Ancak bizim çalışmamızda da olduğu gibi; fenollerin sulu çözeltilerden uzaklaştırılmasında en iyi sonuçlar XAD-4 reçinesi ile elde edilmiştir. Ekstraksiyon çözeltilisinin hacimsel akış hızı sürekli olarak $0,33 \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$ değerinde sabit tutulurken, fenol tayininde UV-VIS Varian Carry 3E spektrofotometresi kullanılmıştır.

Rodriguez vd. , 2000 (41) SPE yöntemiyle yapılan fenol analizleri için örnek hazırlama yöntemlerini gözden geçirmişlerdir. Makalenin kapsamı fenol analizleriyle sınırlıdır. Çalışmada fenollerin ayrılması ve zenginleştirilmesi için hem deneysel hem de kullanılabilirlik açısından silika, polimerik, karbon bazlı ve karışık kullanılabilir sorbent kullanmanın avantajları ve dezavantajları tartışılmıştır.

Polimerik materyallerden olan XAD-4 çalışmada tercih edilmiştir. Fenol türlerinin geri alınabilirliğini artırmak için XAD-4'ün katmanlı olarak karbonla karıştırılarak adsorban haline getirilmesi tavsiye edilmiştir. Çalışmada ayrıca matriks etkisi ve katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşlarına fenol depolanması da ele alınmıştır.

Chen ve Liu, 2005 (42) gaz kromatografi (GC)/alevde iyonlaşma detektörü (FID) yöntemiyle karmaşık matrislerde fenolik bileşenlerin analizini yapmışlardır. Çalışmada süperkritik sıvı ekstraksiyon (SFE) yöntemiyle XAD-4 reçineleriyle zenginleştirilen 2-klorofenol, 2-nitrofenol, 2,4-diklorofenol, 2,4-dimetilfenol, 2,4,6-trimetilfenol, 2,4,6-triklorofenol, 3-metil-4-klorofenol, 4-bromofenol, penta-klorofenol, o-metilfenol, m-metilfenol, p-metilfenol, 4-nitrofenol ve 2,4-dinitrofenol gibi fenolik bileşenleri tayin etmişlerdir.

Huang vd. , 2009 (43) p-nitroanilin; fenolik hidroksil grupların modifiye edildiği hiper- çapraz- bağlı polimerik adsorbanlara (HJ-02) ve XAD-4'e adsorpsiyonunu incelenmiştir. Böylece birbirine benzetilen adsorbanlar HJ-02 ve XAD-4 karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre HJ-02 için pH değeri 3.7-7.8 aralığında iken, XAD-4 için 4.1'den büyüktür. Her iki adsorban için NaCl konsantrasyonunun düşük olduğu (< %10) durumlarda olumlu sonuçlar gözlenmiştir.

Zeng vd. , 2009 (44) çapraz bağlı polar polimerik adsorbanların fenolün sudan geri alınabilirliğindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada Friedel-Crafts firması tarafından hazırlanan çapraz bağlı polimerik adsorban PDM-2 ve ilave çapraz bağlı vinil grubu olmayan PDM-1 adsorbanı, bunların yanı sıra ticari XAD-4 ve AB-8 reçineleri kullanılarak karşılaştırılmıştır. Deneysel sonuçlar çalışmada kullanılan dört polimerik adsorbanın fenol adsorpsiyonunda makul sonuçlar verdiğini göstermiştir.

Zhang vd. , 2009 (45) fenolün sulu çözeltilerden polistiren reçineler ile geri alınabilirliğini incelemişlerdir. Çalışmada sentezlenen polistiren NDA-101 , NDA-103 reçineleri ve onlara karşılaştırmak için ticari amberlite XAD-4 ve amberlite IRA-96 reçineleri kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda fenolün geri alınabilirliğinde reçinelerin gösterdikleri verimin: NDA-101> NDA-103> XAD-4> IRA-96 şeklinde olduğu belirtilmiştir. Çalışmada XAD-4 ve IRA-96 reçinelerinin daha homojen olmalarına ve daha fazla ya da benzer adsorpsiyon kapasitesine sahip olmalarına rağmen düşük adsorpsiyon gösterme nedenlerinin; çoklu hidrojen bağı yapmaları ve fenol molekülü ile π - π bağı yapmaları olduğu kabul edilmiştir.

1.3.3. Fenollerin Kalitatif ve Kantitatif Tayini

Yapılan literatür araştırması sonucu fenol tayininde başlıca tercihin HPLC/kapiler elektroforez (CE) ile UV, fluorasan, elektrokimyasal detektör veya kütle spektrometresinin kombinasyonu olduğu görülmüştür (29, 41). Fenolün derivatizasyonu sonrasında gaz kromatografi yöntemi de tercih edilmektedir (46, 1996). GC’de tercih edilen detektörler; alevde iyonlaşma (FID), elektron yakalama detektörü (ECD), kütle spektrometresi (MS) vb. dir. Çalışmamızda en çok tercih edilen yöntemlerden biri olan HPLC/UV sistemi tercih edilmiştir. Böylece fenolün derivatizasyon işlemine gerek kalmamaktadır. Bazı literatür çalışmaları aşağıda özetlenmiştir.

Gaz kromatografi ile yapılan çalışmalardan bazıları;

Bagheri vd. , 2008 (18) Gaz kromatografi/ Kütle spektrometresi (GC/MS) yöntemiyle çevresel örneklerdeki fenol ve klorofenolü katı faz mikroekstraksiyon yöntemiyle tayin etmişlerdir.

Vinas vd. , 2009 (20) Gaz kromatografi/Kütle spektrometresi yöntemiyle on çeşit şarap ve iki çeşit üzümdeki polifenollerini tayin etmişlerdir. Çalışmada katı faz mikroekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır.

Simones vd. , 2007 (22) GC/MS/SPME yöntemiyle ham ve işlenmiş sulardaki on çeşit fenol ve klorofenolü tayin etmişlerdir.

Faraji, 2005 (23) Gaz kromatografi/alevde iyonlaşma ve kütle spektrometresi kullanılarak katı faz ekstraksiyon yöntemiyle sudaki fenol bileşenlerini tayin etmişlerdir. Kütle spektrometresi ile daha hassas sonuçlar elde edilmiştir.

Smith, 2008 (26) GC/MS yöntemiyle Avustralya Port Stehens’ deki beş farklı istiridye çiftliğindeki kereste, su, istiridye dokusunda ve posadaki fenolü tayin etmişlerdir.

Pieraccini vd. , 2008 (30) GC/MS katı faz mikro ekstraksiyon yöntemiyle değişik marka ve türdeki sigaralarda ana ve yan dumanda fenol, benzen, toluen, nikotin vb. bileşenleri tayin etmişlerdir.

Chen ve Liu, 2005 (42) GC/FID (alevde iyonlaşma detektörü) süper kritik sıvı ekstraksiyon (SFE) yöntemiyle 15 farklı fenolik bileşeni tayin etmiştir.

Fenol tayininde daha çok HPLC (normal faz/ters faz) tercih edilir. HPLC ile yapılan tayinlerde pH ayarı ve iyon şiddeti çok önemlidir. Bu konuda yapılan çalışmalar;

Rezae vd. , 2009 (19) Yüksek basınç sıvı kromatografi (HPLC)/UV detektörde, sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle Tahran'daki musluk ve nehir sularındaki bisfenol A (BPA)'yı tayin etmişlerdir.

Li vd. , 2009 (21) HPLC/UV/katı faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemiyle deniz ve musluk suyundaki 6 çeşit fenol ve polifenolü tayin etmişlerdir.

Coman ve Moldovan, 2000 (25) HPLC/RP yöntemiyle gradiyent elüsyon ve UV detektörle dokuz çeşit fenol ve türevini içme sularından, atık sulardan ve topraktan ayırmışlardır.

McGrath vd. , 2009 (28) HPLC/fluoresan detektör, LC/MS/MS ve GC/MS yöntemlerini kullanarak tütündeki on çeşit fenolik bileşeni tayin etmişlerdir.

Carmines vd. , 2007 (47) Sıvı kromatografi yöntemiyle meyan kökünde bulunan fenol, kurşun ve arsenik gibi bileşenleri tayin etmişlerdir.

Moldoveanu ve Kiser, 2007 (29) HPLC/fluoresan detektör ve GC/MS yöntemleriyle sigara dumanındaki fenol tayini için yöntem geliştirmişlerdir. Yöntemle 24 birbirinden farklı bileşen aynı anda tayin edilmiştir.

1.4. Çalışmanın Amacı

Yapılan literatür çalışmasında sigara zifirinde fenol tayinine rastlanılmamıştır. Oysa izmaritin ağızla teması sonucunda alınan fenolü sağlığı tehdit eder niteliktedir. Bu nedenle zifirde fenol tayini dumandaki kadar gerekli ve önemlidir.

