

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİSEL YAĞLARDAKİ ALKİL GALLATLARIN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜ
ESASLI MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

KİMYA ANABİLİMDALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
YASEMİN YILMAZ

HAZİRAN 2019

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİSEL YAĞLARDAKİ ALKİL GALLATLARIN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜ
ESASLI MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yasemin YILMAZ

DANIŞMAN: Doç. Dr. Hasan ÇABUK


ZONGULDAK
Haziran 2019

KABUL:

Yasemin YILMAZ tarafından hazırlanan “Bitkisel Yağlardaki Alkil Gallatların Derin Ötektik Çözücü Esaslı Mikroekstraksiyon Yöntemiyle Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 21/06/2019

Danışman: Doç. Dr. Hasan ÇABUK

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü



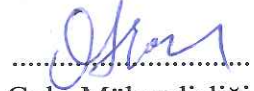
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Fatma OĞUZ ERDOĞAN

Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli Meslek Yüksekokulu, Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Özge ALGAN CAVULDAK

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü



ONAY:


Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

..../..../2019



Prof. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”



Yasemin YILMAZ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BİTKİSEL YAĞLARDAKİ ALKİL GALLATLARIN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜ ESASLI MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Yasemin YILMAZ

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hasan ÇABUK

Haziran 2019, 67 Sayfa

Derin ötektik çözücüler (DÖÇ), kolay sentez, düşük maliyet, düşük uçuculuk, yüksek biyobozunurluk ve yapısal tasarımın uygulanabilirliği gibi çekici özelliklerinden dolayı yeni nesil yeşil çözücüler olarak kabul edilmektedir. Bir DÖÇ genel olarak uygun miktarda bir hidrojen bağı alıcısının ve bir hidrojen bağı vericisinin karıştırılmasıyla hazırlanmaktadır. Elde edilen karışımın her bir bileşenden daha düşük bir erime noktasına sahip olması, karışımın oda sıcaklığında sıvı halde olmasını sağlamaktadır. Benzersiz fizikokimyasal özelliklerinden dolayı, DÖÇ'ler ayırma ve ekstraksiyon işlemlerinde geleneksel organik çözücülere bir alternatif oluşturmaktadırlar.

Bu çalışmada, bitkisel yağ örneklerindeki alkil gallatların (propil gallat ve oktil gallat) mikroekstraksiyonu için DÖÇ esaslı bir analitik yöntem önerilmektedir. Kolin klorürün etilen glikol ile karıştırılmasıyla bir hidrofilik DÖÇ hazırlanmış ve mikroekstraksiyon aşamasında kullanılmıştır. Önerilen yöntem, 1 g yağ numunesinin 120 µL DÖÇ ile 5 dakika boyunca

ÖZET (devam ediyor)

vorteks ile karıştırılmasını, ardından faz ayrımı için santrifüjlemeyi ve ultraviyole dedektörlü sıvı kromatografisiyle DÖÇ fazının doğrudan analizini içermektedir. DÖÇ türü, seyreltme çözücüsü hacmi, DÖÇ hacmi ve vorteks karıştırma süresi gibi ekstraksiyon verimini etkileyen bazı önemli parametreler optimize edilmiştir. Optimize edilen ekstraksiyon koşullarında, propil gallat ve oktil gallat için ekstraksiyon verimleri sırasıyla % 93 ve % 73 olarak bulunmuştur. Metot gözlenebilir limitleri, propil gallat ve oktil gallat için sırasıyla 2,1 µg/kg ve 4,6 µg/kg olarak bulunmuştur. Alkil gallatlar için bulunan bağıl standart sapma değerleri gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirlik olarak sırasıyla % 6,4 ve % 7,5'dan daha düşük bulunmuştur. İlgili alkil gallatların bitkisel yağ örneklerinden mikroekstraksiyonu verimli bir şekilde yapılmıştır. Standart madde ilavesi yapılan yağ örnekleri için geri kazanım değerleri % 78 ile %106 arasında değişim göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Derin ötektik çözücüler, Mikroekstraksiyon, Alkil gallatlar, Bitkisel yağlar.

