

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ÇEVRESEL MATRİKSLERDE BULUNAN HARDAL GAZI BOZUNMA
ÜRÜNÜNÜN EUTECTİC ÇÖZÜCÜLER İLE EKSTRAKSİYONU,
KROMATOĞRAFİK VE SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Buket CESUR

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

KASIM 2025

**ÇEVRESEL MATRİKSLERDE BULUNAN HARDAL GAZI BOZUNMA
ÜRÜNÜNÜN EUTECTİC ÇÖZÜCÜLER İLE EKSTRAKSİYONU,
KROMATOĞRAFİK VE SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Buket CESUR
(509211283)**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ayşegül GÖLCÜ

Eş Danışman: Doç. Dr. Muammer KAPLAN

KASIM 2025

ISTANBUL TECHNICAL UNIVERSITY ★ GRADUATE SCHOOL

**EXTRACTION OF MUSTARD GAS DEGRADATION PRODUCTS FROM
ENVIRONMENTAL MATRICES USING EUTECTIC SOLVENTS,
CHROMATOGRAPHIC AND SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS**

MASTER THESIS

**Buket CESUR
(509211283)**

Department of Chemistry

Chemistry Programme

Thesis Advisor: Prof. Dr. Ayşegül GÖLCÜ

Thesis Co-advisor: Assoc. Prof. Dr. Muammer KAPLAN

NOVEMBER 2025

İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 509211283 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Buket CESUR, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “ÇEVRESEL MATRİKSLERDE BULUNAN HARDAL GAZI BOZUNMA ÜRÜNÜNÜN EUTECTİC ÇÖZÜCÜLER İLE EKSTRAKSİYONU, KROMATOĞRAFİK VE SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZLERİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Ayşegül GÖLCÜ**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Eş Danışman : **Doç. Dr. Muammer KAPLAN**
TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Zeynep KALAYCIOĞLU**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Ferah ÇALIŞIR
İstanbul Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Hakan KAYGUSUZ
Altınbaş Üniversitesi

Teslim Tarihi : 7 Ekim 2025

Savunma Tarihi : 7 Kasım 2025





Biricik babama,



ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgisini ve desteğini esirgemeyen değerli tez danışmanım Prof. Dr. Ayşegül GÖLCÜ'ye,

Tez çalışmamda bana yol gösteren, bilgi birikimi ile çalışmamın yönlendirilmesinde değerli katkıları olan eş danışmanım Doç. Dr. Muammer KAPLAN'a,

Tez çalışmama sağladığı maddi destekten dolayı (proje kodu: TYLB-2023-45024) İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Çalışmalarım esnasında, laboratuvar imkanlarını kullanmama olanak sağlayan ve süreçte bilgi ve deneyimlerini paylaşan TÜBİTAK personeline ve değerli proje ekibimize,

Sorularıma sabırla yanıt veren, deneyim ve bilgisini benimle paylaşan Dr. Murat GELENOĞLU'na,

Bu süreçte yol arkadaşlarım olan, yüksek lisansım süresince destek ve motivasyonlarıyla beni hiç yalnız bırakmayan hepsi birbirinden kıymetli arkadaşlarım Melike Fatma SAMUR'a, Asya ALSAN'a, Selinay KETEN'e, Ferda GÖNÜLKIRMAZ'a ve Ebru NARŞAP'a,

İhtiyaç duyduğum her an yardımlarını esirgemedikleri için Yunus KURTOĞLU ve Murat ÖZKARAASLAN'a,

Varlığı en büyük motivasyon kaynağım olan, yoğun ve stresli zamanlarımda dahi sabırla, anlayışıyla, koşulsuz desteği ve bana olan inancı ile yanımda olduğu için Ahmet Berkтуğ GÜVEN'e

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, bugünlere gelmemde emeği, sabrı ve sevgisiyle bana her daim yol gösteren, sevgisi ve desteğiyle bana güç veren aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kasım 2025

Buket CESUR
(Kimyager)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SEMBOLLER	xv
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xvii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xix
ÖZET.....	xxi
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Tezin Amacı	1
1.2 Kimyasal Savaş Ajanları	1
1.2.1 Kimyasal silahları yasaklama örgütü (OPCW) ve yeterlilik testleri.....	2
1.2.2 Hardal gazı (HD)	4
1.2.2.1 Hardal gazı bozunma ürünleri	4
1.2.2.2 1,4-Ditian.....	5
2. GENEL BİLGİ.....	7
2.1 Hardal Gazı Bozunma Ürünlerinin Tayini İçin Analitik Teknikler	7
2.1.1 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC).....	7
2.1.2 Gaz kromatografisi (GC)	8
2.1.2.1 Gaz kromatografisi çalışma prensibi	8
2.1.2.2 Numune enjeksiyon sistemi.....	10
2.1.2.3 Taşıyıcı gaz.....	10
2.1.2.4 Kromatografik kolon	11
2.1.2.5 GC dedektörleri	12
2.2 Analitik Kimyada Ekstraksiyon Teknikleri.....	16
2.2.1 Katı faz ekstraksiyonu (SPE).....	17
2.2.2 Sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE).....	17
2.3 Derin Ötektik Çözücüler (DES)	18
2.4 Vorteks Destekli- Derin Ötektik Çözücü- Emülsifikasyon- Sıvı Sıvı Ekstraksiyon (VA-DES-ELLE).....	20
2.5 Metot Validasyonu	21
2.6 1,4-Ditianın Tespitine Yönelik Çalışmalar.....	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1 Enstrümental.....	27
3.2 Kimyasallar	27
3.3 Derin Ötektik Çözücü Sentezi	28
3.4 DES Karakterizasyonu	29
3.5 Gerçek Örnek Hazırlanışı	31
3.6 Ekstraksiyon Prosedürü	32
4. SONUÇ ve TARTIŞMA	33

4.1	1,4-Ditian Tayini İçin Geliştirilen Yöntemin Optimizasyonu	33
4.1.1	GC-FID metot optimizasyonu.....	33
4.1.2	DES türü optimizasyonu	38
4.1.3	DES molar oranı ve hacim optimizasyonu	38
4.1.4	Örnek hacmi optimizasyonu	40
4.1.5	DES karıştırma süresi optimizasyonu	41
4.1.6	THF hacim optimizasyonu.....	41
4.1.7	THF karıştırma süresi optimizasyonu	42
4.2	Yöntemin Analitik Performansının İncelenmesi	43
4.3	Geri Kazanım Çalışmaları	46
4.4	Analitik Yöntemin Yeşilliğinin Değerlendirilmesi	50
4.4.1	Analitik yeşillik hesaplayıcısı (AGREE)	50
4.4.2	Örnek hazırlama için analitik yeşillik metriği (AGREEprep)	50
4.4.3	Mavi uygulanabilirlik derece indeksi (BAGI)	51
4.5	Sonuç	52
KAYNAKLAR.....		53
ÖZGEÇMİŞ.....		61

KISALTMALAR

AED	: Atomik Emisyon Dedektörü
CE	: Kapiler Elektroforez
CWA	: Kimyasal Savaş Ajanı
CWC	: Kimyasal Silahlar Sözleşmesi
DES	: Derin Ötektik Çözücü
DLLME	: Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu
ECD	: Elektron Yakalama Dedektörü
EI	: Elektron Darbesi
FID	: Alev İyonizasyon Dedektörü
FPD	: Alev Fotometrik Dedektör
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GB	: Sarin
GC	: Gaz Kromatografisi
GD	: Soman
HBA	: Hidrojen Bağlı Alıcısı
HBD	: Hidrojen Bağlı Vericisi
HD	: Hardal gazı
HF-LPME	: İçi Boş Elyaf Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IL	: İyonik Sıvı
LC	: Sıvı Kromatografisi
LD50	: Ortalama Öldürücü Doz
LDR	: Doğrusal Dinamik Aralık
LLE	: Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon
LOD	: Gözlenebilme Limiti
LOQ	: Tayin Limiti
MDES	: Manyetik Derin Ötektik Çözücü
MS	: Kütle Spektrometrisi
NADES	: Doğal Derin Ötektik Çözücü
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans

OPCW	: Kimyasal Silahların Yasaklanması Örgütü
ppb	: milyarda bir kısım
ppm	: milyonda bir kısım
PT	: Yeterlilik Testi
RSD	: Bağlı Standart Sapma
S/N	: Sinyal/Gürültü
SBSE	: Karıştırma Çubuğu Sorptif Ekstraksiyonu
SD	: Standart Sapma
SDME	: Tek Damla Mikroekstraksiyonu
SPE	: Katı Faz Ekstraksiyonu
SPME	: Katı Faz Mikroekstraksiyonu
TDG	: Tiyodiglikol
TDGO	: Tiyodiglikol Sülfoksit
TDGOO	: Tiyodiglikol Sülfon
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi
TÜBİTAK	: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UV-VIS	: Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi

SEMBOLLER

$(\text{SC}_2\text{H}_4)_2$	: 1,4-ditian
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat derece
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
g	: Gram
H	: Hidrojen
He	: Helyum
kg	: Kilogram
L	: Litre
m	: Metre
M	: Molar
m/z	: Kütle/yük
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
N	: Azot
ng	: Nanogram
R^2	: Regrasyon katsayısı
s	: Saniye
t _M	: Ölü zaman
t _R	: Alıkonma zamanı
V _R	: Alıkonma hacmi
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 : OPCW yeterlilik testlerinde kullanılan örnek matrisleri [14].	3
Çizelge 2.1 : Derin Ötektik Çözücülerin Türü [88,89].	19
Çizelge 2.2 : Analit konsantrasyonuna bağlı olarak beklenen tekrarlanabilirlik (RSD _r) ve tekrarüretilebilirlik (RSD _R) çizelgesi [111].	22
Çizelge 2.3 : Analit konsantrasyonuna bağlı olarak beklenen/kabul edilebilir ortalama geri kazanım değerleri [111].	23
Çizelge 3.1 : Fonksiyonel bağların spektrumda karşılık gelen dalga sayısı.	29
Çizelge 4.1 : 1,4-Ditianın tayini için optimize edilmiş GC-FID metodu.	38
Çizelge 4.2 : Optimize edilmiş yöntem parametreleri.	44
Çizelge 4.3 : Optimum koşullar altında geliştirilen yöntemin analitik performansı.	44
Çizelge 4.4 : Farklı konsantrasyonlarda 1,4-ditian için tekrarlanabilirlik sonuçları.	45
Çizelge 4.5 : Musluk suyu (DCM+PEG) ve toprak (+dizel) örneklerindeki 1,4-ditianın yüzde geri kazanım sonuçları (N=7).	47



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Kükürt hardalının termal bozunma reaksiyonu sonucu oluşan 1,4-ditian [24].	6
Şekil 2.1 : Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Şematik Gösterimi [32].	7
Şekil 2.2 : Gaz kromatografisi ayırma prensibi. Sabit faz ile en az etkileşimde bulunan turuncu bileşik, diğer bileşiklerden daha erken kolondan çıkar ve en kısa alıkonma süresine sahiptir [38].	9
Şekil 2.3 : Gaz Kromatografisi Şematik Gösterimi.	9
Şekil 2.4 : Numune enjeksiyon portu [43].	10
Şekil 2.5 : Bir dedektörden elde edilen sinyal ile oluşan kromatogram (t_R =alıkonma zamanı, V_R =alıkonma hacmi, t_M : kolonda alıkonmayan gaz için çıkış zamanı) [37].	13
Şekil 2.6 : Alev İyonizasyon Dedektörü (FID) [57].	14
Şekil 2.7 : Alev Fotometrik Dedektör (FPD) [62].	15
Şekil 2.8 : Kütle Spektrometresi (MS) [70].	16
Şekil 2.9 : Katı Faz Ekstraksiyon Tekniğinin Şematik Gösterimi [77].	17
Şekil 2.10 : Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Şematik Gösterimi [83].	18
Şekil 2.11 : Geliştirilen analitik yöntemine ait işlem basamakları.	21
Şekil 3.1 : Kolin klorür ve fenol ile hazırlanan derin ötektik çözelti.	28
Şekil 3.2 : Ch-Ph derin ötektik çözücü mekanizması [115].	28
Şekil 3.3 : ChCl, Ph ve ChCl:Ph (1:2 M) FT-IR spektrumları.	30
Şekil 3.4 : 1,4-Ditian, 1,4-ditian içeren DES fazı ve ChCl:Ph (1:2 M) FT-IR spektrumları.	30
Şekil 3.5 : Toprak örneğinin hazırlanış aşamaları.	31
Şekil 3.6 : Sıvı numune/standart çözeltiden 1,4-ditian ekstraksiyonu.	32
Şekil 4.1 : GC-FID ile elde edilen farklı başlangıç sıcaklıklarındaki 1,4-ditian (10 mg/L) kromatogramları.	34
Şekil 4.2 : GC-FID başlangıç sıcaklığı optimizasyonu.	34
Şekil 4.3 : GC-FID ile elde edilen farklı sıcaklık artışlarında 1,4-ditian (10 mg/L) kromatogramları.	35
Şekil 4.4 : GC-FID sıcaklık artışı optimizasyonu.	35
Şekil 4.5 : GC-FID ile elde edilen farklı akış hızlarında 1,4-ditian (10 mg/L) kromatogramları.	36
Şekil 4.6 : GC-FID taşıyıcı gaz akış hızı optimizasyonu.	36
Şekil 4.7 : GC-FID ile elde edilen farklı split oranlarında 1,4-ditian (10 mg/L) kromatogramları.	37
Şekil 4.8 : GC-FID split oranı optimizasyonu.	37
Şekil 4.9 : Farklı DES türlerinin ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.	39
Şekil 4.10 : Farklı DES molar oranlarının ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.	39
Şekil 4.11 : DES hacmi ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.	40
Şekil 4.12 : Farklı örnek hacimlerinde oluşan faz ayrımı.	40
Şekil 4.13 : Karışıma süresinin ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.	41

Şekil 4.14 : THF hacminin ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.	42
Şekil 4.15 : Karıştırma süresinin ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.	42
Şekil 4.16 : 1,4-ditian bileşiğinin 150-5000 µg/L konsantrasyon aralığında elde edilen kalibrasyon eğrisi.	44
Şekil 4.17 : Tüm optimize edilen parametreler sonunda elde edilen 1,4-ditian (10 mg/L) kromatogramı.	45
Şekil 4.18 : 1,4-Ditian (5 mg/L) enjeksiyonu tekrarlanabilirlik çalışmasına ait FID kromatogramları.	46
Şekil 4.19 : Musluk suyu örneklerinde matriks eşleme kalibrasyon standartları için kalibrasyon grafiği.	48
Şekil 4.20 : Musluk suyu örneklerinde analiz edilen 1,4-Ditian (5 mg/L) ve blank kromatogramı.	48
Şekil 4.21 : Toprak örneklerinde matriks eşleme kalibrasyon standartları için kalibrasyon grafiği.	49
Şekil 4.22 : Toprak örneklerinde analiz edilen 1,4-Ditian (5 mg/L) ve blank kromatogramı.	49
Şekil 4.23 : Önerilen yöntemin çevresel değerlendirmesi üç temel ölçüte dayanmaktadır: (a) AGREE, (b) AGREEprep ve (c) BAGI.	51

ÇEVRESEL MATRİKSLERDE BULUNAN HARDAL GAZI BOZUNMA ÜRÜNÜNÜN EUTECTİC ÇÖZÜCÜLER İLE EKSTRAKSİYONU, KROMATOĞRAFİK VE SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZLERİ

ÖZET

Kimyasal savaş ajanları (CWA) canlılara zarar vermek, yaralamak, güçsüzleştirmek veya öldürmek amacıyla kullanılan, aşırı derecede toksik sentetik kimyasallardır. Partiküllere adsorbe edilerek veya gaz, sıvı ya da aerosol şeklinde dağılılabirler.

Hardal gazı (HD) veya bis(2-kloroetil) sülfür kimyasal savaş ajanları arasında en önemli ajanlardan biridir. HD oldukça toksik bir alkile edici bir maddedir. Hardal gazı çeşitli yollarla çevrede varlığını sürdürebilir ve ortamın hardal gazı ile kirletilmesi durumunda, bu ajanın bozulup bozulmayacağı, oluşan ürünün kimliğinin, toksisitesinin ve miktarının bilinmesi dekontaminasyonu açısından oldukça önemlidir. Kimyasal ajanlar ile kirletilmiş olduğundan şüphelenilen alanlarda hardal gazının varlığını doğrulayabilmek adına hardal gazı ve bozunma ürünlerinin tespiti için hızlı ve güvenilir analitik yöntemler gerekmektedir.

Bu çalışmada, hardal gazının bozunma ürünü olan 1,4-ditianın çok-düşük konsantrasyonlarda tayini amacıyla yeşil kimya prensiplerine dayalı bir sıvı faz ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Ekstraksiyon çözücüsü olarak çevresel sürdürülebilirlik, biyoyumluluk ve düşük toksisite avantajları nedeniyle geleneksel organik çözücüler yerine derin ötektik çözücüler (DES) tercih edilmiştir. DES'ler, belirli molar oranlarda karıştırılan bir kuaterner amonyum tuzu ve bir hidrojen bağ donöründen (HBD) oluşmakta olup, düşük maliyetli ve kolay hazırlanabilen çözücülerdir. Bu yaklaşımla daha az toksik ve daha az çözücü tüketen bir ekstraksiyon süreci elde edilmiştir.

Geliştirilen yöntemde; DES oranı/hacmi, karıştırma süresi ve THF miktarı gibi tüm deneysel parametreler optimize edilmiş ve analizler gaz kromatografisi (GC) ile gerçekleştirilmiştir. GC sisteminde sıcaklık programı, split oranı ve taşıyıcı gaz akış hızı da metod performansını en üst düzeye çıkaracak şekilde optimize edilmiştir. Yöntemin analitik performans parametreleri incelendiğinde, gözlenebilme limiti (LOD) 44.3 µg/L, tayin limiti (LOQ) ise 147.8 µg/L olarak belirlenmiştir. Ayrıca kalibrasyon eğrisinin geniş bir aralıkta yüksek doğrusallık ($R^2 = 0.9998$) sergilediği ve yöntemin gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliğinin sırasıyla %6.4 ve %4.3 RSD ile oldukça iyi olduğu tespit edilmiştir.

Yöntemin doğruluğunu ve uygulanabilirliğini değerlendirmek amacıyla Kimyasal Silahların Yasaklanması Örgütü (OPCW) tarafından yürütülen yeterlilik testlerinde (PT) kullanılan kompleks matrisleri temsil eden musluk suyu (PEG+DCM) ve toprak (+dizel) örnekleri hazırlanmış ve bu matrislerde geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Kalibrasyon eğrisinin doğrusal aralığında 1,4-ditian standardı eklenerek yapılan çalışmalarda, musluk suyu matrisinde %95-108, toprak matrisinde ise %83-105 geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile basit, etkili ve yeşil kimya ilkelerine uygun bir ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiş; yüksek geri kazanım yüzdeleri ve düşük tayin limitleriyle karmaşık matrislere uygulanabilirliği başarılı şekilde gösterilmiştir. Ayrıca literatürde 1,4-ditianın analizine yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmakta olup, derin ötektik çözücülerle (DES) geliştirilmiş ilk ekstraksiyon yöntemlerinden biri olması açısından da özgün bir katkı sağlamaktadır.



EXTRACTION OF MUSTARD GAS DEGRADATION PRODUCTS FROM ENVIRONMENTAL MATRICES USING EUTECTIC SOLVENTS: CHROMATOGRAPHIC AND SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS

SUMMARY

Chemical warfare agents (CWAs) are highly toxic synthetic chemicals used to harm, injure, incapacitate, or kill living organisms. They can be dispersed by being adsorbed on the surface of particles or in the form of gas, liquid, or aerosol. The Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW), established in the 1990s, aims to eliminate the global use of Chemical Warfare Agents (CWAs). Together with the Chemical Weapons Convention (CWC), the development, production, and use of CWAs have been prohibited. There are laboratories that have obtained the competence to perform the analysis of chemicals listed under the CWC. These laboratories are referred to as OPCW designated laboratories. In order to become an OPCW designated laboratory, it is necessary to participate in the proficiency tests (PTs) organized annually by the OPCW and achieve successful results.

Sulfur mustard (HD), or bis(2-chloroethyl) sulfide, is one of the most significant chemical warfare agents. HD is a highly toxic alkylating compound. Sulfur mustard can persist in the environment through various pathways, and in the event of environmental contamination, understanding whether the agent degrades, as well as identifying the degradation products, their toxicity, and their concentrations, is crucial for effective decontamination. In areas suspected of being contaminated with chemical agents, rapid and reliable analytical methods are required to detect sulfur mustard and its degradation products in order to confirm its presence. HD is initially hydrolyzed in environmental samples to form thiodiglycol (TDG). TDG can subsequently undergo oxidation to produce thiodiglycol sulfoxide (TDGO) and thiodiglycol sulfone (TDGOO). In addition, HD with thermal interaction can lead to the formation of cyclic degradation products such as 1,4-dithiane and 1,4-dioxane. While the detection of intact HD in the environment is rare, its metabolites and degradation products are encountered much more frequently. Conclusion, the detection of these chemicals in analyzed samples can serve as reliable evidence of the presence of HD in the environment.

1,4-Dithiane is an organosulfur compound that is not classified as carcinogenic and has a garlic- or onion-like odor. It appears as a thermal degradation product of HD under both normal and high temperatures. Although it is an important compound for demonstrating the presence of HD, there are relatively few studies in the literature focusing on its analysis.

Within the scope of this thesis, gas chromatography was used to analyze 1,4-dithiane. Gas chromatography (GC) is a technique employed for the qualitative and quantitative analysis of compounds that are volatile or can be made volatile. The injection system, carrier gas system, column, and detector can be considered as its fundamental components. In a GC system, compounds injected into the column reach the detector

at different times depending on their interactions with the stationary phase. However, not every sample can be analyzed directly by GC due to matrix characteristics or physical forms. Therefore, sample preparation procedures are required. Sample preparation enables the separation of target analytes from the matrix and the preconcentration of those present at trace levels, effectively eliminating matrix interferences. Liquid–liquid extraction (LLE) is a widely used sample preparation technique. It is based on transferring the analyte from an aqueous matrix into an immiscible organic solvent. In LLE, the organic solvent must be immiscible with the matrix and able to dissolve the analytes. However, due to the use of large amounts of high-purity organic solvents, it is not well aligned with green chemistry principles. Consequently, deep eutectic solvents (DESs) have emerged as environmentally friendly alternatives to conventional organic solvents. DESs are known as relatively less toxic, eco-friendly solvents. They are easy, fast, and low-cost to prepare, and they are also biocompatible.

In this study, a green chemistry-assisted liquid-phase extraction technique was developed for the trace-level analysis of 1,4-dithiane, a cyclic degradation product of sulfur mustard. Deep eutectic solvents (DESs) were selected as the extraction solvent instead of commonly used organic solvents due to their environmentally friendly properties such as sustainability and biocompatibility. This approach enabled the use of less toxic and smaller volumes of solvent. Additionally, DESs, which are more cost-effective and easier to prepare, are synthesized by mixing a quaternary ammonium salt with a hydrogen bond donor (HBD) in a specific molar ratio.

All experimental parameters such as the DES ratio/volume, mixing time, and the amount of THF were optimized for the analysis of 1,4-dithiane at low detection limits using the developed method, and the analysis was performed by gas chromatography. Additionally, GC system parameters including the temperature program, split ratio, and carrier gas flow rate were optimized for the analysis. During the optimization experiments, various conditions were evaluated for each parameter to determine their influence on the analyte signal, while the remaining parameters were maintained constant. All parameters were assessed in triplicate using a 10 mg/L 1,4-dithiane standard solution. After selecting the DES type and molar ratio, the formation of a hydrogen bond between choline chloride and phenol is required for DES formation. To examine the presence of this interaction, the characterization of the DES was carried out using FTIR. The IR spectra of pure choline chloride, pure phenol, and the DES formed from their combination were analyzed. In addition, to investigate the presence and solubility of 1,4-dithiane within the DES phase obtained after extraction, the IR spectra of the DES phase, pure 1,4-dithiane, and the DES itself were examined.

As part of the method validation process, the limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), linear dynamic range (LDR), relative standard deviation (%RSD), and repeatability parameters were determined under optimized conditions. Each analysis was performed seven times for the evaluation of all parameters. The analytical performance of the method was evaluated, and the limit of detection and limit of quantification were found to be 44.3 µg/L and 147.8 µg/L, respectively. When 1,4-dithiane was analyzed using the developed method, the calibration curve exhibited good linearity with a correlation coefficient of 0.9998, and the repeatability, in terms of % relative standard deviation, was found to be 6.4% (intra-day) and 4.3% (inter-day).

In order to validate the accuracy and applicability of the method, recovery studies were executed using tap water (PEG+DCM) and soil (+diesel) samples, which were prepared to simulate complex matrices used in proficiency tests (PTs) conducted by the OPCW. Matrix matching strategy was used to reduce the matrix effect in complex samples and ensure accurate quantification. Recovery studies were carried out in the samples by spiking 1,4-dithiane at concentrations within the linear calibration range. Recovery percentages were obtained in the range of 95-108% for the tap water and 83-105% for the soil samples.

The proposed simple, effective, and green chemistry-supported method achieved high recovery percentages, and its applicability to complex matrices used in OPCW proficiency tests was demonstrated. Furthermore, although there is a lack of significant studies on the analysis of 1,4-dithiane in the literature, no extraction method has been developed using DES for this purpose.





1. GİRİŞ

1.1 Tezin Amacı

Kimyasal savaş ajanları arasında en bilinen son derece toksik olan hardal gazı çevreye ve canlılara zarar vermek amacıyla yaygın olarak kullanılır. Hardal gazı çevrede uzun süre kalabilir ve durduğu zaman içerisinde farklı bozunma ürünleri ortaya çıkabilir. Bu nedenle hardal gazının varlığının belirlenmesi için bozunma ürünlerinde yüksek doğruluk ve hassasiyetle analizi oldukça önem teşkil eder. Bu çalışmada, hardal gazının döngüsel bozunma ürünlerinden biri olan 1,4-ditianın ekstraksiyonu/ön konsantrasyonu ve analizi için yeni, çevre dostu ve hassas bir analitik bir yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda yaygın kullanılan toksik organik çözücü kullanımı yerine ekstraksiyon çözücüsü olarak çevre dostu derin ötektik çözücüler kullanılarak sıvı faz ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Sonrasında geliştirilen metot optimize edilip ve gaz kromatografisi ile birleştirilmiştir. Bu metot musluk suyu ve toprak örneklerinden düşük seviyelerde dahi bulunan döngüsel bozunma ürününün yüksek doğruluk ve hassasiyetle tespit edilmesine olanak sağlamıştır.