Çalışmada yüksek basınç sıvı kromatografi yöntemiyle (HPLC), zifirde bulunan fenolün tayin edilmesi amaçlanmıştır. XAD-4'ün kolon dolgu maddesi kullanılarak fenolün izmarit matriksinden kurtarılması ve zenginleştirilmesi yapılacaktır. XAD-4 ile yapılan çalışmada önce optimum koşullar (pH, NaCl yüzdesi vd.) belirlenecek daha sonra da HPLC ile önce model örnek, arkasından gerçek örneklerle çalışılarak izmaritteki fenol tayin yapılacaktır. Çalışma LOD ve LOQ değerlerinin belirlenmesini de kapsayacaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Cihazlar

1. Yüksek Basınç Sıvı Kromatograf (HPLC), SHIMADZU ;
 - Detektör, SHIMADZU SPD-10A VP SYSTEM CONTROLLER
 - Pompa, SHIMADZU LIQUID CHROMATOGRAPH LC-10ADVP
 - System Controller, SHIMADZU SCL-10A VP
2. Kolon, SUPELCO C18 TERS FAZ (15 cm x 4.6 mm) 5 µm Partikül Çapı
3. Enjektör, 5 µL HAMILTON, FIXED NEEDLE
4. Ultrasonik Banyo, BANDELIN SONAREX, SUPER, RK 51 OH
5. pH Metre, pH METER, JENWAY, 3340 ION METER
6. pH elektrodu, METTLER TOLEDO
7. Deiyonize su cihazı, MILLIPORE, PROGARD 2 PROG 00002 ELIX
8. UV/ Visible Spectrophotometer, PHARMACIA BIOTECH ULTROSPEC 2000
9. Süzme sistemi, SARTORIAUS (45 µm)
10. Filtre, MILLIPORE NYLON MEMBRANE (45 µm)

2.1.2. Kimyasal Maddeler

1. Amberlite XAD-4 ,SIGMA
2. HNO₃ (Merck), %68 (w/w), d = 1.4 g/cm³
3. CH₃COOH (Merck), %100 (w/w), d = 1.05 g/cm³
4. HCl (Merck), %37 (w/w)
5. NaOH (Merck), analitik saflıkta
6. Asetonitril (Merck), HPLC saflıkta
7. CH₃COONa.3H₂O (Merck), analitik saflıkta
8. Deiyonize su
9. Aseton (Merck) analitik saflıkta
10. MeOH (Merck) HPLC saflıkta
11. İçilmiş sigara izmaritleri

2.2. Yöntem

Çalışma için kullanılan sigaraların bir kısmı sigara içme makinesi ile tekrarlanabilir koşullarda (puf zamanı, içme süresi vb.) içirilen sigaraların, bir kısmı ise bir arkadaşımızın sigara içme makinesinin standartlarına yakın koşullarda içtiği sigaraların izmaritleri kullanılarak hazırlanmıştır.

Öncelikle sigara izmaritindeki filtre ayrıldı. Filtre kaplama kağıdı alındıktan sonra filtre (sellüloz asetat) asetonitrilde çözüldü (1 filtre için 2 ml asetonitril kullanıldı). Çözme işlemi ultrasonik banyoda, 25 ml'lik erlen içerisinde yapıldı. Örnek magnetik karıştırıcıda (1000 rpm) karıştırılırken selüloz asetatın çökmesi için, %1 HAc içeren 5 ml deiyonize su damla damla ilave edildi. İlave işlemi bittikten sonra 15 dakika daha karıştırılan çözelti, mavi bant süzgeç kağıdından geçirildi. Süzüntü kabının çepçerleri yıkanarak alttan alınan çözelti 7 ml'ye tamamlandı. Elde edilen çözelti önceden şartlandırılmış XAD-4 kolondan geçirildikten sonra adsorbe olan fenol, 3 ml metil alkolle geri alınarak HPLC sistemine 5 µl enjekte edildi.

Sigara izmarit filtresindeki fenol tayinine geçilmeden önce model çözeltilerle ön çalışmalar yapıldı. XAD-4 clean up işlemlerindeki geri alınabilirlik ve zenginleştirmeye pH, iyon şiddeti (tuz etkisi), derişim gibi deneysel parametrelerin etkisi model fenol çözeltileri ile incelendi. Kalitatif ve kantitatif değerlendirmeler UV spektrumları ve HPLC kromatogramları kullanılarak yapıldı. HPLC'de yapılan kalitatif ve kantitatif değerlendirmeler alıkonma zamanı ve pik alanları kullanılarak yapıldı.

2.2.1. Standart Çözeltiler

Çalışmada kullanılacak standart çözeltiler Merck Darmstadt Fenol'den ($M_A = 94.11$ g/mol %99.5 GC saflıkta) uygun miktarlarda alınarak hazırlandı.

1000 ppm 25 ml fenol çözeltisi için; standart katı fenolden 0.025 g alınıp üzeri 25 ml olana kadar MeOH eklendi.

500 ppm 50 ml fenol çözeltileri için; standart katı fenolden 0.025 g alınıp üzeri 50 ml olana kadar MeOH eklendi.

UV ile yapılan çalışmalarda kullanılan 5 ppm standart çözeltiler, 500 ppm stok çözeltilerden uygun miktarlarda alınarak hazırlandı.

Kalibrasyon doğrularının çizimi için kullanılan 1-9 ppm aralığındaki standart çözeltiler ise 500 ve 1000 ppm'lik çözeltilerin seyreltilmesi ile elde edildi.

2.2.2. XAD-4 Kolon

Şekil 1.2'de görüldüğü gibi 1 gram XAD-4, alt tarafına cam pamuğu yerleştirilmiş pastör pipete dolduruldu. Doldurulan kolonun üzeri de cam pamuğu ile kaplandı. Kolon sırasıyla 5 ml metil alkol ve 5 ml deiyonize su ile UV spektrumunda safsızlıklar görünmeyene kadar bir kaç kez yıkandı. Daha sonra kolondan 1 ml örnek geçirildikten sonra, kolon 2 ml, %1 HAc içeren deiyonize su ile yıkandı. Kolonda tutulan fenol 4 ml metil alkol geçirilerek (akış hızı = 0.5 ml/dak.) geri alındı. İlk 1 ml'de fenol gelmediğı için (UV spektrumu ile kanıtlandı) bu miktar atıldı. Kantitatif değerlendirme 3 ml metil alkol ile alınan ekstrakt ile yapıldı.

2.2.3. UV ile Yapılan Ön Çalışmalar

Çalışmada fenolün absorpsiyonuna çeşitli etkileri (pH, iyon şiddeti, vb.) görmek için 200-400 nm aralığındaki spektrumlar çizildi.

Ortamdaki pH değişiminin absorpsiyona etkisinin incelenebilmesi için, farklı pH'lardaki (2, 4, 6) fenol çözeltisi (%0 NaCl), NaCl derişiminin etkisinin incelenebilmesi için ise farklı NaCl bileşiminde (% 0, 5, 10, 20) fenol çözeltileri (pH = 2) kullanılarak spektrumlar çizildi.

2.2.4. Kromatografik Koşullar

Yüksek basınç sıvı kromatograf (SHIMADZU)/UV detektör sistemiyle yapılan çalışmamızda SUPELCO C18 TERS FAZ (15 cm x 4.6 mm) kolon kullanılmıştır.

Çalışma koşulları; hareketli faz %1 HAc içeren %30 MeOH/%70 su, akış hızı = 0.5 ml/dk, dalga boyu 280 nm. Enjeksiyonlar 5 µl'lik HPLC enjektörü (Hamilton) ile yapıldı.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

3.1. UV Spektrometresi ile Yapılan Ön Çalışmalar

Öncelikle HPLC çalışmalarında uygun dalga boyunun seçilebilmesi için UV ile bir dizi çalışma yapıldı. 5 ppm fenol çözeltisinin 200-400 nm dalga boyu aralığındaki spektrumu çizildi. Aynı şekilde, yine 5 ppm fenol çözeltisinin farklı pH'larda ve farklı % NaCl bileşiminde, spektrumları alındı. Spektrumlar Bölüm 3.1.1. – 3.1.3.'de verilmiştir.

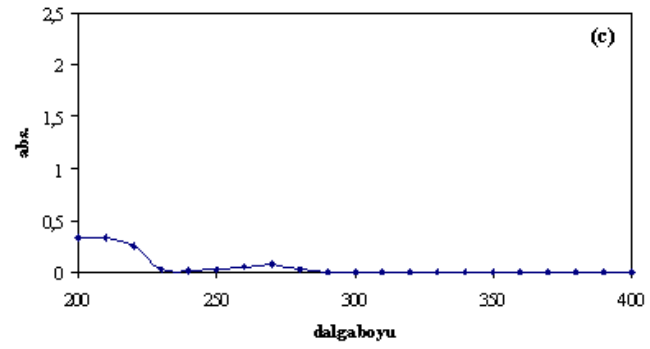
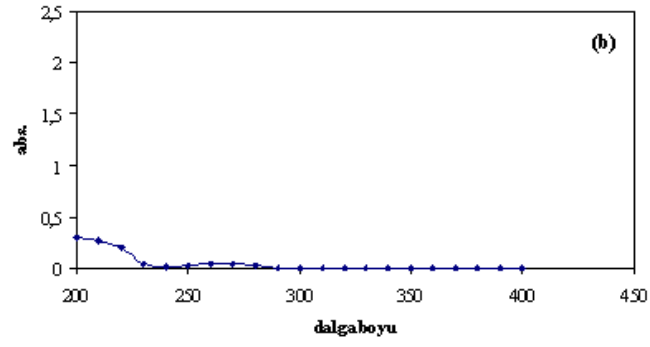
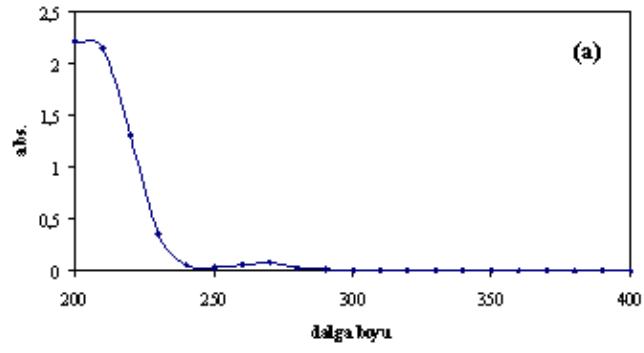
3.1.1. Farklı pH'larda Fenol Çözeltisinin UV Spektrumu

5 ppm standart fenol çözeltisinin farklı pH'larda (2, 4, 6) UV spektrumları alındı. Önce NaCl derişimi %0 olarak seçildi.

