T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
Danışman: Prof. Dr. Buket Alpertunga

SULARDA AKRİLAMİD KONTAMİNASYON DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Ecz. Sevil Epçeli

İSTANBUL - 2005

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı, Hocam Prof. Dr. Buket Alpertunga' ya tez çalışmamın her aşamasında göstermiş olduğu ilgiden dolayı teşekkür ve saygılarımı sunarım. Anabilim Dalı' ndaki arkadaşlarıma yardımları ve destekleri için teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmamı destekleyen İ. Ü. Bilimsel Araştırmalar Yürütücü Sekreterliği'ne teşekkür ederim.

Bu çalışma,
İstanbul Üniversitesi Bilimsel
Araştırmalar Yürütücü Sekreterliği
tarafından desteklenmiştir.
Proje No: T - 429/08032004

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI....1
2. GENEL BÖLÜM....3
2.1. Akrilamid....3
2.1.1. Kimyasal Yapı....3
2.1.2. Fiziksel Özellikleri....4
2.1.3. Kimyasal Özellikleri....4
2.1.4. Kullanım Alanları....5
2.1.4.1. Akrilamid....5
2.1.4.2. Poliakrilamid....5
2.1.4.3. Akrilamid ve poliakrilamidlerin diğer kullanım alanları....9
2.1.5. Maruziyet....9
2.1.5.1. Çevresel maruziyet....9
2.1.5.2. Mesleki maruziyet....10
2.1.5.3. İçme suyu....10
2.1.5.4. Gıdalar....10
2.1.5.5. Kozmetik ürünler....11
2.1.6. Farmakokinetik Özellikler....13
2.1.7. Canlılar Üzerine Etkiler....17
2.1.7.1. İnsanlar üzerine etkiler....17
2.1.7.2. Hayvanlar üzerine etkiler....18
2.1.7.3. Çevredeki organizmalar üzerine etkiler....19
2.1.8. Sınıflandırma....21
2.1.9. Akrilamidin Su Örneklerinde Tayini....22
3. DENEYSEL BÖLÜM....24
3.1. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler....24
3.1.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler....24
3.1.2. Çözeltiler....24
3.2. Aletler ve Diğer Gereçler....25
3.3. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi ile İlgili Çalışmalar....26
3.3.1. Akrilamidin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Analizi....26
3.3.1.1. Kolon, Mobil faz, Dedektör Dalga Boyu Seçimi....26
3.3.1.2. Ekstraksiyon İşlemi....27
3.3.1.3. HPLC Yardımıyla Ölçü Eğrisi Hazırlanması....30

4. SONUÇLAR.....31
4.1. Akrilamidin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Analizi.....31
4.1.1. Kolon, Mobil Faz ve Dedektör Dalga Boyu Seçimi.....31
4.1.2. Ekstraksiyon İşlemi.....32
4.1.3. Ölçü Eğrisinin Regresyon Analizi.....33
4.1.4. Akrilamid Katkılı Milli-Q Su Örneklerinde Verim Hesaplanması.....37
5. TARTIŞMA.....38
6. ÖZET.....41
7. SUMMARY.....42
8. KAYNAKLAR.....43
9. ÖZGEÇMİŞ.....50

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Akrilamid endüstride poliakrilamid ve polimerlerin üretiminde, elektroforez jellerin hazırlanmasında, minerallerin işlenmesinde, toprak ve kum stabilizasyonunda, baraj, kanalizasyon sistemlerinin kurulmasında, kontakt lens, kağıt, boya, yağ, kozmetik preperatlar ve jelatin kapsüller dahil olmak üzere çeşitli tüketim malzemelerinin üretiminde kullanılan, suda çözünürlüğü yüksek, beyaz renkte, kokusuz bir monomerdir.

Akrilamidin öncelikli kullanım alanı yüksek molekül ağırlıklı poliakrilamidlerin üretimidir. Akrilamid ekzotermik reaksiyonla hızla polimerize olarak suda çözünen polimerler oluşturur. Avrupa Birliği' ne üye ülkelerde üretilen akrilamidin yaklaşık % 99.9' u poliakrilamid üretiminde kullanılmaktadır. Üretilen poliakrilamidin yaklaşık % 80-90' ı ise içme suyu ve atık su arıtımında kullanılmaktadır. Polimerler 14.000 - 420.000 monomerden oluşan 1 - 30 milyon arasında değişen molekül ağırlıklı hidrofilik polimerlerdir. Polimerlerin üretimi sırasında polimerizasyon prosesi % 100 tamamlanmaz ve polimerler değişen miktarlarda kalıntı akrilamid monomeri içerirler. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) içme suyunda bulunabilecek kalıntı akrilamid düzeyini 0.5 µg/L ile, Avrupa Birliği (EU) ise 0.1 µg/L ile sınırlandırmıştır. Ülkemizde de suyla temas eden polimerlerden kaynaklanan kalıntı akrilamid düzeyi, 0.1 µg/L ile sınırlandırılmıştır.

Akrilamide maruziyet, içme suyu arıtımında kullanılan polimerler, atık sular, gıdalar ve sigara dumanı aracılığıyla veya mesleki maruziyet ile gerçekleşebilir. Akrilamid toksisitesinde hedef sinir sistemidir. Merkezi ve periferik sinir sisteminde meydana gelen aksonal dejenerasyona bağlı olarak polinöropati gelişir. Nörotoksik etki yanında üreme sistemi, genetik materyal ve gelişim üzerinde de olumsuz etkiler görülebilmektedir. Akrilamid, Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (IARC) tarafından insanlar için olası kanserojen maddeler grubunda (2A) sınıflandırılmıştır.

Akrilamid ile kontamine olmuş suya maruziyet sonucu, insanlarda ve hayvanlarda advers etkiler gözlenmiştir. İnsanlarda görülen etkiler, akrilamide maruz kalan hayvanlarda görülenlerle benzerdir. İnsanlarda dermal maruziyet sonucu ellerde soyulma, eritem, dermatit gözlenmiş, sıçanlarda oral maruziyet sonucu özellikle adrenal, tiroid, over, uterus ve testislerde tümör insidansında artış görülmüştür.

Akrilamidin içme sularının arıtılmasında ve endüstride yaygın olarak kullanımı içme ve yüzey sularında bulunabileceğini düşündürmektedir. Çeşitli gıda maddelerinde ve sularda akrilamid düzeylerinin tayini için yöntem geliştirilmesi kapsamında laboratuvarımızda başlattığımız çalışmaların bir bölümünü oluşturan bu çalışmada, diode-array dedektör donanımlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-DAD) yöntemi ile sularda akrilamid düzeyinin tayin edilmesi planlandı. Çalışmamızın sonuçlarının akrilamid ile ilgili sürdürülmekte olan araştırmalara katkısı olacağı düşünüldü.

2. GENEL BÖLÜM

2.1. AKRİLAMİD

2.1.1. Kimyasal Yapı

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) adı : 2-propenamid

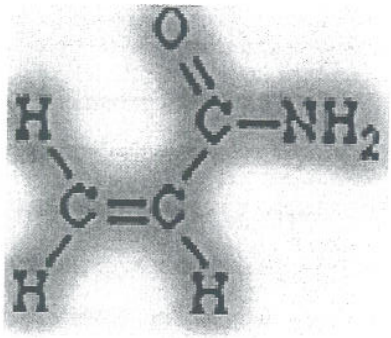
Kimyasal adı : Akrilamid

Sinonimler : Akrilik asit amid, etilen karboksamid, propenoik asit amid, vinil amid

Molekül formülü : C_3H_5NO

Yapısal formülü : $CH_2 = CH - CONH_2$

Molekül ağırlığı : 71.09



Akrilamid: Akrilik asit amid, etilen karboksamid, propenoik asit amid, vinil amid

Ticari akrilamidin saflık derecesi > % 99' dur. Eser miktarda bulunabilen safsızlıklar; akrilik asit, asetamid, aseton, akrilonitril, bakır, formaldehit, hidrokinon, metakrilamid, metil eter hidrokinon, peroksit, propanamid ve sülfattır.

2.1.2. Fiziksel Özellikleri

Erime noktası :	84.5 °C
Yoğunluk :	30 °C' de 1.122 g/mL
Suda çözünürlük :	30 °C' de 2.16 g/mL
Buhar basıncı :	25 °C' de 0.9 Pa

Beyaz renkli, kristalize, katı formda olan akrilamid su, metanol, etanol, dimetileter ve asetonda çözünür, benzen ve heptanda çözünmez. Oda sıcaklığında yavaşça sublime olur.

Ticari olarak katı halde, % 30 veya % 50' lik sulu çözelti halinde bulunur.

2.1.3. Kimyasal Özellikleri

Akrilamid, içerdiği etilenik çift bağ ve amid grubu nedeniyle oldukça reaktiftir. Amid grubu olan kimyasalların verdiği hidroliz, dehidratasyon, alkoliz gibi tipik reaksiyonları verir. Etilenik çifte bağı üzerinden ise, erime derecesinin altındaki sıcaklıklarda ve UV ışınlarına maruziyet sonucu ekzotermik reaksiyonla hızla polimerize olur. Demir ve pas akrilamid çözeltilerinin hızlı ekzotermik polimerizasyonunu tetikler.

Polimerler 14.000 - 420.000 monomerden oluşan 1 - 30 milyon arasında değişen molekül ağırlıklı hidrofilik polimerlerdir. Doymamış katerner amonyum bileşikleri ile reaksiyon sonucu katyonik polimerler, karboksilik asit veya sülfonik asit ile reaksiyon sonucu anyonik polimerler oluşur. Polimerizasyon prosesi % 100 tamamlanmaz ve polimerler değişen miktarlarda reaksiyona girmeyen kalıntı akrilamid monomeri içerirler.

Akrilamid ayrıca elektrofilik özelliği nedeniyle biyomoleküllerin yapısında bulunan - SH ve - NH_2 gibi nükleofilik gruplarla reaksiyona girebilir.

2.1.4 Kullanım Alanları

2.1.4.1 Akrilamid

Poliakrilamid üretimi

Akrilamidin öncelikli kullanım alanı yüksel molekül ağırlıklı poliakrilamidlerin üretimidir (1) . Akrilamid ilk defa 1893 yılında Almanya' da üretilmiştir ve ticari üretimi 1954 yılında başlamıştır. Avrupa Birliği' ne üye ülkelerde üretilen akrilamidin yaklaşık % 99.9' u poliakrilamid üretiminde kullanılmaktadır.

Elektroforez jeller

Akrilamid elektroforezde kullanılmak üzere polimer jelin hazırlanmasında kullanılır (2) .

Harçlar

Akrilamid içeren harçlar, kaya veya toprak kütlelerinin mutlak dayanıklılığını arttırmak için jeoteknolojik uygulamalarda ve su ve/veya kanalizasyon boruları, tünel, yol ve baraj yapımı gibi mutlak su geçirmezliği gereken uygulamalarda kullanılırlar (3) .

2.1.4.2 Poliakrilamid

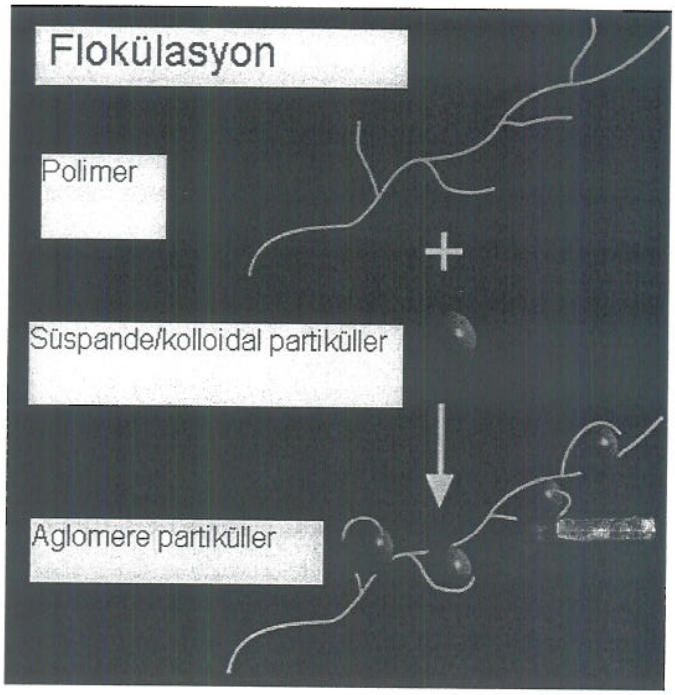
Üretilen poliakrilamidin yaklaşık % 80-90' ı içme suyu ve atık su arıtımında kullanılmaktadır (1) .