1.2 Kimyasal Savaş Ajanları

Milattan önceki zamanlardan beri kimyasal maddelerin savaşlarda kullanıldığı bilinmektedir. Helleborus köklerinin Atinalılar tarafından Kirrha kuşatması sırasında su kaynaklarını kirletmek için kullanılması, zehirli dumanlar oluşturmak amacıyla ise zift ve kükürtün yakılması, arsenik dumanının kullanılması bunlara örnektir [1]. Daha sonra kimyasal savaş ajanları (CWA) yavaş yavaş savaş alanlarında kendilerini göstermeye başlamıştır. Bu kimyasalların kullanımı Birinci Dünya Savaşı sırasında zirveye ulaşmıştır [2]. Kimyasal savaş ajanları (CWA) aşırı derecede toksik ve partiküllere adsorbe edilerek veya gaz, sıvı ya da aerosol şeklinde dağılabilen sentetik kimyasallardır. Canlıları öldürmek, yaralamak veya güçsüzleştirmek amacıyla kullanılmaktadırlar [3]. Başlangıçta pestisit olarak planlanan nörotoksik organofosfatlar olarakta bilinen sinir ajanları en güçlü kimyasal savaş ajanlarıdır. Bu ajanlar II. Dünya Savaşı'nda geliştirilmiştir. Aynı zamanda düşük maliyetli ve kolay üretilen ajanlar oldukları için terör örgütlerinin ilgi odağı haline gelmişlerdir [4].

CWA'lar sinir, yakıcı (vezikanlar), boğucu ve kan zehirleyici gibi fizyolojik duruma göre farklı kategorilere ayrılmıştır. Sinir ajanlarına; VX, sarin (GB), soman (GD), kabarcık oluşturan/yakıcı ajanlara; kükürt hardalı (HD) ve azot hardalı, boğucu ajanlara; fosgen, kan zehirleyici ajanlara ise hidrojen siyanür örnek olarak verilebilir [5].

1.2.1 Kimyasal silahları yasaklama örgütü (OPCW) ve yeterlilik testleri

Kimyasal silahların dünya çapında kullanımı ortadan kaldırılmasını amaçlayan, içerisinde birçok uluslararası devletleri içeren Kimyasal Silahların Yasaklanması Örgütü (OPCW) ve Kimyasal Silahlar Sözleşmesi (CWC) 1990'lı yıllarda ilk olarak ortaya çıkmıştır [6]. CWC ile birlikte kimyasal savaş ajanlarının (CWA) geliştirilmesi, üretilmesi, stoklanması ve kullanımı yasaklanmıştır [1]. Kimyasal Savaş ajanları risk etmenlerine açısından, OPCW tarafından 3 çizelgeye ayrılmıştır. Çizelgelerin A sınıfları kimyasal ajanların kendisini içerirken, B sınıfları ajanların öncüllerini içerir. Çizelge I kimyasalları ve öncülleri doğrudan CWA olarak geliştirilebilir, üretilebilir ve kullanılabilir. Bu çizelgede yer alan kimyasallar genelde barışçıl amaçlar için kullanılmazlar, bu sebeple Kimyasal Silahlar Sözleşmesi (CWC) kapsamında yüksek risk oluşturmaktadır. Sarin, soman, tabun, VX ve hardal gazı Çizelge I'e dahil edilmiştir. Çizelge II'de yer alan kimyasal ajanların üretiminin son aşamasında gerçekleştirilen reaksiyonlarda öncü kimyasal olarak kullanılabilirler ve genellikle önemli ticari kullanımı olan kimyasallardır. Bu nedenle sözleşmenin amacı açısından önemli bir risk oluşturmaktadır. Tiyodiglikol ve pinakolil alkol bu gruba dahildir. Çizelge III kimyasalları bir veya daha fazla kimyasalın üretiminde rol oynayacağından ve kimyasal silah olarak kullanılmasını sağlayabilecek özellikleri sebebiyle risk teşkil etmektedir. Fosgen ve trietanolamin bu grupta yer alır [7,8].

CWC'nin amaç ve hedefinin gerçekleştirilmesi için taraf devletler Kimyasal Silahların Yasaklanması Örgütü'nü (OPCW) kurmuştur. Güncel olarak CWC kapsamındaki kimyasallar için numunelerin analizinde yeterlilik elde etmiş 32 laboratuvar bulunmaktadır. Bu laboratuvarlar OPCW tarafından tanınmış/yetkilendirilmiş laboratuvarlardır [9,10]. Yetkilendirilmiş laboratuvarlar, kimyasal üretim tesisleri, depolama alanları veya kimyasal silah kullanıldığı iddia edilen sahalardan toplanan örneklerin saha dışında analizini gerçekleştirme yetkinliğine sahiptir ve analizlerin doğru ve tarafsız yapıldığını devletlere garanti eder. OPCW, laboratuvarların kimliklerini gizli tutar. Laboratuvarlar da yaptıkları çalışmalarla ilgili olarak gizlilik

kurallarına bağlıdır. Bu düzenleme, analiz süreçlerinin ve elde edilen sonuçların bütünlüğünü ve güvenilirliğini korumak amacıyla uygulanmaktadır [11]. Bir laboratuvarın, OPCW tarafından yetkilendirilmiş laboratuvar olabilmesi için her yıl OPCW tarafından düzenlenen resmi yeterlilik testlerine (PT) katılıp, başarılı sonuç elde etmesi gerekir [12]. Yeterlilik testlerine katılım sağlayacak laboratuvarların öncelikle uluslararası bir akreditasyon kuruluşundan akredite olmaları gerekir. Gerçekleştirilen bu yeterlilik testlerinde, laboratuvarların kirlenmiş çevresel örneklerdeki CWA'ları ve bunların metabolitlerinin varlığını kalitatif olarak doğru şekilde tespit etmeleri beklenir. Yeterlilik testini en az üç kez üst üste başarıyla gerçekleştiren laboratuvar sonrasında OPCW tarafından tanınmış bir laboratuvar olarak sertifikalandırılır. Genellikle su, toprak veya organik üç çevresel numune belirlenmiş bir laboratuvar tarafından hazırlanır ve eş zamanlı olarak diğer laboratuvarlara gönderilir. Numunelere OPCW tarafından sınıflandırılmış CWA'lardan veya metabolitlerinden spike edilir. Hazırlanan numunelerin içerisinde 4 ila 9 arasında bu kimyasallardan bulunur, eklenen miktar bilinmemekle birlikte 1–10 mg/L'den az değildir. Gerçek örneklerle birlikte matrikslerin boş numuneleri de beraberinde gönderilir [13]. Yeterlilik testleri için hazırlanan bazı örnek matriksler Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1 : OPCW yeterlilik testlerinde kullanılan örnek matriksleri [14].

Matriks	Girişim maddesi	Eklenen kimyasal
Toluen	Dizel	O-(2-Metilpropil) S-2-dietilaminoetilmetilfosfonotiolat, O,O-Dietil S-(2-(dietilamino)etil)fosforotiolat (Amiton)
Yeraltı suları	PEG + 0.1 % DCM	Etilfosfonik asit, O-İzopropil etilfosfonik asit, Trietanolamin
Toprak	Dizel + Trimetilfosfat	O,O-Dimetil etilfosfonat, 1,5-Bis(2-hidroksietiltiyo)- pentan
Hekzan	Dizel	O-Etil S-2-dietilaminoetilmetilfosfonotiolat, Bis(2- kloroetil)sülfür (Hardal gazı), Dimetil fosfit
Musluk suyu	PEG + Yağ asidi + 0.1 % DCM	Etilfosfonik asit, Etil dietanolamin, Metil dietanolamin

1.2.2 Hardal gazı (HD)

Hardal gazı bir diğer ismiyle kükürt hardalı (HD) veya bis(2-kloroetil) sülfür oldukça toksik bir alkile edici maddedir. Aynı zamanda savaş ajanlarının kralı olarak bilinen hardal gazı (HD), ilk kez I. Dünya Savaşı'nda ortaya çıkmıştır [5,15]. Hardal gazı renksiz, viskoz bir sıvıdır ve sarımsağa benzer bir kokusu vardır. Aynı zamanda kanserojen olan bu ajan mutajenik özellikler gösterir. Ortalama öldürücü doz miktarı 0,7 mg/kg'dır [16]. Kimyasal savaş ajanlarının vezikantlar olarak bilinen kabarcık oluşturan ajanlar sınıfına giren hardal gazı, cilt ile maruziyetinde yanığa benzeyen yaralar oluşturur [3]. Ayrıca ciddi göz yaralanmalarına ve inhalasyon sonucu akciğerde hasar oluşmasına yol açar [15]. HD'ye şiddetli maruziyet sonrasında körlük, bronşit, lökopeni ve kornea hasarı gibi ciddi etkiler ortaya çıkar [17]. Hardal gazı maruziyetinin etkileri uzun yıllar sonrasında da ortaya çıkabilir. Semptomların gelişim hızı ve yoğunluğu, etken madde miktarına, maruziyet biçimine ve çevresel koşullara bağlı olarak değişim gösterir. Bütün bu koşullar göz önüne alındığında hardal gazı maruziyeti ölümle sonuçlanabilir ve hardal gazı toksisitesi için özel bir panzehir yoktur [3,5]. Kükürt hardalının yağda çözünürlüğü sudaki çözünürlüğünden daha iyi olduğu için cilt ile maruziyetinde hızla emilir, ayrıca hava koşullarına bağlı olarak toprakta birkaç hafta, yer altında ise 10 yıla kadar aktif kalıcılığı vardır. Bu sebeple önemli çevresel sonuçlara yol açabilir [18]. Tarihte, ordular vezikantları toprakları kirletmek için kullanmışlardır. Bu ajanlar bitki örtüsüne yapışarak, çevreye yayılmalarının üzerinden saatler geçse bile, askerlere yapraklardan, çimlerden veya çalılardan bulaşarak onlara zarar verebilirler. Kullanım kolaylığı ve düşük üretim maliyeti gibi özellikleri HD'yi diğer pahalı silah sistemlerine kıyasla daha çekici bir hale getirir. Çünkü diğer silah sistemleri üretmek ve dağıtmak için gelişmiş teknik bilgileri gerektirebilir [15,16]. Hardal gazı öldürücülüğü veya etkisizleştirici toksisitesi, potansiyel kimyasal silah olması sebebi ile OPCW'nun sınıflandırdığı Kimyasal Çizelge I'e dahil edilmiştir [7].

1.2.2.1 Hardal gazı bozunma ürünleri

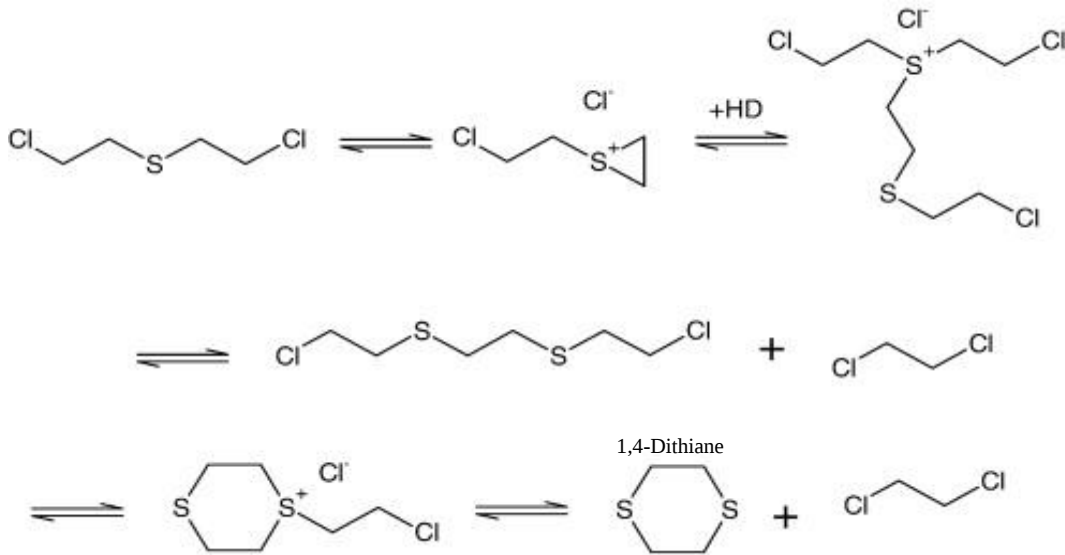
Güçlü bir vezikant olan hardal gazı çeşitli yollarla çevrede varlığını devam ettirebilir. HD ajanı birçok savaş sırasında kullanılmıştır. Hardal gazı mühimmatının bertaraf yöntemlerinin kötü olması sebebiyle, yüzeyden ve çevreden tamamen yok olmaz. Bunun haricinde, kimyasal savaş ajanları (CWA) sivillere zarar vermek amacıyla tekrar üretilebilir veya tedarik edilebilir. Ortamın hardal gazı ile kirletilmesi

durumunda, bu ajanın bozulup bozulmayacağı, oluşan ürün kimliğinin, toksisitesinin ve miktarının bilinmesi dekontaminasyonu için oldukça önemlidir [19]. Kimyasal Silahlar Sözleşmesi kapsamındaki yükümlülükler ve çevresel ortama yayılan CWA'ların yarattığı tehditler doğrultusunda, hardal gazı (HD) ve ilgili bozunma ürünlerinin tespitine yönelik analitik yöntemlere duyulan ihtiyaç giderek artmıştır [20]. Kimyasal ajanlar ile kirletilmiş olduğundan şüphelenilen alanlarda hardal gazı varlığını doğrulamak, hardal gazı ve bozunma ürünlerinin tespiti için hızlı ve güvenilir analitik yöntemlere gereksinim vardır [21]. Örneğin, teröristler tarafından sivil nüfusa yapılan kimyasal saldırıda hardal gazı kullanıldığı takdirde, acil doktorları HD'nin bozunma ürünlerini tanımalı, HD varlığı tahmin edilmeli ve HD'ye maruz kalan hastaların nasıl tedavi edilecekleri bilinmelidir. Hardal gazı çevresel örneklerde hem hidroliz ürünleri, hem oksidasyon ürünleri, hem de HD'nin döngüsel bozunma ürünleri olarak bulunabilir [22]. Hardal gazı su varlığında ilk olarak hidrolize uğrayarak bozunur ve tiyodiglikole (TDG) dönüşür. Çevrede kaldığı süre içerisinde birden fazla farklı bozunma ürünü ortaya çıkabilir. Tiyodiglikol (TDG) yavaş bir şekilde oksitlenerek tiyodiglikol sülfoksiti (TDGO) ve tiyodiglikol sülfonu (TDGOO) oluşturabilir. Hardal gazının bilinen birden fazla döngüsel bozunma ürünü de bulunmaktadır. Döngüsel kükürt bileşiklerinden bir ikisi 1,4-tioksan ve 1,4-ditiandır. Kükürt hardalı genellikle kendisinden daha uzun süre hayatta kalan safsızlıklar içerir. Hardal gazının bozulmamış olarak ortamdan tespiti nadiren gerçekleşirken, farklı döngüsel bozunma ürünleri (1,4-tioksan, 1,4-ditian) ile daha sık karşılaşılmıştır. Örneğin; sudan ve çöplüklerden alınan tortu örneklerinde 1,4-tioksan ve 1,4-ditiana hardal gazı ve TDG, TDGO, TDGOO'dan daha sık rastlanmıştır. Analiz edilen bir numunede birkaç döngüsel bozunma ürünü veya safsızlık tespit edildiği takdirde, bu tespit ortamda HD'nin varlığının güvenilir bir kanıtı olarak gösterilebilir. Hardal gazı bozunma ürünlerinin analizi ve tanımlanması için GC-MS ve LC-MS sıkça kullanılan yöntemlerdir. Bunların haricinde NMR, FPD gibi kullanılan farklı tekniklerde mevcuttur [20,21].

1.2.2.2 1,4-Ditian

1,4-Ditian, $(SC_2H_4)_2$ formülüne sahip bir organosülfür bileşiğidir. Sikloheksan çekirdek yapısından oluşan, iki metilen köprüsünün kükürt ile değiştirildiği heterosiklik bileşiktir [23]. Yüksek sıcaklıklarda kükürt hardalının termal bozunmasının önemli bir ürünü 1,4-ditian'dır, ancak benzer bozunma davranışı ortam

sıcaklıklarında da meydana gelir. 1927 yılında birkaç bilim adamı tarafından kükürt hardalı örneklerinin çoğunda 1,4-ditian bulunduğ u ve örneğ in yaş ına bağı lı olarak 1,4-ditian konsantrasyonunun arttığı ö ne sürülmüştür. Kükürt hardalının, 1,4-ditiani oluşturduğı termal bozunma reaksiyonu Şekil 1.1’de gösterilmektedir [24]. Saf hardal gazının (%98) yapılan analizinde, 1,4-ditian büyük bir safsızlık olarak bulunmuştur [25]. Çevrede kararlı olan bu kimyasal neredeyse her zaman eskiyip değı şime uğ rayan veya bozulmuş kükürt hardalında bulunur. 1,4-ditian’ın erime ve kaynama sıcaklıkları sırasıyla 112,3 °C ve 199,5 °C’dir [26]. Kükürt hardalının hidroliz ürünü olarak da karş ımıza çıkabilen 1,4 – dithiane’ın sıç anlar üzerindeki ortalama öldürücü dozu (LD50), oral yol ile maruziyetinde 2768 mg/kg olup ames testine göre ise insan üzerinde kanserojen olarak sınıflandırılmadığı raporlanmıştır [27,28]. Sarımsak, soğan ve balık tadında olan 1,4-dithiane hakkında literatürde az denebilecek sayıda makale yer almaktadır [29].



Şekil 1.1 : Kükürt hardalının termal bozunma reaksiyonu sonucu oluş an 1,4-ditian [24].

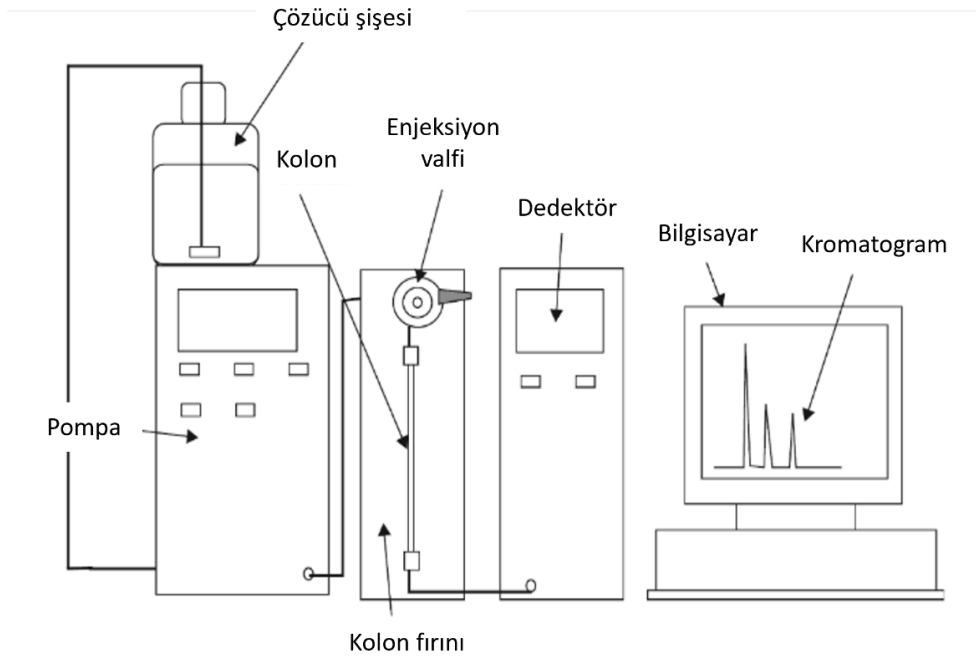
2. GENEL BİLGİ

2.1 Hardal Gazı Bozunma Ürünlerinin Tayini İçin Analitik Teknikler

Hardal gazı ve bozunma ürünlerinin tayini için en yaygın olarak kullanılan kromatografik teknikler yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve gaz kromatografisidir (GC). Aşağıda bu tekniklerden HPLC kısaca tanıtılmıştır. Tez çalışmaları kapsamında kullanılan gaz kromatografisi tekniği ise daha detaylı olarak anlatılmaktadır.

2.1.1 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC)

Sıvı kromatografisi (LC), genellikle sıvı numunenin katı parçacıklarla dolu bir kolondan geçerek çözeltinin bileşenlerinin ayrılmasına dayanır. Sıvı kromatografisini gaz kromatografisinden ayıran özelliği sistemin hareketli fazının sıvı olmasıdır. Klasik LC yöntemi geliştirilerek yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) üretilmiştir. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisine (HPLC) ait şematik gösterim Şekil 2.1’de verilmektedir. HPLC’de kolon içerisinde bulunan katı adsorban sabit fazı çok küçük parçacıklardır ve yeterince hızlı bir akış sağlamak ve yeterli basınç oluşturmak amacıyla bir pompa kullanılır [30].



Şekil 2.1 : Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Şematik Gösterimi [32].

HPLC, organik bileşiklerin analizi için mevcut olan en önemli tekniklerden biridir ve bu yöntem, GC'ye kıyasla daha az numune temizliği gerektirir. Bu yöntemde bileşikler aşırı ısıya maruz kalmaz ve genellikle analiz için türevlendirme işlemine gerek duyulmaz. Bunlar HPLC yönteminin avantajları olarak sayılabilir. Ancak, HPLC'den elde edilen kromatografik verimlilik, GC'den elde edilen kromatografik verimlilik kadar yüksek değildir. Bu sebeple HPLC'den elde edilen piklerde dedektörün ayırt edemediği bileşenler bulunabilir. Bunun sonucunda daha hassas ve seçici bir detektöre gereksinim duyulmuş ve LC/MS'e karşı önemli bir ilgi ortaya çıkmıştır. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve kütle spektrometresi (MS) nin birleşimiyle ortaya en güçlü analitik tekniklerinden biri çıkmıştır [31].

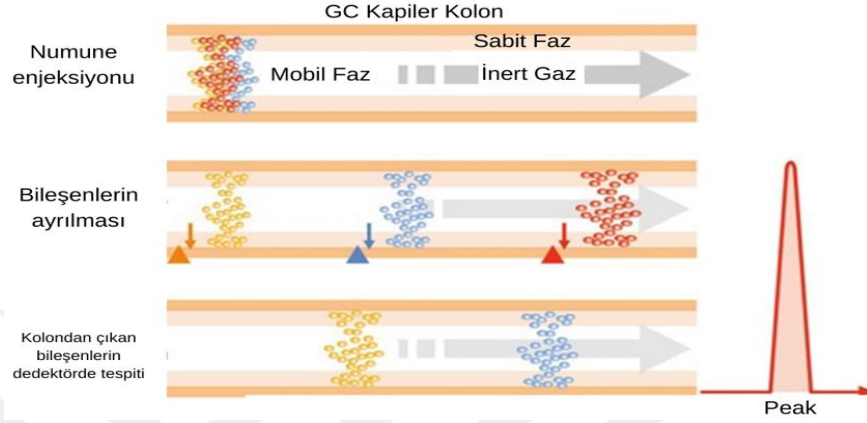
2.1.2 Gaz kromatografisi (GC)

Gaz kromatografisi (GC) ilk olarak James ve Martin (1952) tarafından ortaya sürülmüştür ve o zamandan beri hızla gelişmeye devam etmektedir [33]. Gaz kromatografisi, uçucu bileşiklerin miktarının belirlenmesi ve tanımlanması için kullanılan bir yöntemdir [34]. Gaz kromatografisi, tat-koku endüstrisi, tıbbi-biyolojik araştırmalarda, çevre bilimi, adli tıp gibi daha birçok alanda gıdaların, petrol ürünlerinin, pestisit ve pestisit kalıntılarının, farmasötik ürünlerin örneklerinin analizi gibi, karmaşık matrislerdeki organik maddelerin tespiti için kullanılan en yaygın analitik tekniklerden biridir [35].

2.1.2.1 Gaz kromatografisi çalışma prensibi

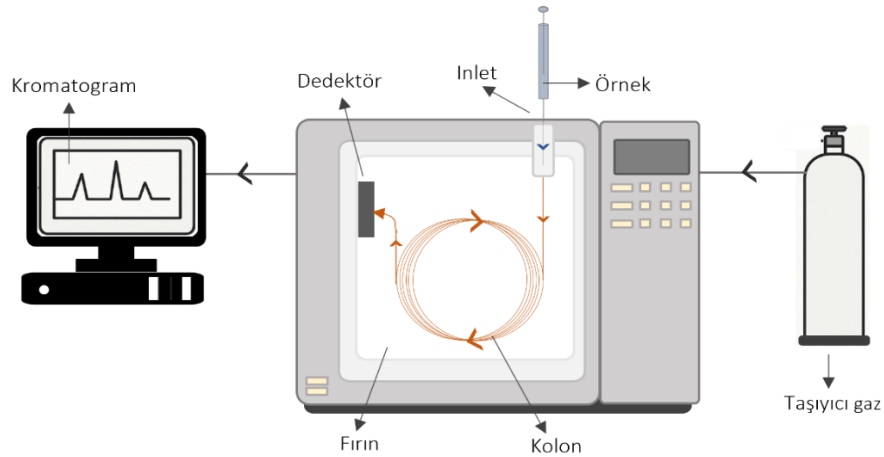
Gaz kromatografisinde, matris içerisindeki bileşenler buharlaştırılır ve hareketli gaz fazı (taşıyıcı gaz) tarafından kolon boyunca taşınır. Bu teknik, numunelerin analiz sırasında verilen sıcaklıkta sabit fazdaki çözünürlüklerine, moleküler etkileşimlerine ve bağlı buhar basınçlarına göre hareketli faz ve sabit faz arasında ayrılmasına dayanır. Kolona enjekte edilen bileşiklerin, kolon içerisindeki ilerleme hızları bileşiklerin sabit faz ile olan etkileşimine bağlı olarak değişir. Bileşiğin sabit faza ilgisi ne kadar fazlaysa, bileşik o kadar kolonda tutulur ve kolondan çıkışı o kadar uzun sürer. GC ayırım prensibi açıklamalı olarak Şekil 2.2'de gösterilmektedir. Bileşiklerin enjeksiyonundan, kolondan çıkışına kadar geçen süreye alıkonma süresi (t_R) olarak bilinir ve her bir maddenin kimyasal yapısına, kolonun sıcaklık, uzunluk ve çapı gibi özelliklerine bağlı olarak farklılık gösterir [36]. Ayrımı gerçekleştirilecek bileşenler

kararlı olmalı ve belirli sıcaklıkta uçuculuğa sahip olmalıdır. Nispeten uçucu olmadığı düşünülen bileşiklerin analizi, kısa kolonların tercih edilmesi ve yüksek sıcaklıklarda çalışılmasıyla mümkün kılınabilir. Uçucu olmayan bileşikler için ise basit türevlendirme işlemiyle bileşikler uçucu hale getirilip analizleri gerçekleştirilebilir [33,37].



Şekil 2.2 : Gaz kromatografisi ayırma prensibi. Sabit faz ile en az etkileşimde bulunan turuncu bileşik, diğer bileşiklerden daha erken kolondan çıkar ve en kısa alıkonma süresine sahiptir [38].