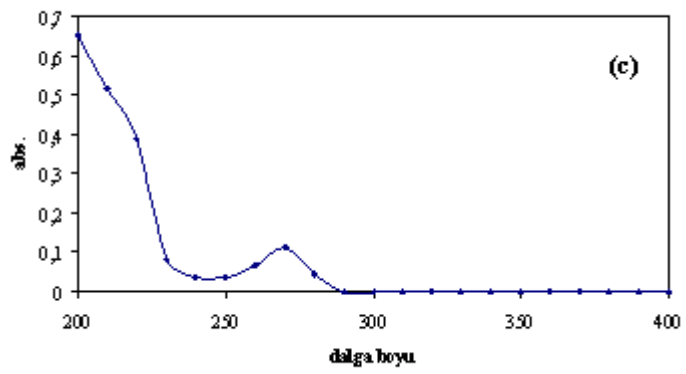
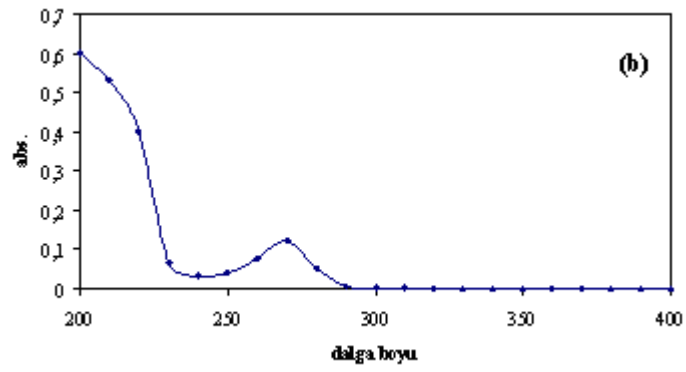
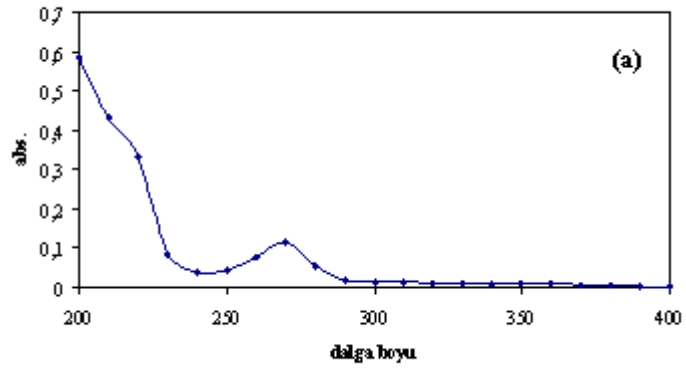
Çalışmada pH ayarı; pH = 2 için 0.1 M HCl kullanılarak, pH = 4 ve 6 için ise 0.1 M NaOH eklenerek yapıldı.

Şekil 3.1.'de, tuz derişiminin %0, çözücünün 10:90 ACN: H₂O olduğu farklı pH'larda elde edilen fenol spektrumları görülmektedir.

Şekil 3.2.'de ise bu kez %30 ACN ortamında ve farklı pH'larda elde edilen spektrumlar görülmektedir. NaCl derişimi yine %0 olarak alınmıştır.

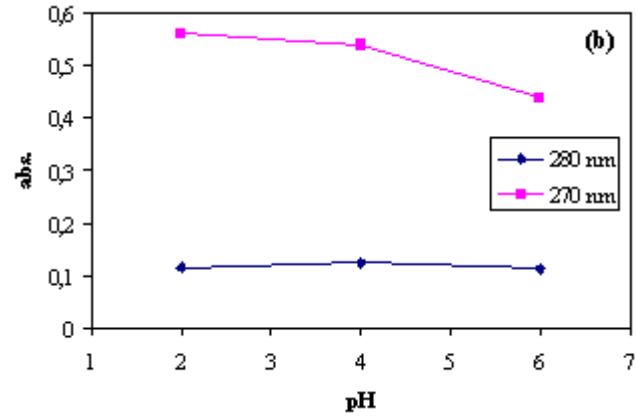
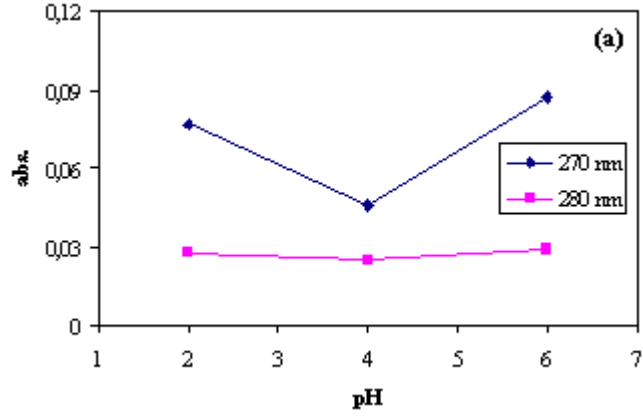


Şekil 3.1. : Fenolün UV Spektrumu, Koşullar: 10:90 ACN: H₂O, UV 200-400 nm
(a) pH = 2, (b) pH = 4, (c) pH = 6



Şekil 3.2. : Fenolün UV Spektrumu, Koşullar: 30:70 ACN: H₂O, UV 200-400 nm
(a) pH = 2, (b) pH = 4, (c) pH = 6

Şekil 3.3. (a) ve (b)'de pH'ın iki farklı dalga boyunda (270, 280 nm) absorpsiyona etkisi görülmektedir. Genel olarak her iki ACN derişiminde de en büyük absorpsiyon pH = 2'de gözlemlendi. ACN: su oranı 30: 70 yapıldığında absorpsiyonda artış olduğu gözlemlendi. Sonuçta sonraki çalışmalar daima ACN: su oranı 30: 70 olarak alındı.



Şekil 3.3. : Fenolün pH-Absorpsiyon Değişimi, Koşullar: %NaCl: 0
(a) 10:90 ACN: H₂O, (b) 30:70 ACN: H₂O

Şekil 3.1.'den 3.3.'e kadar incelendiğinde, beklenildiği gibi ($K_a = 10^{-9}$) absorpsiyonun en yüksek pH = 2'de olduğu görülmektedir. Bu nedene sonraki çalışmalarda pH = 2'deki fenol çözeltileri kullanılmıştır.

3.1.2. Tuz (NaCl) Derişiminin UV Spektrumuna Etkisi

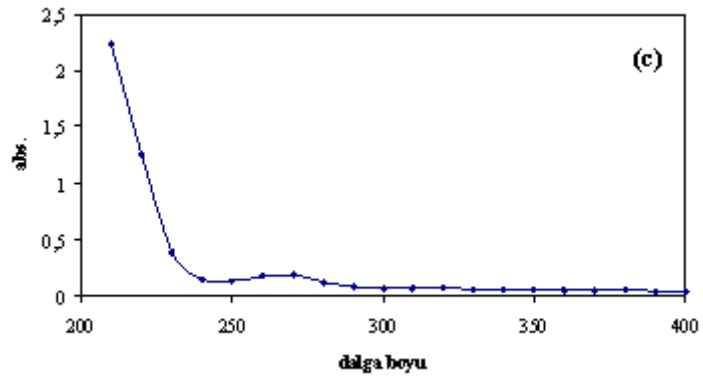
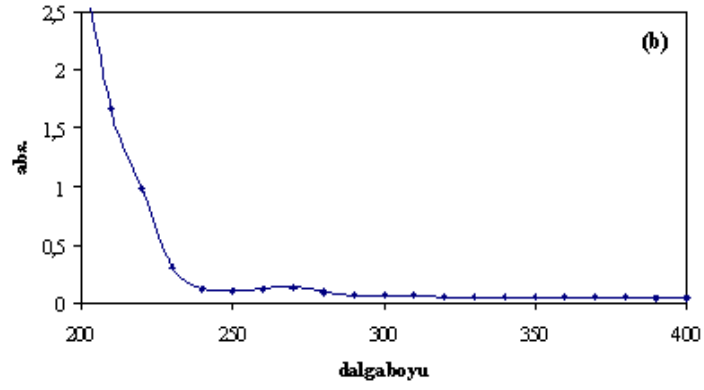
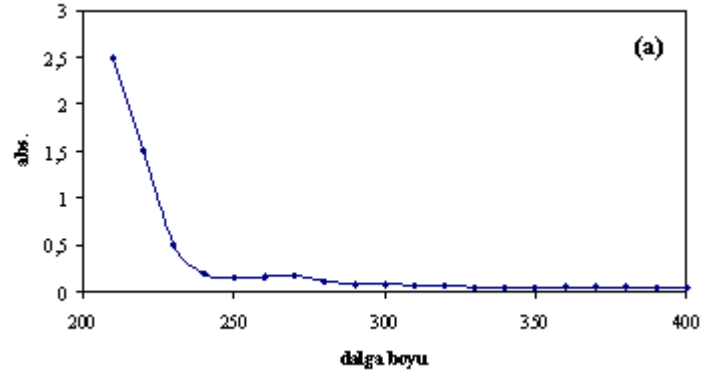
UV ile yapılan çalışmalarda NaCl derişiminin (iyon şiddetinin) fenolün UV absorpsiyonuna etkisi de incelenmiştir. Tuz etkisini incelemek için pH = 2'de sabit tutulup farklı derişimlerde (%0, %5, %10 ve %20) NaCl tuzu fenol çözeltilerine eklendi.