Flokülasyon (Topaklaştırma)

Ticari olarak üretilen akrilamid polimerlerinin en geniş kullanım alanı içme suyunun, madencilik aktiviteleri, kağıt yapımı gibi işlemlerden kaynaklanan atık suların, lağım ve diğer endüstriyel prosesler sonucu oluşan suların işlenmesinde kullanımıdır.

Organik ve inorganik maddeler sulu ortamda çözelti halinde veya çözünmemiş halde bulunurlar. Çözünmüş bileşikler; farklı molekül ağırlığında partikül büyüklüğünde olan organik veya inorganik bileşiklerdir. Çözünmemiş maddeler, farklı partikül büyüklüğünde kolloidler veya süspande olmuş maddelerdir. İri taneli, özgül ağırlığı yüksek olan katı maddeler kendiliğinden çöküp ayrılırken, kolloid maddeler gibi partikül çapları çok küçük (10^{-7} - 10^{-9} mm), çökelme hızları oldukça yavaş (yaklaşık 30 cm/yıl) olan katıların çökmesi zordur.

Filtrasyon, sedimentasyon ve santrifüj gibi katı-sıvı ayırma metotları, kolloidal partiküllerin çapları küçük olduğundan stabil çözeltilere uygulanamaz. Ayrıca doğal kolloidlerin çoğu negatif yüke sahiptir ve bu da onları kararlı hale getirip çökmelerini önleyen en önemli etkendir. Bu maddelerin kararlı yapılarını bozmak için, yüzeylerinde oluşan enerji bariyerlerinin aşılması yani itme kuvvetinin ortadan kaldırılması gerekir. Koagülasyon ile ortama pozitif yüklü iyonlar verilerek yük nötralizasyonu gerçekleştirilir ve partiküller arasında itme kuvveti yok edilerek kolayca çökebilir hale getirilir. Flokülasyon (Topaklaştırma) ile de kararlı yapıları bozulmuş olan partiküller polimerle filtrasyonla uzaklaştırılabilecek flok oluşturarak adsorplanırlar ve katı-sıvı ayrımına olanak sağlarlar.



Şekil 1. Flokülasyon (Topaklaştırma)

Koagulasyon - flokülasyon (topaklaştırma) işlemi ile bulanıklık, kolloidal maddeler, renk, fosfor, BOI, KOI, Kjendal azotu, virüs, bakteri ve algler gibi organik maddeler giderilebilir. Bu proses ayrıca kadminyum, krom (Cr^{+3}), kurşun, selenyum, civa, florür, demir, aluminyum, bakır, arsenik gideriminde de kullanılır.

Stabil partikülleri veya koagüle süspansiyonları destabilize ederek filtrasyonla uzaklaştırılabilecek agregatlar oluşturmak için kullanılan bu polimerler, 1 - 30 milyon molekül ağırlıklı, 14.000 - 420.000 monomer zincir uzunluğunda hidrofilik akrilamid polimerlerleridir. Bu polimerler homopolimerizasyon sonucunda non-iyonik, kopolimerizasyon sonucunda ise katyonik veya anyonik olabilirler. Katyonik polimerlerdeki kalıntı akrilamid miktarı daha fazladır.

Yüzey boyaları

Polimerler daha iyi pigment ayrımı ve akışı sağlamak için dağıtıcı ve bağlayıcı olarak kullanılırlar. Yüzey boyaları ev uygulamalarında ve otomotiv sektöründe kulanılır.

Tekstil

Akrilamid polimeri içeren özel jeller tekstil endüstrisinde lubrikant olarak kullanılır. Jel, giysilerin birbirleriyle yapışmasını önler ve boyama işemi sırasında pigment dispersiyonuna yardımcı olarak düz, tek renk oluşumunu sağlar.

Deri işleme

Poliakrilamidler deriye parlaklık ve esneklik verirler.

Kağıt üretimi

Poliakrilamidler hem kağıt üretim prosesinde hem de üretim sırasında oluşan atık suyun işlenmesinde kullanılırlar. Kağıt üretiminde liflerin, dolgu maddesinin, pigmentlerin ve diğer bileşenlerin bağlanmasına yardımcı olur ve üretimin kağıt oluşumu aşamasında suyun uzaklaştırılmasında kullanılırlar.

Kozmetikler

Poliakrilamidler sabunlarda ve kozmetik preperatlarda koyulaştırıcı olarak, saç ürünlerinde parlaklık verici olarak ve cilt bakımı ürünlerinde pürüzsüzlük vermede kullanılır.

2.1.4.3 Akrilamid ve poliakrilamidlerin diğer kullanım alanları

Akrilamid ve poliakrilamidler ayrıca gıda ambalajı, maden cevheri, ham yağ işleme proseslerinde, toprağı beslemede, pestisid üretiminde kullanılırlar (3).

2.1.5 Maruziyet

2.1.5.1 Çevresel maruziyet

Akrilamid, poliakrilamid üretimi sırasında oluşan atıklar ile veya polimerlerin endüstride çeşitli alanlarda kullanımları sırasında çevreye yayılabilir. Polimerlerdeki polimerleşmemiş, kalıntı monomer akrilamid miktarı önemlidir.

Toprak : Toprak ve kum stabilizasyonundaki kullanım sırasında akrilamid toprağa serbestlenebilir. Serbestlenen akrilamid toprağa bağlanmaz ve toprak içinde hızla hareket eder. Yapılan çalışmalarda akrilamidin toprak tipi, pH ve sıcaklığa bağlı olarak farklı derecelerde biyodegredasyona uğradığı gösterilmiştir. En yüksek derecede degredasyon alkali pH' da ve yüksek sıcaklıklarda gözlenmiştir (4). Akrilamidin topraktaki yarılanma ömrünün 30 gün olduğu düşünülmektedir (3).

Atmosfer : Akrilamid atmosferde hidroksil radikalleri ile reaksiyona girdiğinden, havadaki konsantrasyonlarının düşük ve kısa ömürlü olması beklenmektedir. Bu yüzden, bu yolla akrilamide maruz kalan organizmalarda herhangi bir etkiye neden olması beklenmemektedir.

Akrilamidin sudaki yüksek çözünürlüğü nedeniyle, yağmurla uzaklaştırılması olasıdır (3).

Su : Akrilamidin güçlü asidik ve bazik koşullarda akrilik asit ve amonyağa hidroliz olduğu veya biyodegredasyona uğradığı bildirilmiştir (5) . Akrilamid, killi toprağa göre kumlu toprakta daha hareketli olduğundan ve degredasyon hızı daha düşük olduğundan yüzey sularını kontamine edebilir. Toprağa bağlanmadığından yeraltı sularına geçebilir. Fakat sudaki çözünürlüğü yüksek olduğundan ve mikroorganizmalarla degrade olduğundan anlamlı konsantrasyonlara ulaşması olası değildir.

2.1.5.2 Mesleki maruziyet

Mesleki maruziyet, akrilamidin taşınması, saklanması ve kullanımı sırasında veya poliakrilamid üretimi ve kullanımı sırasında dermal yol veya inhalasyon yolu ile gerçekleşebilir.

2.1.5.3 İçme suyu

İçme suyu arıtımında kullanılan poliakrilamid jellerdeki kalıntı monomer akrilamid yoluyla maruziyet görülebilir. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) içme suyunda bulunabilecek monomer akrilamid düzeyini 0.5 µg/L ile, Avrupa Birliği (EU) ise 0.1 µg/L ile sınırlandırmıştır (6) . Ülkemizde de suyla temas eden polimerlerden kaynaklanan kalıntı monomer akrilamid düzeyi, İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik doğrultusunda 0.1 µg/L ile sınırlandırılmıştır (7).

2.1.5.4 Gıdalar

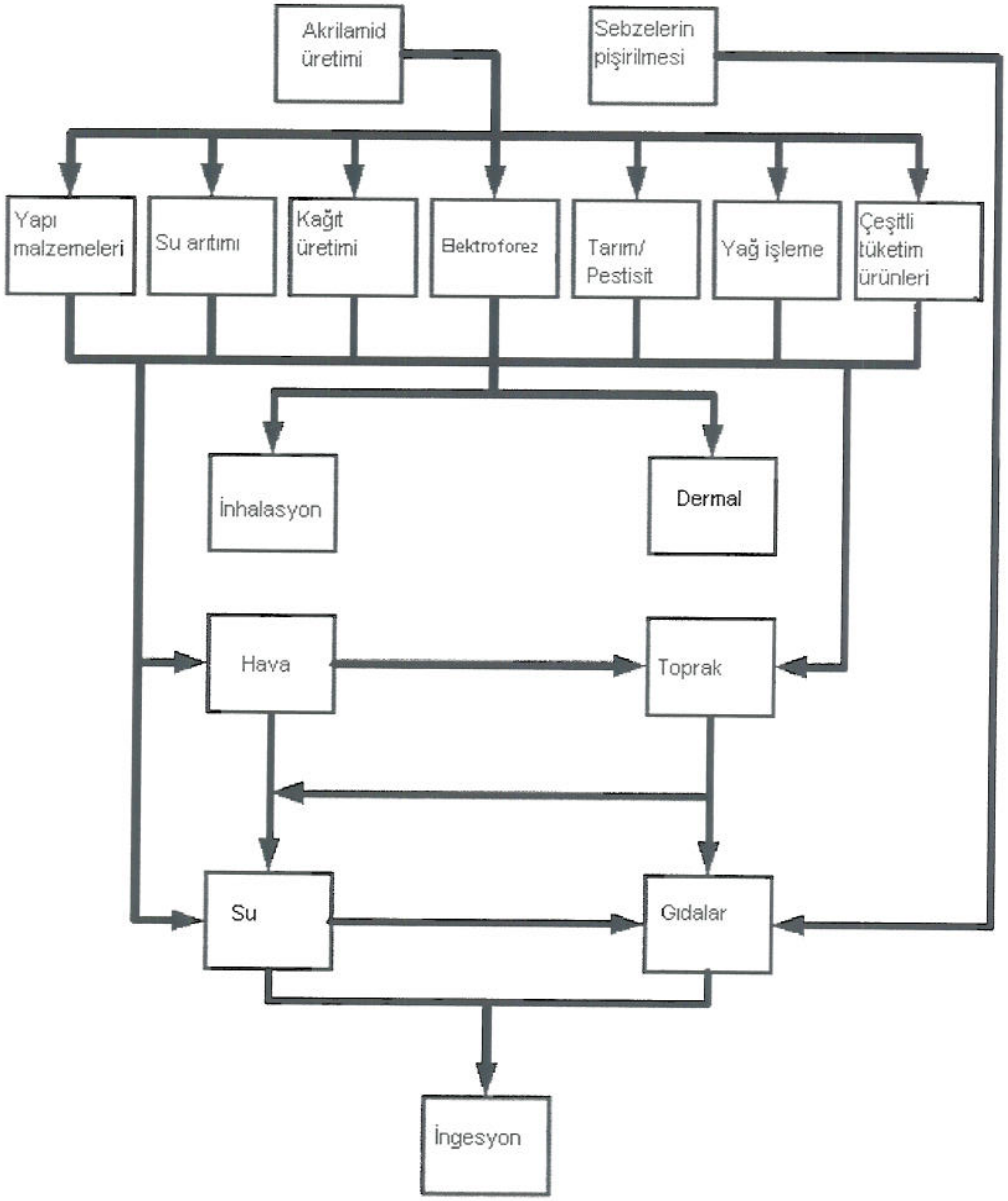
2002 yılında İsveç Ulusal Gıda İdaresi (SNFA) tarafından yüksek ısıda kızartılarak ya da fırınlanarak hazırlanan gıdalarda yüksek miktarlarda akrilamid bulunduğu bildirilmiştir. Bu tarihten itibaren birçok ülkede gıdalarda akrilamid miktar tayini çalışmaları yapılmaktadır. Ülkemizde de Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma

Kurumu (TÜBİTAK) tarafından sürdürülen ve Avrupa Birliği tarafından desteklenen araştırmalar yürütülmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda karbonhidrat yönünden zengin gıdalarda yüksek düzeyde akrilamide rastlanmışken, protein yönünden zengin pişirilmiş gıdalarda akrilamid düzeyinin risk oluşturacak düzeyde olmadığı gösterilmiştir. Çiğ ve kaynatılarak pişirilmiş gıdalarda akrilamid teşhis edilememiştir (8) . Gıdalarda akrilamid oluşumunun aminoasitler ile şekerler arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonu sonucu gerçekleştiği anlaşılmıştır (9,10-13) . Asparajinin akrilamid oluşumundan sorumlu majör aminoasit olduğu tespit edilmiştir. Bunun asparajinin akrilamide yapısal benzerliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (12).