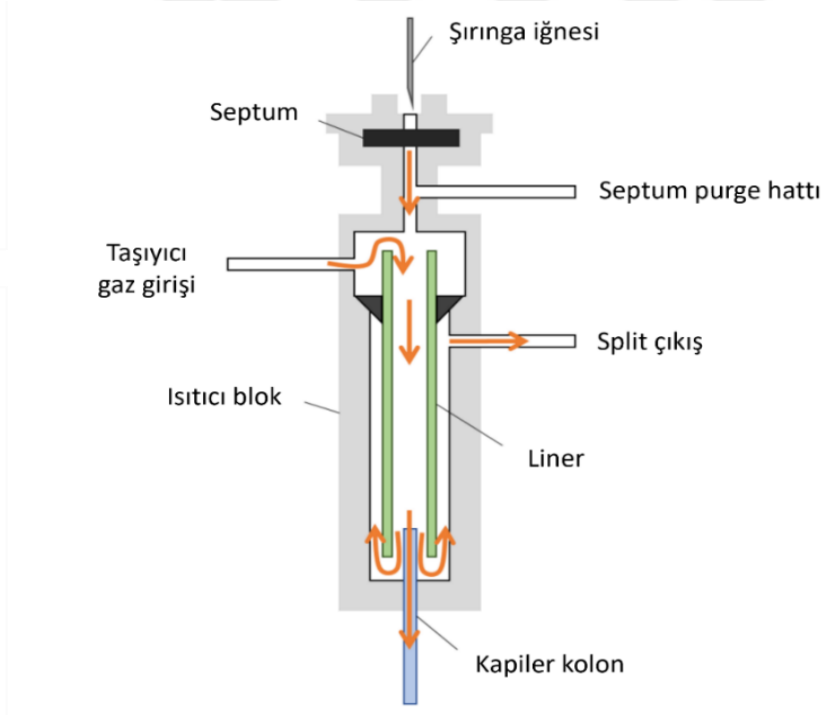
GC'nin yüksek çözünürlük, hız, kesinlik ve doğrulukta analiz gerçe pik nesi en önemli avatajlarından biridir. Bunun yanı sıra yalnızca termal olarak kararlı uçucu bileşiklerin analizine uygun olması ve pikleri tanımlamak adına ayrı bir spektroskopik sistem gerekmesi gibi bazı sınırlamalara da sahiptir [39]. Gaz kromatografisinin temel bileşenleri olarak örnek enjeksiyon sistemi, kromatografik kolon ve dedektörler sayılabilir [40]. Bunların haricinde taşıyıcı gaz sistemi de bu bileşenlere dahil edilebilir [41]. Temel bileşenlerinin de gösterildiği GC cihazının şematik gösterimi Şekil 2.3'te yer almaktadır.



Şekil 2.3 : Gaz Kromatografisi Şematik Gösterimi.

2.1.2.2 Numune enjeksiyon sistemi

Numune enjeksiyonu, GC analizinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Enjeksiyon tekniği iyi olmadığı takdirde, kolonda gerçekleşen örnek ayrımı ve kantitatif sonuçların verimi düşebilir. Bu sebeple iyi bir enjeksiyon tekniğinde numune, kolonun başına dar bir bant olarak enjekte edilmeli ve enjekte edilecek numune miktarı kolon kapasitesi ile uyumlu olmalı, sabit faza aşırı yüklenerek kolon performansı düşürülmemelidir. Numuneleri GC kolonuna enjekte etmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan en yaygın olanı, genellikle 200-300 °C gibi yüksek sıcaklığa ısıtılmış enjeksiyon portuna bir septumdan sıvı enjeksiyondur. Tipik bir enjeksiyon portuna ait şematik gösterim Şekil 2.4 de verilmektedir. Burada sıvı numune, flaş buharlaşma adı verilen işlemde geçerek hızlı bir şekilde buhar haline dönüşür ve taşıyıcı gaz buharlaşmış numuneyi kolon boyunca taşır. Kolon ve enjeksiyon portu arasındaki conta numunenin tamamının kolona ulaşması için sızdırmaz olmalıdır. Bu şekilde kolon verimliliği düşmeden en iyi sonuçlar elde edilebilir [42].



Şekil 2.4 : Numune enjeksiyon portu [43].

2.1.2.3 Taşıyıcı gaz

Taşıyıcı gaz, gaz kromatografisinde, analizi yapılacak numuneyi kolon boyunca taşır. Cihazın verimliliği ve analizin doğruluğu için taşıyıcı gaz seçimi oldukça önem taşır [44]. Taşıyıcı gazın türü ve gazın kolonda akış hızı, verimliliği ve taşıyıcı gazda

öznen maddelerin tutulma süresini etkiler. Tercih edilecek taşıyıcı gaz, içerisinde öznenlere ve sabit faza karşı inert olmalı, kirleticilerden arındırılmış olmalı ve uygun fiyata sahip olmalıdır. Difüzivite ve viskozite, taşıyıcı gazın kromatografik işlevini etkileyen en önemli iki özelliğidir. Örneğın daha düşük difüziviteye sahip bir gazın daha yavaş difüzyon, uzun ayrılma süresi sonuç olarak analiz süresinin daha uzun olmasına yol açacaktır. Taşıyıcı gazın viskozitesi ise inlet basıncını belirleyecektir, viskozitesi düşük olan gaz ile daha hızlı analiz gerçekleşir [45]. Taşıyıcı gaz olarak GC'de yaygın olarak azot (N), hidrojen (H) ve helyum (He) gazları kullanılır. Azot ile maksimum verimde gerçekleştirilen analiz süresi, hidrojen ile gerçekleştirilen analiz süresinden yaklaşık dört kat uzundur. Çünkü hidrojenin viskozitesi azot ve helyumun viskozitesinin yaklaşık yarısı kadardır. Böylelikle hidrojen kullanımıyla, kolon içi akış daha düzgün, difüzyonu daha hızlı olur ve daha hızlı bir analiz gerçekleşir. Taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanımı, yüksek difüzyon katsayısı ve düşük viskozitesi sayesinde analiz sürelerini belirgin ölçüde kısaltmakta, bu esnada kromatografik çözünürlük veya verimlilikte herhangi bir azalmaya yol açmamaktadır. Ayrıca hidrojen, helyuma kıyasla çok daha düşük maliyetli olup, daha yüksek optimal lineer hızlara olanak tanımakta, çalışma sürelerini kısaltarak kolon üzerindeki uzun süreli yükü azaltmakta ve böylece kolon ömrünü uzatmaktadır. Tüm bu avantajlar, operasyonel maliyetlerin anlamlı ölçüde düşürölmesine olanak tanırken, GC sisteminin analitik performansını potansiyel olarak artırmaktadır [46]. Helyum GC için oldukça iyi bir seçenek olmasına rağmen helyumun yenilenemeyen bir kaynak olması ve mevcut rezervlerinin hızla tükenmesi sebebiyle kullanımının sürdürölabilirliği ciddi endişe söz konusu olmuştur [47].

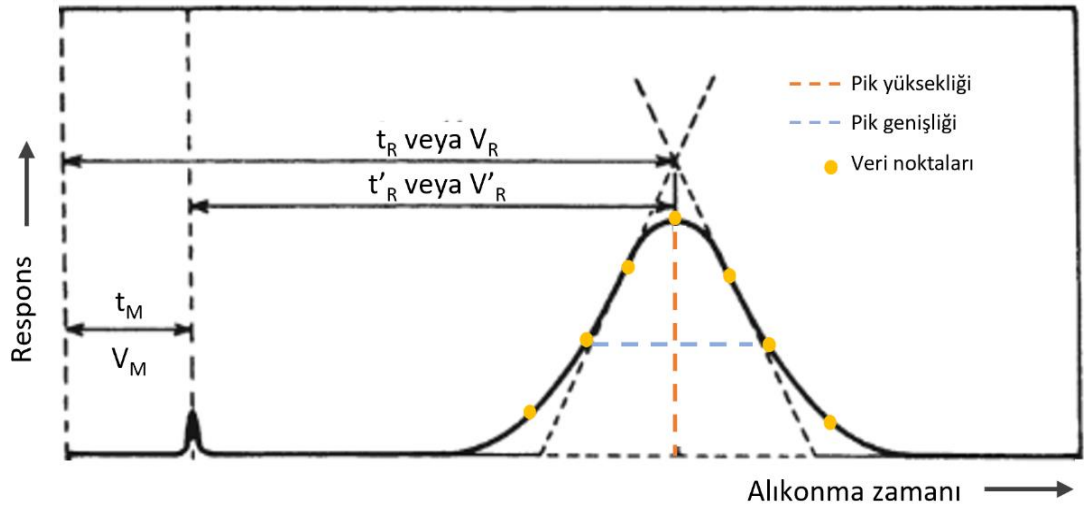
2.1.2.4 Kromatografik kolon

Kolon, kromatografinin merkezi olarak düşünölabilir ve ayırma işlemini sağlar. GC sisteminde, numune buharlaştırıldıktan sonra ayırma kolonunun başına enjekte edilir ve numune, hareketli faz olarak seçilen bir inert gaz akışıyla kolondan geçirilir. Numune bileşenleri sabit faz ile etkileşimlerindeki farklılıklara göre ayrılarak farklı zamanlarda kolondan çıkar ve detektörden geçer. Burada ayrılmış bileşimin konsantrasyonuna karşılık gelen bir sinyal üretilir [48]. GC kolonlarının iki genel sınıflandırması vardır: dolgulu kolonlar ve kapiler kolonlar [39]. GC ile yapılan ilk analizlerde dolgulu kolonlar kullanılmıştır. Bu kolonlar, paslanmaz elik veya camdan üretilen, uzunlukları 0,5-5 m arasında, i çapları ise 2-5 mm arasında değışen

kolonlardır. Dolgulu kolonlarda sabit faz doğrudan kolonun içine doldurulur. Sabit faz genellikle silika, grafitli karbon, diatome topraklar gibi katı adsorbanlardır. Bunun yanı sıra katı yüzeyine emdirilmiş bir sıvı da sabit faz olarak kullanılabilir. Kılcal kolonlar ise 10-60 m uzunluğunda ve 0,20-0,53 mm iç çapındadır. Hızlı ve etkili ayırım sağladığı için günümüzde GC analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kapiler olarak ta bilinen bu kolonlarda, kolonun iç duvarı ince bir sıvı faz filmiyle kaplanır. Kolon seçimi yapılırken maliyetin yanı sıra, iyi kromatografik uygulama ilkeleri dikkate alınmalıdır. Kolonun boyutu (uzunluk, iç çap) ve tipi (kapiler, doldurulmuş vb.), kullanılan enjeksiyon sistemi ile dedektörün özellikleri göz önünde bulundurularak belirlenmelidir [49]. Ayrıca, uygun kolon seçimi; analitin kimyasal yapısı, numune matriksi ve analit ile sabit faz arasındaki moleküler etkileşimler gibi parametrelere doğrudan bağlıdır. Bu faktörlerin doğru şekilde değerlendirilmesi, analitik ayırmanın etkinliği açısından kritik önem taşımaktadır. Örneğin hidrojen bağı yapabilen analitler, polietilen glikol gibi hidroksil grupları içeren sabit fazda daha iyi ayrılabilir [50].

2.1.2.5 GC dedektörleri

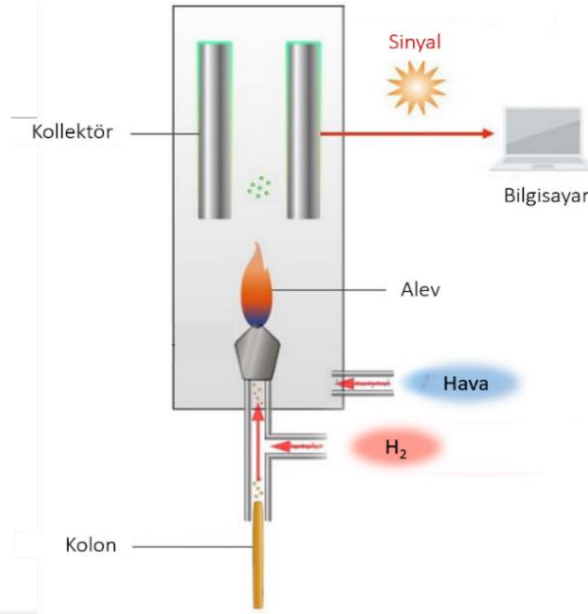
Gaz kromatografisinde kullanılan dedektörlerin çoğu GC'nin ilk geliştirildiği zamanlarda tanıtılmış ve bugün hala teknolojiyle beraber geliştirilmiş halleriyle kullanılmaktadır. Bu hassas dedektörler, gaz fazı iyonizasyon işlemine (alev iyonizasyonu, termiyonik iyonizasyon, elektron yakalama), optik (alev fotometrik, kemilüminesans ve atomik emisyon), elektrokimyasal (elektrolitik iletkenlik) ve gelişmiş spektroskopik (kütle spektrometrisi, kızılötesi ve uzak-UV spektroskopisi) gibi tespit prensiplerine göre sınıflandırılabilirler [51]. Dedektör kolonun çıkışında bulunur ve numune bileşenlerinin taşıyıcı gazla birlikte elüe olan bileşikler tespit eder. Dedektör çıkış sinyalinin zamana karşı çizdirilen grafiğine kromatogram denir. Şekil 2.5'te, detektörden elde edilen sinyal ile oluşan kromatogram örneği gösterilmektedir. GC'de en yaygın kullanılan dedektörlere, kütle spektrometresi (MS), alev iyonizasyon dedektörü (FID), elektron yakalama dedektörü (ECD), alev fotometrik dedektör (FPD), atomik emisyon dedektör (AED) ve kemilüminesans dedektörü örnek verilebilir [37,41]. Bu dedektörlerin bazılarının çalışma prensibinden aşağıda bahsedilmiştir.



Şekil 2.5 : Bir dedektörden elde edilen sinyal ile oluşan kromatogram (t_R =alıkonma zamanı, V_R =alıkonma hacmi, t_M : kolonda alıkonmayan gaz için çıkış zamanı) [37].

2.1.2.5.1 Alev iyonizasyon dedektörü (FID)

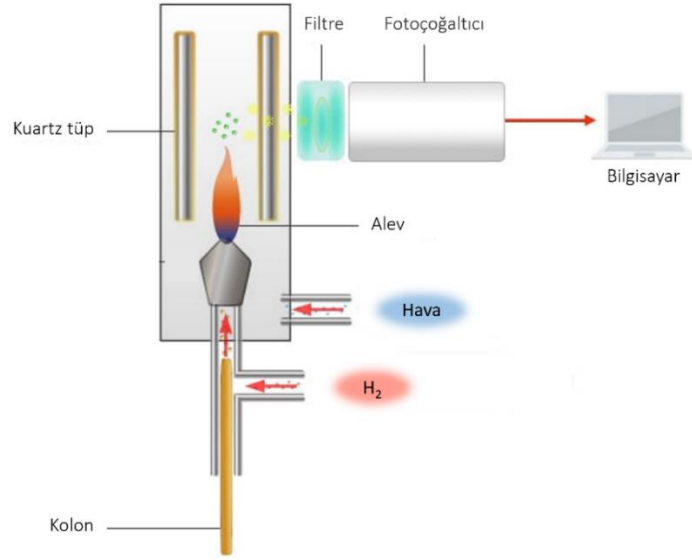
Alev iyonizasyon dedektörü (FID), ilk olarak Yeni Zelanda’da tanıtılmıştır. 1960’lı yıllardan beri organik maddeleri tespit etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Gaz kromatografisi’nde diğer dedektörlerden daha sık tercih edilir [52,53]. Bunun yanı sıra FID, diğer GC tespit sistemleri arasında en basitidir, çeşitli bileşiklere karşı yüksek hassasiyet ve güvenilir sonuç sağlar [54]. FID alevi genellikle hava/saf hidrojen ile oluşturulur [55]. Çoğu karbon içeren bileşikler dahil olmak üzere hidrojen/hava alevinde iyonize olan moleküllere duyarlıdır [54]. FID, karbon bileşiklerinin alev ile etkileşimi sonucu iyon üretmesi prensibine bağlı olarak çalışır [52]. GC kolonundan elüe edilen bir karbon bileşiği alev iyonizasyon dedektörünün hidrojen alevi ile etkileşime girer. Bu etkileşim sonucunda oluşan iyon miktarı ile orantılı olarak değişen bir akım üretir [54]. Akım, aleve yakın yerleştirilen ve uygun bir potansiyelde tutulan elektrotlar arasında geçer. Bunun sonucunda, kaydedilebilir bir sinyal elde edilir [52]. Alevli iyonizasyon dedektörünün şematik olarak gösterimi Şekil 2.6’da verilmektedir. FID’nin yüksek hassasiyete sahip olması ve hassasiyetinin dedektör sıcaklığı, hidrojen veya taşıyıcı gazın akış hızları ve bunun gibi diğer parametrelerden çok fazla etkilenmemesi, oldukça düşük bir gürültü seviyesine sahip olması, geniş aralıkta doğrusal bir yanıtı sahip olması gibi özellikler FID’nin başlıca avantajlarıdır. Detektörün bir diğer avantajı ise, yanıtın tahmin edilebilir olmasıdır. FID sistemi, tespit edilecek organik maddenin, karbon atomlarının sayısına orantılı yanıtlar verir [52,56].



Şekil 2.6 : Alev İyonizasyon Dedektörü (FID) [57].

2.1.2.5.2 Alev fotometrik dedektör (FPD)

Gaz kromatografisinde yaygın kullanılan bir diğer dedektör ise alev fotometrik dedektördür (FPD). Bu dedektör fosfor ve kükürt bileşiklerinin analizi için geliştirilmiş hassas ve seçici dedektördür ve birçok alan için kükürt içeren organik bileşiklerin analizi oldukça önem taşımaktadır. Nispeten sağlam, ucuz ve kullanımının kolay olması avantajları arasındadır, farklı matrislerde analiz için gıda, petrol, çevre ve kimyasal savaş gibi birçok farklı alan kullanılmaktadır [58,59]. FPD, fosfor bileşiklerinin milyarda bir (ppb) seviyelerinin, kükürt bileşiklerinin ise milyonda bir (ppm) seviyelerinin daha azına duyarlıdır. Ayrıca, dedektörün çalışma prensibi hidrojen/hava ile oluşturulan alevdeki kükürt ve fosfor bileşiklerinin alev emisyonunun fotometrik tespitine dayanmaktadır. Alev içerisinde ortaya çıkan fosfor ve kükürt kemiluminesans reaksiyon verir ve uyarılmış radikaller oluşturur, bu radikaller daha düşük enerji düzeylerine geçerken karakteristik foton emisyonu gerçekleştirir. Sonrasında düz bir cam ısı filtresinden ve optik filtresinden (fosfor için 526 nm, sülfür için 394 nm) geçen fotonlar bir fotomultiplier tarafından algılanır. Fotomultiplier tüp önüne yerleştirilen optik filtre sadece sülfür veya fosforun karakteristik dalga boyunu geçirir ve harici elementlerin oluşturduğu alev emisyonundan kaynaklanan girişimleri engeller. Fotomultiplier tüp, filtreden geçen fotonları analog sinyale dönüştürür [57,60,61]. FPD'nin şematik görünümü Şekil 2.7'de gösterilmektedir.

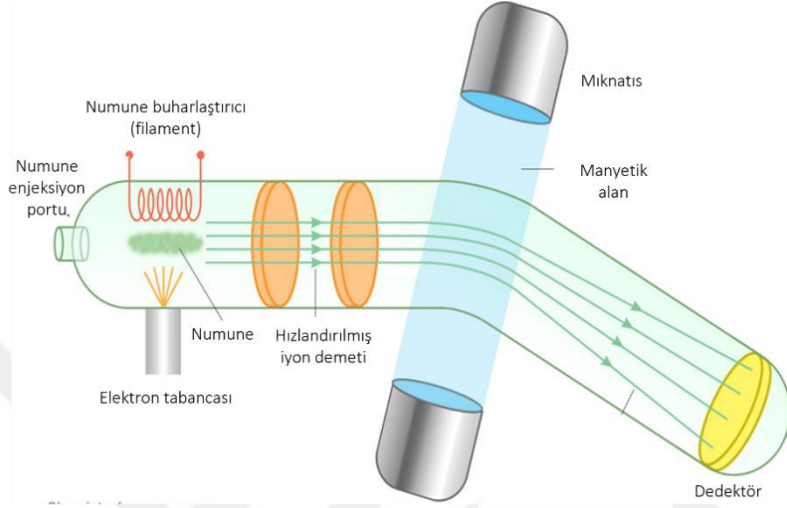


Şekil 2.7 : Alev Fotometrik Dedektör (FPD) [62].

2.1.2.5.3 Kütle spektrometresi (MS)

Kromatografide karmaşık matriks içerisindeki bileşenler birbirlerinden tamamen ayrılamayabilir ve bu durum hedef analitin doğru ve güvenilir şekilde kantitatif olarak tayin edilmesini zorlaştırabilir [63]. Kütle spektrometresi (MS) duyarlılığı ve seçiciliği gibi çoklu analitik özellikleri sebebiyle diğer yöntemlerden üstündür. Ayrıca MS nitel kimyasal analiz için önemli bir tekniktir, bileşikler moleküler kütlelerine göre tanımlayabilmeyi sağlar [64]. Kütle spektrometresi, bir numune giriş modülü, iyon kaynağı, kütle analizörü, dedektör ve veri sisteminden oluşan beş ana bileşene sahiptir [65]. Kütle spektrometresinin, moleküllerin iyonizasyonu, bu moleküllerin kütle/yük (m/z) oranına göre ayrılması ve oluşan iyonun çokluğunun belirlenmesi gibi üç ana işlevi bulunur. Kolondan çıkan bileşikler taşıyıcı gaz ile birlikte dedektöre gelir ve ilk olarak, elektron darbesi (EI) yöntemi ile moleküller iyonize edilir, fragmentler oluşturulur. Bu süreç, iyon-molekül çarpışmalarının sayısını minimize etmek için, yüksek vakum koşullarında gerçekleşir. İyonlaştırılan bileşikler daha sonra kütle analizörüne gönderilir. Kütle analizöründe iyonlar, kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılır ve bu ayırım, kullanılan analizör tipine (örneğin kuadrupol, TOF, Orbitrap) bağlı olarak değişkenlik gösterir. Son olarak, ayrılmış iyonlar dedektöre ulaşır ve burada yoğunlukları ölçülerek bir kütle spektrumu elde edilir. Bu spektrum, her bir iyonun m/z değerine karşılık gelen sinyal yoğunluğunu gösterir ve hem moleküler kütle hem de yapısal bilgi sağlayarak bileşiğin yüksek güvenilirlikle tanımlanmasına olanak tanır [66,67,68]. MS dedektörünün şematik gösterimi Şekil 2.8’de yer almaktadır. MS, evrensel (toplam iyon modunda) ve seçici dedektör (tek iyon modunda) olarak iki

farklı modda kullanılabilir [69]. Kütle spektrometresini, gaz kromatografisi (GC-MS), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-MS), Kapiler elektroforez (CE) ve ince tabaka kromatografisi (TLC) gibi farklı kromatografik tekniklerle birleştirmek mümkündür. Bunlardan GC-MS en yaygın kullanılan yöntemdir. CE ve TLC tekniklerinin MS ile birlikte kullanımı ise daha az sıklıktadır [66].



Şekil 2.8 : Kütle Spektrometresi (MS) [70].

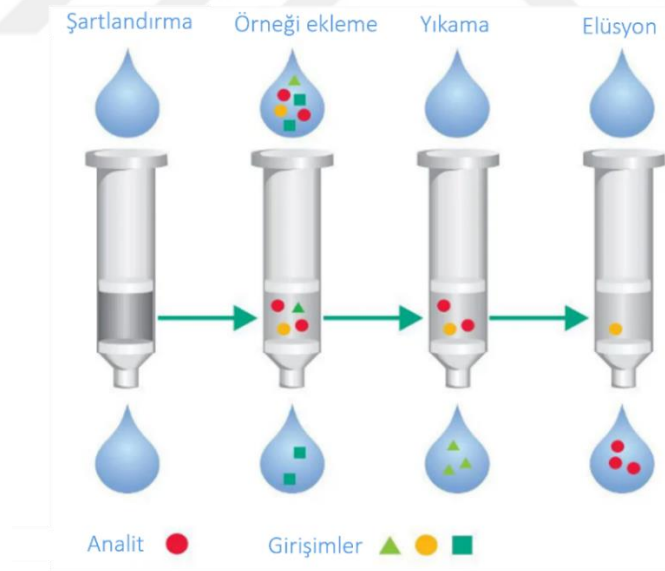
2.2 Analitik Kimyada Ekstraksiyon Teknikleri

Birçok numune, matriks özellikleri veya fiziksel formu nedeniyle doğrudan cihaz ile analize uygun değildir. Bu nedenle bir numune hazırlama prosedürüne başvurulur [71]. Analitik kimya alanında analizi yapılan numuneler, çok farklı çeşitlilikte ve karmaşıklıkta matrikslere sahip olabilir. Ayrıca, karmaşık matrikse sahip bu numuneler, çok sayıda ve eser miktarlarda analit içerebilir. Bu nedenle, numunelerin cihazda analizi yapılmadan önce numune hazırlama yöntemlerine başvurulur. Numune hazırlama yöntemleri, hedef analitlerin matrikten ayrılmasını ve eser seviyelerde bulunan analitlerin de ön konsantrasyonunu sağlar. Böylelikle matriks girişimi ortadan kaldırılır [72]. Numune hazırlama işlemleri, analizin yapılacağı numuneye, matrikse ve analit seviyesine bağlı olarak değişir. Numune hazırlama yöntemlerinden biri olan ekstraksiyon, analitik kimyada oldukça önemli bir yere sahiptir. Ekstraksiyon prosedürünün verimli olması için analitin kimyasal özellikleri, çözündüğü sıvı ortamın ve ayırmayı gerçekleştirmek için kullanılan gaz, sıvı veya katının özellikleri önemlidir [71,73]. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu, soxhlet ekstraksiyonu ve katı faz ekstraksiyonu bazı geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine örnek olarak verilebilir. Bu ekstraksiyon yöntemleri, zaman alıcı, pahalı, insan sağlığı ve çevre için zararlı büyük hacimli

organik çözücülerin kullanımını içerir. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak amacıyla, son zamanlarda ekstraksiyon prosedürlerini kolaylaştırmaya ve ayrıca yeşil kimyanın ilkelerine uygun olarak tehlikeli maddelerin kullanımını azaltmak veya ortadan kaldırmak için çalışmalar yapılmıştır [74].

2.2.1 Katı faz ekstraksiyonu (SPE)

Katı faz ekstraksiyonu (SPE), genellikle sıvı fazda çözünen analitlerin çözeltilerden ayrılmasına dayanan yaygın bir ekstraksiyon yöntemidir [75]. SPE, bu açıdan sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) ile benzerlik gösterir. Ancak, LLE'de karışmayan iki sıvı faz ile ekstraksiyon gerçekleştirilirken, SPE'de sıvı faz yerine katı faz bulunur. Burada sıvı faz numune matrisi, katı ise bir sorbenttir. Çözeltideki analitler sorbent tarafından adsorplanır, sonrasında elüsyon yoluyla uygun bir çözücü kullanılarak geri kazanılır. Katı faz ekstraksiyonu ile hedef analitlerin, matris bileşenlerinden uzaklaştırılmasına ait işlem basamakları Şekil 2.9 de görsel olarak verilmektedir. [76]. Katı faz ekstraksiyonunda, eser miktarda analit miktarını zenginleştirme ve numuneyi matrisinden farklı bir çözücüye veya faza aktarma amaçlanır. SPE çevre, ilaç, gıda ve endüstriyel kimya çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılır [75].