Şekil 3.4.'de, %5, %10 ve %20 bileşiminde NaCl içeren 5 ppm fenol çözeltilisinin (MeOH içinde) spektrumları görülmektedir.

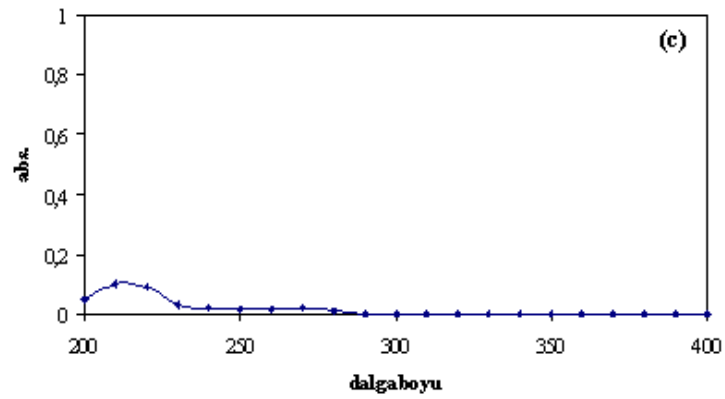
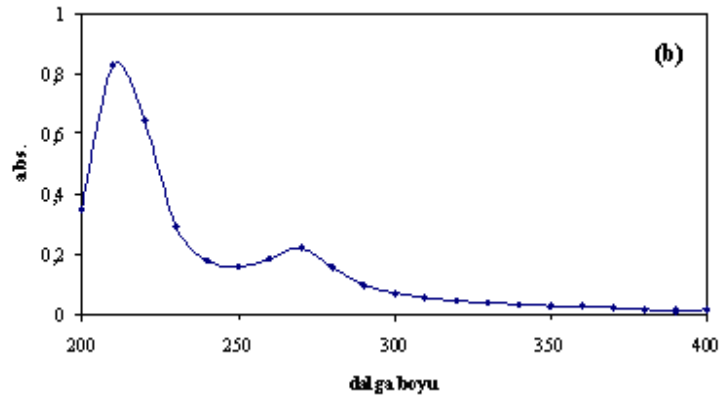
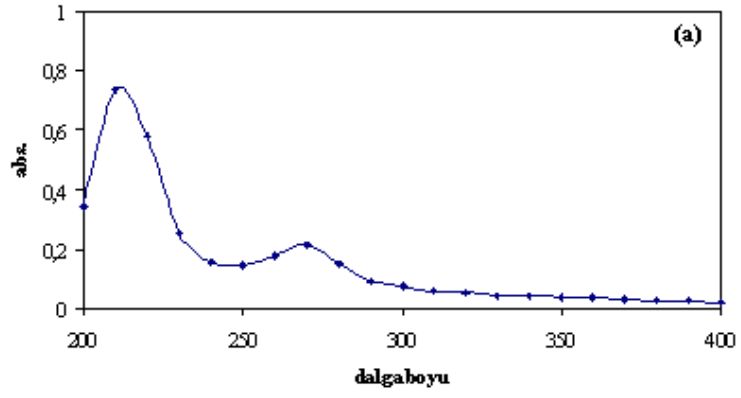
Şekil 3.5.'de, %5, %10 ve %20 bileşiminde NaCl içeren 5 ppm fenol çözeltilisinin (30:70 ACN içinde) spektrumları görülmektedir.

%0 NaCl içeren fenol spektrumu Şekil 3.2. (a)'da verilmişti.

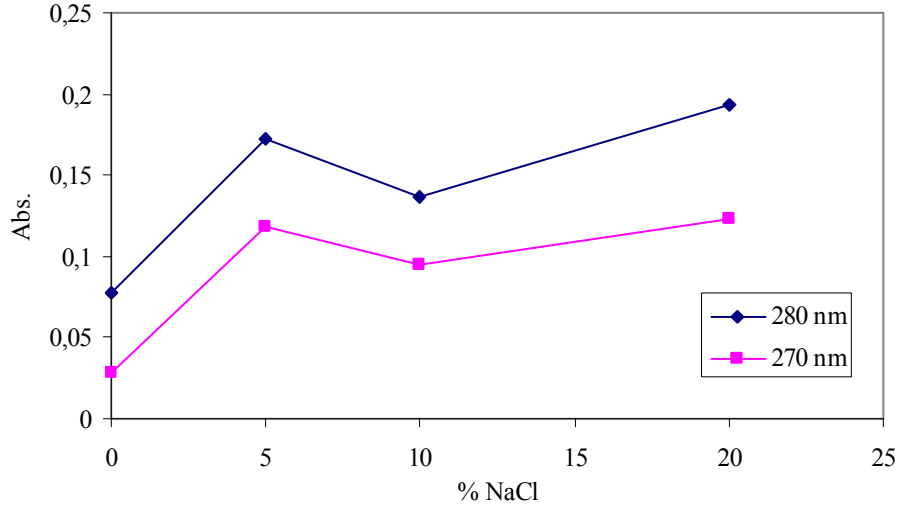
Şekil 3.6.'da ise farklı dalga boyunda (270, 280 nm) %0, %5, %10 ve %20 oranında NaCl derişiminin absorpsiyona etkisi görülmektedir.



Şekil 3.4. : Fenolün UV Spektrumu, Koşullar: MeOH, pH = 2
(a) %5 NaCl, (b) %10 NaCl, (c) %20 NaCl



Şekil 3.5. : Fenolün UV Spektrumu, Koşullar: 30:70 ACN:H₂O, pH = 2
 (a) %5 NaCl, (b) %10 NaCl, (c) %20 NaCl



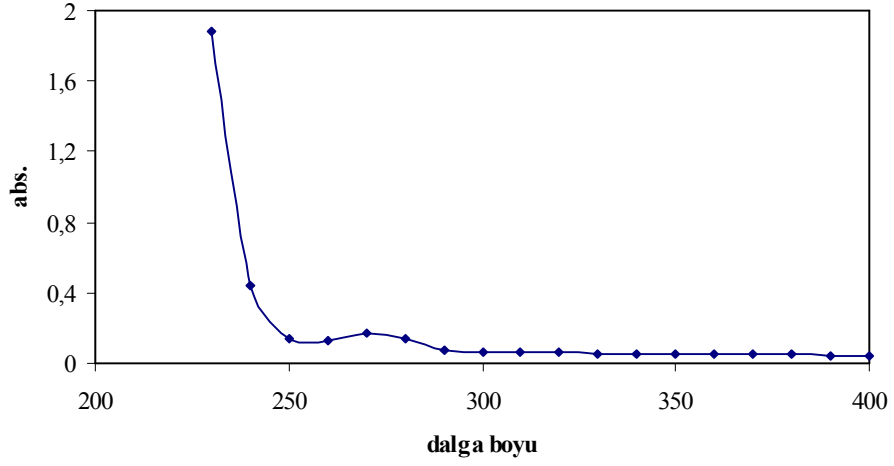
Şekil 3.6. : Tuz Etkisi, Koşullar: 10:90 ACN: H₂O, pH = 2

Spektrumlarından ve Şekil 3.6.'dan görüldüğü gibi %5 NaCl derişiminde en yüksek absorpsiyon gözlenmektedir.

3.1.3. Çözücü Bileşiminin Fenolün UV Spektrumuna Etkisi

UV ile yapılan çalışmalarda farklı çözücü bileşimlerinin fenolün geri alınabilirliğindeki etkisini incelemek amacıyla ekstraksiyon işlemi MeOH ve %1 Asetik asit içeren MeOH çözücüleri ile yapılmıştır.