2.1.5.5 Kozmetik ürünler

Avrupa Kozmetik Ürünler Bilimsel Komitesi (SCCNFP), vücut bakım ürünlerindeki kalıntı monomer akrilamid düzeyini 0.1 ppm ile, diğer kozmetik ürünlerde ise 0.5 ppm ile sınırlandırmıştır (14).

İnsanlarda akrilamide maruziyet yolları Şekil 2' de verilmiştir.



Şekil 2. İnsanlarda akrilamide maruziyet yolları

2.1.6 Farmakokinetik Özellikler

Akrilamidin insanlardaki farmakokokinetiği ile ilgili veriler sınırlıdır. İnsanlarda görülen klinik bulgular, deney hayvanları ile yürütülen çalışmaların sonuçları ile uyumlu olduğundan, türler arasında benzer farmakokinetik özellikler olduğu düşünülmektedir.

Absorpsiyon : Hayvanlarda yapılan çalışmalarda maruziyeti takiben akrilamidin hızla ve yaygın olarak absorplandığı gösterilmiştir. İnsanlarda da akrilamid maruziyetini takiben, akrilamidin hızla ve yaygın bir şekilde absorplandığı görülmüştür (15) .

Dağılım ve Bağlanma : Yapılan çalışmalarda akrilamidin yaygın bir şekilde dokulara dağıldığı ve plasentadan geçtiği gösterilmiştir.

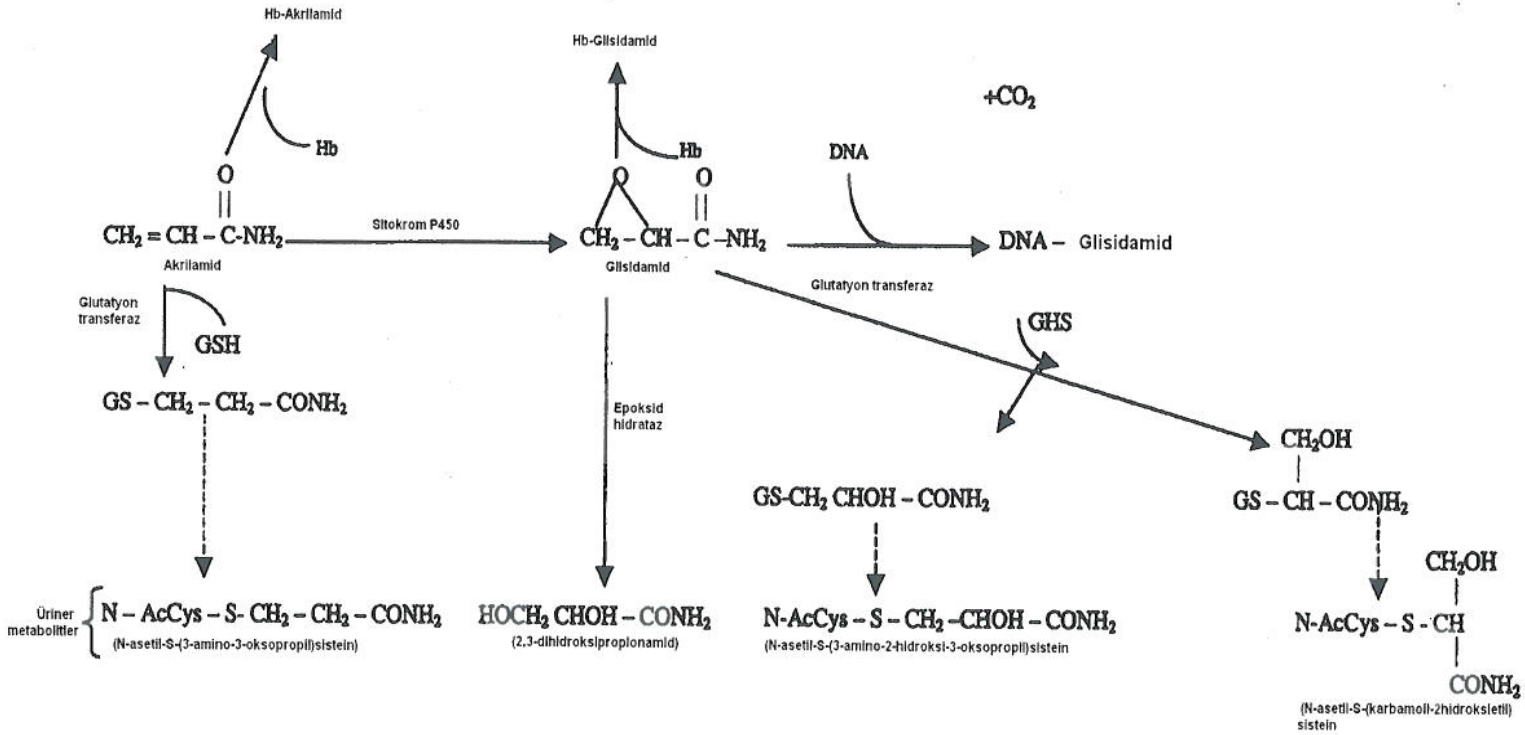
Marlowe ve Clark tarafından yapılan çalışmada (16) , gebe farelere oral yolla akrilamid uygulamasını takiben, hem annede hem de fetusta benzer dağılım görülmüştür. Fetusa dağılımın hızlı ve yaygın olduğu gösterilmiştir .

Carlson ve Weaver tarafından yapılan çalışmada (17) , akrilamidin DNA, RNA ve proteinlere bağlandığı gösterilmiştir. DNA ve RNA' ya bağlanma en fazla karaciğerde, proteinlere bağlanma ise deri örneklerinde görülmüştür.

Metabolizma : Akrilamid 2 ana yolla metabolize olur. Ana yol, karaciğer ve beyinde gerçekleşen glutatyon-S-transferaz enzimi ile katalizlenen glutatyon konjugasyonudur. Konjugasyon sonucu, N-asetil-S-(3-amino-3-oksipropil) sistein metabolitinin oluştuğu bu yolun detoksifikasyon prosesi olduğu düşünülmektedir. İkinci yol ise CYP450E1 aracılığı ile reaktif epoksit metaboliti olan glisidamide

biyotransformasyondur. Glisidamid glutatyon konjugasyonu ve/veya gliseramide ileri metabolizasyona (hidroliz) uğrayabilir.

Hayvanlarda akrilamid biyotransformasyonu için olası yol Şekil 3' te verilmiştir (18).



Şekil 3. Hayvanlarda akrilamid biyotransformasyonu için olası yol

Akrilamide maruz kalan insanlardan ve hayvanlardan alınan kan ve doku örneklerinde akrilamidin hemoglobin ile, glisidamidin ise DNA ve hemoglobin ile addukt oluşturduğu tespit edilmiştir (2, 19). Glisidamid ayrıca hayvan idrarında tespit edilmiştir, bu da glisidamidin stabil bir epoksid metaboliti olduğunu göstermektedir. Glisidamidin karsinojenik ve genotoksik etkiler açısından akrilamidden daha etkili olduğu gösterilmiştir (20-23). Hayvanlarda yapılan toksisite çalışmalarındaki doz aralıklarında, akrilamidin glisidamide dönüşümünün vücuttaki akrilamid miktarı ile ters orantılı olduğu gözlenmiştir (24).

Bergmark tarafından yapılan bir çalışmada (2), elektroforezde kullanılmak üzere poliakrilamid jel hazırlanması sırasında akrilamide maruz kalan laboratuvar personelinin kan örneklerinde akrilamid-Hb adduktlarına rastlanmıştır.

Bergmark ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada (19) da , Çin Halk Cumhuriyeti' nde, akrilamid üretilen fabrikada, 0.11-8.8 mg/m^3 konsantrasyonlarda inhalasyon yolu ve dermal yol ile akrilamide maruz kalan 41 işçinin kan örneklerinde hemoglobin adduktlarına [N-(2-karboksietil) valin ve N-(2-karboksi-2-hidroksietil)valin] rastlanmıştır.

Eliminasyon : Yapılan çalışmalarda, akrilamidin büyük çoğunluğunun idrar ve safrada metabolit olarak atıldığı gösterilmiştir. Safra metabolitlerinin enterohepatik siklusu nedeniyle feçes ile atılım çok azdır (25).

Miller ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (26), 1,10 veya 100 mg/kg dozlarda sulu çözelti şeklinde [2,3-^{14}C] akrilamid uygulanan erkek sıçanlarda uygulanan dozun % 53-67' si 24 saat içerisinde idrarla ve feçesle atılmıştır. 7 gün sonunda uygulanan dozun % 65-82' si elimine edilmiştir. Atılımın % 74' ü idrarla, % 8' i feçesle gerçekleşmiştir.

Ikeda ve Miller tarafından köpekler ve domuzlarla yapılan bir başka çalışmada (27) da, 1 mg/kg/gün dozunda uygulanan akrilamidin % 60' ının idrarla atıldığı gösterilmiştir. Uygulanan dozun % 7-27' si feçesle atılmıştır. Safra yolu ile eliminasyon her 2 türde de major eliminasyon yolu olarak değerlendirilmemiştir.

2.1.7 Canlılar Üzerine Etkiler

2.1.7.1 İnsanlar üzerine etkiler

Akrilamidin insan sağlığı üzerine etkileri ile ilgili bilgilerin çoğu, işyerinde akrilamide maruz kalan kişilerin izlenmesi ile elde edilmiştir. İşyerinde akrilamide maruziyet, dermal yol ve inhalasyon yolu ile gerçekleşmektedir.

He ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (28), akrilamid monomeri ve polimerlerin üretiminde çalışan, 1 - 18 ay süresince 0.03 ve 9 mg/m^3 atmosferik konsantrasyonlarda akrilamide maruz kalan 71 işçi incelenmiştir. İşçiler akrilamide ayrıca 410 mg/L' ye kadar dozlarda akrilamidle kontamine olmuş su ile ellerini yıkarken maruz kalmışlardır. Bu işçi grubunda görülen ve yerel bölgeden seçilen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenen etkiler; ellerde soyulma (% 54), ellerde ve ayaklarda uyuşma (% 21), yorgunluk (% 20), uyku hali (% 17), kas güçsüzlüğü (% 15), ellerde inkoordinasyon (% 11), anoreksi (% 11), yürüme bozukluğu (% 8), ellerde ve ayaklarda soğukluk (% 8), objeleri tutma güçlüğü (% 7), sendeleme ve düşme (% 7) ' dir.