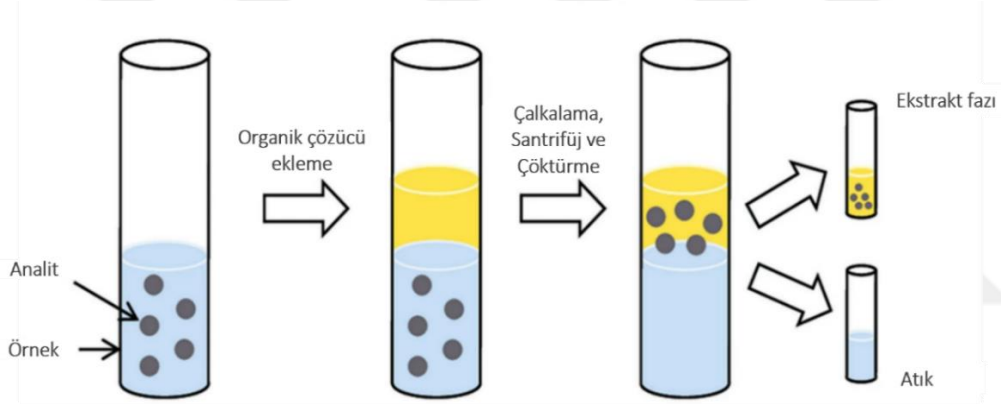


Şekil 2.9 : Katı Faz Ekstraksiyon Tekniğinin Şematik Gösterimi [77].

2.2.2 Sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE)

Sıvı sıvı ekstraksiyonu (LLE) analitin sulu matristen, su ile karışmayan organik bir çözücü faza alınması prensibine dayanır. Şekil 2.10'da analitlerin matristen ayrılıp organik çözücü fazına geçiş adımları yer almaktadır [78]. Burada analitler

ekstraksiyon çözücüsünde çözünür olmalı ve iki sıvının birbirinden ayrılıp faz oluşturması açısından ekstraksiyon çözücüsünün matrisle karışmıyor olması gerekir. Yaygın olarak kloroform, diklorometan ve hekzan gibi organik çözücüler ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılır [79]. LLE, ayırma hunisi, şişeler, vialler gibi basit ekipmanlarla gerçekleştirilir, mikrolitreden litre hacimli örneklere kadar kolayca uygulanır. Karıştırıcılar, çalkalayıcılar ve santrifüj gibi mekanik destekli uygulamalar ile kullanılarak faz ayrımı kolaylaştırılır [80]. LLE tekniği gıdadan, ilaca, metalurji endüstrilerinde, biyoloji ve ekoloji gibi birçok alanda sıklıkla kullanılır [81]. LLE süreci zaman alıcıdır, yöntemin otomatikleştirilmesi zordur ve çok fazla miktarda yüksek saflıkta çözücü kullanımı gerekir. Bu sebeplerden dolayı LLE yeşil kimyaya uygun bir seçenek değildir ama yine de yaygın olarak kullanılan bir numune hazırlama tekniğidir [82].



Şekil 2.10 : Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Şematik Gösterimi [83].

2.3 Derin Ötektik Çözücüler (DES)

Kimyasal reaksiyonlarda çok fazla miktarda organik çözücüler kullanılır ve bu doğrultuda organik çözücülerin oluşturduğu çevre kirliliği ve toksisiteleri nedeni ile insanlara zararı oldukça fazladır. Bu sebeple yeşil kimya için geri dönüştürülebilir, toksisitesi az veya olmayan, kirlilik oluşturma potansiyeli az yeşil solventler gereklidir. Derin ötektik çözücüler (DES'ler) ilk olarak 2003 yılında ortaya çıkmıştır. Derin ötektik çözücüler, iyonik sıvılar (IL) benzer fiziksel özelliklere sahip oldukları için yeni iyonik sıvılar olarak kabul edilmektedir ama aslında her iki solvent türü de farklıdır. DES'lerde iyonik sıvılar (IL) gibi oda sıcaklığında sıvı haldedir, yanmaz ve iyi çözünürlük özelliklerine sahiplerdir. Ancak DES'ler IL'lere kıyasla maliyetleri düşük, çok daha az toksik, ucuz ve hazırlanması kolay çözücülerdir. Bu özelliklerinin yanında DES'lerin biyoparçalanabilirliği, biyobozunurluğu,

biyoyumluluğu ve sürdürülebilirliği bulunur. DES'in çevre dostu özelliklerinden dolayı, yeni yeşil solventler olarak geliştirilmiş ve kabul edilmiştir [84,85]. DES'ler çoğunlukla ikili veya üçlü karışımlar olarak tanımlanır. Bu karışımları oluşturan bileşenler, belirli molar oranda hidrojen bağı yoluyla birleşebilen bileşiklerdir [86]. Oluşan çözelti ötektir bir karışımdır ve karışımı oluşturan her bir bileşenin erime noktasından daha düşük bir erime noktasına sahiptir. Birçoğu 100 °C'nin altındaki sıcaklıklarda sıvı halde bulunur [87]. DES'ler genellikle bir kuaterner amonyum tuzunun bir metal tuzu veya hidrojen bağı donörü (HBD) ile kompleks oluşturması ile elde edilirler. Örneğin bir halojenür iyonu ile hidrojen donör kısmı arasındaki hidrojen bağı yoluyla meydana gelen yük delokalizasyonu, bileşenlerin tek başına sahip oldukları erime noktalarına göre oluşturdukları karışımın erime noktasındaki azalmadan sorumludur [85]. DES'ler Çizelge 2.1'de özetlendiği üzere hazırlanışlarına göre sınıflandırılabilirler. Çizelge 2.1'de de gösterildiği gibi, Tip I olarak sınıflandırılan DES'ler bir kuaterner amonyum tuzu ve bir metal klorürden oluşurken, Tip II DES bir kuaterner amonyum tuzu ve bir metal klorür hidrattan oluşur. Tip III DES; bir kuaterner amonyum tuzu ve bir hidrojen bağ verici (HBD) (amid, karboksilik asit veya poliol gibi), Tip IV DES, bir metal klorür hidrat ve hidrojen bağ vericiden oluşur [88]. Tip V DES ise nispeten yeni bir sınıftır yalnızca iyonik olmayan moleküler hidrojen bağ alıcılar (HBA) ve HBD'lerden oluşur. DES'leri hazırlama aşamasında, vakumlu buharlaştırma, öğütme ve dondurarak kurutma gibi yöntemler yer alsa da, DES bileşenlerinin homojen bir sıvı oluşana kadar karıştırılarak ısıtılması en yaygın kullanılan hazırlama yöntemidir. DES'lerin hazırlanmasında ayrıca bir solvante ihtiyaç duyulmaz herhangi bir reaksiyon meydana gelmez, hazırlık aşamasında herhangi bir saflaştırma aşaması gerekmez. Özetle, DES'ler hazırlama kolaylığı açısından ve avantajlı özelliklerinden dolayı geleneksel organik çözücülere ve IL'lere kıyasla ekonomik açıdan uygun bir alternatif olarak tercih edilirler [89].

Çizelge 2.1 : Derin Ötektik Çözücülerin Türü [88,89].

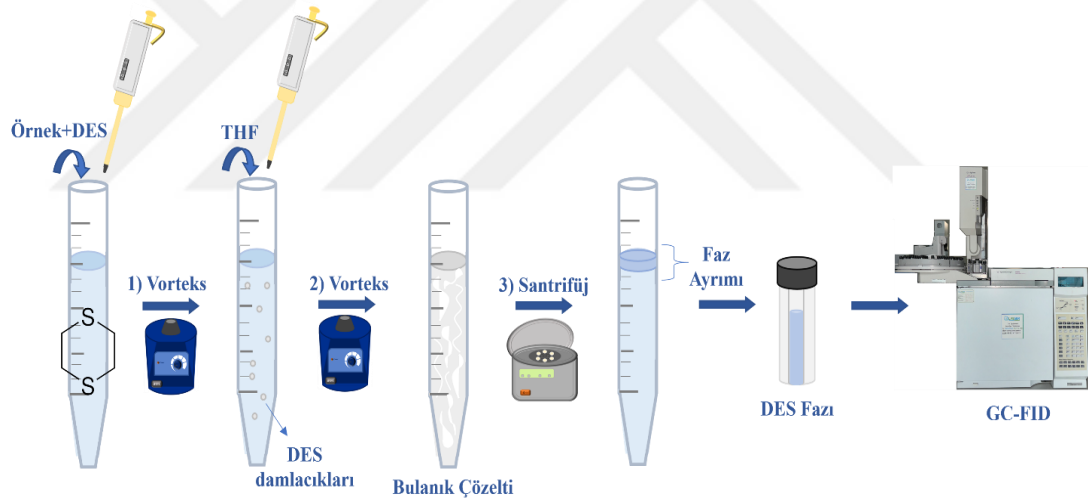
DES Türü	Bileşenler
Tip I	kuaterner amonyum tuzu + metal klorür
Tip II	kuaterner amonyum tuzu + metal klorür hidrat
Tip III	kuaterner amonyum tuzu + hidrojen bağ verici
Tip IV	metal klorür hidrat + hidrojen bağ verici
Tip V	hidrojen bağ alıcı + hidrojen bağ verici

Derin ötektik çözücülerin çok geniş uygulama alanları bulunmaktadır. Bunlardan bazıları; ekstraksiyon ve ayırma işlemleri [90,91], sentez [92], biyoteknoloji, biyokataliz [93], elektrokimya, gıda [94], kozmetik, biyoyakıt [95] ve ilaç sektörü [96,97] olarak sıralanabilir [98]. DES'ler çeşitli katı faz ekstraksiyon (SPE) yönteminde sorbent olarak, birçok sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yönteminde ise dağıtıcı ve ekstraksiyon çözücülerini olarak kullanılırlar. Bu yöntemlerden bazıları; tek damla mikroekstraksiyonu (SDME), içi boş elyaf sıvı faz mikroekstraksiyonu (HF-LPME), dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu (DLLME) karıştırma çubuğu sorptif ekstraksiyon (SBSE) ve katı faz mikroekstraksiyonudur (SPME) [99]. N.R. Mustafa ve arkadaşları tarafından, iyi bilinen, az çözünen bir dizi ilacı çözünür hale getirmek amacıyla bir dizi iki veya daha fazla basit doğal bileşenin belirli molar karışımıyla oluşturulan NADES'ler araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda test edilen ilaçların en yüksek miktarda kolaylıkla NADES içerisinde çözündüğü görülmüştür ve farmasötiklerin sıvı formülasyonları için gelecek vaat eden, toksik olmayan doğal bileşenlerle elde edilen çözücüler olduğu kanısına varılmıştır [100]. N. Khan ise yaptığı çalışmada DES'leri kullanarak bir çalışmada ise DES'ler kullanılarak, kükürt bazlı bir model yağdan maksimum verimle kükürt içeriğini uzaklaştırmak için ekstraktif desülfürizasyon yöntemi geliştirmiştir. Yakıtlardan kükürdü uzaklaştırmak için kullanılan en yaygın yöntem hidrodesülfürizasyondur ve aromatik kükürt bileşikler oldukça kararlı bileşikler olduğundan uzaklaştırma işlemleri için yüksek miktarda hidrojen, sıcaklık ve basınç gibi zorlu koşullar gerekir. Geliştirilen yöntem ile bu zorlu koşulların önüne geçilmiş ve düşük maliyetli, kolay uygulanabilir bir yöntem geliştirilmiştir [101].

2.4 Vorteks Destekli- Derin Ötektik Çözücü- Emülsifikasyon- Sıvı Sıvı Ekstraksiyon (VA-DES-ELLE)

Derin ötektik çözücüler (DES) birçok analitik yöntemle birlikte, farklı ekstraksiyon teknikleriyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları şunlardır; Y. Huang ve arkadaşları tarafından önemli bir flavanoid olan rutin HPLC-UV analizi öncesinde tartar karabuğday örneklerinden ekstraksiyonu için DES'ler kullanılarak bir metot geliştirilmiştir [102]. Bir diğer çalışmada F. Aydın ve arkadaşları, çiftlik ve süs akvaryumu balık su örneklerinden malaşit yeşilinin mikroekstraksiyonu için DES'ler kullanmıştır. Yöntem UV-VIS spektrometrisi ile birleştirilmiştir [103]. Yakıtlardan kükürtlü bileşiklerin ayrılmasındaki zorluklardan yola çıkarak, T. Khezeli ve

arkadaşları tarafından GC-FID analizi öncesi tiyofenin n-heptandan mikroekstraksiyonu için manyetik derin ötektik çözücüler (MDES) sentezlenmiştir [104]. Farklı bir analitik uygulamada, M. B. Arain ve arkadaşları, kobaltın alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi (FAAS) öncesi bir ilaç takviyesi ve çay örneklerinden analizi için çevre dostu DES bazlı bir sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi geliştirmiştir [105]. Bu çalışmada, sülfür hardalının (HD) döngüsel bozunma ürünlerinden biri olan 1,4-ditianın toprak ve musluk suyu örneklerinden düşük konsantrasyonlarda ayrılması ve ön deriştirme işlemi için derin ötektik çözücüye dayalı vorteks destekli emülsifikasyon ekstraksiyon (VA-DES-ELLE) prosedürü geliştirilmiştir. Geliştirilen ekstraksiyon prosedürünün şematik anlatımı Şekil 2.11’da verilmiştir. Ekstraksiyon sonucu elde edilen nihai çözeltilerin analizi GC-FID sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Literatürde 1,4-ditianın tespit edilmesiyle ilgili sınırlı çalışmalar bulunmakta fakat bu çalışmaların hiçbirinde DES’ler kullanılarak yapılan ekstraksiyon ve analize rastlanmamıştır.



Şekil 2.11 : Geliştirilen analitik yöntemine ait işlem basamakları.

2.5 Metot Validasyonu

Metot doğrulama, bir amaç için geliştirilen analitik yöntemin kabul edilebilir ve güvenilir sonuçlar elde edilebilir olduğunu kanıtlamak üzere gerçekleştirilir. Analitik metot validasyonu, bilinmeyen bir numunedeki analit miktarının belirlenmesine yönelik olarak yürütülecek her analizde elde edilecek sonuçların, gerçek veya referans değere yeterli düzeyde yakınlıkta ve güvenilirlikte olmasını sağlamak amacıyla gerçekleştirilir. Validasyon parametreleri şu şekildedir; doğruluk, kesinlik, gözlenebilme limiti (LOD), tayin limiti (LOQ), sağlamlık, seçicilik ve özgüllük

[106,107]. Bir yöntemin matriks içerisinde bulunan hedef analiti benzer davranışa sahip diğer bileşenlerin müdahalesi olmadan belirleyebilmesi seçicilik olarak ifade edilir [108]. Yöntemin doğruluğu ise tekrarlı ölçümlerle elde edilen deneysel değer ile referans değeri olarak kabul edilen değerın birbirlerine yakınlığıdır. Doğruluğu değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen bazı yöntemler şunlardır; boş numunelere bilinen analit konsantrasyonları eklenerek analit miktarını ölçme ve geri kazanım yüzdesini belirleme, numunedeki analit konsantrasyonunu standart ekleme yöntemiyle belirleme. Bu yöntemlerin gerçekleştirilmesinde en az üç konsantrasyon noktası ve her nokta için en az üç tekrarlı ölçüm önerilmektedir [109].

Kesinlik/hassasiyet parametresi, bir değerin tekrarlı ölçümleriyle elde edilen sonuçları arasındaki yakınlığı olarak tanımlanır. Ayrıca kesinlik terimi, verilerin ortalama değere yakınlığı olarak da ifade edilmektedir. Kesinliğin değerlendirilmesinde, verilerin yakınlığını belirlemek için her veri noktasının ortalamayla farkı yani standart sapması ve varyasyon katsayısı gibi bir dizi ölçüm sayısal olarak belirlenir. Bu parametrenin belirlenmesinde tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik de temel adımlardan sayılabilir. Tekrarlanabilirlik, tüm deneysel koşulların aynı olduğu kısa bir zaman diliminde (örn. aynı gün içinde) yapılan analizlerin tutarlılığını ifade ederken, tekrarüretilebilirlik, zaman (farklı günlerde) veya deneyi gerçekleştiren kişi vb. koşulların farklı olduğunda gerçekleştirilen tekrarlı analizlerin ölçüm tutarlılığını ifade eder [109,110]. Bir yöntemin kesinliği belirsizlik olarak ifade edilir ve analit konsantrasyonu azaldıkça belirsizlik artar. Çizelge 2.2’de 0,001-100 mg/kg aralığındaki analit konsantrasyonları için hedef RSD’ler verilmiştir [111].

Çizelge 2.2 : Analit konsantrasyonuna bağlı olarak beklenen tekrarlanabilirlik (RSD_r) ve tekrarüretilebilirlik (RSD_R) çizelgesi [111].

Konsantrasyon	% RSD_r	% RSD_R
100 ppm (mg/kg)	5.3	8
10 ppm (mg/kg)	7.3	11
1 ppm (mg/kg)	11	16
100 ppb (μ g/kg)	15	22
10 ppb (μ g/kg)	21	32
1 ppb (μ g/kg)	30	45

Geri kazanım, analitik kimyada numuneden ekstrakte edilip ölçülen değerin, numunede bulunan veya eklenen gerçek analit miktarına oranı olarak tanımlanır [112]. Bir dizi konsantrasyon noktaları için hedef geri kazanım yüzdeleri Çizelge 2.3'te gösterilmiştir [111].

Çizelge 2.3 : Analit konsantrasyonuna bağlı olarak beklenen/kabul edilebilir ortalama geri kazanım değerleri [111].

Konsantrasyon	Geri Kazanım, %
100 ppm (mg/kg)	90-107
10 ppm (mg/kg)	80-110
1 ppm (mg/kg)	80-110
100 ppb (µg/kg)	80-110
10 ppb (µg/kg)	60-115
1 ppb (µg/kg)	40-120

Tayin limiti, geliştirilen yöntem koşulları altında kabul edilebilir doğrulukta ve hassasiyette numunede belirlenebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Gözlem limiti, belirlenen deneysel koşullar altında numunedeki tespit edilebilen ancak ölçülemeyen en düşük analit konsantrasyonudur. TL ve GL'nin belirlenmesinde sinyal/gürültü oranı (S/N), boş numunenin standart sapması veya kalibrasyon grafiğinin en düşük konsantrasyonda analit içeren numunenin tekrarlı ölçümleri kullanılabilir. Sinyal-gürültü oranından hesaplandığı takdirde; GL için sinyal gürültü seviyesinin 3 katı, TL için ise 10 katına karşılık gelir [107,113].

2.6 1,4-Ditianın Tespitine Yönelik Çalışmalar

1,4-ditian bileşiğinin farklı numune matrislerinde tespit ve tayinine yönelik literatürde yer alan çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

B. T. Røen ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir çalışmada, kükürt hardalı (HD) ve bazı döngüsel ayrışma bileşiklerinin çamurlu nehir suyu ve deniz suyu numunelerinden eser miktarlarının tayini için bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemde hassas ve doğru bir analiz için headspace-trap ile gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) birleştirilerek bir HS-trap-GC-MS yöntemi oluşturulmuştur.

Geliştirilen yöntemle, HD 1,0 ng/ml kadar düşük bir konsantrasyonda tespit edilebilirken, 1,4-ditianın da bulunduğu HD'nin döngüsel bozunma ürünlerinin analizinde gözlem limitinin yaklaşık 0,1 ng/ml olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre geliştirilen yöntemin döngüsel bozunma ürünlerine karşı daha hassas olduğu gösterilmiştir. Döngüsel bileşikler için tespit limitinin 0,2-0,4 ng/ml konsantrasyon aralığında olduğu ve geliştirilen yöntemin iyi bir doğrusallık ve tekrarlanabilirlik gösterdiği (bağıl standart sapma %7-8) rapor edilmiştir [114].

H. Lees ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemde, HD'nin döngüsel bozunma ürünlerinin su örneklerinden tespiti için hızlı ve basit yöntem olan HPLC-DAD ve Agilent 3D cihazı (kapiler elektroforetik ayırım için DAD ile birleştirilmiştir) kullanılmıştır. HPLC ile beş bileşiğin tamamının 8 dakika içinde, CE yöntemiyle 11 dakikadan az bir süre içerisinde ayırım sağlanmıştır. Her iki yöntem de iyi doğrusal korelasyon göstermiş ($R^2 > 0,9904$) ve HPLC yöntemi için tespit sınırları 0,08–0,1 μM ve CE için 10–20 μM aralığında elde edilmiştir. %RSD' ler HPLC ve CE metodu için sırasıyla 5.5%'ten ve %7,7'den az bulunmuştur. Geliştirilen analitik yöntemler, deniz suyu örneklerinde bulunan beş farklı döngüsel HD (hardal gazı) bozunma ürününün tayininde başarıyla uygulanmıştır [20].

R. Magnusson ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, önceden kimyasal silah döküm alanlarından alınan tortu örneklerinde 1,4-ditianı da içeren beş döngüsel kükürt hardal bozunma ürününün analizi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma kapsamında tortu örneklerindeki HD'nin döngüsel bozunma ürünlerinin yerinde analizi için dinamik HS-GC-MS'e dayanan, HAPSITE® taşınabilir saha GC-MS cihazı kullanılarak bir analitik yöntem geliştirilmiştir. Yöntem ile 5-200 ng/g aralığında iyi doğrusallık ve tekrarlanabilirlik elde edilmiştir. Tortu örneklerine spike edilen analitler düşük konsantrasyonlarda (13-65 $\mu\text{g/kg}$) tanımlanabilmiştir. Seçilen beş analit için spike edilmiş tortu örneklerinden %60-90'a kadar analit geri kazanımı sağlanmıştır. Geliştirilen yöntem, organik çözücü gerektirmediği ve numune hazırlama işlemi 10 dakikadan fazla sürmediği için kullanımının oldukça basit olduğu gösterilmiştir [21].

Çevresel su örneklerinden aralarında 1,4-ditianın da bulunduğu kükürt hardalı (HD) bozunma ürünlerinin ön işlemi, zenginleştirilmesi ve eş zamanlı tespiti için P. Jöul ve arkadaşları tarafından karbon arojel (CA) bazlı bir sorbent kullanılarak SPE yöntemi geliştirilmiştir ve hedef analitlerin konsantrasyonları HPLC-DAD ve CE-DAD ile belirlenmiştir. Doğrusal aralık, belirleme katsayısı, LOD, LOQ ve hassasiyet gibi bir

dizi kantitatif parametre optimize edilmiş koşullar altında incelenmiştir. Tüm analitler için LOD 0,17–0,50 μM ve gün içi %RSD 2,0–7,7 olarak elde edilmiştir. Baltık Denizi'ndeki su örneklerine uygulan bu yöntem ile tüm analitlerin için %83,5 ila %99,7 arasında değişen yüksek geri kazanımlar sağlanmıştır [22].





3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Enstrümental

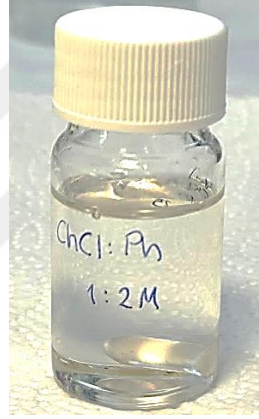
Tez çalışmaları kapsamında yapılan analizler Agilent 6890N model gaz kromatografisi ve alevli iyonizasyon detektörü (FID) kullanılarak gerçekleştirildi. Bileşiklerin kromatografik ayrımı için MEGA-WAX MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) kapiler kolon kullanıldı. Kullanılan sıcaklık programında, başlangıç sıcaklığı 120 °C'den 15°C/dk ile son sıcaklık 240 °C'ye ayarlandı ve toplam analiz süresi 8 dakika olarak belirlendi. Taşıyıcı gaz olarak hidrojen gazı kullanıldı ve akış hızı 1,5 ml/dk olarak ayarlandı. İnlet sıcaklığı 245 °C olarak ayarlandı ve tüm standart/numune çözeltileri (1,0 µL) 30:1 split modda cihaza enjekte edildi. Detektör sıcaklığı 245 °C olarak belirlendi. Ultra saf su eldesi için Arioso Power +70 DIP (Human Corporation) model bir saf su cihazı kullanıldı. Ekstraksiyon çalışmalarını ve DES sentezini gerçekleştirmek üzere Scilogex (MS-X) vorteks, Hermle-Z326K santrifüj, Heidolph (MR Hei-Standard) manyetik karıştırıcı ve Mettler Toledo (XPR225DR) hassas terazi kullanıldı. ChCl-Ph ile hazırlanan DES'in karakterizasyon çalışması için Shimadzu IR Spirit-T model FT-IR kullanıldı.

3.2 Kimyasallar

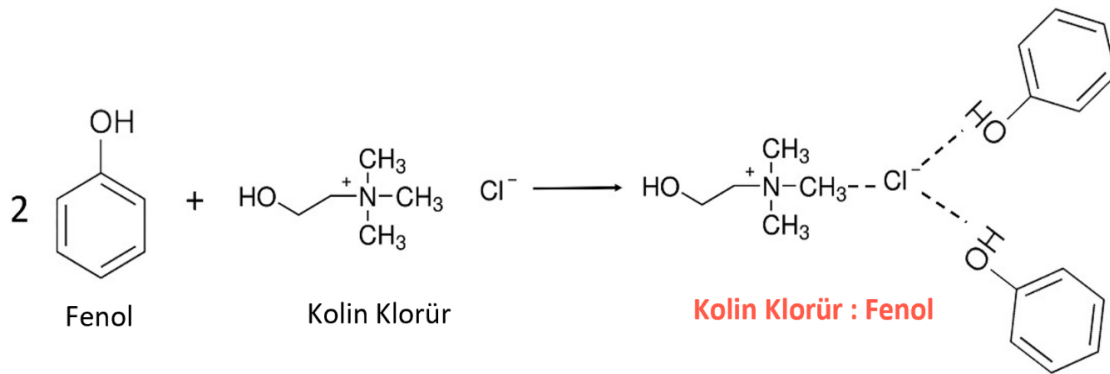
Tez çalışmaları kapsamında yapılan tüm deneylerde yüksek saflık derecesine (analytical grade) sahip kimyasallar kullanıldı. 1,4-ditianın (%97, Sigma-Aldrich, USA) uygun miktarda asetonitril (Supelco®) ile seyreltilmesiyle 1000 mg/L stok çözeltisi hazırlandı. Stok çözelti, deiyonize su ile seyreltilerek çalışma standardı çözeltileri, kalibrasyon standart çözeltileri ve gerçek numunelere eklenen çözeltiler hazırlandı. Tüm seyreltmelerde kullanılan ultra saf su Arioso Power +70 DIP sisteminden elde edildi. Derin ötektik çözücü sentezi için kolin klorür (Glentham Life Science, U.K.), fenol (SRL, India), propiyonik asit, gliserol ve etilen glikol (Sigma Aldrich, USA) kullanıldı. Tetrahidrofuran (THF) ve gerçek örnek hazırlanmasında kullanılan dikloro metan (DCM), PEG4000 Sigma-Aldrich'ten temin edildi.