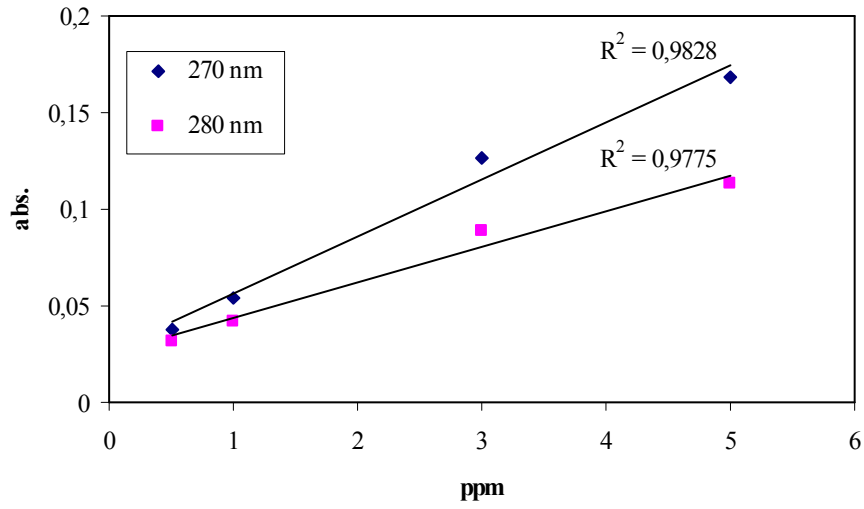
Şekil 3.7.'de %1 HAc içeren MeOH çözücüsünün kullanıldığı UV Spektrumu görülmektedir. MeOH' ın çözücü olarak kullanıldığı spektrumlar Bölüm 3.1.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.7. : UV Spektrumu: %1 HAc içeren MeOH, pH = 2, % NaCl : 0

3.1.4. Kalibrasyon Doğruları

Şekil 3.8.'de 0.5-5 ppm aralığındaki fenolün 270 ve 280 nm'deki kalibrasyon doğruları görülmektedir. Doğruların r^2 değerleri 0.9775 ve 0.9828 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.8. : 0,5 – 5 ppm Fenolün Farklı Dalga Boylarındaki Kalibrasyon Doğruları,
Koşullar: pH = 2, %NaCl : 0

3.2. Fenolün XAD-4 Kolonundan Geri Alınabilirlik Çalışmaları

Sigara izmarit ekstraktı çok kompleks bir yapıya sahip olması nedeniyle XAD-4'ün performansı ve çalışma koşulları önce model fenol çözeltileri kullanılarak incelendi.

3.2.1. Model Örnekte Geri Alınabilirlik Çalışmaları

pH = 2 ve NaCl derişimleri %0-20 olacak şekilde 5 ppm fenol derişiminde model çözeltiler hazırlandı. Model örneğin kullanılacağı kolon 0.5 g XAD-4 Şekil 1.2.'de görüldüğü gibi dolduruldu. Kolon sırasıyla 2 kez 5 ml metil alkol ve 5 ml deiyonize su ile yıkandı. 1 ml model örnek kolondan geçirildikten sonra kolondan; 2 kez 5 ml %1 HAc içeren MeOH geçirildi. Toplanan 10 ml süzütünün UV absorpsyonları ölçüldü.

Çizelge 3.1.'e bakıldığında NaCl bileşiminin geri alınabilirliğe etkisi olmadığı görülmektedir.

Çizelge 3.1. : Farklı Tuz Bileşiminde R_T ve R_{ort} Değerleri (280 nm)

| % NaCl | % R_T |
|-------------|---------------|
| 0 | 77.34 |
| 5 | 67.82 |
| 10 | 80.48 |
| 20 | 99.76 |
| % R_{ort} | 81.35 ± 13.40 |

3.2.2. Gerçek Sigara Örneklerinde Geri Alınabilirlik Çalışmaları

Model örneklerde UV ile yapılan çalışmalar gerçek örneklerde hem UV hem de HPLC/UV ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1. Gerçek Sigara Örnekleri Kullanılarak UV ile Yapılan Çalışmalar

Gerçek sigara örnekleriyle yapılan çalışmada sigara içme makinesine içirilmiş tip 1 sigara izmariti 5 ml asetonitrilde magnetik karıştırıcı yardımıyla çözülmüş, çözünme işlemi tamamlandıktan sonra üzerine 5 ml %1 HAc içeren su çözeltisi damla damla ve yavaş olarak ilave edilmiştir. Elde edilen 10 ml örnek 15 dk daha karıştırılarak mavi bant süzgeç kağıdından geçirilmiştir. Hazırlanan blank çözelti için yapılan işlemler fenol içeren gerçek örnek için de tekrarlanmıştır.

Fenol içeren gerçek örnek için, izmarit asetonitrilde çözüldükten sonra alınan çözeltiliye 1000 ppm stok çözeltiden 5 µl eklenerek 5 ppm fenol içeren gerçek sigara örnekleri hazırlandı. Yapılan işlemler hem blank (yalnız izmarit) için hem de fenollü örnekler için 3'er kez tekrarlanmıştır.

0.5 g ve 1 g XAD-4 doldurulmuş kolondan şartlandırıldıktan sonra 1 ml örnek geçirilmiş ardından %1 HAc içeren 2 ml su geçirildi. Daha sonra 3 ml MeOH ile geri alınan eluentin 280 nm dalga boyunda absorpsiyonu ölçülmüştür.

Çalışma sonucunda yapılan hesaplamalarda blank için yapılan üç ölçümün ortalaması blank ve fenol için elde edilen absorpsiyonlardan ayrı ayrı çıkarılmış ve yüzde geri alınabilirlik değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 3.2.'de özetlenmiştir.

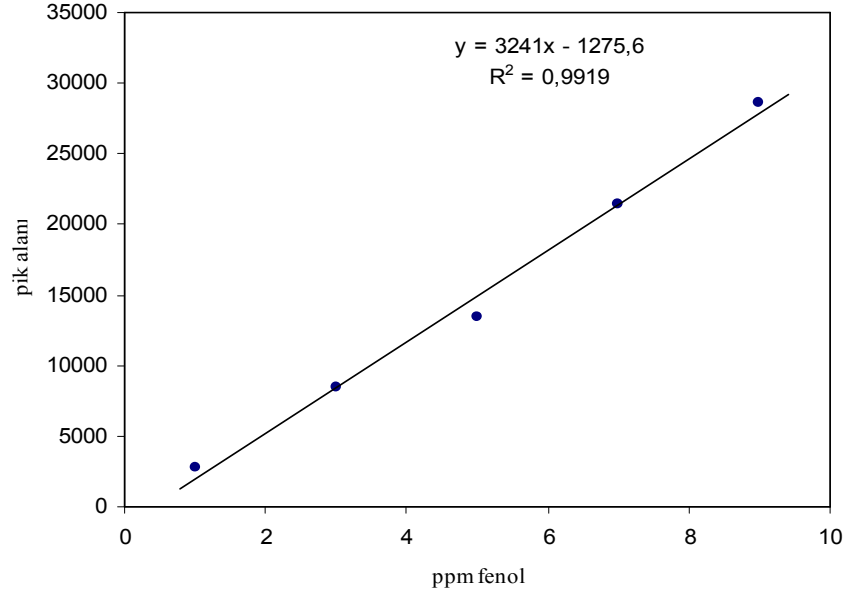
Çizelge 3.2. : Farklı Tuz Bileşiminde Gerçek Sigara Örneklerinde R_T ve R_{ort} Değerleri (280 nm)

| | % R | % R_{ort} |
|-------------|-------|--------------|
| 0.5 g XAD-4 | 81 | |
| | 40.2 | |
| | 58.6 | 59.93± 34.10 |
| 1 g XAD-4 | 122.8 | |
| | 102 | |
| | 156.2 | 127± 21.53 |

3.2.2.2. Gerçek Sigara Örnekleri Kullanılarak HPLC/UV Sistemi ile Yapılan Geri Alınabilirlik Çalışmalar

İzmarit ekstraktından fenolün geri alınabilirlik çalışmaları ve yüzde hesaplamaları için izlenen yol aşağıda verilmiştir.;

- İçilmiş bir adet sigara filtresinin asetonitrildeki 2 ml çözeltisine 1000 ppm stok çözeltiden 32, 35, 63, 70 ve 126 µl fenol örneği eklendi.
- Magnetik karıştırıcıda karıştırılan örneğe %1 HAc çözeltisinden 5 ml alınarak yavaş yavaş eklendi ve selüloz asetat çöktürüldü.
- Elde edilen çözelti mavi bant süzgeç kağıdından süzülerek selüloz asetat ayrıldı.
- Süzüntüden alınan 1ml, şartlandırılmış 1 g XAD-4 kolondan geçirildi ve %R değerleri hesaplandı.
- Şartlandırma, ön temizleme ve ekstraksiyon işlemi;
 - * 5 ml MeOH
 - * 5 ml Su
 - * 1 ml örnek
 - * 2 ml %1 HAc içeren su
 - * 1 ml MeOH (atıldı)
 - * 3 ml MeOH şeklinde yapıldı.
- 3 ml MeOH ile alınan süzüntü tamamen buharlaştırılarak üzerine 1 ml MeOH eklendi ve alınan 5 µl doğrudan HPLC/UV sistemine enjekte edildi.
- Bölüm 2.2.1.'de anlatıldığı şekilde hazırlanan standart çözeltilerin pik alanları grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğrusu çizildi (Şekil 3.9.).
- Şekil 3.9.'da gösterilen kalibrasyon doğrusu kullanılarak fenolün %R değerleri hesaplandı ve Çizelge 3.3.'de gösterildi.



Şekil 3.9. : Kalibrasyon Doğrusu, Koşullar: %5 NaCl, 30:70 ACN:H₂O, pH = 2, UV 280 nm

Çizelge3.3.'de %R değerleri standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Tablodan görüldüğü gibi eklenen fenol derişiminin geri alınabilirlik üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Ayrıca fenolün filtre çöktürülmeden veya çöktürüldükten sonra eklenmesinin de geri alınabilirlik üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı söylenebilir. Ortalama %105 olarak bulunan geri alınabilirlik değeri, çöktürülmüş filtrede fenol tutulmadığını göstermektedir.