Hagmar ve arkadaşları tarafından yapılan, akrilamide maruz kalan hastaların takip çalışmasında (29), maruziyetten sonraki 12 ve 18 aylık takip döneminde 210 kişinin 50' sinde yeni gelişen veya kötüleşen periferik sinir sistemi semptomları görülmüştür. Bu işçilerde hemoglobin valin addukt seviyesi ile periferik sinir sistemi semptomları arasında doğru orantı bulunmuştur.

Poliakrilamid üretilen fabrikada yapılan bir diğer çalışmada ise, 71 işçiden 5 'inde periferik nöropati belirtileri, başka bir hastada ise serebral ve okuler bozukluk görülmüştür. Akrilamid maruziyeti olmaksızın geçen 5 yıl sonunda tam iyileşme gözlenmemiştir. İşçilerde görülen diğer semptomlar güçsüzlük, duyu üzerine etkiler, deride soyulma, terleme ve deri pigmentasyonunda değişikliktir (30).

Akrilamid ile çalışan bir kişide, akrilamid ile çalışırken ellerde ve bileklerde kaşıntılı eksudatif lezyonlar görülmüştür. 10 yıl sonra akrilamide 6 ay süreyle yeniden maruziyet sonucu benzer semptomlar gelişmiştir (31).

Kasti olarak yaklaşık 375 mg/kg dozda akrilamid kristallerinin oral yolla alımını takiben, 5 saat sonra klinik toksisite belirtileri gözlenmiştir. 9 saat sonra felç, 3 gün sonra ise gastrointestinal kanama, respiratuvar disstres, hepatik etkiler ve periferik nöropati görülmüştür. Hepatik etkiler ve periferik nöropati, maruziyeti takiben 2 ay boyunca devam etmiştir (32).

İnsanlarda tekrarlanan dozlarda akrilamide maruz kalma sonucu görülen kritik etkiler, periferik ve santral sinir sistemi nöropatileridir. Periferik sinir dejenerasyonu hem insanlarda hem de hayvanlarda kritik patolojik lezyondur.

2.1.7.2 Hayvanlar üzerine etkiler

Hayvanlarda yapılan çalışmalarda gözlenen etkiler insanlarda gözlenen etkilere benzerdir. Etkiler sinir sistemi, deri ve gözler üzerinde görülmüştür (33). Farklı türlerde yapılan çalışmalarda en sık gözlenen klinik etkiler, postural ve motor inkoordinasyon, konvulsiyonlar ve titreme gibi nörotoksisite belirtileridir (34-35). Bu etkilerin dışında akrilamidin kanserojen, genotoksik, mutajenik etkileri olduğu gösterilmiştir.

Farelerde içme suyunda çözündürülerek akrilamid ve glisidamid uygulamasını takiben, genotoksik etkiler görülmüştür (36).

İçme suyu ile akrilamid uygulanan sıçanlarda, tümör insidansında artış görülmüştür. Artış özellikle adrenal, tiroid, over, uterus, testis gibi hormonlarla kontrol edilen dokularda görülmüştür. Bozulan endokrin fonksiyon sıçanlardaki akrilamid karsinojenitesi için önerilen etki yoludur (37,38). İnsanlarda karsinojen etki ile ilgili yeterli kanıt bulunmamaktadır. Ancak akrilamid, Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu (IARC) tarafından Grup 2A kategorisinde değerlendirilerek insanda olası kanserojen olarak sınıflandırılmıştır (18).

2.1.7.3 Çevredeki organizmalar üzerine etkiler

Suda yaşayan bitkiler

% 50 akrilamid çözeltisi kullanılarak, bir tatlı su algi olan *Selenastrum capricornutum* ile yapılan çalışmada büyüme inhibisyonu için 72 saatlik EC50 (median effective concentration) değeri 67.7 mg/L ve NOEC (No observed effect concentration) değeri 32 mg/L olarak bildirilmiştir (39).

Suda yaşayan omurgasız canlılar

Akrilamidin in situ adsorpsiyonu, degredasyonu ve toksisitesi bir nehirde araştırılmıştır. Çalışma süresince, 50µg/L akrilamid konsantrasyonuna ulaşmak için, akrilamid çözeltisi, 6 saat boyunca sürekli olarak verilmiştir. Bu süreden sonra çözelti, 7 gün boyunca ortalama akış şartlarında 6µg/L kosantrasyona ulaşılacak şekilde verilmiştir. Çalışmanın bir parçası olarak, akıntılı suda akrilamidin yosunla kaplı taşlarda yaşayan böcekler üzerine etkisi incelenmiş ve akrilamidin omurgasız canlılar üzerinde seçici advers etkileri olduğu görülmüştür. Başlangıçtaki 6 saatlik

maruziyet sonunda, yosunla kaplı taşlardaki böcek yoğunluğu azalmış ve maruziyetten 2 ay sonra yalnızca kısmi rekolonizasyon görülmüştür (40).

Balıklar

Akrilamidin *Oncorhynchus mykiss* balığı üzerine olan etkileri Peterson ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (41) araştırılmıştır. Çalışmada balıklar 15 gün süreyle 25 mg/L ve 50 mg/L konsantrasyonlarda akrilamide maruz bırakılmış, 15 günlük maruziyeti 7 günlük temizleme periyodu izlemiştir. 15 gün boyunca 25 mg/L konsantrasyonda akrilamide maruz kalan balıkların solungaçlarında ve karaciğerlerinde histolojik lezyonlar görülürken, 50 mg/L konsantrasyonda akrilamide maruz kalan balıklarda ise solungaçlar ve karaciğere ilaveten sefalik ve periferik lateral bölgelerde de lezyonlar gelişmiştir. Temizleme periyodunu takiben, sagittal ve proksimal sinir pleksuslarında (her 2 dozda da) ve optik sinirde de (yalnızca 50 mg/L konsantrasyonda) lezyonlar görülmüştür. 50 mg/L'de yüzme sırasında yönelmede zorluk görülmüştür.

Mikroorganizmalar

Akrilamidin bakteri hücreleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, akrilamidin *Escherichia coli* ve *Pseudomonas putida* popülasyonlarının canlılığını anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur. Büyüme medyumuna akrilamid eklenmesinin, *E.coli* ve diğer bazı gram negatif bakteri türlerinde hücre bölünmesini inhibe ettiği ve hücre bölünmesinin uzamasına neden olduğu bulunmuştur. Akrilamidin ayrıca DNA ve daha az derecede de RNA sentezini bozduğu saptanmıştır. Akrilamid için ana hedef hücre duvarı olarak tanımlanmış, akrilamidin hücre yapısını bozarak ve hücreye penetre olarak nükleik asitlerin setezini inhibe ettiği ve hücre duvarı sentezini bozduğu gösterilmiştir (42).

Amfibyumlar

Akrilamidin etkileri kurbağalar (*Rana temporaria*) üzerinde araştırılmıştır. Akrilamid kurbağalara tuz çözeltisi içerisinde enjeksiyon yoluyla veya akrilamid içeren çözelti aracılığı ile uygulanmıştır. 7 günde 3 doz 50 µg/g akrilamide maruz kalan 5 kurbağadan 3' ü, 2 saat % 2' lik (a/h) akrilamid çözeltisine maruz kalan 3 kurbağadan ise 2' si ölmüştür. Hayatta kalan kurbağalarda advers etki gözlenmemiştir (43).

Toprak bitkileri

Lactuca saliva bitkisi kullanılarak yapılan, ^{14}C işaretli akrilamidin alımı ve birikmesinin araştırıldığı çalışmada, akrilamid ile işlenen topraklarda, filizlenme/çimlenme ve büyümenin daha yavaş olduğu ve bitkilerde nekroz belirtilerinin görüldüğü bildirilmiştir (39).

Akrilamid 10mg/kg konsantrasyonlarda bitki büyümesi üzerinde hafif toksik etki göstermektedir.

2.1.8 Sınıflandırma

Akrilamid NHSC (National Health Service Corps) kriterlerine göre,

R21	Deri teması sonucu zararlı
R25	Yutulduğunda toksik
R38	Deri irritanı
R43	Deri teması sonucu deri hassasiyetine neden olabilir
R48/21	Zararlı : Deri teması ile kronik maruziyet sonucu sağlık üzerine ciddi zarar tehlikesi

R48/25	Toksik : Yutulduğunda kronik maruziyet sonucu sağlık üzerine ciddi hasar tehlikesi
R46	Kategori 2 Mutajen - Kalıtımsal genetik hasara neden olabilir
R45	Kategori 2 Karsinojen - Kansere neden olabilir
R60	Kategori 3 Üreme sistemi üzerine toksik - Fertiliteyi bozabilir

Akrilamid gelişme ve laktasyon üzerine etkiler açısından NOHSC'nin belirlediği kriterleri karşılamamaktadır.

2.1.9 Analiz Yöntemleri

Sularda akrilamid analizi ile ilgili yapılmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda çoğunlukla Br_2' un reaktif çifte bağa hızla bağlanma potansiyelinden yararlanılarak, türevlendirme işlemi uygulanmıştır. Türevlendirme işlemi genellikle potasyum bromür, hidrojen bromür veya brom çözeltilerinin analiz örneğine katılmasıyla gerçekleştirilmiş ve böylelikle ana maddeye göre daha uçucu ve polaritesi daha az olan bir türev oluşturularak, maddenin sulu çözeltilerden daha kolay ekstre edilmesi ve tayin edilmesi sağlanmıştır. Akrilamide göre daha az polar olan bromlu türevi apolar organik çözücülerde kolaylıkla çözündüğünden, türev dietileter veya etilasetat ile ekstre edilmiştir.

Çalışmalarda gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografisi - çift (tandem) kütle spektrometrisi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır.

Elektron yakalama dedektörü donanımlı gaz kromatografisi kullanılarak yapılan bir çalışmada, sulu çözeltide akrilamid çifte bağı bromlanmış ve oluşan α, β - dibromopropionamid türevi, dietileter ile ekstre edilmiştir. Bu metotla 0.1 µg/L konsantrasyonlara kadar akrilamid tespiti yapılabilmiştir (44).

Gaz kromatografisi kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada da, akrilamid çifte bağı bromlanmış ve oluşan türev etilasetat ile ekstre edilmiştir. Bu metotta nehir suyu, lağım suyu, atık sular, deniz suyunda akrilamid tespit limiti 0.032 µg/L' dir (45).

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanılarak yapılan çalışmaların ilkinde yine türevlendirme işlemi uygulanmış ve oluşan α,β- dibromopropionamid türevi etilasetat ile ekstre edilerek, akrilamid tayin edilmiştir ve tespit sınırı 0.2 µg/L olarak saptanmıştır (46). Diğer çalışmada ise akrilamidin nötr hidrofilik yapısından dolayı anyonik, katyonik ve hidrofobik reçineler tarafından adsorbe olmamasından yararlanılmış, endüstriyel kaynaklı atık sularda akrilamid, reçinelerle temizleme işleminin ardından HPLC-UV yöntemi ile tayin edilmiştir (47).

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1. KİMYASAL MADDELER, ÇÖZÜCÜLER ve ÇÖZELTİLER

3.1.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

Akrilamid (Merck, 10784)
Amonyum sülfat (Riedel-de Häen, 11225)
Sodyum sülfat (Merck, 06648)
Diatome toprak (Merck)
Ultra saf su (Milli-Q, Millipore cihazından sağlanmıştır.)
Diklormetan (Riedel-de Häen, 24233)
Etilasetat (Merck, 00868)
Metanol (Riedel-de Häen, 34860)
Etanol (Riedel-de Häen, 32221)
İzopropanol (Merck, 01040)
n-Butanon (Merck, 06014)

3.1.2. Çözeltiler

1. Akrilamid çözeltisi

Ana stok çözelti (1 mg/mL) : 25 mg akrilamid tam olarak tartıldı, Milli-Q suda çözündürüldü ve çözeltinin hacmi su ile 25 mL' ye tamamlandı.