3.3 Derin Ötektik Çözücü Sentezi

Bu çalışmada kullanılacak derin ötektik çözücü için bir kuarter amonyum tuzu olarak kolin klorür (ChCl), hidrojen donör (HBD) olarak ise fenol (Ph) birleşimi kullanıldı. ChCl-Ph ile hazırlanan DES karışımı ve çözücü mekanizması Şekil 3.1, Şekil 3.2’de gösterilmektedir. Bunun yanı sıra optimizasyon çalışmaları kapsamında, hidrojen bağı oluşturma kapasitesine sahip etilen glikol, üre ve propiyonik asit gibi bileşikler, derin ötektik çözücü (DES) oluşturmak amacıyla hidrojen bağ donörü olarak kolin klorür ile kombine edilmiştir. Kombine edilen tüm bu DES karışımları aynı yöntem ile hazırlandı. Belirli mol oranlarına karşılık gelen miktarlar (g) hesaplandı ve 20 mL’lik cam şişe içerisinde tartıldı. Çözelti 25-30 °C’ de 500 rpm’de berrak görüntü elde edilene kadar karıştırıldı.



Şekil 3.1 : Kolin klorür ve fenol ile hazırlanan derin ötektik çözelti.



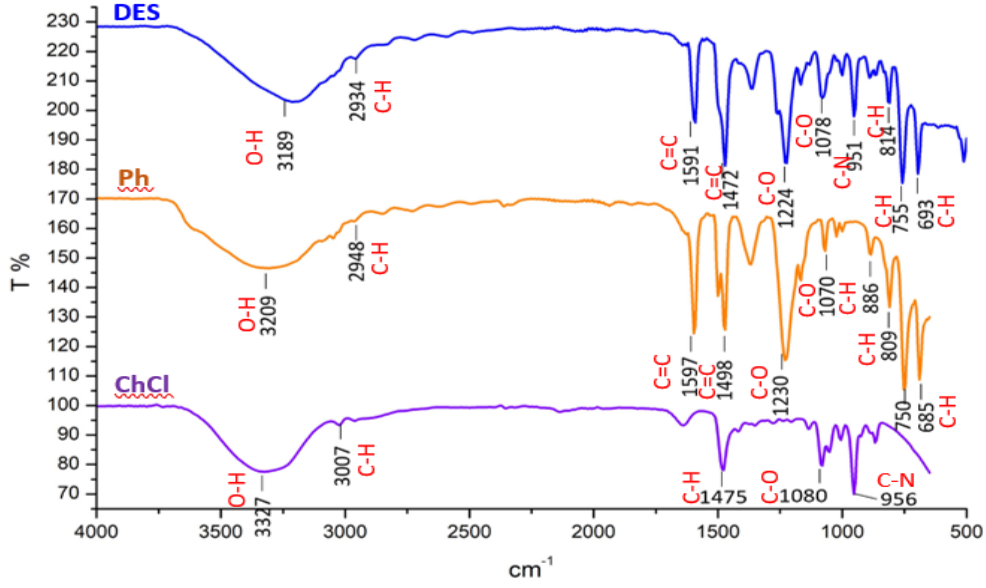
Şekil 3.2 : Ch-Ph derin ötektik çözücü mekanizması [115].

3.4 DES Karakterizasyonu

DES karakterizasyonu için saf kolin klorür, fenol ve DES'in FT-IR spektrumları, ATR aksesuarı ve Shimadzu IR Spirit-T spektrometresi kullanılarak kaydedildi. Çalışma parametreleri şu şekilde ayarlandı; spektral aralık 4000-600 cm^{-1} , çözünürlük: 4 cm^{-1} , örnek tarama sayısı: 16, arka plan tarama sayısı: 16. DES oluşumu için kolin klorür ve fenol arasında bir hidrojen bağ oluşması gerekmektedir. Bu bağın oluşumunu incelemek için de saf kolin klorür, saf fenol ve oluşturdıkları DES'in IR spektrumları karşılaştırılmıştır. Şekil 3.3'te de görüldüğü üzere DES'in spektrumları ChCl ve Ph'ün spektrumlarıyla örtüşmektedir, bu da iki bileşiğinde yapılarının DES oluşumunda bozulmadığını gösterir. Bir diğer önemli noktaysa, ChCl ve Ph'ün spektrumlarında sırasıyla 3327 ve 3209 cm^{-1} 'deki bantlar, -OH bağının gerilme titreşimine aittir. DES spektrumunda ise -OH gerilme titreşim bandının daha düşük dalga sayısına kaydığını görülmektedir. Bu durum, fenoldeki -OH bağının ChCl'ün anyonuyla H bağı oluşturduğunun bir göstergesidir. Bunun yanı sıra diğer fonksiyonel gruplarında dalga sayıları beklendiği aralıkta izlenmiştir (Çizelge 3.1). Fenolik C-O gerilmesi fenolde 1230 ve 1070 cm^{-1} olarak izlenirken, DES'te 1224 cm^{-1} izlenmiştir. Aromatik C-H düzlem dışı bükülmesi fenol ve DES için beklenen aralıkta 900-650 cm^{-1} aralığında gözlemlenmiştir. Kolin klorürde var olan $\text{N}^+(\text{CH}_3)^3$ metil gruplarının bükülmesinden kaynaklanan alifatik C-H gerilmesini temsil eder ve 1475 cm^{-1} de izlenmiştir. C-C gerilmeleri zayıf/örtüşen bantlardır, spesifik işaretleyici değildir ve çoğu zaman C-O bantlarıyla karışır. C-Cl gerilmesine ilişkin ise kolin klorürde kovalent bir C-Cl bağı bulunmaz; klorür, Cl^- kuarterner amonyuma karşı iyonik türdür. Bu yüzden C-Cl gerilmesine ait bir bant beklenmemiştir.

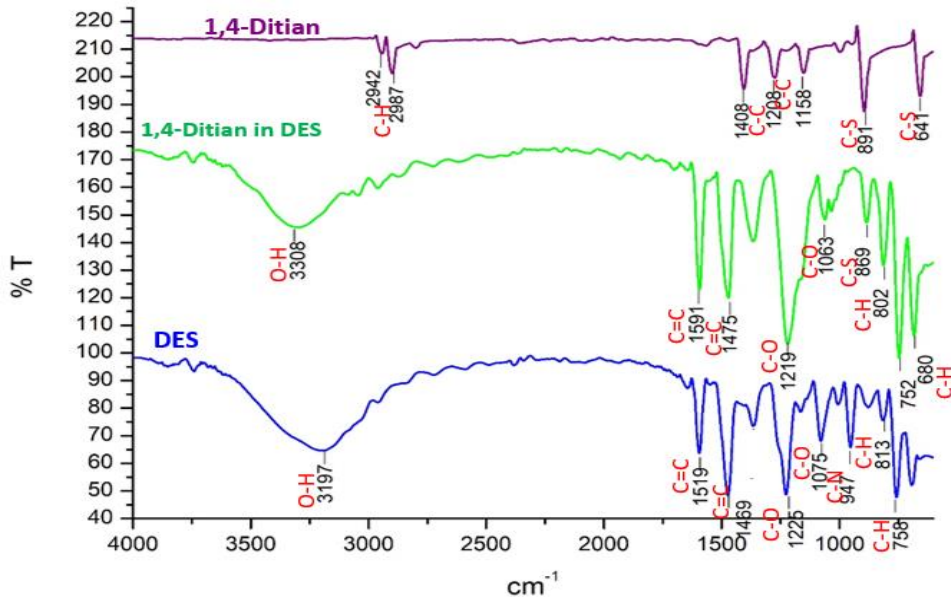
Çizelge 3.1 : Fonksiyonel bağların spektrumda karşılık gelen dalga sayısı (cm^{-1}).

Bağlar	Kolin Klorür	Fenol	DES
O—H	3327	3209	3189
C—H	3007	2948	2934
C=C	-	1597/1498	1591/1472
C—O	1080	1070	1078
C—N	956	-	951
C—H	1474	886/809/750/685	814/755/693



Şekil 3.3 : ChCl, Ph ve ChCl:Ph (1:2 M) FT-IR spektrumları.

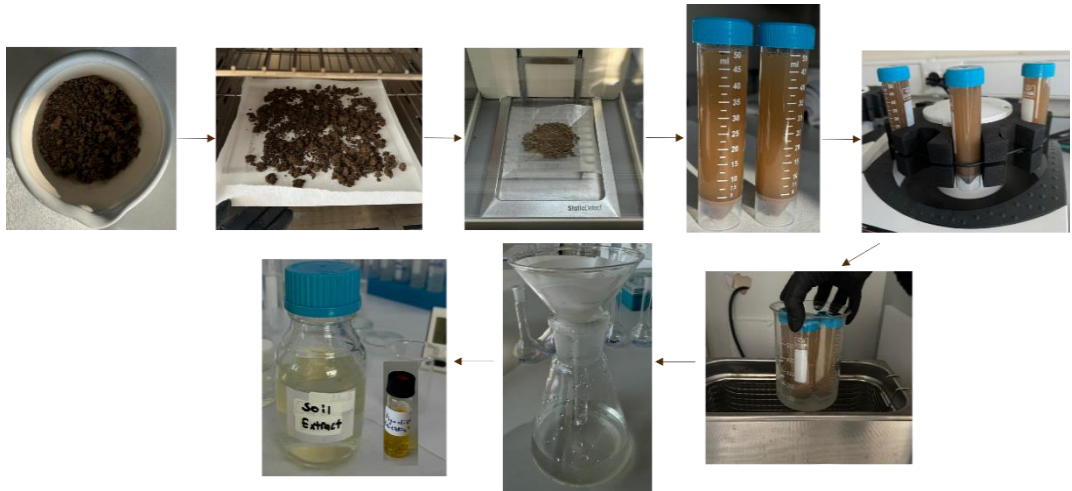
DES fazı içerisinde 1,4-ditianın varlığını göstermek amacıyla ekstraksiyon sırasında matriksten ayrılan DES fazının, saf 1,4-ditian'ın ve DES'in FTIR spektrumları incelenmiştir. İncelenen spektrumlar Şekil 3.4'te gösterilmektedir. Bu doğrultuda, DES içerisinde 1,4-ditian varlığını en iyi gösteren izler; DES spektrumu ile karşıldığında yalnızca 1,4-ditianın ve DES fazının spektrumunda görünen 1,4-ditian'a özgü C-S/halka bantlarıdır. Bu bant, saf 1,4-ditianda 891 cm^{-1} 'deyken, DES içinde 869 cm^{-1} 'e kaydığı görülmektedir.



Şekil 3.4 : 1,4-Ditian, 1,4-ditian içeren DES fazı ve ChCl:Ph (1:2 M) FT-IR spektrumları.

3.5 Gerçek Örnek Hazırlanışı

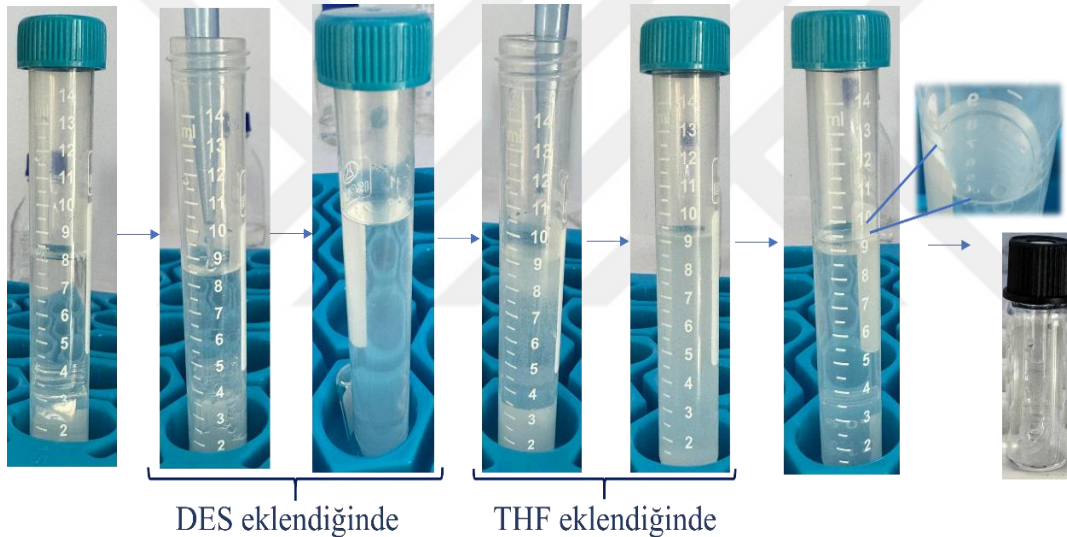
Geri kazanım çalışmaları, çevresel numunelerin önemli bir parçası olduğundan sulu numuneler üzerinde gerçekleştirildi. Bu doğrultuda çalışmalar OPCW yeterlilik testlerinde (Proficiency Tests) numune hazırlama laboratuvarları tarafından tercih edilmiş olan matriks hazırlama yaklaşımları (musluk suyu, DCM, PEG, toprak ve dizel) kullanılarak yürütüldü. Dizel, DCM ve PEG girişim etkisi yaratmak üzere örneklerle eklendi. Musluk suyu ve toprak örnekleri TÜBİTAK (Gebze Yerleşkesi-Kocaeli) toplandı ve yöntemin uygulanabilirliğini ve doğruluğunu göstermek amacıyla yapılan çalışmalarda kullanıldı. Yeterlilik testleri için su numunesi, musluk suyuna %0,1 DCM ve 0,05 g PEG ilave edildi. Buna ek olarak, bir diğer matriks olan toprak numunesi ise girişim etkisi oluşturmak için dizel eklenerek hazırlandı. Toprak örneklerine ait hazırlık aşamaları Şekil 3.5'te yer almaktadır. Toprak örneklerinin hazırlanması, literatürde bildirilen prosedüre göre gerçekleştirildi [116]. Toplanan toprak örnekleri 70 °C' de etüvde suyu bir saat boyunca kurutuldu. 2.5 g toprak örneği 50 mL'lik deney tüpüne alındı ve üzerine deiyonize su eklendi. Sonrasında 30 dk vorteks ile karıştırma ve 10 dk ultrasonik karıştırma işlemi uygulandı. Suyu topraktan ayırmak için 9000 rpm'de 4 dk boyunca santrifüj uygulandı ve üstte kalan su fazı 12 µm gözenek boyutlu filtre kağıdından geçirildi. Hazırlanan sulu toprak örneğine %0,1 dizel eklendi ve homojen çözelti oluşturmak amacıyla vortekslendi. Son olarak ekstraksiyon prosedürü öncesinde matriks içerisine, farklı konsantrasyon seviyelerinde 1,4-ditian standart çözeltileri artan konsantrasyon seviyelerinde (0.25, 0.5, 1.0, 5.0 mg/L) eklendi.



Şekil 3.5 : Toprak örneğinin hazırlanış aşamaları.

3.6 Ekstraksiyon Prosedürü

Numunelerden 1,4-ditianın ekstraksiyonu 15 mL'lik santrifüj tüplerinde gerçekleştirildi. 8 mL numune/standart çözeltisine (10 mg/L) 250 µL DES (ChCl:Ph) karışımı eklendi. DES'in çözeltisi içerisine homojen bir şekilde dağılması amacıyla 15 s vorteks ile karıştırma uygulandı. Karıştırma sonrası çözeltiye 1 mL THF çözeltisi eklendi ve 10 s karıştırma işlemi uygulandı. Elde edilen bulanık çözelti faz ayrımı elde etmek için 16 °C'de 9000 rpm de 4 dakika santrifüj edildi. Sonrasında çözeltinin üzerinde oluşan DES fazı ($\approx 200 \mu\text{L}$) mikropipet ile 1,5 mL'lik GC vialinin içerisine yerleştirilen inserte alındı. Burada yaklaşık 40 kat ön deriştirme faktörü elde edildi ($V_{\text{ilk}}/V_{\text{son}}$). Daha sonra numune GC-FID sistemine enjekte edildi. Geliştirilen ekstraksiyon yöntemine ait deneysel görseller Şekil 3.6'da yer almaktadır.



Şekil 3.6 : Sıvı numune/standart çözeltiden 1,4-ditian ekstraksiyonu.

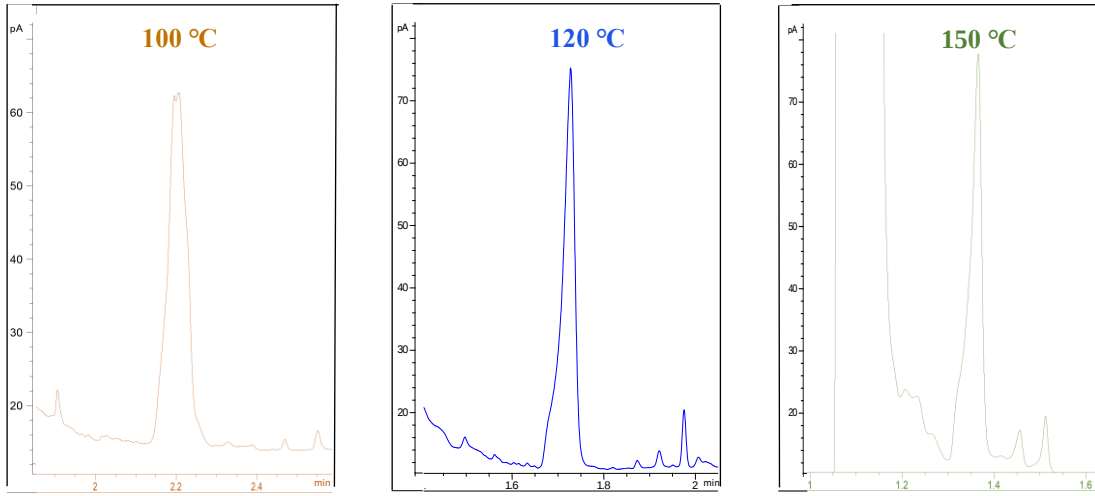
4. SONUÇ ve TARTIŞMA

4.1 1,4-Ditian Tayini İçin Geliştirilen Yöntemin Optimizasyonu

Geliştirilen yöntemde ekstraksiyon verimliliğini ve GC-FID sistemini etkileyen DES türü/hacmi, örnek miktarı, karıştırma süresi, THF miktarı gibi tüm parametrelerin optimizasyonu gerçekleştirildi. Optimizasyon çalışmalarında, analit sinyaline etkisi incelenen parametre için farklı koşullar denenirken diğer tüm parametreler sabit tutuldu ve 10,0 mg/L 1,4-ditian standart çözeltisi kullanıldı. Tüm optimizasyon adımları için örnekler üç tekrarlı hazırlandı ve ortalamaları alındı. En yüksek ortalama pik alanı değerini veren parametre optimum parametre olarak seçildi.

4.1.1 GC-FID metot optimizasyonu

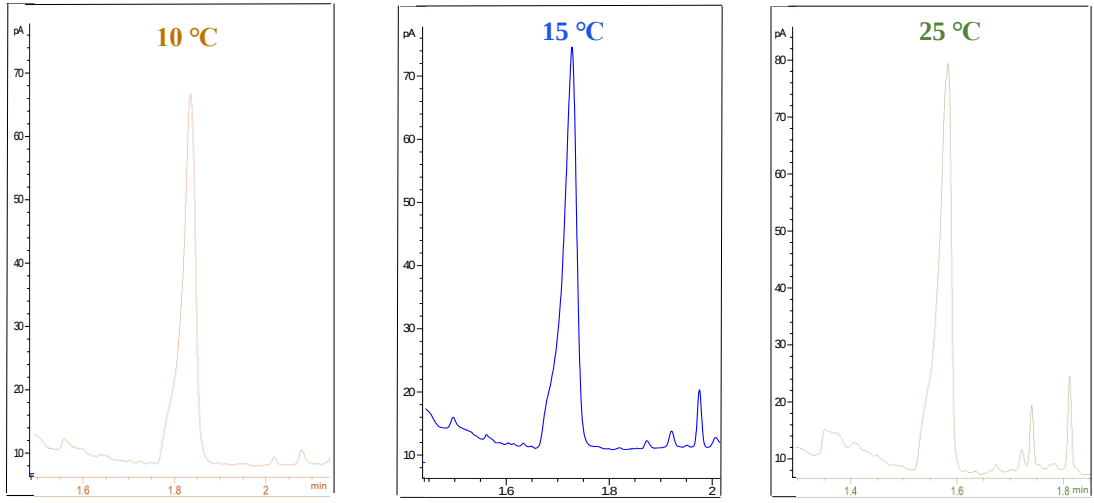
Gaz kromatografi sistemini etkileyen başlangıç sıcaklığı, sıcaklık artış hızı (ramp), gaz akış hızı ve split oranı gibi farklı parametreler düzgün (simetrik) analit piki ve analizi gerçekleştirmek amacıyla optimize edildi. Başlangıç sıcaklığı olarak 100, 120 ve 150 °C olmak üzere üç farklı sıcaklık denendi. 100 °C ile en yüksek pik alanı elde edilmesine rağmen pik şeklinin düzgün olmadığı görüldü. 150 °C ile başlayan metotta ise 1,4-ditian piki, solvent piki ile çok yakın izlendi. Bu sebeple 120 °C metodun başlangıç sıcaklığı olarak seçildi. Sıcaklık artışı için ise 10, 15 ve 25 °C/dk sıcaklıklar uygulandı ve 15 °C/dk olarak belirlendi. Taşıyıcı gaz olarak hidrojen gazı kullanıldı, 1.0, 1.5 ve 2.0 mL/dk akış hızında denendi ve en uygun olarak 1.5 mL/dk akış hızı seçilirken, split oranı için 10:1, 20:1 ve 30:1 oranlar denendi ve 30:1 split oranı seçildi. Dedektör sıcaklığı 245 °C olarak belirlendi. 1,4-ditianın analizi için optimize edilen GC-FID metot parametrelerinin kromatogramları ve grafikleri Şekil 4.1-4.8’de verilmektedir. GC-FID için optimum seçilen parametreler Çizelge 4.1’de özetlenmektedir.



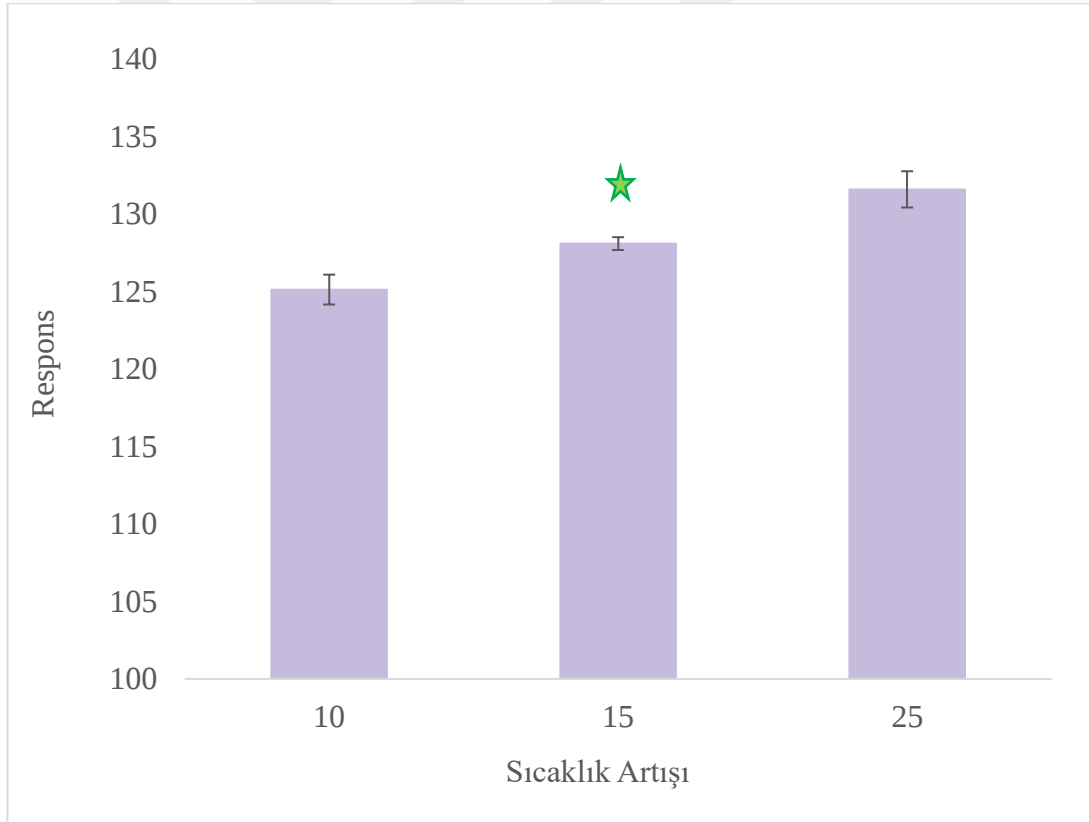
Şekil 4.1 : GC-FID ile elde edilen farklı başlangıç sıcaklıklarındaki 1,4-ditian (10 mg/L) kromatogramları.



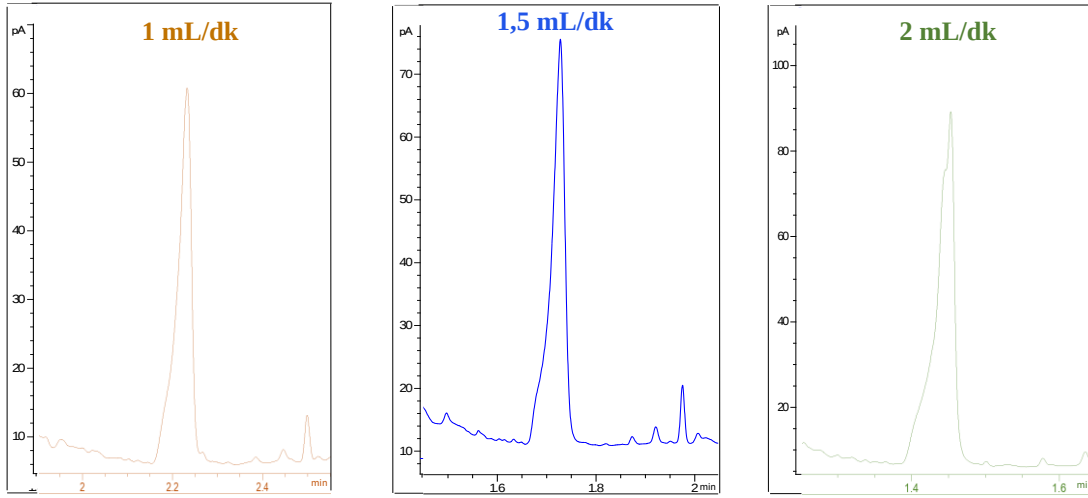
Şekil 4.2 : GC-FID başlangıç sıcaklığı optimizasyonu.