Bilim Kodu: 405.03.01

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

DETERMINATION OF ALKYL GALLATES IN VEGETABLE OILS BY DEEP EUTECTIC SOLVENT BASED MICROEXTRACTION METHOD

Yasemin YILMAZ

**Zonguldak Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied
Sciences Department of Chemistry**

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Hasan ÇABUK

June 2019, 67 Pages

Deep eutectic solvents (DES) are regarded as new generation green solvents because of their attractive properties such as easy synthesis, low cost, low volatility, high biodegradability and feasibility of structural design. A DES is typically prepared by mixing an appropriate amount of a hydrogen bond acceptor and a hydrogen bond donor. The resulting mixture has a lower melting point than that of each individual component, which makes the mixture liquid at room temperature. Due to their unique physicochemical characteristics, DESs constitute an alternative to molecular organic solvents in separation and extraction processes.

In this study, a DES-based analytical method has been proposed for the microextraction of alkyl gallates (propyl gallate and octyl gallate) in vegetable oils. A hydrophilic DES was prepared by mixing choline chloride with ethylene glycol, and used in the microextraction step. The method involved the vortex mixing of the 1.0 g of oil sample with 120 μ L of DES for 5 min, subsequent centrifugation for the phase separation, and direct analysis of the DES

ABSTRACT (continued)

phase by liquid chromatography with ultraviolet detection. Some important parameters affecting the extraction efficiency such as type of DES, volume of diluent solvent, volume of DES and vortex stirring time have been optimized. Under optimal extraction conditions, the extraction recoveries for propyl gallate and octyl gallate were 93 % and 73 %, respectively. The method detection limits for propyl gallate and octyl gallate were 2,1 µg/kg and 4,6 µg/kg, respectively. Relative standard deviations obtained for the alkyl gallates were less than 6,4 % and 7,5 % for intra-day and inter-day precisions, respectively. The microextraction of related alkyl gallates from vegetable oil samples was carried out efficiently. The recoveries obtained from spiked oil samples were in the range of 78–106 %.

Keywords: Deep eutectic solvents, Microextraction, Alkyl gallates, Vegetable oils.

Science Code: 405.03.01.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca devamlı yardım eden ve yol gösteren, akademik tecrübesi ve bilgisiyle kendimi geliştirmeme yardımcı olan, hoşgörüsünü, sabrını, dostluğunu ve desteğini eksik etmeyen çok kıymetli hocam ve danışmanım Sayın Doç. Dr. Hasan ÇABUK'a teşekkürü borç bilirim.

Tez aşamasında laboratuvar çalışmalarında yardımını esirgemeyen Sayın Arş. Grv. Elif YILDIZ'a ve ders aşamasında özellikle İstanbul-Zonguldak arası mesafeleri gidip gelirken motivasyonumun en yüksek seviyede olmasını sağlayan Fen Edebiyat Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Şadi ŞEN'e teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca sevgi ve desteklerini asla esirgemeyen, eğitim sürecim boyunca destekleriyle hep yanımda olan annem Hayriye GENÇ'e, mutluluğumu, derdimi, güzel ve kötü günümü birlikte yaşadığım, akademik gelişmem için daima destek veren değerli eşim Prof. Dr. Rıza YILMAZ'a ve yüksek lisans yapma fikrini aklıma düşüren, onun için bunu yapmalıyım dedirten bir tanecik oğlum Ali Güney YILMAZ'a çok teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
1.1 KİMYASAL ANALİZDE ÖRNEK HAZIRLAMA	1
1.2 KATI ÖRNEKLER İÇİN EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ	2
1.3 SIVI ÖRNEKLER İÇİN EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ	5
1.4 MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ	6
1.4.1 Katı-Faz Mikroekstraksiyon	7
1.4.2 Tek Damla Mikroekstraksiyon.....	9
1.4.3 Oyuk Fiber Sıvı-Faz Mikroekstraksiyon	11
1.4.4 Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon	12
1.5 MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNDE KULANILAN ÇÖZÜCÜLER	14
1.5.1 İyonik Sıvılar	15
1.5.2 Derin Ötektik Çözücüler	18
1.6 LİPİDLER	23
1.7 LİPİD OKSİDASYONU VE ANTİOKSİDANLAR	25
1.7 SENTETİK ANTİOKSİDANLAR.....	28
1.8 ÇALIŞMANIN AMACI VE ÖNEMİ	30