Ara stok çözelti (50 μg/mL) : Ana stok çözeltiden 1250 μL alınarak hacim su ile 25 mL' ye tamamlandı.

HPLC ile yapılan deney koşullarının belirlenmesi, ölçü eğrilerinin hazırlanması çalışmalarında ara stok çözeltiden Milli-Q su ile seyreltilerek hazırlanan çözeltiler kullanıldı.

Hazırlanan çözeltiler buzdolabında, ışıktan korunarak 2 ay süreyle saklandılar.

2. Mobil faz çözeltisi

HPLC kalite metanol ve Milli-Q su 0.2 μm membran filtrelerden süzüldükten sonra metanol-su (10:90) mobil faz çözeltisi hazırlandı, çözelti ultrasonik banyoda degaze edildikten sonra kullanıldı.

3.2. ALETLER VE DİĞER GEREÇLER

1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
   Thermo Separation Products Liquid Chromatograph with Model Spectra System (TSP - USA)
   HPLC pompa (Spectra Series Pump P4000; TSP - USA)
   Likid kromatografisi için vakum degazer (Solvent degaser SCM 1000; TSP - USA)
   Rheodyne enjektör (Berkley, CA, USA; Enjeksiyon hacmi: 50 μl)
   Photo - Diode Array Dedektor (DAD), (UV 6000LP; TSP - USA)
   Sistem kontrolörü (SN 4000; TSP - USA)
   Bilgisayar Programı (PC 1000 System Software, TSP)
   Kolon: LiCchrospher RP-18e, 5 μm; 250 x 4.6 mm; Phenomenex
   Koruyucu kolon: C_{18}; 4 mm L x 3.0 mm ID; Phenomenex
   C_{18} - Koruyucu kolon kiti; Phenomenex

2. Katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşları: Strata-X (Polymeric sorbent; 60 mg/3 mL)
Carbograph (150 mg/4 mL)

3. Şırınga filtreleri: Nylon, 0.2 μm, 4 mm; Supelco
4. Mobil faz filtrasyon sistemi; Phenomenex
5. Membran filtre: 0.2 μm, 47 mm; Phenomenex
(Mobil fazın süzülmesinde kullanıldı.)
6. Milli-Q su cihazı; Millipore
7. Ultrasonik banyo; Ultrasonik LC 30H
8. Hassas terazi; Mettler H_{20}
9. Etüv; Nüve FN_{500}
10. Manyetik karıştırıcı: Velp scientifica
11. Blok ısıtıcı: Multi-blok heater Lab-line
12. Girdap karıştırıcı: Vm20 Vortex; Biobac
13. Otomatik pipetler; Biohit proline (100-1000 μl, 10-100 μl)
14. Vakum pompası; Speedivac ES 35
15. Distilasyon apareyi
16. Nuçe erleni
17. Cam malzemeler
18. Hesap makinesi; Texas Instruments TI-60

3.3. ANALİZ YÖNTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

3.3.1. Akrilamidin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Analizi

3.3.1.1. Kolon, Mobil Faz ve Dedektör Dalga Boyu Seçimi

Sularda akrilamid miktarını tayin etmek için kullanılacak HPLC kolonunun seçiminde laboratuvarımızda mevcut kolonlarla denemeler yapıldı. Akrilamid

standart çözeltisi ve akrilamid katkılı Milli-Q su örnekleri aşağıdaki kolonlara uygulandı:

- Hypersil ENV 5 μm; 150 x 4.6 mm
- Luna C_8 5 μm; 150 x 4.6 mm
- Luna C_{18} 5 μm; 250 x 4.6 mm
- LiChrospher RP-18e; 5 μm; 250 x 4.6 mm

Uygun mobil fazın seçimi için çeşitli oranlarda metanol-su mobil faz sistemleri kullanıldı. Denemeler sonucunda akrilamidin, akrilamid ile birlikte ekstre olan ve interferense sebebiyet veren piklerden ayrılmasını sağlayan kolon, mobil faz ve dedektör dalga boyu belirlendi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.1.1.' de yer almaktadır.

3.3.1.2. Ekstraksiyon İşlemi

Sudaki çözünürlüğünün fazla, buna karşılık su ile karışmayan organik çözücülerdeki çözünürlüğünün az olması, akrilamidin analiz ortamından ekstraksiyonunu ve konsantre edilmesini güçleştiren özelliklerdir. Akrilamidin su örneklerinden ekstraksiyonunda hedef, kabul edilebilir bir verim ile Avrupa Birliği' nin kabul etttiği sınır olan 0.1 μg/L düzeyinin saptanabilmesi idi. Bu amaçla akrilamidin sudan ekstraksiyonu için aşağıda bildirilen denemeler yapıldı.

Denemeler:

1- 1 saat etüvde aktive edilen 15 gr diatome toprağı, zeminine süzgeç kağıdı yerleştirilmiş olan nuçe erlenine alındı. 20 mL su örneği diatome toprağından geçirildi. 5 dakika beklenerek 20 mL' lik porsiyonlar şeklinde 60 mL metanol geçirildi. Organik faz distilasyon ve takiben azot akımında

buharlaştırıldı. Artık, 0.5 mL metanolde çözündürüldü ve HPLC sistemine uygulandı.

2- 1 no' lu bölümde anlatılan işlem 20 mL' lik porsiyonlar şeklinde 60 mL etil asetat : metanol (50 : 10) ile gerçekleştirildi.

3- 250 mL örnek ayırma hunisinde 50 mL' lik porsiyonlar şeklinde 100 mL etil asetat : metanol (90 : 10) ile ekstre edildi, sodyum sülfatlı süzgeç kağıdından süzüldü. Organik faz distilasyon ve azot akımında buharlaştırıldı. Artık, 0,5 mL metanolde çözüldü ve HPLC sistemine uygulandı.

4- 3 no' lu çalışma etilasetat : metanol (90 : 10) yerine 100 mL n-butanon ve 75 g amonyum sülfat kullanılarak denendi. Organik faz, distilasyon ve takiben azot akımında buharlaştırıldı. Artık, 2 mL suda çözündürüldü, şırınga filtresinden süzülerek HPLC sistemine uygulandı.

5- 250 mL örnek, sırayla 5 mL diklormetan : metanol (80 : 20), 2 mL metanol ve 5 mL su (pH = 2) ile kondisyone edilen Carbograph'tan geçirildi. Carbograph 5 mL su (pH = 2) ile yıkandı, 5 mL diklormetan : metanol (80 : 20) ile elüe edildi. Elüat azotta kuruluğa kadar uçuruldu, 1 mL suda çözüldü, şırınga filtresinden süzülerek HPLC sistemine uygulandı.

6- 5 no' lu bölümde anlatılan işlemde Carbograph 5 mL diklormetan : metanol (80 : 20) yerine 5 mL metanol kullanılarak kondisyone edildi, 5 mL diklormetan : metanol (80 : 20) yerine 3 mL metanol ile elüe edildi.

7- 5 no' lu bölümde anlatılan işlemde Carbograph 5 mL diklormetan : metanol (80 : 20) yerine etilasetat : izopropanol (90 : 10) kullanılarak kondisyone

edildi, 5 mL asidik su (pH = 2) yerine 5 mL su ile yıkandı, 5 mL diklormetan : metanol (80 : 20) yerine etilasetat : izopropanol (90 : 10) ile elüe edildi.

8- 5 no' lu bölümde anlatılan işlemde Carbograph 5 mL asidik su (pH = 2) yerine 5 mL su ile yıkandı, Carbograph' tan geçirilen 1 µg/mL'lik standart akrilamid çözeltisinden 2 mL alınarak 250 mL' ye seyreltilen örnek ayırma hunisine alınarak 50 mL' lik porsiyonlar şeklinde 100 mL' lik etilasetat : metanol (90 : 10) ile ekstre edildi, sodyum sülfatlı süzgeç kağıdından süzülerek disttillendi, azotta kuruluğa kadar uçuruldu. Artık, 1 mL suda çözüldü, şırınga filtresinden süzülerek HPLC sistemine uygulandı.

9- 100 mL örnek, ayırma hunisine alınarak 25 mL'lik porsiyonlar şeklinde 50 mL etilasetat : izopropanol (90 : 10) ile ekstre edildi. Ekstraksiyon sırasında organik çözücü ilavesi sonrasında örnek+organik çözücü karışımı çalkalayıcıda 15' er dakika çalkalandı. Sodyum sülfatlı süzgeç kağıdından süzüldü. Organik çözücü distillendi, azotta kuruluğa kadar uçuruldu. Artık, 500 µL suda çözüldü, şırınga filtresinden süzülerek HPLC sistemine uygulandı.

10- 10 no' lu bölümde anlatılan işlemde, ekstraksiyon 50 mL etilasetat : izopropanol (90 : 10) yerine etilasetat : metanol (90 : 10) ile yapıldı.

11- 10 no' lu bölümde anlatılan işlemde, 1 µg/mL'lik standart akrilamid çözeltisinden 2 mL alınarak 100 mL' ye seyreltilen örneğin pH'sı amonyak çözeltisi ile baziklendirilerek (pH = 8) çalışıldı.

12- 10 no' lu bölümde anlatılan işlemde, artık 500 µL yerine 2 mL suda çözüldü. 2 mL metanol ve 2 mL su ile kondisyone edilen Strata-X kartuştan geçirildi. İlk 1 mL atılarak, ikinci 1 mL toplandı. Örnek şırınga filtresinden süzüldü ve HPLC sistemine uygulandı.

Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.1.2.' de yer almaktadır.

3.3.1.3. HPLC Yardımıyla Ölçü Eğrisi Hazırlanması

100 mL Mili-Q suya standart akrilamid çözeltisinden katım konsantrasyonları 3.2 - 51.2 μg/L aralığında olacak şekilde katım yapıldı. 100 mL örnek ayırma hunisine alınarak, 25 mL'lik porsiyonlar halinde 50 mL etilasetat : izopropanol (90 : 10) ile ekstre edildi. Ekstraksiyon sırasında organik çözücü ilavesi sonrasında örnek+organik çözücü karışımı çalkalayıcıda 15' er dakika çalkalandı. Sodyum sülfatlı süzgeç kağıdından süzüldü. Elüat, rotavaporda yaklaşık 5 ml kalana dek distillendikten sonra, ısıtıcı blokta azot akımında kuruluğa kadar uçuruldu. Artık, 2 mL suda çözündürüldükten sonra 2 mL metanol ve 2 mL su ile kondisyone edilmiş Strata-X kartuştan geçirildi. İlk 1 mL atıldıktan sonra 1 mL elüat toplandı ve şırınga filtresinden süzüldü. Süzüntünün 50 μL' si 0.5 mL/dk akış hızında 1300-1400 psi basınçta kolona uygulandı. Metanol - su (10 : 90) mobil faz sistemi kullanılarak yapılan analizde 220 nm' de diode-array dedektör (DAD) ile saptanan piklerin alanları belirlendi. Pik alanlarına karşılık olan konsantrasyon değerleri arasında ölçü eğrileri hazırlandı. Ölçü eğrilerine ait regresyon analizleri Bölüm 4.1.3.' de yer almaktadır.