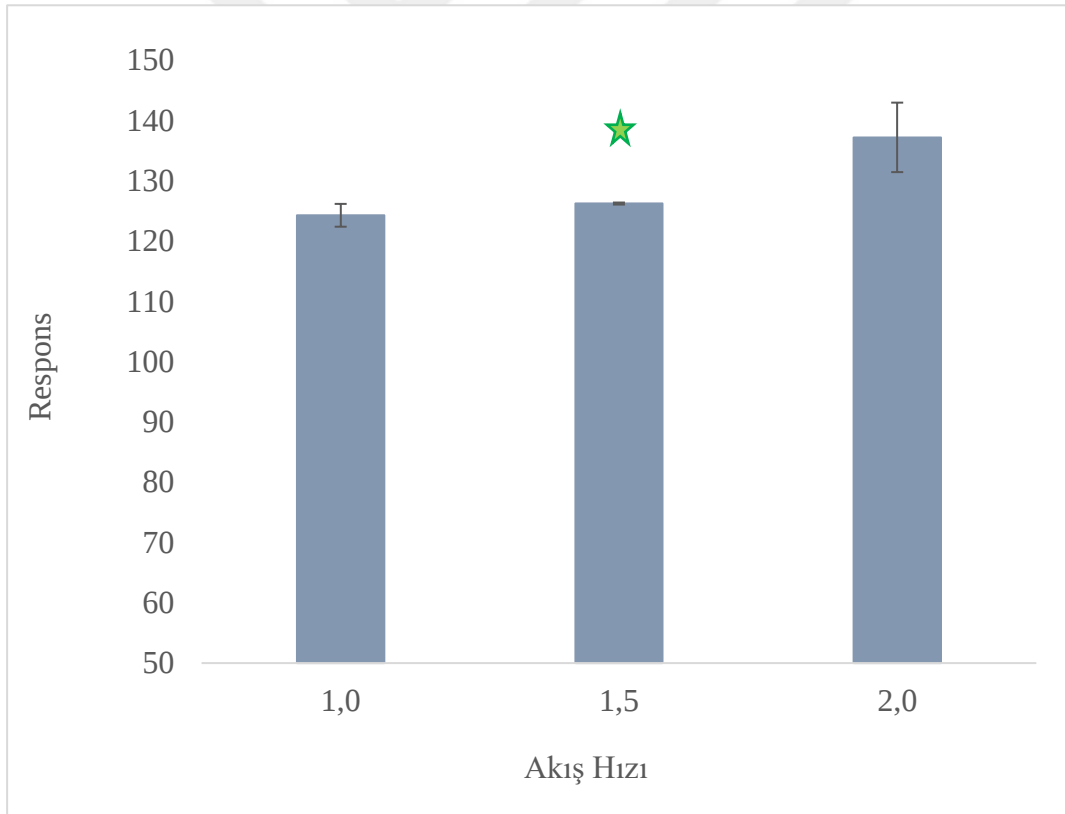
Şekil 4.3 : GC-FID ile elde edilen farklı sıcaklık artışlarında 1,4-ditian (10 mg/L) kromatogramları.



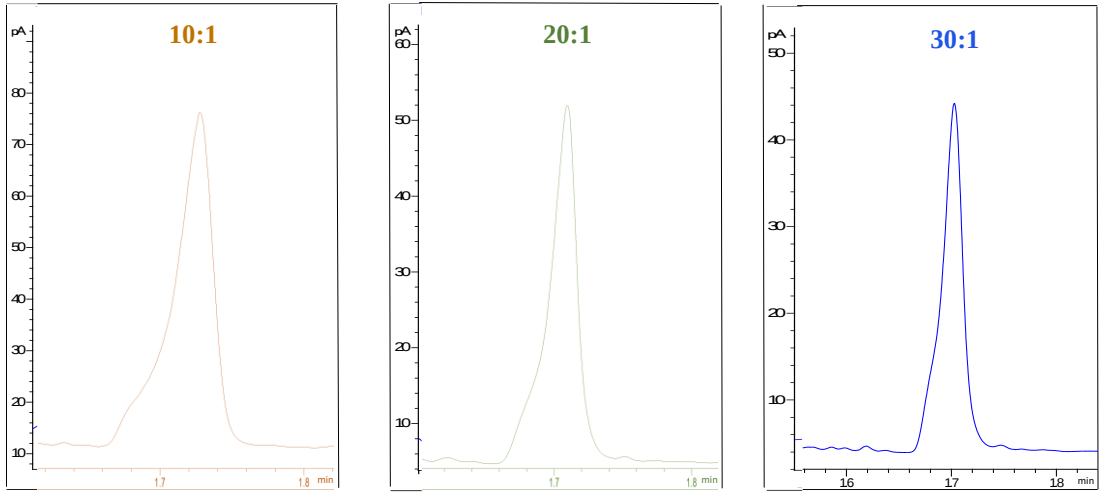
Şekil 4.4 : GC-FID sıcaklık artışı optimizasyonu.



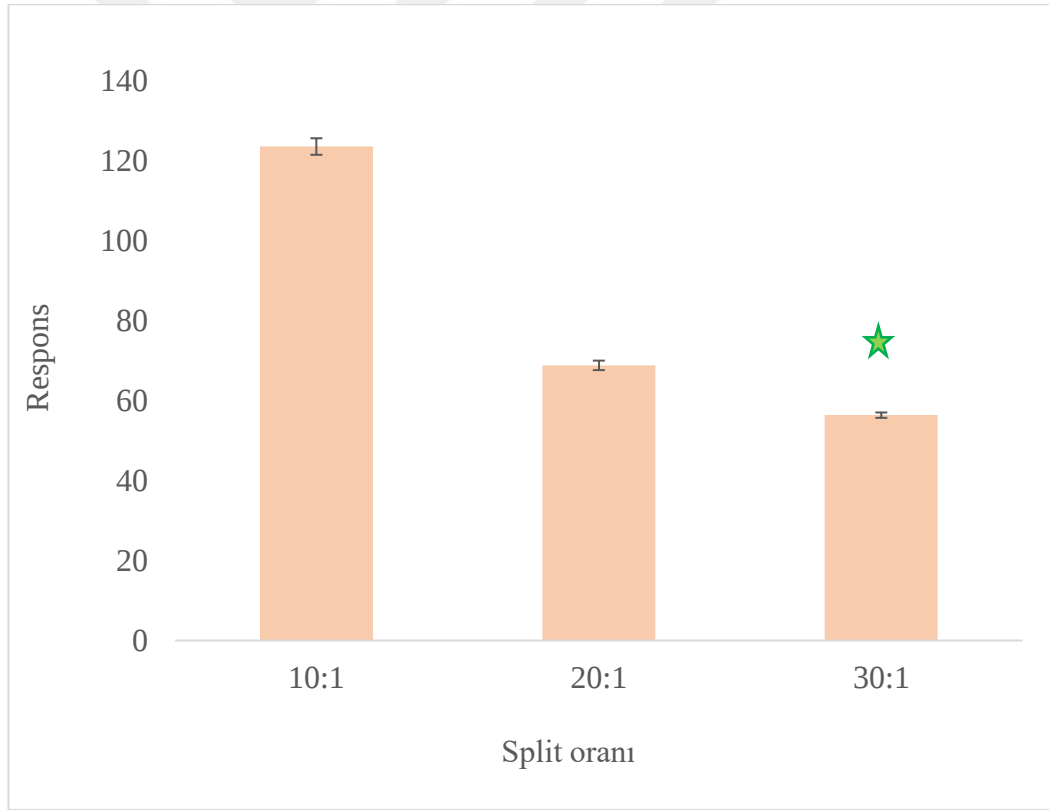
Şekil 4.5 : GC-FID ile elde edilen farklı akış hızlarında 1,4-ditian (10 mg/L) kromatogramları.



Şekil 4.6 : GC-FID taşıyıcı gaz akış hızı optimizasyonu.



Şekil 4.7 : GC-FID ile elde edilen farklı split oranlarında 1,4-ditian (10 mg/L) kromatogramları.



Şekil 4.8 : GC-FID split oranı optimizasyonu.

Çizelge 4.1 : 1,4-Ditianın tayini için optimize edilmiş GC-FID metodu.

Parametreler	Değerler
Başlangıç sıcaklığı:	120 °C
Son sıcaklık:	220 °C
Sıcaklık artış hızı:	15 °C/dk
Taşıyıcı gaz/Akış hızı:	Hidrojen / 1.5 mL/dk
Split oranı:	30:1
İnlet sıcaklığı:	245 °C
Dedektör sıcaklığı:	245 °C
Enjeksiyon hacmi:	1 µL

4.1.2 DES türü optimizasyonu

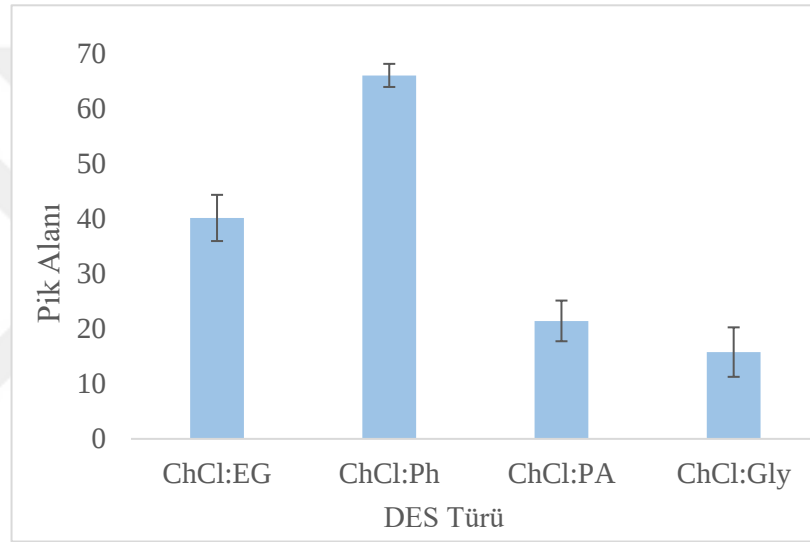
Sıvı faz ekstraksiyon yönteminde ekstraksiyon çözücüsü türü en önemli parametre sayılabilir. Bu çalışmada yaygın kullanılan ekstraksiyon çözücülerini yerine derin ötektik çözücüler (DES) kullanıldı. Seçilecek DES'in, hedef analiti matriksten seçici ve etkin bir şekilde ayırabilme yeteneği, ekstraksiyon verimliliği açısından kritik öneme sahiptir. Bu nedenle, analite en uygun DES karışımının optimize edilmesi, yöntemin başarısını doğrudan etkilemektedir. Derin ötektik çözücü karışımı için farklı polarite ve viskozite gibi özelliklere sahip, kolin klorür ile birlikte etilen glikol, fenol, gliserol ve propiyonik asit ayrı ayrı hazırlanarak numune çözeltisine eklendi ve DES'lerin 1,4-ditian için ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkileri karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda en yüksek yanıt veren ve yaklaşık %103 geri kazanım sağlayan DES karışımı kolin klorür-fenol ile sağlandı. Sonuçlar Şekil 4.9'da sunulmuştur.

4.1.3 DES molar oranı ve hacim optimizasyonu

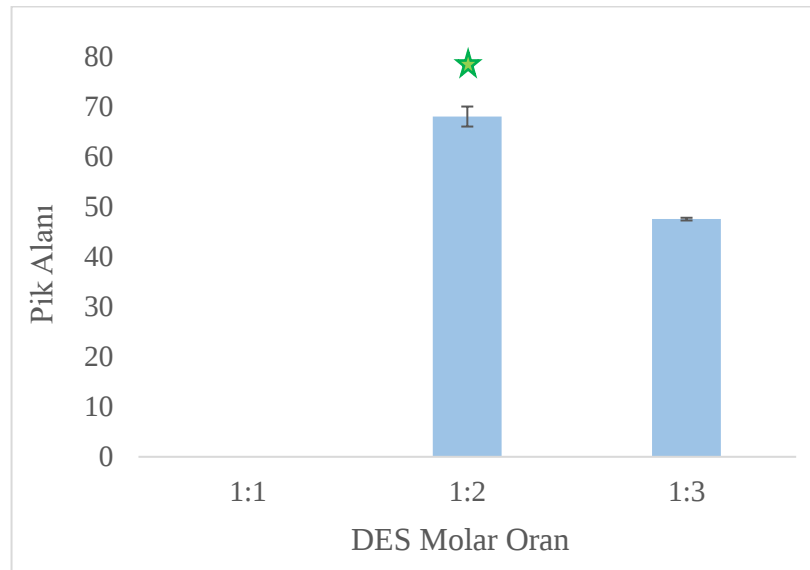
DES karışımı, uygun oranda ve hacimde numuneye eklendiğinde faz ayrımı oluşturur ve ekstraksiyonun gerçekleşmesi DES'lerin analitlerle arasındaki etkileşimlere bağlıdır. Bu çalışmada, 1:1, 1:2 ve 1:3 olmak üzere farklı molar oranlarında ChCl-Ph bileşenleriyle üç ayrı DES hazırlandı. Her bir numuneye 250 µL DES çözeltisi eklendi. 1:1 M oranda hazırlanan DES ile faz ayrımı gözlemlenemedi. Şekil 4.10'da da

görüldüğü gibi 1:2 molar oranıyla hazırlanan DES ile en yüksek pik alanı elde edildi ve bu sebeple 1:2 M seçildi.

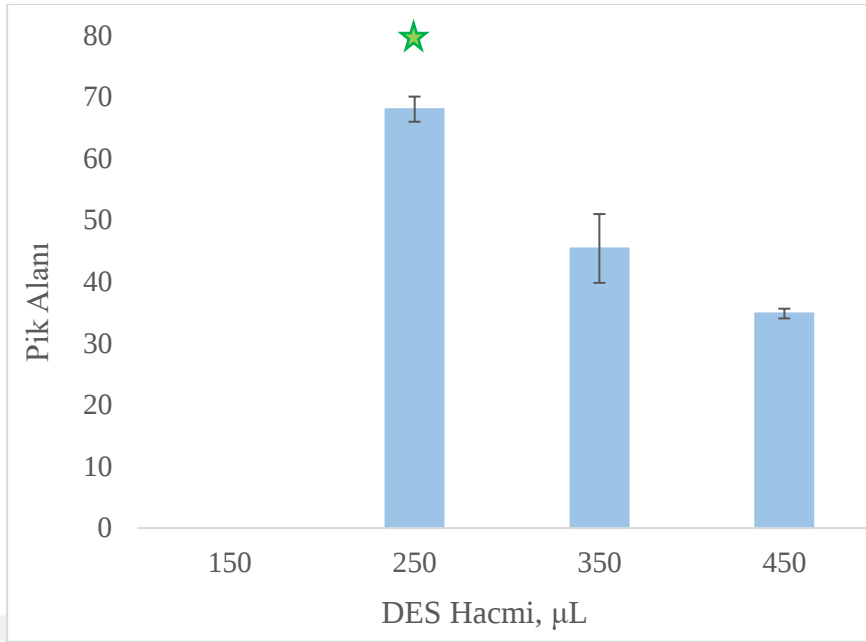
Ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan DES'in hacminin belirlenmesi ön deriştirme faktörünü ve ekstraksiyon verimliliğini iyileştirmek için çok önemli bir parametredir. Bu deneyde, diğer ekstraksiyon parametreleri sabit tutularak 150, 250, 350 ve 450 μL hacimlerinde DES (1:2 M) numuneye eklendi. Şekil 4.11'de DES hacminin artışıyla elde edilen ekstraksiyon verimliliğinin sonuçları yer almaktadır. 150 μL DES ile faz oluşumunun gerçekleşmediği görüldü ve artan DES hacmi ile önderiştirme faktöründe azaldığından sonuçlar daha düşük elde edildi. 250 μL ile iyi bir ayırım ve sonuç elde edildi ve sonraki adımlar için seçildi.



Şekil 4.9 : Farklı DES türlerinin ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.



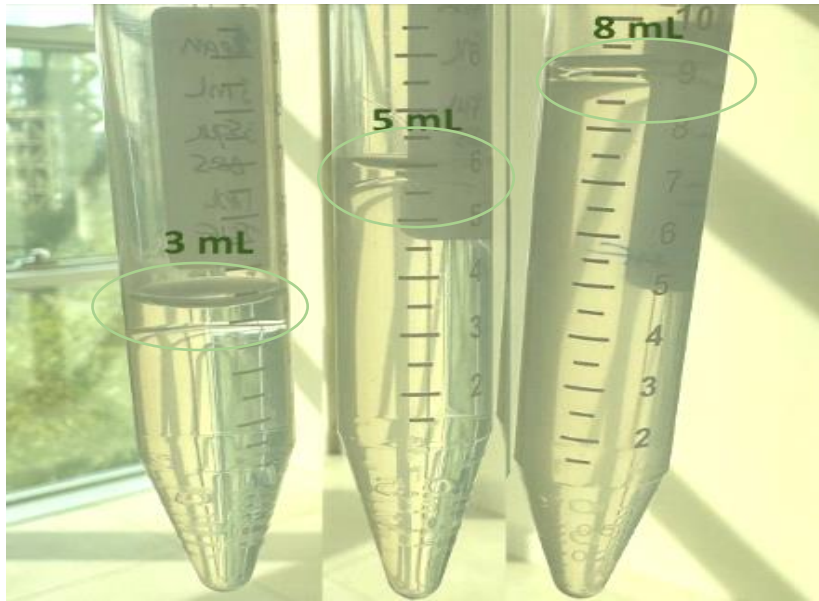
Şekil 4.10 : Farklı DES molar oranlarının ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.



Şekil 4.11 : DES hacmi ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.

4.1.4 Örnek hacmi optimizasyonu

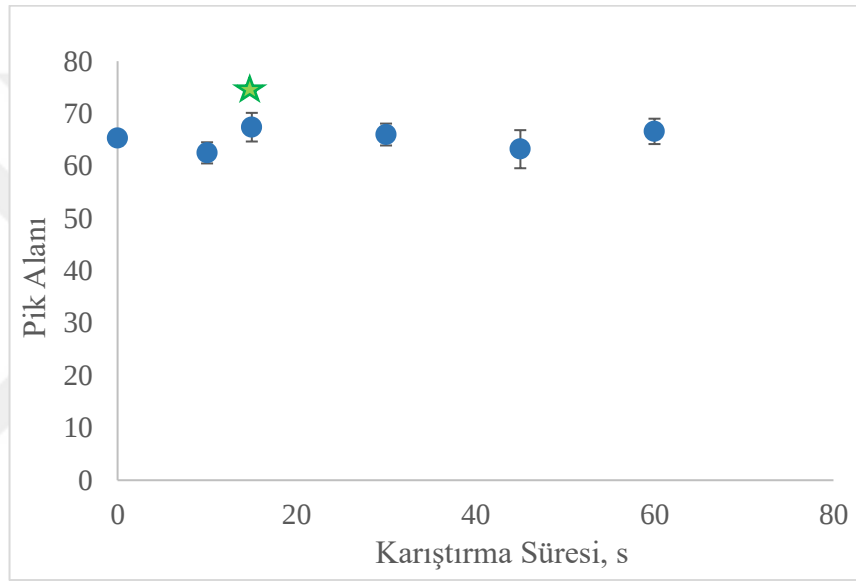
Örnek hacmi olarak 3, 5, 8 ve 10 mL ile optimizasyon gerçekleştirildi. Örnek hacminin azalmasıyla analiti içeren ayrılan üst fazın hacminin arttığı görüldü. 10 mL örnek hacmi için 250 µL DES ile yeterli faz ayrımı gerçekleştirilemedi. Ön deriştirme faktörü de göz önüne alındığında optimum örnek hacmi olarak 8 mL diğer işlemler için kullanıldı. Faz ayrımları Şekil 4.12’de gösterilmektedir.



Şekil 4.12 : Farklı örnek hacimlerinde oluşan faz ayrımı.

4.1.5 DES karıştırma süresi optimizasyonu

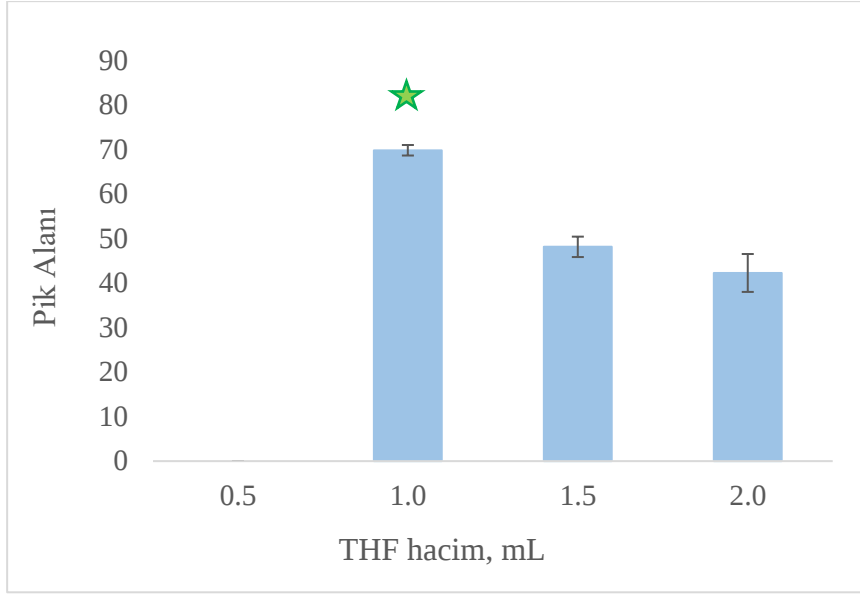
Numunedeki hedef analit ve ekstraksiyon çözeltisi arasındaki etkileşimi arttırarak sulu fazdan etkili kütle transferini gerçekleştirmek amacıyla optimum karıştırma türü ve süresi belirlendi. Manuel, ultrasonik ve vorteks karıştırma türlerinin etkisi incelendi ve diğer optimizasyonlar için vorteks ile karıştırma seçildi. Analit ve DES arasındaki etkileşim için gerekli karıştırma süresini optimize etmek için 0, 10, 15, 30, 45 ve 60 s karıştırma süreleri denendi. 15 s optimum değer olarak belirlendi. Şekil 4.13'te görüldüğü gibi sonuçlar arasında çok büyük bir fark gözlemlenmedi. Etkili ve hızlı bir karışım sağlanması için 15 s karıştırma süresi sonraki çalışmalarda uygulandı.



Şekil 4.13 : Karıştırma süresinin ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.

4.1.6 THF hacim optimizasyonu

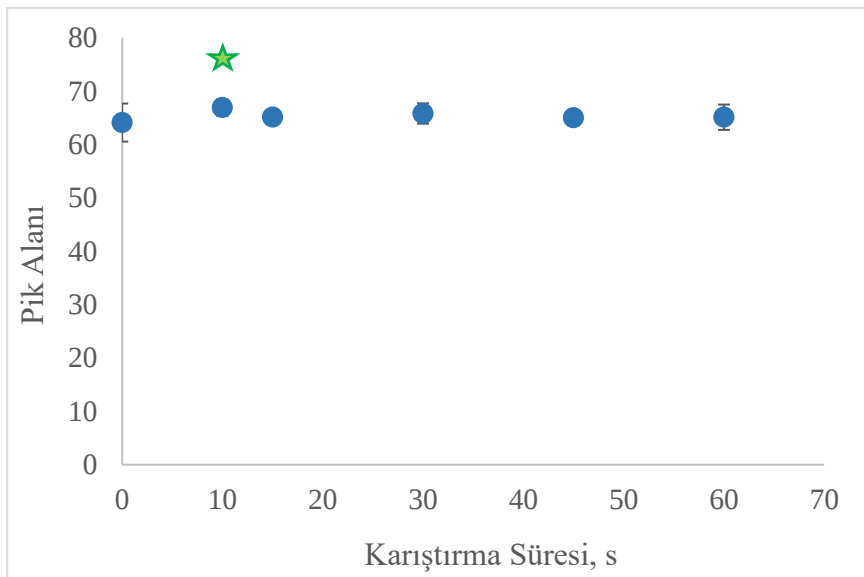
Ekstraksiyon prosedüründe THF, emülgatör ajan olarak kullanılmış ve böylece derin ötektik çözücünün (DES) sulu fazdan etkin şekilde ayrılması sağlanmıştır. THF, DES'e kıyasla su ile daha güçlü etkileşime girer, DES'in su ile olan etkileşimlerini azaltarak DES bileşenlerinin kendi aralarında yeniden birleşmesine ve bunun sonucunda ayrı bir faz oluşturarak sistemden ayrılmasına olanak sağlar [117]. Optimum THF hacminin belirlenmesi amacıyla, DES içeren çözeltiye sırasıyla 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mL THF ilave edildi. Yapılan deneylerde, 0.5 mL THF'nin sulu fazdan DES'in etkin şekilde ayrılmasını sağlayamadığı ve faz oluşumunun gerçekleşmediği gözlemlendi. Şekil 4.14'e bakıldığında, en yüksek pik alanı ise 1.0 mL THF ilavesiyle elde edildi ve bu hacmin optimum ekstraksiyon verimini sağladığı belirlendi.



Şekil 4.14 : THF hacminin ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.

4.1.7 THF karıştırma süresi optimizasyonu

Ekstraksiyon verimliliğini artırmak amacıyla yapılan çalışma kapsamında, THF ilavesinin ardından iyi bir emülsiyon oluşumunu sağlamak üzere vorteks ile karıştırma işlemi uygulandı ve bu işlemin süresinin ekstraksiyon üzerindeki etkisi sistematik olarak araştırıldı. Çalışmada 0, 10, 15, 30, 45 ve 60 s süreyle uygulanan vorteks işlemleri sonrasında, 10 s ve üzeri sürelerde homojen ve bulanık emülsiyonların elde edildiği gözlemlendi. Şekil 4.15'te sunulan bulgular doğrultusunda, sonraki analizlerde standartlaştırılmış bir protokol olarak 10 s vorteks süresi tercih edildi.



Şekil 4.15 : Karıştırma süresinin ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisi.