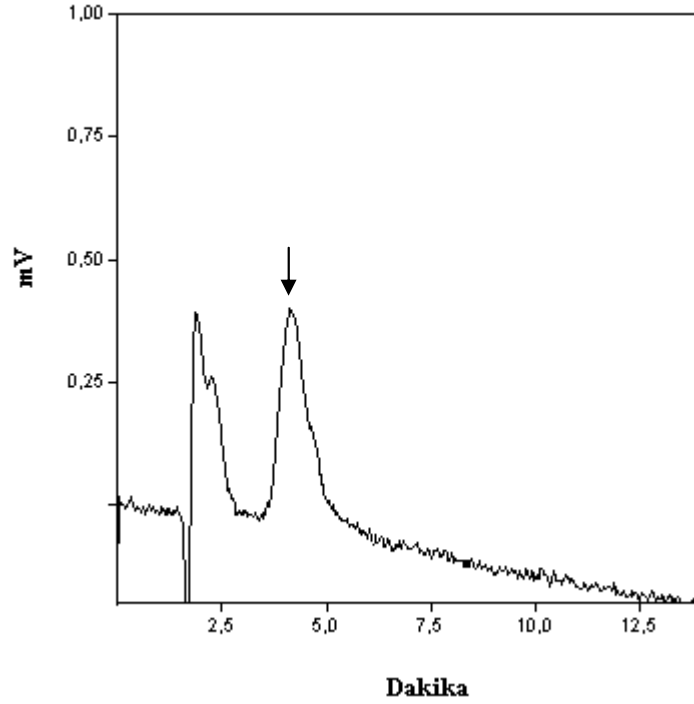
Çizelge 3.3. : Standart Fenol Çözeltisinden Yüzde Geri Alınabilirlik Değerleri (n = 3)

| µg fenol/izmarit | %R | %RSD |
|------------------------|-----|------|
| 32 | 121 | 12 |
| 35* | 92 | 13 |
| 63 | 110 | 15 |
| 70* | 120 | 7 |
| 126 | 83 | 8 |
| $R_{ort} = 105 \pm 16$ | | |

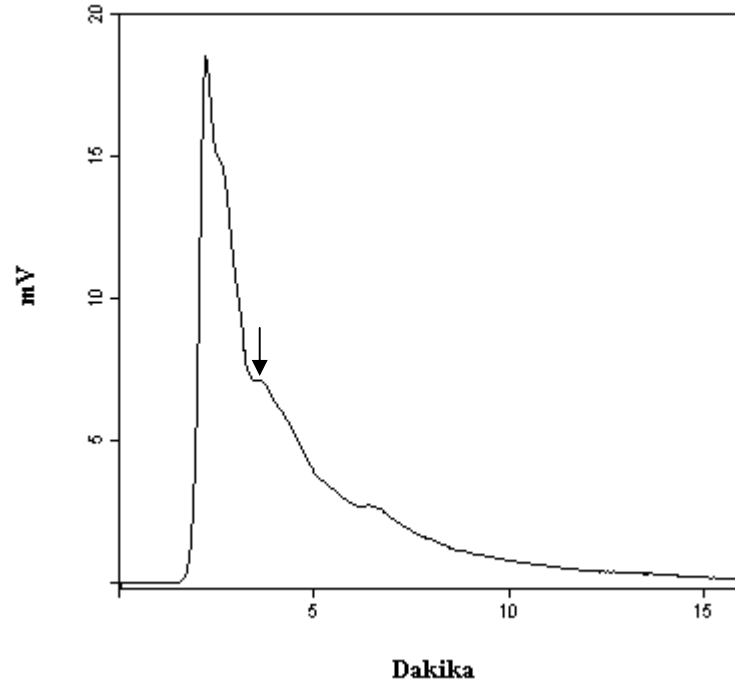
* Selluloz asetat çöktürüldükten sonra fenol eklendi.

Şekil 3.10.'da standart fenol, Şekil 3.11.'de standart eklenmiş izmarit ve Şekil 3.12.'de ise gerçek izmarit kromatogramı görülmektedir. Hem kalibrasyon doğrusu çözeltilerinde hem de izmaritin hazırlandığı çözeltide NaCl deşimi %5 olarak ayarlanmıştır.

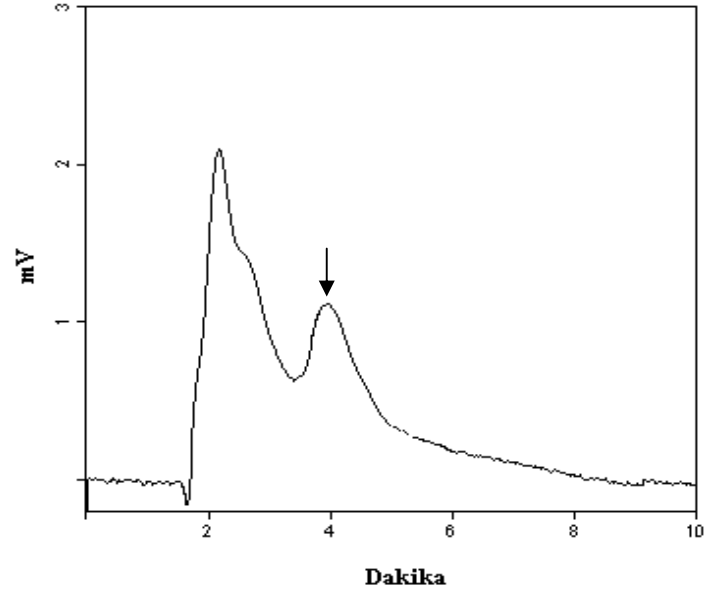
Şekil 3.12.'de iyi bir ayırımla kromatogramda görülen fenol standardının geri alınabilirlikleri Çizelge 3.3.'de görüldüğü gibi eklenen fenol miktarından (32-126 µg) etkilenmediği ve ortalama geri alınabilirliğin %105 olduğu görülmektedir. Deney kesinliği %16 ve kalibrasyon doğrusu r^2 değeri ise 0.9919 bulunmuştur.



Şekil 3.10. : Standart Fenol Çözeltilisinin (7 ppm) Kromatogramı, Kromatografik Koşullar; %5 NaCl, 30:70 ACN:H₂O, pH = 2, UV 280 nm



Şekil 3.11. : Tip 1 Gerçek Sigara Filtre Ekstraktının Kromatogramı, Kromatografik Koşullar; Şekil 3.10.'da verilmiştir



Şekil 3.12. : 7 ppm Fenol Eklenmiş İzmarit Ekstraktının (Tip 1) Kromatogramı, Kromatografik Koşullar; Şekil 3.10.'da verilmiştir

3.3. İzmaritte Fenol Tayini

Çalışmamızda ikisi yerli 3 tür sigara izmarit filtresinde fenol miktarı tayin edilmiştir. Bu sigaraların bazı özellikleri Çizelge 3.5.'de verilmiştir. Bu üç çeşit sigara örneğine (%5 NaCl) 500 ppm fenol çözeltisinden sırasıyla; 6, 18, 30, 42 ve 54 µl eklenerek, her biri için kalibrasyon doğrusu çizildi. Kalibrasyon doğruları Şekil 3.13. (a), (b), (c)'de gösterilmiştir.

Bölüm 3.2.2.2.'de anlatıldığı şekilde hazırlanmış gerçek izmarit örneklerinden alınan 1 ml, önceden şartlandırılmış XAD-4 kolondan geçirilmiştir. Alınan eluent buharlaştırılarak kurutulmuş, 1 ml metanol ve standart fenol eklendikten sonra 5 µl HPLC/UV sistemine enjekte edilmiştir. Kantitatif değerlendirme standart ekleme yöntemine göre bulunan kalibrasyon doğruları yardımıyla yapılmıştır. Bulunan fenol değerleri Çizelge 3.4.'de verilmiştir. Çizelgedeki fenol miktarları hesaplanırken standart ekleme yöntemindeki güvenilirlik aralığı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (48);