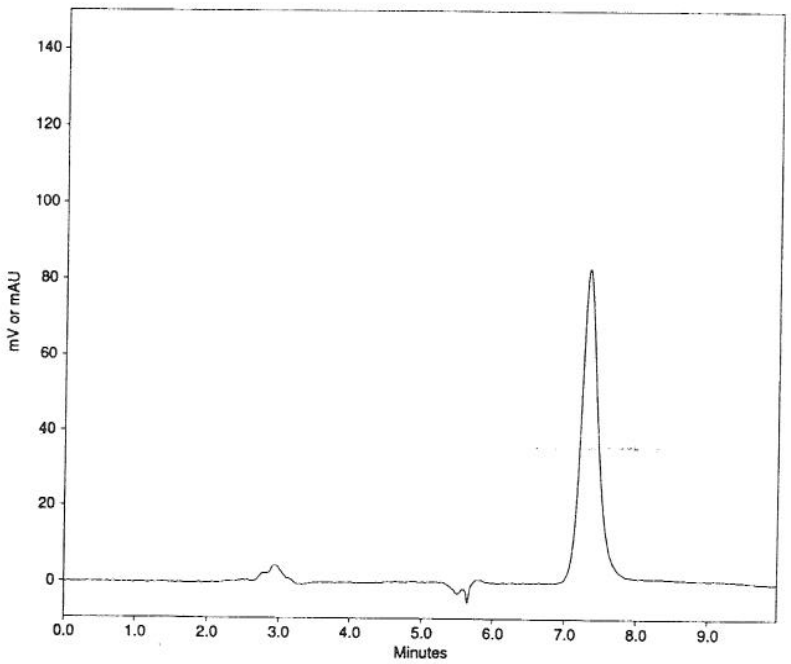
4. SONUÇLAR

4.1. AKRİLAMİDİN YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİSİ İLE ANALİZİ

Yapılan literatür araştırmaları akrilamidin sıvı kromatografisi ile yapılan analizlerde ters fazlı kromatografik sistemlerin kullanıldığını göstermiştir. Bu nedenle en uygun ters faz kolon, mobil faz ve dedektör dalga boyu belirlendi. Daha sonra belirlenen koşullarda çalışılarak katkılı Milli-Q su örneklerinde akrilamid miktar tayini yapıldı.

4.1.1. Kolon, Mobil Faz ve Dedektör Dalga Boyu Seçimi

Literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde akrilamidin genellikle ters fazlı sıvı kromatografik sistemlerde analiz edildiği görülmüştür. Bu nedenle analize en uygun kolonu seçmek için Bölüm 3.3.1.1' de bildirilen kolonlarla ve çeşitli mobil faz sistemleriyle yapılan denemeler sonucunda en uygun kolonun LiChrospher RP-18e, mobil faz sisteminin ise metanol-su (10 : 90) olduğu saptandı. 220 nm' de bu mobil faz sisteminde 0.5 mL/dak akış hızında 1300 - 1400 psi basınçta akrilamidin kolonda alıkonma zamanı 7.45 dakikadır. Belirlenen koşullarda analiz edilen akrilamid standartına ait HPLC kromatogramı Şekil 4' de verilmiştir.



Şekil 4: 50 ng/50 μL akrilamid standartına ait HPLC kromatogramı

4.1.2. Ekstraksiyon İşlemi

Sudaki çözünürlüğü yüksek olan akrilamidi sulu çözeltilerden ekstre edebilmek için Milli-Q su ile Bölüm 3.3.1.2.' de anlatıldığı gibi çok sayıda deneme gerçekleştirildi. Amaç verimi yüksek olan bir ekstraksiyon yönteminin bulunması idi. İlk 2 denemede diatome toprağı kullanarak yapılan sıvı-sıvı ekstraksiyon ile örnek çözeltisinin konsantre edilmesi amaçlandı. Ancak yüksek hacimli hazır kartuş bulunamaması nedeniyle toz adsorban ile nuçe erleninde gerçekleştirilen deneme, çok miktarda adsorbana ihtiyaç duyulması nedeniyle pratik bulunmadı. 3 no' lu denemede geri kazanım oranı düşük düzeyde bulundu. Literatüre dayanan bir çalışmanın sulu çözeltiye uygulandığı 4 no' lu denemede, faz ayırımı için gerekli olan amonyum sülfat miktarının fazla olması nedeniyle işlem uygulanabilir bulunmadı (48). 5, 6, 7 ve 8 no' lu denemeler kömür bazlı bir kartuş olan

Carbograph 'ta gerçekleştirildi. Ancak suda çözünen maddeler için uygun bir katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşu olarak bildirilen Carbograph' ın akrilamidi tutmadığı görüldü. 9, 10 ve 11 no' lu denemeler sonucunda en iyi verim etilasetat : izopropanol (90 : 10) ile ekstraksiyon ile elde edildi. 12 no' lu bölümde anlatılan çalışma koşullarında, Strata-X kartuşta gerçekleştirilen temizleme işlemi ile, akrilamidin, katkılı Milli-Q su örneklerinden en yüksek oranda geri kazanılabildiği gözlendi.

4.1.3. Ölçü Eğrisinin Regresyon Analizi

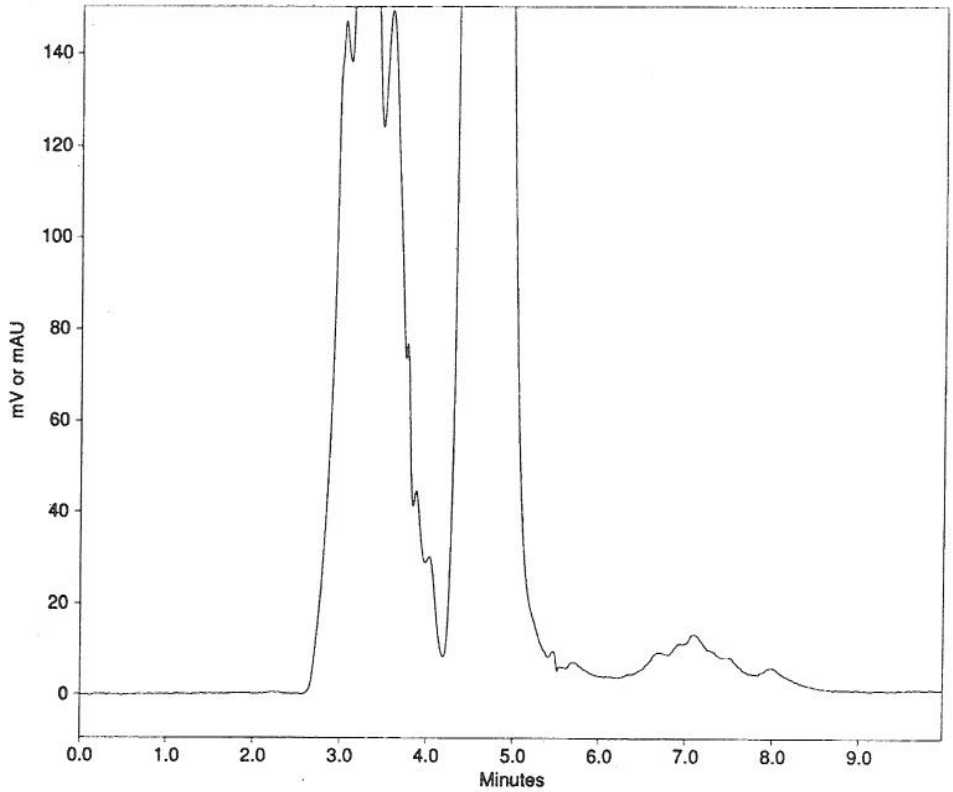
3.2 - 51.2 μg/L konsantrasyon aralığında 5 farklı konsantrasyon ile Bölüm 3.3.1.3.' de anlatıldığı şekilde çalışıldı. Çalışma, her konsantrasyon için 4 kez tekrarlandı. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak ve üçgen alanı üzerinden hesaplanan pik alanlarından yararlanıldı. Pik alanları ortalaması ($\bar{A}$), standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (RSD, SD / $\bar{A}$ x 100) değerleri ve en küçük kareler yöntemi uygulanarak $\bar{A}$ değerlerinden hesaplanan doğru denklemi, A= mC + b (m= eğim, b= intersept, C= konsantrasyon) ve korrelasyon katsayısı (r) Tablo 1' de verilmiştir. Tablo 2' de ise 4 kez çalışma sonucu elde edilen her bir ölçü eğrisinin regresyon analizine ait parametreler yer almaktadır. Boş deneme ve akrilamid katkılı denemelere ait HPLC kromatogramları Şekil 4 ve 5' te verilmiştir. Ortalama pik alanları ile akrilamid konsantrasyonu arasında çizilen ölçü eğrisi Şekil 6' da görülmektedir.

Tablo 1 : 3.2 - 51.2 μg/L konsantrasyon aralığında akrilamid içeren Milli-Q su örneklerinde hazırlanan ölçü eğrilerine ait pik alanı (A) değerleri ve istatistiksel veriler

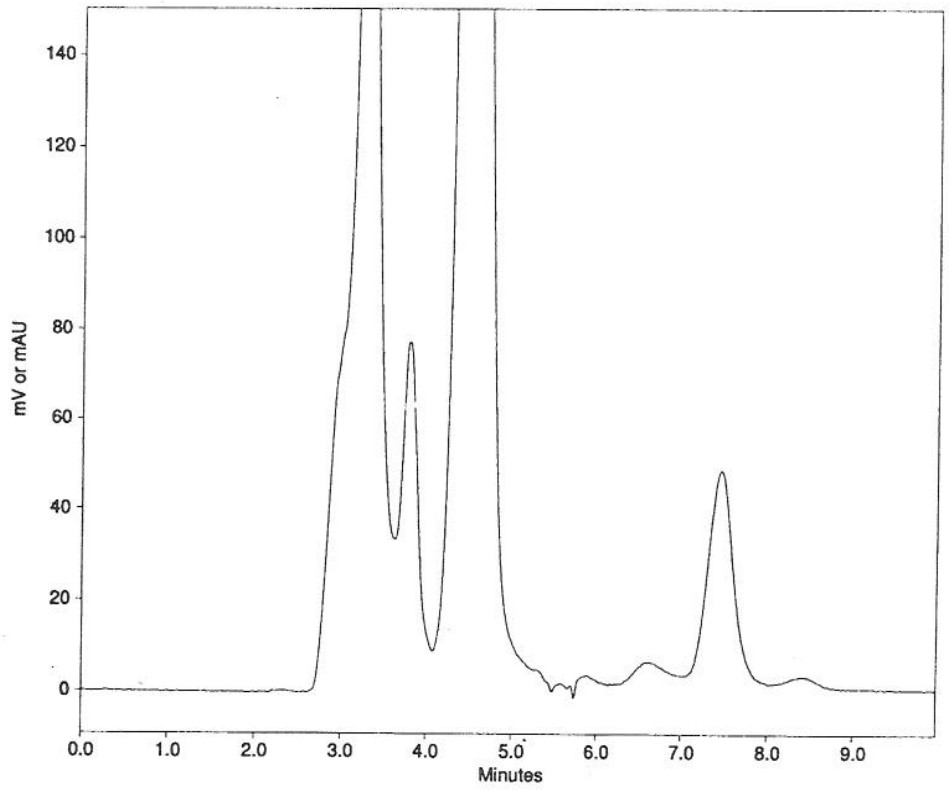
No	C (μg/L)	A_1	A_2	A_3	A_4	$\bar{A}$	SD	RSD (%)
1	3.2	245.103	256.629	274.069	235.712	252.878	16515,15	6.53
2	6.4	535.233	538.179	539.284	635.692	562.097	49093,12	8,73
3	12.8	1.088.552	980.065	951.846	1.068.664	1.022.282	66549,50	6,52
4	25.6	1.978.346	1.893.768	1.808.532	2.025.763	1.926.602	95793,08	4,97
5	51.2	3.876.503	3.150.880	3.650.715	4.161.573	3.709.918	427306,00	11,52
$\bar{A}$ değerlerinden hesaplanan doğru denklemi: A= 71195 C + 82243 r=0.9993								