4.2 Yöntemin Analitik Performansının İncelenmesi

Bu çalışmada geliştirilen yöntem ile 1,4-ditian için daha düşük tayin limitlerine ulaşmak amacıyla tüm sistemsel ve deneysel parametreler kapsamlı biçimde optimize edildi; ilgili optimizasyon sonuçları Çizelge 4.2’de özetlendi. Metodun validasyonu kapsamında gözlenebilme limiti (LOD), tayin limiti (LOQ), doğrusal dinamik aralık (LDR), bağıl standart sapma (%RSD) ile gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik gibi temel performans kriterleri optimize edilen koşullar altında sistematik olarak belirlendi. Tüm bu parametrelerin tayini için her bir analiz yedi tekrarlı örnek ile yürütüldü. Ayrıca, yöntemin doğruluğunu teyit etmek amacıyla hesaplanan validasyon parametreleri Çizelge 4.3’te sunulmaktadır. Kalibrasyon eğrisinin oluşturulabilmesi için, matrikse farklı konsantrasyonlarda 1,4-ditian standart çözeltileri eklenerek yöntemin uygulama prosedürü takip edildi ve her bir konsantrasyon düzeyi için yedişer tekrar analiz edildi. Elde edilen veriler doğrultusunda, 150-5000 µg/L konsantrasyon aralığında yüksek derecede korelasyon ($R^2=0,9998$) sağlanarak yöntemin geniş bir doğrusal dinamik aralığa sahip olduğu gösterildi (Şekil 4.16). Optimum koşullar altında analiz edilen 1,4-ditiana ait kromatogram Şekil 4.17’de gösterilmektedir. LOD ve LOQ değerleri ise, kalibrasyon eğrisinin en düşük konsantrasyonuna ait standart sapmanın sırasıyla üç (3S) ve on (10S) katının eğime bölünmesi ile hesaplandı. LOD (gözlenebilme limiti) ve LOQ (tayin limiti) değerleri sırasıyla 44,3 µg/L ve 147,8 µg/L olarak hesaplandı. Bu hesaplamalarda, sırasıyla (4.1) ve (4.2) numaralı denklemler kullanılarak metot duyarlılığı istatistiksel olarak değerlendirildi [107].

$$GL = 3 \times \frac{SD_a}{b} \quad (4.1)$$

$$TL = 10 \times \frac{SD_a}{b} \quad (4.2)$$

SD_a : En düşük konsantrasyonlu kalibrasyon standart çözeltisinin standart sapması

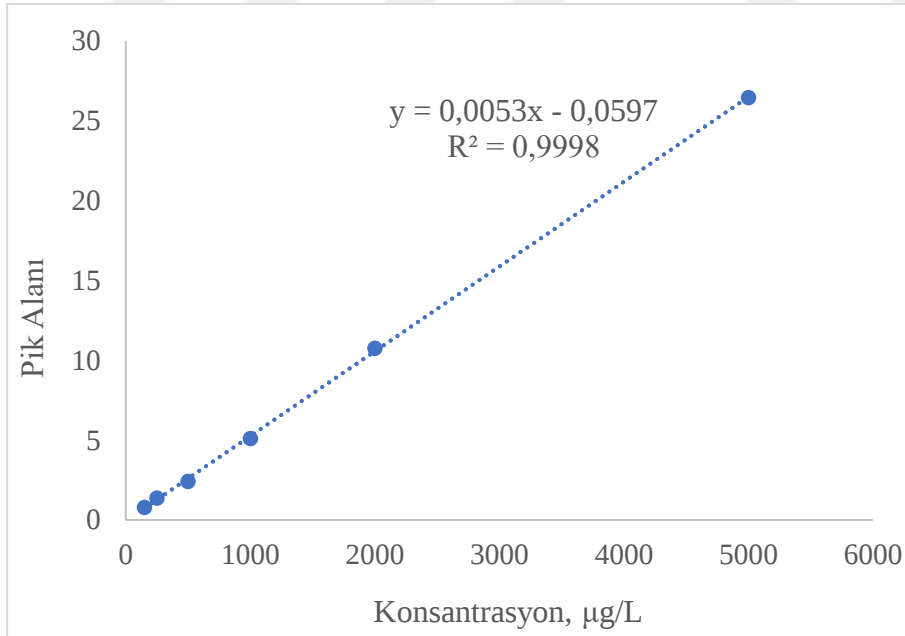
b: Kalibrasyon doğrusunun eğimi

Çizelge 4.2 : Optimize edilmiş yöntem parametreleri.

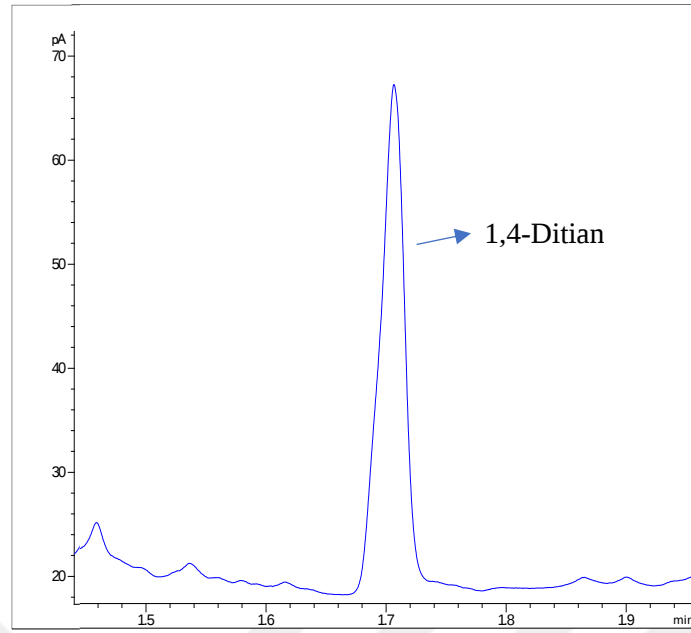
Parametreler	Optimum Değerler
DES türü	ChCl : Ph
DES oran	1:2 M
DES hacim	250 µL
Karıştırma süresi (ekstraksiyon)	15 s
THF hacmi	1.0 mL
Karıştırma süresi (emülsifikasyon)	10 s

Çizelge 4.3 : Optimum koşullar altında geliştirilen yöntemin analitik performansı.

Metot	LOD, µg/L	LOQ, µg/L	R ²	Doğrusal aralık, µg/L
VA-DES-ELLE	44,3	147,8	0,9998	150-5000



Şekil 4.16 : 1,4-ditian bileşiğinin 150-5000 µg/L konsantrasyon aralığında elde edilen kalibrasyon eğrisi.



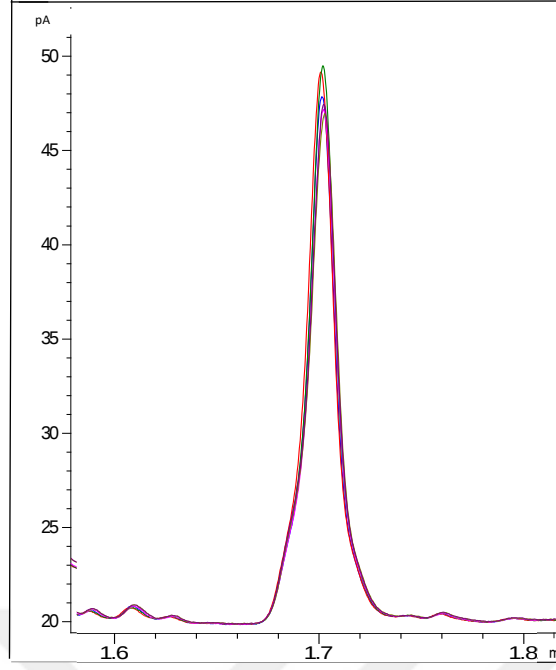
Şekil 4.17 : Tüm optimize edilen parametreler sonunda elde edilen 1,4-ditian (10 mg/L) kromatogramı.

Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik

Yöntemin doğrusal aralığındaki en düşük, orta ve en yüksek kalibrasyon noktalarının tekrarlanabilirliği incelendi. Her bir konsantrasyon noktası için yedi tekrarlı numune hazırlandı ve ekstraksiyon prosedürü uygulandı. Sonuçlar aşağıda bulunan Çizelge 4.4. 'te ve Şekil 4.18'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.4 : Farklı konsantrasyonlarda 1,4-ditian için tekrarlanabilirlik sonuçları.

Respons	150 µg/L	1000 µg/L	5000 µg/L
R1	161.5	1022.4	4995.9
R2	170.6	1018.8	4884.7
R3	145.1	977.3	5273.6
R4	162.6	958.8	5365.1
R5	143.6	940.3	4681.0
R6	184.3	909.6	4514.4
R7	181.0	913.7	4699.6
Ortalama	164.1	963.0	4916.3
Standart sapma	14.8	45.9	316.3
%RSD	9.7	4.8	6.4



Şekil 4.18 : 1,4-Ditian (5 mg/L) enjeksiyonu tekrarlanabilirlik çalışmasına ait FID kromatogramları.

Geliştirilen yöntemin gün içi ve günler arası bağıl standart sapmasının (%RSD) belirlenmesi amacıyla ekstraksiyon prosedürü, aynı gün içinde iki kez ve iki gün arayla olacak şekilde tekrarlandı. Her analiz günü için yedi tekrarlı örnek hazırlandı. Elde edilen sonuçlar, yöntemin gün içi ve günler arası bağıl standart sapmasının sırasıyla %6,4 ve %4,3 olduğunu gösterdi. Bu bulgular, yöntemin her iki parametre açısından yüksek tekrarlanabilirlik özelliğine sahip olduğunu doğrulamaktadır.

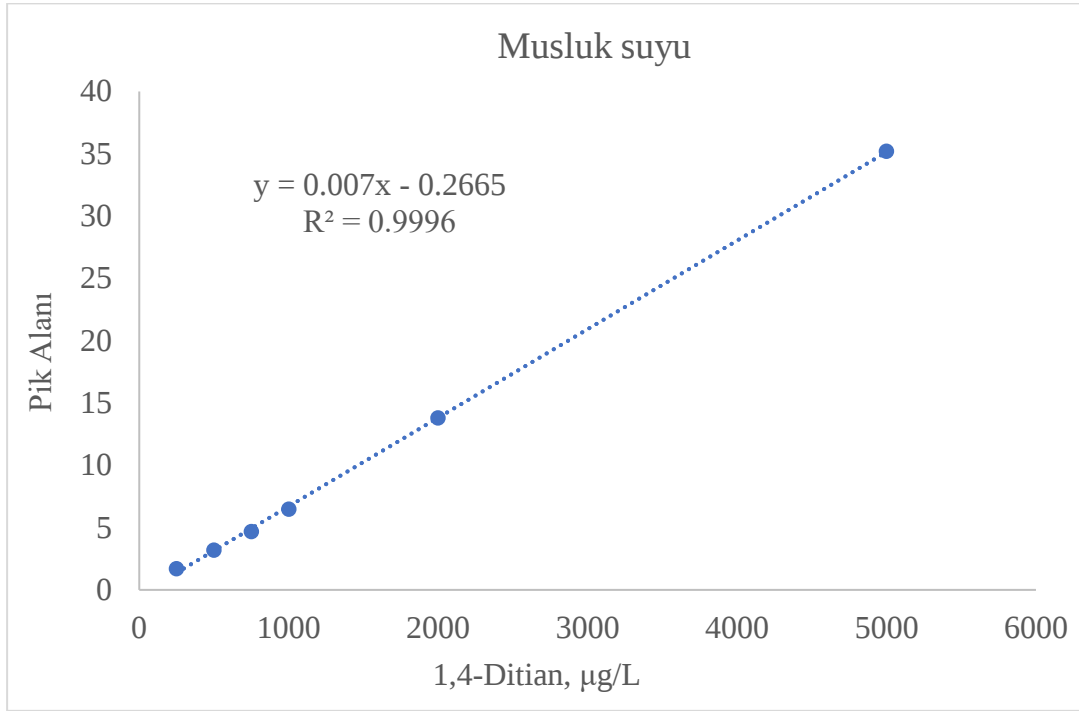
4.3 Geri Kazanım Çalışmaları

Geliştirilen ekstraksiyon yönteminin doğruluğunu ve uygulanabilirliğini değerlendirmek amacıyla gerçek örnekler üzerinde geri kazanım çalışmaları gerçekleştirildi. Geri kazanım çalışmalarında OPCW'nun yeterlilik testlerinde (PT) kullanılan kompleks matriksleri simüle eden musluk suyu (PEG+DCM) ve toprak (+dizel) örnekler, deneysel bölümde anlatıldığı gibi hazırlandı. Karmaşık örneklerde matriks etkilerini en aza indirmek ve doğru miktar tayini sağlamak amacıyla matriks eşleme stratejisi kullanıldı. Bu strateji, potansiyel matriks girişimlerinin düzeltilmesine olanak tanıdığı ve geri kazanım hesaplamalarının güvenilirliğini artırmıştır. Matriks eşlemeli geri kazanım çalışmaları için 1,4-ditianın farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltileri (0.25, 0.5, 0.75, 1 ve 5 mg/L) hazırlanarak musluk suyu ve toprak matrikslerine ilave edildi. Analit içermeyen boş çözeltilere ve

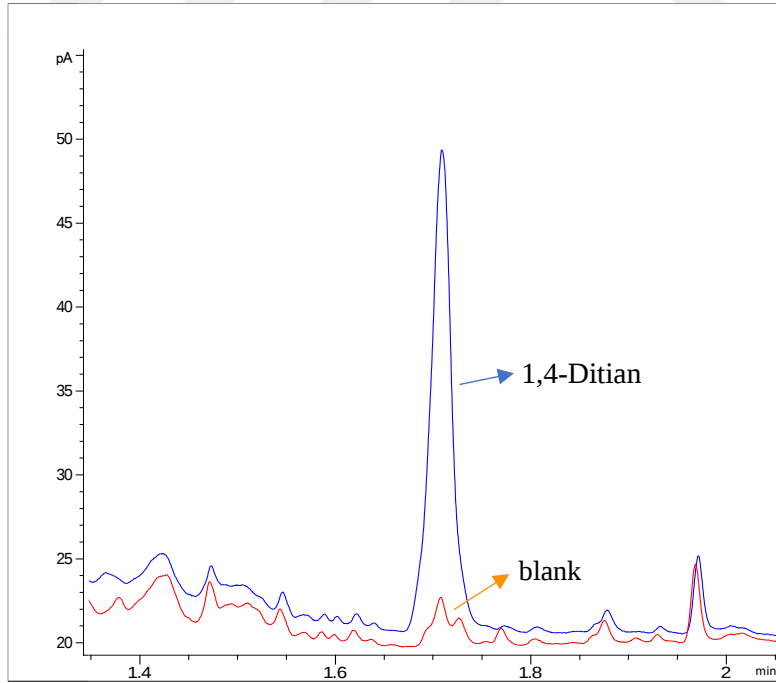
standart çözeltilere optimum koşullar altında ekstraksiyon prosedürü uygulandı. Her bir konsantrasyon için üç tekrarlı örnek hazırlandı ve DES fazı GC-FID sistemine enjekte edildi. Elde edilen sinyal sonuçlarıyla, her iki matriks için beş noktalı bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu ve hem örneklerle ilave edilmiş analit derişimini, hem de geri kazanım yüzdesini belirlemek amacıyla kullanıldı. 1,4-ditian pikinin alanından, 1,4-ditian ile aynı noktada kör çözeltiden gelen interferansın alanı çıkarılarak kalibrasyon noktalarının sonuçları hesaplandı. Her iki matriks için oluşturulan kalibrasyon eğrileri ve kromatogramlar Şekil 4.19-4.22’de verilmektedir. Geliştirilen yöntem ile PT örneklerinde kullanılan musluk suyu (PEG+DCM) matriksinde %95-108 aralığında, toprak (+dizel) örneklerinde ise %85-105 aralığında geri kazanım değerleri elde edildi (Çizelge 4.5). Bu sonuçlar, Çizelge 2.3’te verilen kabul edilebilir geri kazanım sınır değerleri içinde kaldığı görülmektedir. Özetle, bu analiz bulguları, düşük standart sapmalar ile yöntemin tekrarlanabilirliğinin yüksek olduğunu, elde edilen %100’e yakın geri kazanım değerleri ise metodun doğruluğunun tatmin edici seviyede olduğunu ve kompleks su matrikslerinde güvenle uygulanabileceğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.5 : Musluk suyu (DCM+PEG) ve toprak (+dizel) örneklerindeki 1,4-ditianın yüzde geri kazanım sonuçları (N=7).

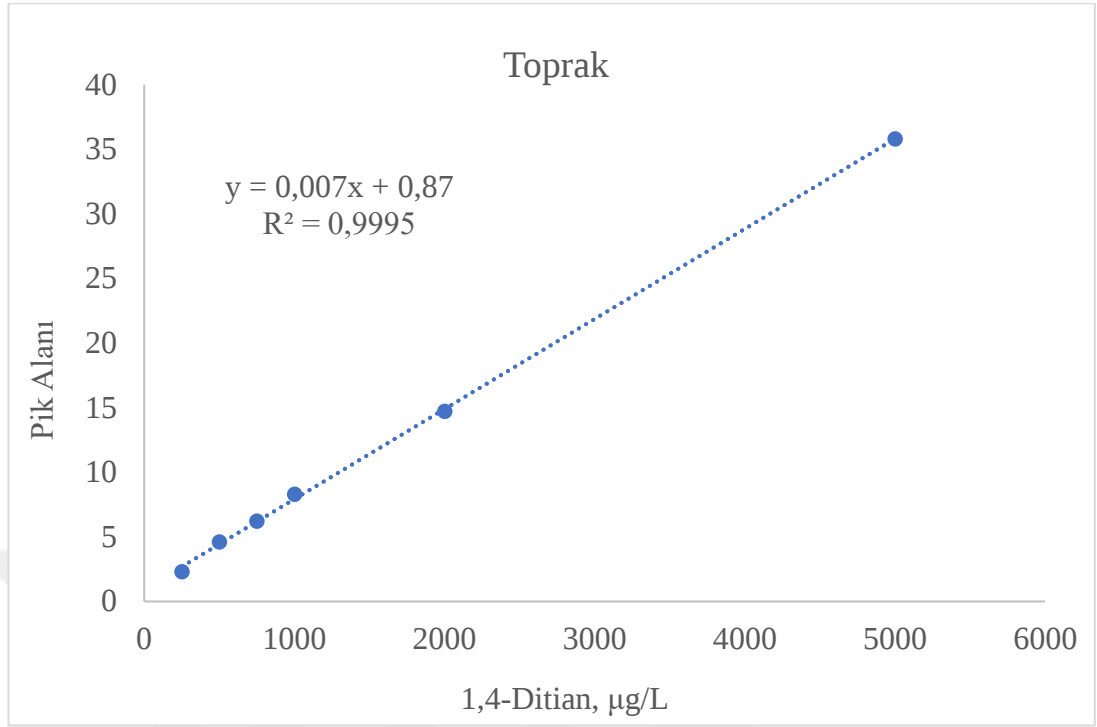
Örnek	İlave Edilen Konsantrasyon, $\mu\text{g/L}$	Ölçülen Konsantrasyon, $\mu\text{g/L}$	Geri Kazanım, %
Musluk suyu	250	270	108,0 $\pm$ 4,4
Musluk suyu	500	493,3	98,7 $\pm$ 1,7
Musluk suyu	750	719	95,9 $\pm$ 3,1
Musluk suyu	1000	970,9	97,1 $\pm$ 2,5
Musluk suyu	2000	2002,7	100,1 $\pm$ 1,9
Musluk suyu	5000	5027,3	100,5 $\pm$ 0,8
Toprak	250	209	83,6 $\pm$ 6,7
Toprak	500	528,9	105,8 $\pm$ 5,9
Toprak	750	751,1	100,1 $\pm$ 2,6
Toprak	1000	1051,8	105,2 $\pm$ 3,7
Toprak	2000	1975,7	98,79 $\pm$ 3,1
Toprak	5000	4991,8	99,8 $\pm$ 4,2



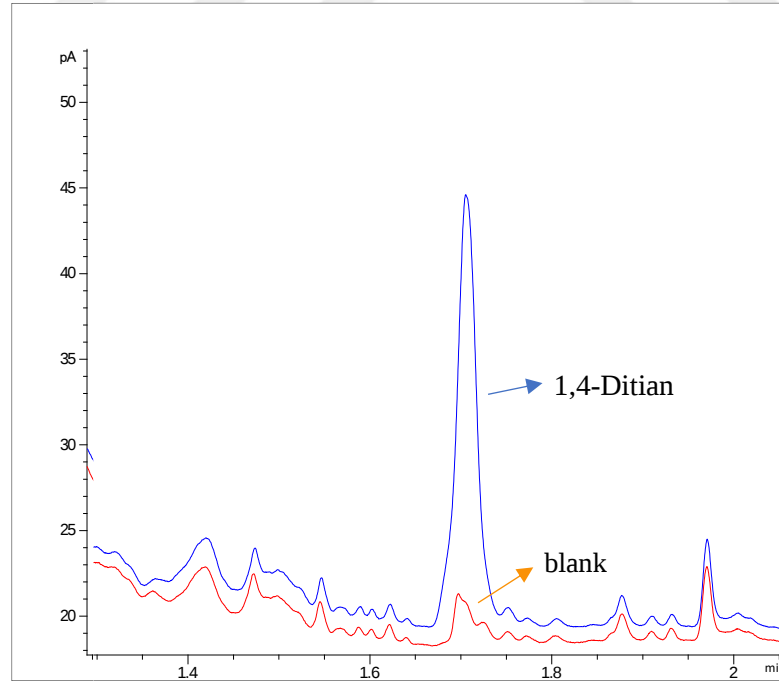
Şekil 4.19 : Musluk suyu örneklerinde matris eşleme kalibrasyon standartları için kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.20 : Musluk suyu örneklerinde analiz edilen 1,4-Ditian (5 mg/L) ve blank kromatogramı.



Şekil 4.21 : Toprak örneklerinde matris eşleme kalibrasyon standartları için kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.22 : Toprak örneklerinde analiz edilen 1,4-Ditian (5 mg/L) ve blank kromatogramı.

4.4 Analitik Yöntemin Yeşilliğinin Değerlendirilmesi

Yeşil kimya, kimyasal süreçlerle ilişkili olumsuz çevresel etkileri azaltmayı veya tamamen ortadan kaldırmayı amaçlar. Analitik bilimler alanında ise yöntemlerin yeşil kimya ilkelerine uyumunun değerlendirilmesi, tehlikeli kimyasalların, çözücülerin ve enerji tüketiminin en aza indirilmesine odaklanan Yeşil Analitik Kimya (GAC) prensiplerini sağlamak açısından büyük önem taşır. Yeşil analitik tekniklerin uygulanması, çevresel sürdürülebilirliği desteklemesinin yanı sıra daha güvenli ve kaynak açısından verimli endüstriyel uygulamaların geliştirilmesine de katkı sağlar. Analitik yöntemlerin çevresel etkisini nicel olarak değerlendirmek amacıyla çeşitli yeşillik değerlendirme araçları geliştirilmiştir. Bu çalışmada, önerilen analitik yöntemin sürdürülebilirlik profilini değerlendirmek için birbiriyle tamamlayıcı üç araç; AGREE, AGREEprep ve BAGI kullanılmıştır [118,119].

4.4.1 Analitik yeşillik hesaplayıcısı (AGREE)

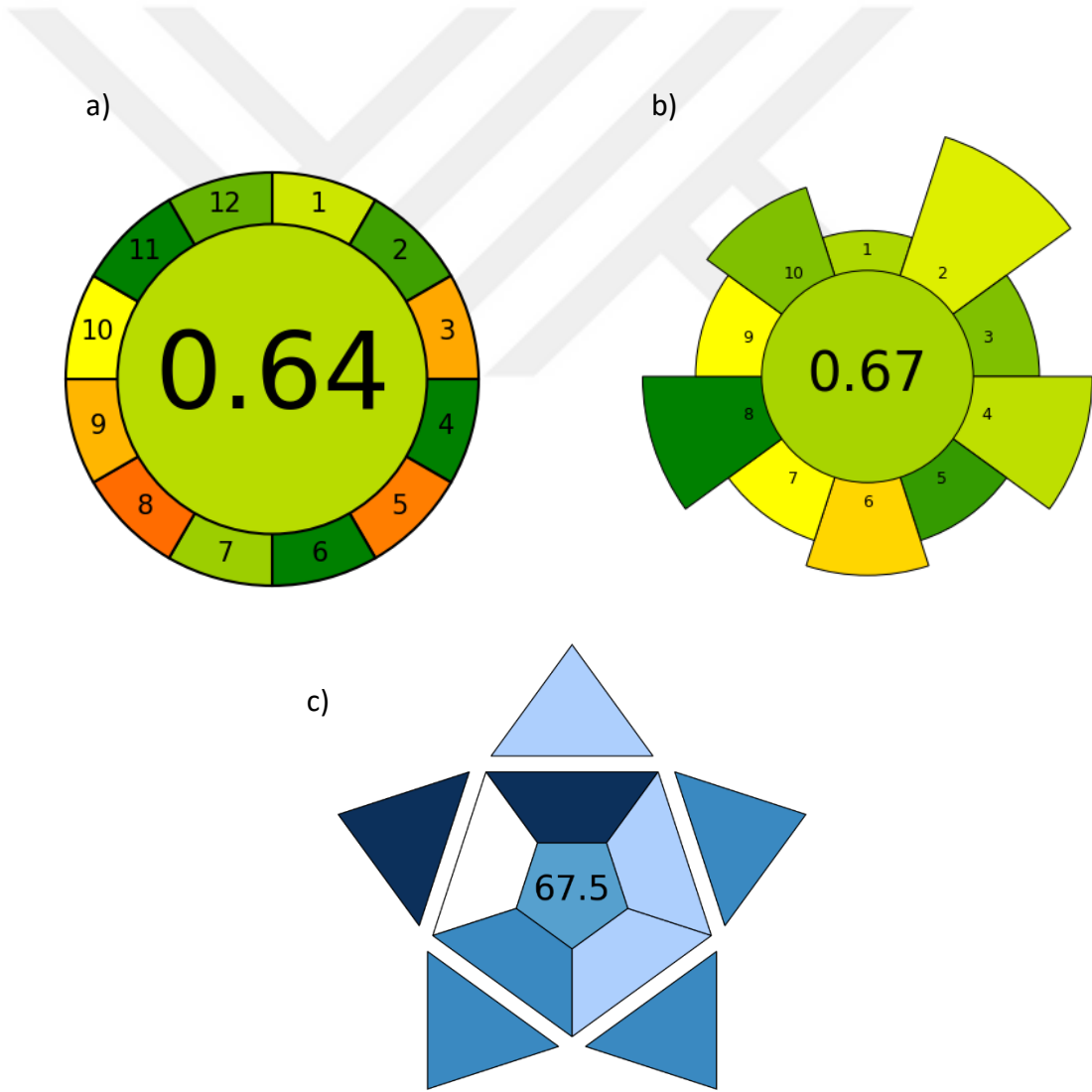
AGREE, GAC'ın 12 ilkesine dayanan, yöntemin yeşilliğini kapsamlı bir şekilde değerlendiren bir araçtır. Bu araç, her bölümün bir prensibi simgelediği 12 parçaya ayrılmış dairesel bir piktogram kullanır. Her kriter 0'dan 1'e kadar değişen bir ölçekte değerlendirilir ve bu puanlar ortalaması alınarak nihai yeşillik puanı elde edilir. Ortaya çıkan saat benzeri piktogram, hem sayısal puanı hem de ilgili renk gradyanını göstererek yöntemin sürdürülebilirliğinin görsel olarak açık bir şekilde değerlendirilmesini sağlar [120]. Şekil 4.23a'da gösterildiği gibi, geliştirilen analitik yöntem 0.64'lük kayda değer bir yeşillik puanı vermiş olup, GAC ilkelerine güçlü bir uyum sergilemektedir.