$$x_E \pm t.S_{x_E}$$

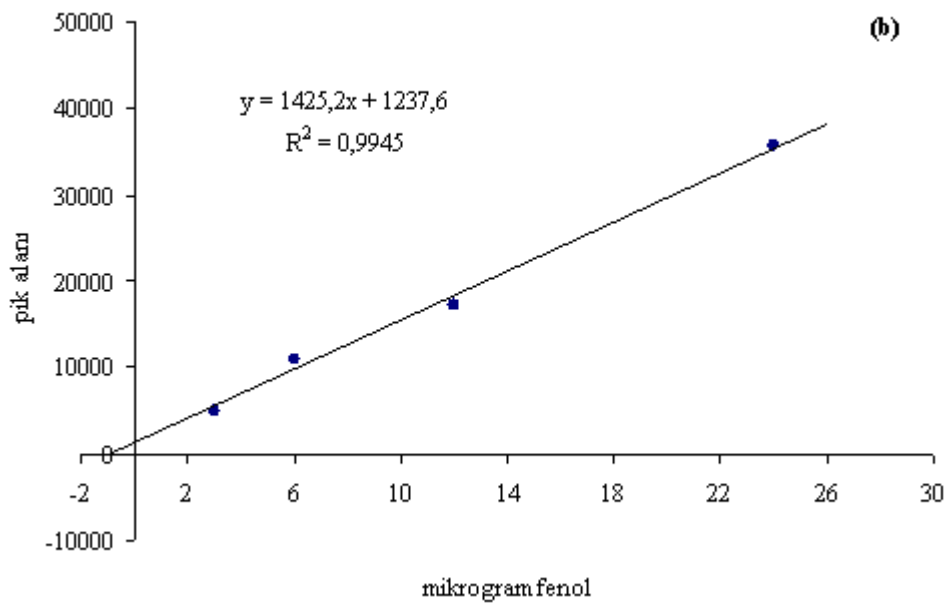
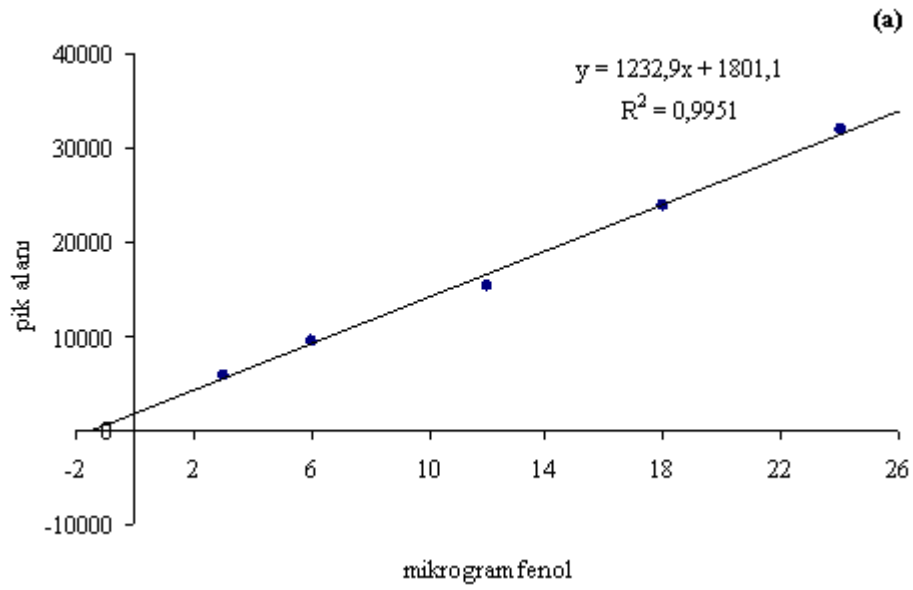
x_E ; gerçek örnekteki derişim (y eksenini kesim değeri/ eğim),

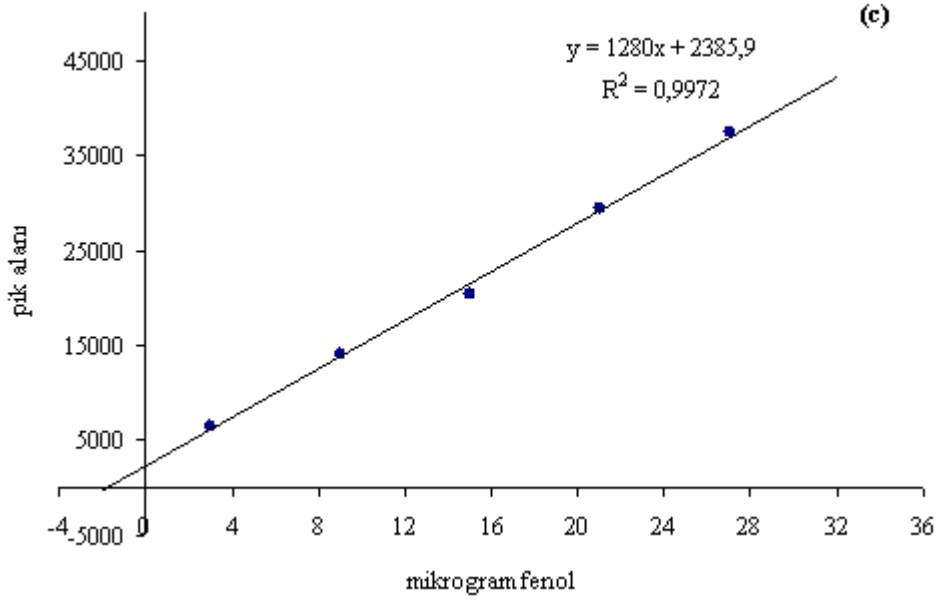
t ; istatistiksel sabit,

S_{x_E} ; x_E değerinin standart sapmasıdır.

Çizelge 3.4. : Farklı Tip Sigaralarda Zifir, CO, Nikotin İçerikleri ve Tayin Edilen Fenol Miktarları (n = 4)

| Örnek | Zifir (mg) | CO (mg) | Nikotin (mg) | Fenol (µg/ izmarit) |
|-------|------------|---------|--------------|---------------------|
| Tip 1 | 10 | 10 | 0.8 | 13.02± 1.82 |
| Tip 2 | 10 | 10 | 0.9 | 6.08± 2.38 |
| Tip 3 | 10 | 10 | 0.8 | 10.23± 0.99 |





Şekil 3.13. : Standart Ekleme Kalibrasyon Doğrusu, Koşullar: %5 NaCl, 30:70 ACN: H₂O, pH = 2, UV 280 nm
(a) Tip 3, (b) Tip 2, (c) Tip 1

Standart fenol çözeltileri ile yöntemin LOD değeri 0.988 µg/ml, LOQ değeri ise 3.29 µg/ml, gerçek izmarit örneklerinde ise LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 1.73 ve 5.76 µg/izmarit olarak bulunmuştur.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Amberlite XAD-4 maddesinin, fenolün sigara izmarit filtresinin asetonitril çözeltisinden katı faz ekstraksiyon sistemi ile kazanımında iyi bir adsorban olduğu gösterilmiştir.
2. XAD-4 fenol için iyi bir seçicilik göstermiştir.
3. XAD-4 kolon, adsorban miktarı ayarlanarak daha iyi bir hale getirilebilir.
4. Fenolün miktarı Parliament (Tip 1) için 13.02 ± 1.82 µg/izmarit, Tekel 2000 (Tip 2) için 6.08 ± 2.38 µg/izmarit, Samsun (Tip 3) için 10.23 ± 0.99 µg/izmarit olarak bulunmuştur.
5. Standart fenol örneği için LOD = 0.988 µg/ml, LOQ = 3.29 µg/ml, gerçek izmarit (Tip 1) standart ekleme yöntemi için LOD = 1.73 µg/izmarit, LOQ = 5.76 µg/izmarit olarak bulunmuştur.
6. Fenolün tayini için optimum kromatografik koşullar; hareketli faz: %70 su (%1 HAc)- %30 MeOH, akış hızı 0,5 ml/dak ve dalga boyu 280 nm olarak bulunmuştur.
7. Standart örnekle yapılan çalışma ile fenolün XAD-4 kolonundan geri alınabilirliği %77.34 iken bu değer gerçek örneklerde %105'dir. Standart çözeltiler için standart sapma 1.82 iken sigara örneklerin yüzde standart sapması 0.99 ile 2.38 arasındadır.
Kompleks matriks yapıya rağmen hesaplanan bağıl standart sapmalar yöntemin kesinliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.
8. Yöntemin en önemli dezavantajı buharlaştırma işlemidir. Ancak 3 kat zenginleştirme sağlaması nedeni ile yöntemin önemli bir basamağıdır.
9. Yöntemde aşırı miktarda çözücü kaybı olmamakta, tüm analiz 8 dakika içinde tamamlanabilmektedir.
10. Yapılan analiz sonucu izmarit zifirinde önemli miktarda (ortalama yaklaşık 10 µg/sigara) fenol bulunduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda dumanda fenol miktarının 7-14 µg/sigara aralığında bulunduğu belirtilmektedir (28, 29).

KAYNAKLAR

- (1) Anonim, Tütün Hakkında, British American Tobacco Türkiye, <http://www.bat.com.tr/> (Erişim tarihi: 31.03.2008)
- (2) Haas, L. F., Jean Nicot., J. Neurol Neurosurg Psychiatry 55: 430, 1530- 1600, 1992.
- (3) Martin, A.J.P., Syngé, R.L.M., A New Form of Chrommatogram Employing Two Liquid Phases I. Application to the Micro Determination of the Higher Monoamino Acids in Proteins. Biochem.J., 35,1358-68, 1941.
- (4) Anonim, Sigara, <http://tr.wikipedia.org/wiki/> (Erişim tarihi: 12. 02. 2009)
- (5) Stedman,R.L., Polifenolic Constituents of Tobacco. Tob. Sci. 1:155-160, 1957.
- (6) Demirci,A., HPLC ile Sigara İzmaritinde PAH' ların Tayininde Karşılaşılan Problemler Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi. O. M. Ü., Samsun, 2000.
- (7) Anonim, The History of Filters, Tobaccoasia, <http://www.tobaccoasia.com/news.asp?id=534/> (Erişim tarihi: 18.05.08)
- (8) Anonim, Cigarette Fitler Danger, <http://www.snopes.com/medical/toxins/filter.asp/> (Erişim tarihi:22.12.08)