Tablo 2 : Tablo 1' deki ölçü eğrilerinin regresyon analizlerine ait parametreler

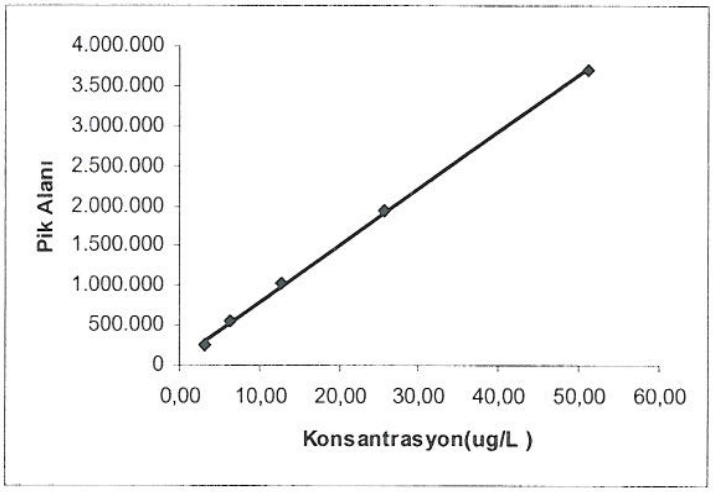
	1	2	3	4	Ortalama
m	74835	59930	69826	80190	71195.25
b	60021	174886	59550	34518	82243.75
r	0.9990	0.9898	0.9996	0.9985	0.9967



Şekil 4 : Boş denemeye ait HPLC kromatogramı



Şekil 5 : 12.8 μg/L akrilamid katkılı denemeye ait HPLC kromatogramı



Şekil 6 : Akrilamidin geliştirilen yöntemle elde edilen ölçü eğrisi

4.1.4 Akrilamid Katkılı Milli-Q Su Örneklerinde Verim Hesaplanması

Katma deneylerinde matriks olarak Milli-Q su kullanıldı. Bölüm 3.3.1.3.' de anlatıldığı şekilde 5 farklı konsantrasyonda çalışıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 3' te verilmiştir.

Tablo 3. Katkılı deneme çalışmalarında sonuçlar

Katım konsantrasyonu (µg/L)	% Geri kazanım (Ortalama - Aralık)		SD
3.2	54.09	(50.42 - 58.60)	3.52
6.4	56.28	(53.59 - 63.65)	4.91
12.8	61.15	(56.94 - 65.11)	3.98
25.6	56.83	(54.02 - 59.09)	2.14
51.2	50.33	(42.97 - 55.72)	5.47

5. TARTIŞMA

Akrilamidin öncelikli kullanım alanı yüksek molekül ağırlıklı poliakrilamidlerin üretimidir. Akrilamid ekzotermik reaksiyonla hızla polimerize olarak suda çözünen polimerler oluşturur. Avrupa Birliği' ne üye ülkelerde üretilen akrilamidin yaklaşık % 99.9' u poliakrilamid üretiminde kullanılmaktadır. Akrilamid, poliakrilamid üretimi sırasında oluşan atıklar ile veya polimerlerin endüstride çeşitli alanlarda kullanımları sırasında çevreye yayılabilir. Üretilen poliakrilamidin yaklaşık % 80-90' ı ise içme suyu ve atık su arıtımında kullanılmaktadır. Polimerlerin üretimi sırasında polimerizasyon prosesi % 100 tamamlanmaz ve polimerler değişen miktarlarda kalıntı akrilamid monomeri içerirler. Akrilamidin endüstride yaygın olarak kullanımı ve kalıntı akrilamid monomeri içeren polimerlerin suların arıtımında kullanılması, içme ve yüzey sularında akrilamid bulunabileceğini düşündürmektedir.

Sularda akrilamid analizi ile ilgili yapılmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan 2' sinde gaz kromatografisi (GC) yöntemi ile çalışılmıştır. Croll ve Simkins'in (44), elektron yakalama dedektörü donanımlı gaz kromatografisi kullanarak suda akrilamid miktar tayini için geliştirdikleri metot, sulu çözeltide akrilamidin bromlanmasını ve oluşan α, β - dibromopropionamidin dietil eter ile ekstraksiyonuna dayanmaktadır. Bu metotla 0.1 µg/L konsantrasyonlara kadar akrilamid tespiti yapılabilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Teşkilatı (EPA)' nın geliştirdiği Metot 8032A' da, akrilamid çifte bağının bromlanması ve bunu takiben etilasetat ile ekstraksiyona dayanır. Bu metotta nehir suyu, lağım suyu, atık sular, deniz suyunda akrilamid tespit limiti 0.032 µg/L' dir (45). Brown ve arkadaşlarının yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yaptıkları iki çalışmanın ilkinde akrilamid bromlanarak önce α,β-dibromopropionamid türevine dönüştürüldükten sonra etilasetat ile ekstre edilerek HPLC-UV yöntemi ile tayin edilmiştir, tespit sınırı 0.2 µg/L' dir (46). Diğer

çalışmada ise endüstriyel kaynaklı atık sularda akrilamid miktarı, anyonik, katyonik ve hidrofobik reçinelerle temizleme işleminin ardından HPLC-UV yöntemi ile tayin edilmiştir (47). Akrilamidin bromlama teknikleri kullanılarak türevlendirilmesinin uzun zaman alması, GC yönteminde kullanılan elektron yakalama dedektörünün kontaminasyona açık olması ve uzun süre zarfında optimum elektron yakalama hassasiyetinin sağlanmasında karşılaşılan zorluklar bu metotların dezavantajlarıdır.

Sunmuş olduğumuz çalışmada, öncelikle sıvı kromatografik analiz için en uygun koşullar araştırılmıştır. Akrilamid çok polar bir molekül olduğu için ters faz kolonlarda düşük oranda tutulmaktadır. Kolon ve mobil faz seçiminde maddeyi uygun alıkonma zamanında tespit etmek üzerinde durulmuştur. Çeşitli ters faz HPLC kolonları ve mobil faz sistemleri ile yapılan denemeler sonucunda LiChrospher RP-18e kolonda ve metanol-su (10:90) çözücü sistemi ile uygun koşullar sağlanmıştır. Karboksilik asit türevi olan akrilamid 200 nm civarında maksimum absorpsiyon göstermektedir. Çalışmanın akrilamid içerebilecek su örneklerine uygulanabilirliğini arttırmak, 200 nm civarında absorpsiyon gösteren maddelerden akrilamidi izole etmek için 220 nm' de çalışılması tercih edilmiştir. Belirlenen koşullarda 0.5 mL/dak akış hızında çalışıldığında akrilamidin alıkonma zamanı 7.45 dakika ve toplam analiz süresi 10 dakikadır. Bu koşullarda 3,2 - 51,2 μg/L konsantrasyon aralığında pik alanları ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu gözlenmiştir. İlgili doğru denklemi A= 71195 C + 82243 (0.9993)' tür. Bu konsantrasyon aralığında bağıl standart sapma değerleri % 11.52' nin altında bulunmuştur (n= 4).

Kalıntı analizlerinde teşhis ve tayin sınırı büyük ölçüde kullanılan ekstraksiyon yönteminin performansına bağlıdır. Sudaki çözünürlüğnün fazla, buna karşılık su ile karışmayan organik çözücülerdeki çözünürlüğünün az olması, akrilamidin analiz ortamından ekstraksiyonunu ve konsantre edilmesini güçleştirmektedir. Birçok maddenin örneklerden ekstraksiyonu ve konsantre edilmesinde başarı ile kullanılan katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşları, akrilamidin

hassasiyeti ve seçiciliği yüksek GC-MS yöntemiyle analizlerinde sadece örneklerin temizlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bu özellikler dikkate alındığında akrilamidin sulu ortamdan ekstraksiyonunun ancak sıvı-sıvı ekstraksiyon ile mümkün olabileceği düşünülmüştür. Geliştirilen yöntemde katım yapılmış Milli-Q su örnekleri etilasetat : izopropanol (90 : 10) ile ekstre edilmiştir. İzopropanol organik fazın polaritesini arttırarak akrilamidin sudan ekstraksiyonunu arttırmıştır. Organik çözücünün uzaklaştırılması ile elde edilen artık suda çözündürülüp Strata-X kartuştan geçirilerek temizlenmiş ve HPLC' de analiz edilmiştir.

Geliştirilen yöntemin tekrarlanabilirliğini ve güvenilirliğini kontrol amacıyla beş farklı konsantrasyon düzeyinde (0.32 ; 0.64 ; 1.28 ; 2.56 ; 5.12 μg/mL) akrilamid katılmış Milli-Q su ile belirlenen ekstraksiyon ve kromatografi koşullarında çalışılmıştır. Bu analizler sonucunda bağıl standart sapma değeri % 11.52' nin (n= 4) altında ve ortalama geri kazanım yüzdesi % 55.7 olarak bulunmuştur. Bu yöntemde suda tayin sınırı 3.2 μg/L' dir.

Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) içme suyunda bulunabilecek kalıntı akrilamid düzeyini 0.5 µg/L ile, Avrupa Birliği (EU) ise 0.1 µg/L ile sınırlandırmıştır (6). Ülkemizde de suyla temas eden polimerlerden kaynaklanan kalıntı akrilamid düzeyi, 0.1 µg/L ile sınırlandırılmıştır (7). Bu konuda bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda tespit sınırları, GC ile 0.032 µg/L ve HPLC ile 0.2 µg/L ve HPLC-UV ile 10 µg/L olup (49), HPLC ile EU ve ükemizde kalıntı akrilamid için belirlenmiş olan 0.1 µg/L' lik sınır değerin tespitini sağlayabilecek hassasiyette yöntem geliştirilememiştir. Bu yüzden hassasiyeti yüksek, güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi önemlidir.

6. ÖZET

Sularda Akrilamid Kontaminasyon Düzeyinin Araştırılması

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, Su analizi, HPLC-DAD, Strata-X

Akrilamid, yıllardır ticari olarak üretilen ve çeşitli endüstri dallarında kullanılan bir monomerdir. En geniş kullanım alanı içme suyu ve endüstriyel atık suların arıtımında flokülant (topaklaştırıcı) olarak kullanılan suda çözünebilen poliakrilamidlerin üretimidir. Akrilamidin insanlarda ve deney hayvanlarında güçlü toksik etkileri bilinmektedir. Akrilamidin endüstride yaygın olarak kullanımı ve kalıntı akrilamid monomeri içeren polimerlerin suların arıtımında kullanılması, içme ve yüzey sularında akrilamid bulunabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada, akrilamidin suda analizi için yeni bir yüksek performanslı sıvı kromatografik (HPLC) yöntem geliştiridi. Sıvı kromatografik analiz LiChrospher RP-18e kolonda, 0.5 mL/dak akış hızında metanol-su (10 : 90) çözücü sistemi kullanılarak ve 220 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. Bu koşullarda akrilamide ait alıkonma zamanı 7.45 dakikadır. Bu koşullarda akrilamid içeren sulu çözeltiler ile çalışıldığında pik alanları ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişkinin 3.2 - 51.2 μg/L konsantrasyon aralığında doğrusal olduğu gözlendi. Akrilamidin su örneklerinden ekstraksiyonu için en uygun yöntemin belirlenmesi için çeşitli denemeler yapıldı. Belirlenen yönteme göre akrilamid su örneğinden etilasetat : izopropanol (90 : 10) ile ekstre edildi. Organik çözücünün uzaklaştırılması ile elde edilen artık suda çözündürüldü, Strata-X kartuştan geçirildi ve HPLC' de analiz edildi. Beş farklı konsantrasyonda akrilamid katılmış Milli-Q su örneklerinin analiz sonuçlarından ortalama geri kazanma yüzdesi % 55.7 ve tayin sınırı 3.2 µg/L olarak bulundu.