4.4.2 Örnek hazırlama için analitik yeşillik metriği (AGREEprep)

AGREEprep, Yeşil Numune Hazırlama (GSP) çerçevesinde özetlenen on ilkeyi kullanarak çevresel sürdürülebilirlik değerlendirmesini örnek hazırlama aşamalarını da kapsayacak şekilde genişletir. Her parametre, 0 ile 1 arasında değişen ikili bir ölçekte değerlendirilir ve genel puan bu değerlerin ortalaması alınarak hesaplanır. Bu metrik, örnek hazırlama yöntemleriyle ilişkili sürdürülebilirliğin kapsamlı ve sistematik bir değerlendirmesini sunar [121]. Önerilen yöntem, 0.67'lik AGREEprep puanı elde etmiş olup (Şekil 4.23b), örnek hazırlamada sürdürülebilir ilkelere ve çevre dostu uygulamalara genel anlamda uyum sağladığını göstermektedir.

4.4.3 Mavi uygulanabilirlik derece indeksi (BAGI)

BAGI, çeşitli analitik yöntemlerin uygulanabilirliğini, fizibilitesini ve operasyonel verimliliğini değerlendirmeyi amaçlayan pragmatik bir ölçüttür. Bir asteroit şeklindeki piktogram, 25 ila 100 arasında bir puan tahsis eder ve her segment, beyazdan koyu maviye geçişli bir gradyanla gösterilen 0 ila 10 arasında bir ölçekte değerlendirilir. Genellikle, minimum 60 puan, hem yeşil, çevre dostu hem de pratik olarak uygulanabilir bir yöntemin göstergesi olarak kabul edilir [122]. Önerilen yöntem, dikkate değer pratik uygulanabilirliğini, önemli otomasyon potansiyelini, yüksek verimlilik seviyelerini ve özellikle düşük operasyonel maliyetlerine sahip olduğunu gösteren 67,5'lik bir BAGI puanı elde etmiştir (Şekil 4.23c).



Şekil 4.23 : Önerilen yöntemin çevresel değerlendirmesi üç temel ölçüte dayanmaktadır: (a) AGREE, (b) AGREEprep ve (c) BAGI.

4.5 Sonuç

Literatürde 1,4-ditianın analizi üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Mevcut literatürde, 1,4-ditianın farklı matrislerden sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE) yöntemi ile ayrıştırıldığı görülmekle birlikte, derin ötektik çözücüler (Deep Eutectic Solvents, DES) kullanılarak 1,4-ditian ekstraksiyonuna yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışma kapsamında, hardal gazı bozunma ürünlerinden biri olan 1,4-ditianın, OPCW'nun yeterlilik testlerinde kullanılan karmaşık sulu matriks örneklerinden ön deriştirilmesi ve ekstraksiyonu ile GC-FID sisteminde analizine yönelik yeni ve çevre dostu bir analitik yöntem geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemde, geleneksel organik çözücüler yerine, daha düşük hacimde ve ekolojik açıdan avantajlı derin ötektik çözücüler kullanılmıştır.

Ekstraksiyon prosedüründe tüm parametreler optimize edilerek, optimize edilen parametre haricindeki değişkenler sabit tutulmuştur. Optimum koşullar altında, 1,4-ditian için 150–5000 µg/L aralığında yüksek korelasyon katsayısına sahip doğrusal bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Tespit limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ) sırasıyla 44,3 µg/L ve 147,8 µg/L olarak belirlenmiştir.

Yöntemin uygulanabilirliği ve geçerliliği, karmaşık su matriks örneklerinde yürütülen geri kazanım çalışmaları ile doğrulanmıştır. Elde edilen geri kazanım oranları, geliştirilen yöntemin karmaşık matrikslere karşı yüksek doğruluk ve hassasiyetle uygulanabileceğini ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra, üç temel yeşillik parametresi ile gerçekleştirilen yeşillik değerlendirmeleri sonucunda geliştirilen yöntemin, çevresel açıdan sürdürülebilir ve yeşil kimya prensiplerine uygun bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] **Szinicz, L.**, (2005). History of chemical and biological warfare agents. *Toxicology*, 214(3): p. 167-181.
- [2] **Chauhan, S., et al.**, (2008). Chemical warfare agents. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26(2): p. 113-122.
- [3] **Ganesan, K., S.K. Raza, and R. Vijayaraghavan**, (2010). Chemical warfare agents. *J Pharm Bioallied Sci*, 2(3): p. 166-78.
- [4] **Silva, G.R., Borges Jr., I., Figueroa-Villar, J. D.**, (2012). Defesa química: histórico, classificação dos agentes de guerra e ação dos neurotóxicos. *Quim. Nova*, Vol. 35 (10).
- [5] **Chan, W., et al.**, (2020). Interpol review of toxicology 2016–2019. *Forensic Science International: Synergy*, 2: p. 563-607.
- [6] **Karen L. Mumy, W.R.H., Ariel Parker, et al.**, (2019). Gwyn Winfield, Organization for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW): History, Mission, and Accomplishments, Chemical Warfare Agents. 3rd Edition ed.
- [7] **URL-1** <<https://www.opcw.org/chemical-weapons-convention/annexes/annex-on-chemicals/>> erişim tarihi 05.01.2025
- [8] **Jean Pascal Zanders, J.H., Frida Kuhlau and Richard Guthrie**, *Appendix 2. CWC timetable for certain activities and deadlines for states parties*.
- [9] **M. Mesilaakso**, Chemical Weapons Convention Chemicals Analysis: Sample Collection, Preparation and Analytical Methods. 2005, *John Wiley & Sons, Ltd*.
- [10] **URL-2** <https://www.opcw.org/media-centre/news/2024/07/new-opcw-designated-laboratory-established-africa?utm_source> erişim tarihi 05.01.2025
- [11] **URL-3** <<https://www.opcw.org/designated-laboratories>> erişim tarihi 05.01.2025
- [12] **Paula Vanninen**, (2017). *RECOMMENDED OPERATING PROCEDURES FOR ANALYSIS IN THE VERIFICATION OF CHEMICAL DISARMAMENT*
- [13] **Konopski, L., et al.**, (2014). OPCW Proficiency Test: A Practical Approach Also for Interlaboratory Test on Detection and Identification of Pesticides in Environmental Matrices. *The Scientific World Journal*, (1): p. 542357.
- [14] **Hendrikse, J.**, (2005). A Comprehensive Review of the Official OPCW Proficiency Test, in Chemical Weapons Convention Chemicals Analysis. p. 89-132.
- [15] **Timperley, C.M., et al.**, (2021). Advice on assistance and protection provided by the Scientific Advisory Board of the Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons: Part 3. On medical care and treatment of injuries from sulfur mustard. *Toxicology*, 463: p. 152967.

- [16] **Reddy, G. and S.H. Lee**, (2015). Chapter 33 - Wildlife Toxicity Assessment for Mustard Agents, in *Wildlife Toxicity Assessments for Chemicals of Military Concern*, Elsevier. p. 617-636.
- [17] **Liu, J., et al.**, (2015). Chapter 34 - Chemical Warfare Agents and the Nervous System, in *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents* (Second Edition), Academic Press: Boston. p. 463-475.
- [18] **Ghabili, K., et al.**, (2011). Sulfur mustard toxicity: History, chemistry, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Critical Reviews in Toxicology*, 41(5): p. 384-403.
- [19] **Brevett, C.A.S., K.B. Sumpter, and R.G. Nickol**, (2009). Kinetics of the degradation of sulfur mustard on ambient and moist concrete. *Journal of Hazardous Materials*, 162(1): p. 281-291.
- [20] **Lees, H., M. Vaher, and M. Kaljurand**, (2017). Development and comparison of HPLC and MEKC methods for the analysis of cyclic sulfur mustard degradation products. *ELECTROPHORESIS*, 38(7): p. 1075-1082.
- [21] **Magnusson, R., T. Nordlander, and A. Östin**, (2016). Development of a dynamic headspace gas chromatography–mass spectrometry method for on-site analysis of sulfur mustard degradation products in sediments. *Journal of Chromatography A*, 1429: p. 40-52.
- [22] **Jõul, P., M. Vaher, and M. Kuhtinskaja**, (2018). Evaluation of carbon aerogel-based solid-phase extraction sorbent for the analysis of sulfur mustard degradation products in environmental water samples. *Chemosphere*, 198:p. 460-468.
- [23] **URL-4** <<https://en.wikipedia.org/wiki/Dithiane>>.erişim tarihi 04.02.2025
- [24] **Ashmore, M.H. and C.P. Nathanail**, (2008). A critical evaluation of the implications for risk based land management of the environmental chemistry of Sulphur Mustard. *Environment International*, 34(8): p. 1192-1203.
- [25] **Rosso, T.E., et al.**, (1998).Vibrational frequencies and structural determinations of 1,4-dithiane. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 55(1): p. 121-134.
- [26] **Williams, B.R., et al.**, (2009).Vapor Pressure of Solid 1,4-Dithiane. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 54(1): p. 60-63.
- [27] **Reddy, G., M.A. Major, and G.J. Leach**, (2005). Toxicity Assessment of Thiodiglycol. *International Journal of Toxicology*, 24(6): p. 435-442.
- [28] **Chmielińska, K., et al.**, (2019). Environmental contamination with persistent cyclic mustard gas impurities and transformation products. *Global Security: Health, Science and Policy*, 4(1): p. 14-23.[29]
- [29] **URL-5** <<https://foodb.ca/compounds/FDB008047>> Showing Compound 1,4-Dithiane (FDB008047), The Metabolomics Innovation Centre (TMIC), FOODB.
- [30] **W.J. Lough, I.W.W.**, (1996). High Performance Liquid Chromatography: Fundamental Principles and Practice, *Chapman & Hall*.

- [31] **Covey, T.R., et al.**, (1986). Liquid chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry*. 58(14): p. 1451A-1461A.
- [32] **Dean, J.R.**, (2009). Extraction Techniques in Analytical Sciences, Analytical Techniques in the Sciences, *WILEY*.
- [33] **Gordon, M.H.**, (1990). Principles of gas chromatography, in Principles and Applications of Gas Chromatography in Food Analysis, Springer US: Boston, MA. p. 11-58.
- [34] **Littlewood, A.B.**, (2013). Gas Chromatography: Principles, Techniques, and Applications, *Elsevier*.
- [35] **O. David Sparkman, Z.P., Fulton G.**, (2011). Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide.
- [36] **Al-Bukhaiti, W., A. Al-Farga**, (2017). Gas Chromatography: Principles, Advantages and Applications in Food Analysis. *International Journal of Science Innovations and Discoveries*.
- [37] **Harold M. McNair, J.M.M., Nicholas H. Snow**, (2019). Basic Gas Chromatography, *Wiley*.
- [38] **URL-6** <<https://www.ssi.shimadzu.com/service-support/faq/gaschromatography-chromatography/what-is-gas-chromatography/index.html>> erişim tarihi 15.03.2025
- [39] **Wang, Z., J.R. Jocelyn Paré**, (1997). Chapter 3 Gas chromatography (GC): Principles and applications, in Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, *Elsevier*, p. 61-91.
- [40] **Dziuban, J.A., et al.**, (2004). Portable gas chromatograph with integrated components. *Sensors and Actuators A: Physical*, 115(2): p. 318-330.
- [41] **Gurleen Kaur, S.S.**, (2018). Gas Chromatography – A Brief Review. 5(7).
- [42] **F.W. Karasek, R.E.C.**, (1988). Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Principles and Techniques, *Elsevier Science B.V.*
- [43] **GC Practical Training 11, HPLC, GC (Injector)**. (2021).
- [44] **Zhang, X., et al.**, (2020). The Effect Analysis of Carrier Gas Flow Rate on the Rapid Gas Chromatographic Separation System. *Applied Bionics and Biomechanics*, 2020(1): p. 8886609.
- [45] **James Heseltine**, (2010). Hydrogen as a Carrier Gas for GC and GC–MS. *LCGC North America*, 28(1).
- [46] **Muñoz-Guerra, J.A., P. Prado, and S.V. García-Tenorio**, (2011). Use of hydrogen as a carrier gas for the analysis of steroids with anabolic activity by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(41): p. 7365-7370.
- [47] **Bernardoni, F., et al.**, (2019). Generic gas chromatography flame ionization detection method using hydrogen as the carrier gas for the analysis of solvents in pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 165: p. 366-373.
- [48] **Rahman, M.M., et al.**, (2015). Basic Overview on Gas Chromatography Columns, *Analytical Separation Science*. p. 823-834.

- [49] **Robert L. Grob, P., Eugene F. Barry**, (2004). Modern Practice of Gas Chromatography, *John Wiley & Sons*.
- [50] **Bartle, K.D. and P. Myers**, (2002). History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(9): p. 547-557.
- [51] **Poole, C.**, (2021). Gas Chromatography, *Elsevier*. 2nd ed.
- [52] **Holm, T.**, (1999). Aspects of the mechanism of the flame ionization detector. *Journal of Chromatography A*, 842(1): p. 221-227.
- [53] **Cheng, W.K., T. Summers, and N. Collings**, (1998). The fast-response flame ionization detector. *Progress in Energy and Combustion Science*, 24(2): p. 89-124.
- [54] **Hinshaw, J.V.**, (2005). The Flame Ionization Detector. *LCGC North America*, 23(12): p. 1262-1272.
- [55] **Dewar, R.A.**, (1961). The flame ionization detector a theoretical approach. *Journal of Chromatography A*, 6: p. 312-323.
- [56] **Poole, C.F.**, (2015). Ionization-based detectors for gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1421: p. 137-153.
- [57] **SRI Instruments**, DETECTORS Flame Photometric Detector - FPD.
- [58] **Clark, A.G. and K.B. Thurbide**, (2015). An improved multiple flamephotometric detector for gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1421: p. 154-161.
- [59] **Clark, A.G. and K.B. Thurbide**, (2014). Properties of a novel linear sulfur response mode in a multiple flame photometric detector. *Journal of Chromatography A*, 1326: p. 103-109.
- [60] **Brody, S.S. and J.E. Chaney**, (1966). Flame Photometric Detector: The Application of a Specific Detector for Phosphorus and for Sulfur Compounds — Sensitive to Subnanogram Quantities. *Journal of Chromatographic Science*, 4(2): p. 42-46.
- [61] **Adlard, E.R. and R.S. Juvet**, (1975). A Review of Detectors for Gas Chromatography Part II: Selective Detectors. *C R C Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 5(1): p. 13-37.
- [62] **URL-7** < <https://www.shimadzu.com> >. erişim tarihi 22.04.2025
- [63] **Ardrey, R.E.**, (2003). Liquid Chromatography - Mass Spectrometry: An Introduction, Analytical Techniques in the Sciences, *WILEY*.
- [64] **Milman, B.L.**, (2015). General principles of identification by mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 69: p. 24-33.
- [65] **Faull, K.F., et al.**, (2008). Chapter 1 An Introduction to the Basic Principles and Concepts of Mass Spectrometry, in *Comprehensive Analytical Chemistry*, *Elsevier*. p. 1-46.
- [66] **Vékey, K.**, (2001). Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography. *Journal of Chromatography A*, 921(2): p. 227-236.

- [67] **Jocelyn Paré, J.R. and V. Yaylayan**, (1997). Chapter 7 Mass spectrometry: Principles and applications, in *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, Elsevier. p. 239-266.
- [68] **Edmond de Hoffmann, V.S.**, (2007). *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. Third ed. WILEY.
- [69] **Andersson, J.T.**, (2014). Detectors, in *Practical Gas Chromatography: A Comprehensive Reference*, Springer Berlin Heidelberg, p. 205-248.
- [70] **URL-8** <<https://www.chemistrylearner.com/mass-spectrometry.html>> erişim tarihi 08.05.2025
- [71] **Sons, S.M.J.W.**, (2003). Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry: p. 488.
- [72] **Xia, L., et al.**, (2020). Recent Progress in Fast Sample Preparation Techniques. *Analytical Chemistry*, 92(1): p. 34-48.
- [73] **Raynie, D.E.**, (2006). Modern Extraction Techniques. *Analytical Chemistry*, 78(12): p. 3997-4004.
- [74] **Cunha, S.C. and J.O. Fernandes**, (2018). Extraction techniques with deep eutectic solvents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105: p. 225-239.
- [75] **Poole, C.F.**, (2003). New trends in solid-phase extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(6): p. 362-373.
- [76] **Camel, V.**, (2003). Solid phase extraction of trace elements. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 58(7): p. 1177-1233.
- [77] **URL-9** <<https://www.gilson.com/default/learninghub/post/food-safety-and-solid-phase-extraction-an-essential-guide-for-switching-from-a-manual-to-an-automated-protocol.html>> erişim tarihi 14.05.2025
- [78] **Buszewski, B. and M. Szultka**, (2012). Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42(3): p. 198-213.
- [79] **Kyle, P.B.**, (2017). Chapter 7 - Toxicology: GCMS, in *Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory*, Academic Press: San Diego. p. 131-163.
- [80] **POOLE, C.F.**, (2019). *Handbooks in Separation Science, Liquid-Phase Extraction*, Elsevier.
- [81] **Mitra, S., et al.**, (2021). Multicomponent counter mass transfer in liquid-liquid extraction in presence of spontaneous interfacial convection, 46: p. 6304-6311.
- [82] **Mukherjee, T., V. Kumar, and S. Pal**, (2023). Chapter 1 - Sampling and analysis of emerging pollutants in aquatic environment, in *Emerging Aquatic Contaminants*, Elsevier. p. 3-34.
- [83] **Tsenang, M., et al.**, (2023). A Validated Liquid–Liquid Extraction Method for the Quantitative Analysis of Ethanol in the Different Types of Home-Brewed Alcoholic Beverages of Botswana Using Gas Chromatography Flame Ionization Detector. *Chemistry Africa*, 6(1): p. 417-427.

- [84] **Liu, J., X. Li, and K.H. Row**, (2022). Development of deep eutectic solvents for sustainable chemistry. *Journal of Molecular Liquids*, 362: p. 119654.
- [85] **Smith, E.L., A.P. Abbott, and K.S. Ryder**, (2014). Deep Eutectic Solvents (DESS) and Their Applications. *Chemical Reviews*, 114(21): p. 11060-11082.
- [86] **El Achkar, T., H. Greige-Gerges, and S. Fourmentin**, (2021). Basics and properties of deep eutectic solvents: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(4): p. 3397-3408.
- [87] **Zhang, Q., et al.**, (2012). Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. *Chemical Society Reviews*, 41(21): p. 7108-7146.
- [88] **Gao, Y., et al.**, (2024). Deep eutectic solvent: Synthesis, classification, properties and application in macromolecular substances. *International Journal of Biological Macromolecules*, 278: p. 134593.
- [89] **Hansen, B.B., et al.**, (2021). Deep Eutectic Solvents: A Review of Fundamentals and Applications. *Chemical Reviews*, 121(3): p. 1232-1285.
- [90] **Lin, Z., et al.**, (2021). Ultrasound-assisted dispersive liquid-phase microextraction by solidifying L-menthol-decanoic acid hydrophobic deep eutectic solvents for detection of five fungicides in fruit juices and tea drinks. *Journal of Separation Science*, 44(20): p. 3870-3882.
- [91] **Habila, M.A., et al.**, (2022). Thiomalic acid/ferric chloride-based deep eutectic solvent for microextraction of chromium in natural water samples prior to FAAS analysis. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 102(8): p. 1825-1833.
- [92] **Devi, T.J., et al.**, (2021). Synthesis of Tri-indolylmethane Derivatives Using a Deep Eutectic Solvent. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 57(2): p. 255-264.
- [93] **Ghobadi, R. and A. Divsalar**, (2020). Enzymatic behavior of bovine liver catalase in aqueous medium of sugar based deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, 310: p. 113207.
- [94] **Fazaieli, F., et al.**, (2020). Development of organic solvents-free mode of solidification of floating organic droplet-based dispersive liquid-liquid microextraction for the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from honey samples before their determination by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 43(12): p. 2393-2400.
- [95] **Troter, D.Z., et al.**, (2016). Application of ionic liquids and deep eutectic solvents in biodiesel production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 61: p. 473-500.
- [96] **Kim, J., et al.**, (2021). A Deep Eutectic Solvent-Based Approach to Intravenous Formulation. *Advanced Healthcare Materials*, 10(18): p. 2100585.
- [97] **Álvarez, M.S. and Y. Zhang**, (2019). Sketching neoteric solvents for boosting drugs bioavailability. *Journal of Controlled Release*, 311-312: p. 225-232.

- [98] **Lomba, L., et al.**, (2021). Applications of Deep Eutectic Solvents Related to Health, Synthesis, and Extraction of Natural Based Chemicals. *Applied Sciences*, 11, DOI: 10.3390/app112110156.
- [99] **Kamal El-Deen, A., et al.**, (2023). Applications of deep eutectic solvents in microextraction and chromatographic separation techniques: Latest developments, challenges, and prospects, 265: p. 124813.
- [100] **Mustafa, N.R., et al.**, (2021). Solubility and Stability of Some Pharmaceuticals in Natural Deep Eutectic Solvents-Based Formulations, *Molecules*, 26(9).
- [101] **Khan, N. and V.C. Srivastava**, (2021). Quaternary Ammonium Salts-Based Deep Eutectic Solvents: Utilization in Extractive Desulfurization. *Energy & Fuels*, 35(15): p. 12734-12745.
- [102] **Huang, Y., et al.**, (2017). Green and efficient extraction of rutin from tartary buckwheat hull by using natural deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, 221: p. 1400-1405.
- [103] **Aydin, F., E. Yilmaz, M. Soylak**, (2017). A simple and novel deep eutectic solvent based ultrasound-assisted emulsification liquid phase microextraction method for malachite green in farmed and ornamental aquarium fish water samples. *Microchemical Journal*, 132: p. 280-285.
- [104] **Khezeli, T., A. Daneshfar**, (2017). Synthesis and application of magnetic deep eutectic solvents: Novel solvents for ultrasound assisted liquid-liquid microextraction of thiophene. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38: p. 590-597.
- [105] **Arain, M.B., E. Yilmaz, M. Soylak**, (2016). Deep eutectic solvent based ultrasonic assisted liquid phase microextraction for the FAAS determination of cobalt. *Journal of Molecular Liquids*, 224: p. 538-543.
- [106] **Raposo, F., C. Ibelli-Bianco**, (2020). Performance parameters for analytical method validation: Controversies and discrepancies among numerous guidelines. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 129: p. 115913.
- [107] **Shrivastava, A.**, (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists*, 2: p. 21-25.
- [108] **Verbić, T., Z. Dorkó, G. Horvai**, (2013). Selectivity in analytical chemistry. *Revue Roumaine de Chimie*, 58: p. 569-575.
- [109] **Araujo, P.**, (2009). Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. *Journal of Chromatography B*, 877(23): p. 2224-2234.
- [110] **Mohiuddin, S., Z. Karim**, (2025). Accurately Precise and Precisely Accurate: An Experimental Comprehension. *World Journal of Chemical Education*, 3(2): p. 40-45.
- [111] **G.W. Latimer, Jr.**, (2023). AF-1 Guidelines for Standard Method Performance Requirements, in *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*. Oxford University Press, p. 0.

- [112] **Thakur, D., N.P. Dubey, R. Singh**, (2024). A Review on Spike and Recovery Method in Analytical Method Development and Validation. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 54(7): p. 2053-2071.
- [113] **Armbruster, D.A., T. Pry**, (2008). Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. *Clin Biochem Rev*, 29 Suppl 1(Suppl 1): p. S49-52.
- [114] **Røen, B.T., et al.**, (2010). Trace determination of sulphur mustard and related compounds in water by headspace-trap gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(5): p. 761-767.
- [115] **Shishov, A., et al.**, (2020). Decomposition of deep eutectic solvents based on choline chloride and phenol in aqueous phase. *Journal of Molecular Liquids*, 301: p. 112380.
- [116] **Cesur, B., et al.**, (2023). A Simple and Effective Quantification of Water-Soluble Rhodium in Soil Samples by Magnetic-Colloidal-Gel-Assisted Dispersive Solid Phase Extraction. *ChemistrySelect*, 8(19): p. e202203887. [
- [117] **Ul Haq, H., et al.**, (2022). Deep eutectic solvent (DES) with silver nanoparticles (Ag-NPs) based assay for analysis of lead (II) in edible oils. *Food Chemistry*, 379: p. 132085.
- [118] **Haque, S.M.**, Comparative Studies of GAC Metric Tools AGREE, Analytical Eco-Scale, BAGI and WAC RGB Model to Determine Atorvastatin in Pharmaceuticals. *Critical reviews in analytical chemistry*, 2025: p. 1-15.
- [119] **Alwaili, M.A., et al.**, (2025). Quantitative analysis of quaternary mixtures in topical creams using cutting-edge HPLC technique: environmental impact and sigma methodology. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 18(1): p. 2452612.
- [120] **Pena-Pereira, F., W. Wojnowski, M. Tobiszewski**, (2020). AGREE-Analytical GREENness Metric Approach and Software. *Anal Chem*, 92(14): p. 10076-10082.
- [121] **Wojnowski, W., et al.**, (2022). AGREEprep – Analytical Greenness Metric for Sample Preparation. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 149: p. 116553.
- [122] **Manousi, N., et al.**, (2023). Blue applicability grade index (BAGI) and software: a new tool for the evaluation of method practicality. *Green Chemistry*, 25(19): p. 7598-7604.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Buket CESUR

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2021, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya (İngilizce)

MESLEKİ DENEYİM

- TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi – Stajyer, 2021
- TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi – Bursiyer, 2023-2025

YÜKSEK LİSANS TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR:

- **Cesur B.**, Kaplan M., Gölcü A., 2025. Extraction and Chromatographic Analysis of Mustard Gas Degredation Products with Deep Eutectic Solvents. *10th National Chemistry Student Congress*, May 12-14, 2025 Çanakkale, Turkey.

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Cesur B.**, Atsever N., Zaman B.T., Bakırdere S. 2023. A Simple and Effective Quantification of Water-Soluble Rhodium in Soil Samples by Magnetic-Colloidal-Gel-Assisted Dispersive Solid Phase Extraction. *ChemistrySelect*, 8 (19), e202203887.
- Özcan R., **Cesur B.**, Tezgit E., Gösterişli T.U., Bakırdere S. 2021. Determination of pyridaphenthion in soybean sprout by gas chromatography mass spectrometry with matrix matching calibration strategy after metal sieve linked double syringe based liquid-phase microextraction. *Food Chemistry*, 342, Article 128294
- Gösterişli T.U., **Cesur B.**, Tezgit E., Bakırdere E.G., Bakırdere S. 2022. Determination of palladium in precious metal waste by sieve conducted two syringes pressurized liquid phase microextraction (SCTS-PLPME) and slotted quartz tube flame atomic absorption spectrometry (SQT-FAAS). *Analytical Letters*, 55(2), 175-185.
- Gösterişli T.U., **Cesur B.**, Tezgit E., Bakırdere E.G., Bakırdere S. 2020. Determination of palladium in precious metal waste by sieve conducted two syringes pressurized liquid phase microextraction (SCTS-PLPME) and slotted quartz tube flame atomic absorption spectrometry (SQT-FAAS). *2nd International Congress on Analytical and Bioanalytical Chemistry*, March 11-14, 2020, Antalya, Turkey.