- (9) Anonim, 1966 Lark Cigarette Commercial,
[http://www.archive.org/details/Cigarette Commercials Lark](http://www.archive.org/details/Cigarette%20Commercials%20Lark)
(Erişim tarihi: 18.04.2009)
- (10) Aygün, F.Ş., Sigara İzmarit Zifiri Üzerine Kromatografik Çalışmalar.
Yüksek Lisans Tezi. O.M.Ü., Samsun, 1995.
- (11) Rigotti, N. A., Tindle, H. A., The Fallacy of “Light” Cigarettes. BMJ. 328
(7440): E 278- 9, 2004.
- (12) Anonim, Tobacco Research, British American Tobacco, <http://www.bat.com/>
(Erişim tarihi: 31.03.2008)
- (13) Anonim, Sigara Bırakım Oranları Nasıl Ölçülür, British American Tobacco
Türkiye, [http://www.bat.com.tr/group/sites/BAT 7X7FK5.nsf/vwPages
WebLive/DO7X7K58?opendocument&SKN=1/](http://www.bat.com.tr/group/sites/BAT_7X7FK5.nsf/vwPagesWebLive/DO7X7K58?opendocument&SKN=1/)
(Erişim tarihi: 08.05.2008)
- (14) Anonim, About Smokeless Tobacco, European Smokeless Tobacco Council,
<http://www.estoc.org/about-smokeless-tobacco/>
(Erişim tarihi: 08.05.08)
- (15) Elam, M., Struggling to Give Substance to Harm Reduction: The Case of
Swedish Snus , Paper Prepared Fort He ISA- Barcelona Conference
TG04 Sociology of Risk and Uncertainty, 5-8th September 2008.

- (16) Anonim, British American Tobacco Group Research & Development - Determination of phenols in mainstream cigarette smoke, British American Tobacco, <http://www.bat.com/> (Erişim tarihi: 31.03.2008)
- (17) Rios, J.J., Gil, M.J., Rosales, F.G., Solid - Phase Extraction Gas Chromatography - Ion Trap-Mass Spectrometry Qualitative Method for Evaluation of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil and Structural Confirmation of Oleuropein and Ligstroside Aglycons and Their Oxidation Products. *Journal of Chromatography A*. 1093: 167-176, 2005.
- (18) Bagheri, H., Babanezhad, E., Khalilian, F., A Novel Sol – Gel - Based Amino-Functionalized Fiber for Headspace Solid-Phase Microextraction of Phenol and Chlorophenols from Environmental Samples. *Analytica Chimica Acta.*,616:49-55,2008.
- (19) Rezaee, M., Yamini, Y., Shariati, S., Esrafil A., Shamsipur, M., Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Combined with High-Performance Liquid Chromatography-UV Detection as a Very Simple, Rapid and Sensitive Method for the Determination of Bisphenol A in Water Samples. *Journal of Chromatography A*. 1216: 1511– 1514, 2009.
- (20) Vinas, P., Campillo, N., Martínez-Castillo, N., Córdoba Hernández, M. Solid-phase Microextraction on-fiber Derivatization for the Analysis of Some Polyphenols in Wine and Grapes Using Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1216: 1279–1284, 2009.
- (21) Li, Q., Wang X., Yuan D., Preparation of Solid - Phase Microextraction Fiber Coated with Single-Walled Carbon Nanotubes by Electrophoretic Deposition and Its Application in Extracting Phenols from Aqueous Samples. *Journal of Chromatography A*. 1216: 1305–1311, 2009.

- (22) Simones, G.N., Cardoso V.V., Ferreira E., Benoliel, J. M., Cristina M. M. Almedia, Experimental and Statistical Validation of SPME-GC-MS Analysis of Phenol and Chlorophenols in Raw and Treated Water. *Chemosphere*. 68: 501- 510, 2007.
- (23) Faraji, H., β - Cyclodextrin - Bonded Silica Particles as the Solid - Phase Extraction Medium For the Determination of Phenol Compounds in Water Samples Followed by Gas Chromatography with Flame Ionization and Mass Spectrometry Detection. *J. of Chrom. A*. 1087: 283- 288, 2005.
- (24) Ahmaruzzaman, Md., Adsorption of Phenolic Compounds on Low - Cost Adsorbents: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 10.1016/j.cis.2008.
- (25) Coman, V., Moldovan, Z., RP-HPLC Method For the Separation of Some Phenol Derivatives Using Gradient Elution and UV detection. *J. High Resol. Chromatogr.* 23, (12) 699–701, 2000.
- (26) Smith, P. T., Risks to Human Health and Estuarine Ecology Posed by Pulling Out Creosote-Treated Timber on Oyster Farms. *Aquatic Toxicology*. 86 287-298, 2008.
- (27) Vainiotalo, S., Vananen V., Vaaranrinta R., Measurement of 16 Volatile Organic Compounds in Restaurant Air Contaminated With Environmental Tobacco Smoke. *Environmental Research*. 10.1016/j.envres., 2008.
- (28) McGrath, T. E., Brown, A. P., Meruva Naren K., Chan W. Geoffrey, Phenolic Compound Formation from the Low Temperature Pyrolysis of Tobacco. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*. 84:170–178, 2008.

- (29) Moldoeanu,S., Kiser,M., Gas Chromatography/ Mass Spectrometry Versus Liquid Chromatography/ Fluorescence Detection in the Analysis of Phenols in Mainstream Cigarette Smoke. Journal of Chromatography A. 1141: 90- 97, 2007.
- (30) Pieraccini,G., Furlanetto, S., Orlandini, S., Bartolucci,G., Gianini,I., Pinzauti, S., Moneti, G. Identification an Determination of Mainstream and Sidestream Smoke Component in Different Brands and Types of Cigarettes by Means of Solid-Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Journal of Chromatography A., 1180: 138-150, 2008.
- (31) Özcimder, M., Demirci, A., Kromatografik Yöntemler. Kuban Matbaacılık Yayıncılık, Ankara, 2009.
- (32) Özcimder, M., Demirci, A., Kimyada Ayırma Yöntemleri. Kuban Matbaacılık Yayıncılık, Ankara 2008.
- (33) A-4 Lauri H.J. Lajunen, Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission. Royal Society of Chemistry, Cambridge,1992.
- (34) Zeev B. Alfassi, Determination of Trace Elements. Journal of the American Chemical Society. 119 (47): 11558, 1994.
- (35) Bakırcıoğlu, Y., Bazı Eser Elementlerin Deta (dietilentrimin) Polimeri Üzerinde Zenginleştirilerek Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile Tayini. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne, 2000.
- (36) Alver, E., Basit Bir Yöntemle Hazırlanan α - Alüminanın Yüksek Basınç Sıvı Kromatografide (HPLC) Kolon Dolgu Maddesi Olarak ve Bazı İnorganik Anyonların Tayininde Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi. Kırkkale Üniversitesi, Kırkkale, 2005.

- (37) Daignault et al, S.A., A Review of the use of XAD to Concentrate Organic Compounds in Water, *Wat.Res.*, 22: 803-813, 1988.
- (38) Rossom, P.V., Webb R.G., Isolation of Organic Water Pollutants by XAD Resins and Carbon. *J.Chromatogr.*, 150, 351-392, 1978.
- (39) SUPELCO, Chromatography Products for Analysis & Purification. Sigma Aldrich Chemie, Harrison Road Bellefonte, 2008.
- (40) Kujawski, W., Warszawski, A., Ratajczak, W., Porebski, T., Capala, W., Ostrowska, I., Removal of Phenol from Wastewater by Different Separation Techniques. *Desalination*. 163: 287-296, 2004.
- (41) Rodriguez, I., Llompart, M.P., Cela, R., Solid-Phase Extraction of Phenols. *Journal of Chromatography A.*, 885: 291-304, 2000.
- (42) Chen, J.-L., Liu Chuen, Y., Optimization of Preconcentration and Isolation for the Determination of 15 Phenols by Supercritical-Fluid Extraction and Gas Chromatography with Metallomesogenic Stationary Phase. *Analytica Chimica Acta*. 528: 83–88, 2005.
- (43) Huang, J., Wang, X., Huang, K., Adsorption of P-nitroaniline by Phenolic Hydroxyl Groups Modified Hyper-Cross-Linked Polymeric Adsorbent and XAD-4: A Comparative Study. *Chemical Engineering Journal*. 155: 722–727, 2009.
- (44) Zeng, X., Fan, Y., Wu, G., Wang, C., Shi, R., Enhanced Adsorption of Phenol from Water by a Novel Polar Post-Crosslinked Polymeric Adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*. 169: 1022–1028, 2009.

- (45) Zhang, W., Du, Q., Pan, B., Lv, Lu., Hong, C., Jiang, Z., Kong, D., Adsorption Equilibrium and Heat of Phenol onto Aminated Polymeric Resins from Aqueous Solution. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 346: 34–38, 2009.
- (46) Puig, D., Barcelo, D., Determination of Phenolic Compounds in Water and Waste Water. *Trends in Anal. Chem.* 1: 362, 1996.
- (47) Carmines E. L., Lemus R., Gaworski C. L., Toxicologic Evaluation of Licorice Extract as a Cigarette Ingredient. *Food and Chemical Toxicology.* 43: 1303- 1322, 2005.
- (48) Miller, J. C., Miller, J.N., *Statistics for Analytical Chemistry* 3rd Edition. Ellis Horwood PTR Prentice Hall Limited, England, 1993.