7. SUMMARY

Investigation of Acrylamide Contamination Level in Water

Keywords: Acrylamide, Water analysis, HPLC-DAD, Strata-X

Acrylamide is a monomer that is commercially produced and widely used in industry. Its major use is the production of water-soluable polyacrylamides used as flocculants for clarifying drinking water and industrial waste waters. Due to widely use of acrylamides in the industry and the use of residual acrlamide containing polymers in water treatments, acrylamide is thought to be present in drinking and surface water.

In this study, a new high performance liquid chromatographic (HPLC) method was developed for the analysis of acrylamide in water. Analysis was performed on LiChrospher RP-18e column at a flow rate of 0.5 mL/min with methanol - water (10 : 90) mobile phase system at 220 nm. Retention time of acrylamide under these conditions was 7.45 minutes. When studied with aqueous solutions containing acrylamide under these conditions, a lineer relationship between peak areas and acrylamide concentrations was observed in a concentration range of 3.2 - 51.2 μg/L. Various experiments were carried out to determine the most convenient method for extraction of acrylamide in water samples. According to the established method, acrylamide was extracted with ethylacetat : isopropanol (90 : 10) from water samples. Organic solvent was evaporated, the residue was dissolved in water and then aqueous solution was applied to Strata-X cartridges and analysed by HPLC. In the analysis of water spiked with five different concentrations of acrylamide, avarage recovery percentage and determination limit were found to be % 55.7 and 3.2 µg/L respectively.

8. KAYNAKLAR

1. International Agency for Research on Cancer, Acrylamide, IARC Monograph Series, 1995, Vol 39, 1-45.

2. Bergmark E., Hemoglobin adducts of acrylamide and acrylonitrile in laboratory workers, smokers and nonsmokers, Chem. Res. Toxicol. , 1997, 10, 78-84.

3. European Commission (EC), Risk assessment report on acrylamide, 2000. Available at: http://ecb.jrc.it/existing-chemicals/

4. Lande S.S., Bosch S.J., Howard P.H., Degredation and leaching of acrylamide in soil, Journal of Environmental Quality, 1979, 8 (1), 133-137.

5. Croll B.T., Arkill G.M., Hodge R.P.J., Residues of acrylamide in water, Water Research, 1974, 8, 989-993.

6. European Commission (EC), Report on the quality of water intended for human consumption, Official J. European Communities, 1988, L330, 21-29.

7. Sağlık Bakanlığı, İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik, 17.02.2005.

8. Tareke E., Rydberg P., Eriksson S., Törnqvist M., Acrylamide : A cooking carcinogen ?, Chem. Res. Toxicol., 2002, 13 (6), 517-522 .

9. Becalski A., Lau B.P.Y., Lewis D., Seaman S.W., Acrylamide in foods : Occurence, sources and modelling, J. Agr. Food Chem., 2003, 51, 802-808.

10. Mottram D.S., Wedzicha B. L., Dodson A.T., Acrylamide is formed in the Maillard reaction, Nature., 2002, 419, 448.

11. Stadler R. H., Blank I., Varga N., Robert F., Hau J., Guy P. A., Robert M.C., Riediker S, Acrylamide from Maillard reaction products, Nature., 2002, 419, 449.

12. Zyzak D. V., Sanders R. A., Stojanovic M., Tallmadge D. H., Eberhart B. L., Ewald D. K., Gruber D. C., Morsch T. R., Strothers M. A., Rizzi G. P., Villagran M. D., Acrylamide formation mechanism in heated foods, J. Agr. Food Chem., 2003, 51, 4782-4787.

13. Yaylayan V. A., Wnorowski A., Perezlocas C., Why asparagine needs carbohidrats to generate acrylamide, J. Agr. Food Chem., 2003, 51, 1753-1757.

14. European Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products (SCCNFP), Opinion of the Scientific Committee intended for consumers concerning acrylamide residues in cosmetics, 1999. Available at : http: //europa.eu.int/comm/food/fs/sc/sccp/out95_en.html

15. U.S. Environmental Protection Agency (US EPA), Health and Environmental Effects Profile for Acrylamide. Office of Research and Development, U.S. EPA Washington, D.C., 95 pp. (1985).

16. Marlowe C., Clark M., The distribution of [^{14}C] acrylamide in male and pregnant Swiss-Webster mice studied by whole-body autoradiography, Toxicol. Appl. Pharmacol., 1986, 86, 457-465.

17. Carlson G., Weaver P., Distribution and binding of [^{14}C] acrylamide to macromolecules in SENCAR and BALB/c mice following oral and topical administration, Toxicol. Appl. Pharmacol., 1985, 79, 307-313.

18. IARC. Acrylamide. In IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogen Risk to Humans: Some Indsutrial Chemicals; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 1994, 60, 389-433.

19. Bergmark E., Calleman C.J., He F., Costa L.G., Hemoglobin adducts in humans occupationally exposed to acrylamide, Toxicol. Appl. Pharmacol., 1993, 120, 45-54.

20. Sumner S.C.J., Fennell T.R., Moore T.A., Chanas B., Gonzales F., Ghanayem B.A., Role of cytochrome P450 2E1 in the metabolism of acrylamide and acrylonitrile in mice, Chem. Res. Toxicol., 1999, 12, 1110-1116.

21. Generaso W.M., Sega G.A., Lockhart A.M., Hughes L.A., Cain K.T., Cacheiro N.L.A., Shelby M.D., Dominant lethal mutations, heritable translocations, and unscheduled DNA synthesis induced in male mouse germ cells by glycidamide, a metabolite of acrylamide, Mutat. Res., 196, 371, 175-183.

22. Adler I.D., Baumgartner A., Gonda H., Friedman M.A., Skerhut M., Aminobenzotriazole inhibits acrylamide-induced dominant lethal effects in spermatids of male mice, Mutagen, 2000, 15, 133-136.

23. Ghanayem B.I., Witt K.L., El-Hadri L., Hoffler U., Kissling G.E., Shelby M.D., Bishop J.B., Comparison of germ cell mutagenicity in male CYP2E1-null and wild-type mice treated with acrylamide : Evidence supporting a glycidamide-mediated effect, Biol. Reprod., 2005, 72, 157-163.

24. Barber D.S., Hunt J.R., Ehrich M.F., Lehning E.J., LoPachin R.M., Metabolism, toxicokinetics and hemoglobin adduct formation in rats following subacute and subchronic acrylamide dosing, NeuroTox., 2001, 22, 341-353.

25. World Health Organisation (WHO), Acrylamide, Environmental Health Criteria 49, (1985).

26. Miller M. J., Carter D.E., Sipes I.G., Pharmacokinetics of acyrlamide in Fischer-344 rats, Toxicol. and Appl. Pharm., 1982, 63, 36-44.

27. Ikeda G., Miller E., Comparative tissue distribution and excretion of [1-^{14}C] acrylamide in beagle dogs and miniature pigs, Food Chem. Toxic., 1987, 25 (11), 871-875.

28. He F., Zhang S., Wang H., Li G., Zhang Z., Li F., Dong X., Hu F., Neurological and electroneuromyographic assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers, Scand. J. Work. Environ. Health, 1989, 15, 125-129.

29. Hagmar L., Tornqvist M., Nordander C., Rosen I., Bruze M., Kautiain A., Magnusson A.L., Malmberg B., Aprea P., Granath F., Axmon A., Health effects of occupational exposure to acrylamide using haemoglobin adducts

as biomarkers of internal dose, Scand. J. Work, Environ. Health, 2001, 27 (4), 219-226.

30. Myers J., Macun I. Acrylamide neuropathy in a South African factory : an epidemiologic investigation, Am. J. Ind. Med., 1991, 19, 487-493.

31. Lambert J., Matthieu L., Dockx P., Contact dermatitis from acrylamide. Contact. Derm., 1988, 19 (1), 65.

32. Donovan J., Pearson T., Ingestion of acrylamide with severe encephalopathy, neurotoxicity and hepatotoxicity, Vet. Human Tox., 1987, 29, A22 462.

33. Environmental and Occupational Health, Pubh5103, Exposure to environmental hazards, acrylamide, 2003.
Available at: http://enhs.umn.edu/5103/acryl/toxicicy.html

34. Tilson H., Cabe P., Spencer P., Acrylamide neurotoxicity in rats : A correlated neurobehavioural and pathological study, Neurotox, 1979, 1, 89-104.

35. Post E. J., McLeod J. G., Acrylamide autonomic neuropathy in the cat. Part 1., Neurophysiological and histological studies, J. Neurol. Sci., 1997a, 33, 353-374.

36. Manjanatha M.G., Aidoo A., Shelton S.D., Bishop M.E., McDaniel L.P., Lyn-Cook L.E., Doerge D.R., Genotoxicity of acrylamide and its metabolite glycidamide administered in drinking water to male and female big blue mice, Env. and Mol. Mut., 2005, 46.

37. Johnson K., Gorzinski S., Bodner K., Campbell R., Wolf C., Friedman M., Mast R., Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats, Toxicol. Appl. Pharm., 1986, 85, 154-168.

38. Friedman M., Dulak L., Stedham M., A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide, Fundam. Appl. Toxicol., 1995, 27, 95-105.

39. National Industrial Chemicals Notification and Assesment Scheme (NICNAS), Acrylamide, Priority Existing Chemical Assesment Report, 2002.

40. Brown L., Rhead M.M., Hill D., Bancroft K.C.C., Qualitative and quantitative studies on the in situ adsorption, degredation and toxicity of acrylamide by the spiking of the wastes of two sewage works and a river, Water Research, 1982, 16, 57-591.

41. Petersen D.W., Cooper K.R., Friedman M.A., Lech J.J., Behavioral and histological effects of acrylamide in rainbow trout, Toxicol. App. Pharmacol., 1987, 87, 177-184.

42. Starostina N.G., Lusta K.A., Fikhte B.A., Morphological and pysiological changes in bacterial cells treated with acrylamide, European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 1983, 18, 264-270.

43. Edwars P.M., Neurotoxicity of acrylamide and its analogues and effects of these analouges and other agents on acrylamide neuropathy. British Journal of Medicine, 1975, 32, 31-28.

44. Croll B.T., Simkins G.M., The determination of acrylamide in water using electron-capture gas chromatography, Analyst, 1972, 97, 281-288.

45. U.S. Environmental Protection Agency (U.S.EPA), Method 8032a, Available at: www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/8032a.pdf

46. Brown, L., Rhead, M., Liquid chromatographic determination of acrylamide monomer in natural and polluted aqueous environments, Analyst., 1979, 104, 391-399.

47. Brown, L., Rhead, M.M., Bancroft, K.C.C., Rapid screening technique utilising high-performance liquid chromatography for assessing acrylamide contamination in effluents, Analyst., 1982, 107, 749-754.

48. Biedermann, M., Biedermann-Berm, S., Noti, A., Grob, K., Egli, P., Mandli, H., Two GC/MS methods for the analysis of acrylamide in foods, Mitt. Lebensm. Hyg., 2002, 93, 638-652.

49. WHO, Chemical fact sheets
Available at:
www.who.int/entity/ water_sanitation_health/dwq/en/gdwq3_**12**.pdf

9. ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad:	Sevil Epçeli
Doğum Tarihi:	13.02.1979
Doğum Yeri:	Edirne
Uyruğu:	T.C.
Ev Adresi:	Şükrançiftliği Sok. Kartalsaray Apt. No : 17 D: 6 Bakırköy / İstanbul
İş Adresi:	Schering-Plough Tıbbi Ürünler Tic. A.Ş. Maya Plaza Akatlar / İstanbul

Öğrenim Durumu:	1984 - 1989	İstiklal İlkokulu
	1989 - 1996	Edirne Anadolu Lisesi
	1996 - 2000	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	2002 - 2005	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı - Yüksek lisans

Yabancı Diller : İngilizce
Almanca