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
BÖLÜM 2 DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	31
2.1 KULLANILAN MADDE VE MALZEMELER.....	31
2.2 STANDART ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI.....	32
2.3 DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERİN SENTEZİ.....	32
2.4 BİTKİSEL YAĞ ÖRNEKLERİNİN EKSTRAKSİYONU.....	33
2.5 KROMATOĞRAFİK ANALİZ.....	34
2.6 KROMATOĞRAFİK ANALİZ ŞARTLARI.....	35
2.7 KROMATOĞRAFİK SİSTEMİN KALİBRASYONU.....	36
BÖLÜM 3 SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME.....	39
3.1 MİKROEKSTRAKSİYON ŞARTLARININ BELİRLENMESİ.....	39
3.1.1 DÖÇ Seçimi.....	40
3.1.2 Etilen Glikol Esaslı DÖÇ'ün Karakterizasyonu.....	42
3.1.3 Seyreltme Çözücüsünün Hacminin Seçimi.....	43
3.1.4 DÖÇ Hacminin Seçimi.....	44
3.1.5 Vorteks Karıştırma Süresinin Seçimi.....	46
3.2 METODUN ANALİTİK PERFORMANSI.....	48
3.3 ÖNERİLEN METODUN FARKLI YAĞ ÖRNEKLERİNE UYGULANMASI.....	50
3.4 ÖNERİLEN METODUN DİĞER METOTLARLA KARŞILAŞTIRILMASI.....	54
3.5 GENEL DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER.....	55
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 KFME yönteminin şematik gösterimi.....	8
Şekil 1.2 TDME yönteminin şematik gösterimi.....	10
Şekil 1.3 OF-SFME yönteminin şematik gösterimi.....	12
Şekil 1.4 DSSME yönteminin şematik gösterimi.....	13
Şekil 1.5 İyonik sıvıların sentezinde yaygın kullanılan katyon ve anyonlar.....	15
Şekil 1.6 DÖÇ'lerin genel sentez mekanizması.....	19
Şekil 1.7 DÖÇ'lerin sentezinde yaygın olarak kullanılan hidrojen bağı vericileri ve hidrojen bağı alıcıları.....	19
Şekil 1.8 Lipid otoksidasyon yolları.....	26
Şekil 1.9 Fenolik antioksidanların etki mekanizması.....	27
Şekil 1.10 Fenoksil radikalinin rezonans kararlılığı.....	27
Şekil 1.11 Yaygın kullanılan sentetik antioksidanların kimyasal yapıları.....	28
Şekil 2.1 DÖÇ'lerin sentezinin şematik gösterimi.....	33
Şekil 2.2 DÖÇ'lerin kimyasal sentez mekanizmaları.....	33
Şekil 2.3 Bitkisel yağ örneklerine uygulanan ekstraksiyon işleminin şematik gösterimi.....	34
Şekil 2.4 UV dedektörlü yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC-UV).....	35
Şekil 2.5 Alkil gallatları içeren standart çözeltinin (5 µg/mL) analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı.....	36
Şekil 2.6 Alkil gallatlar için elde edilen kalibrasyon grafikleri.....	37
Şekil 3.1 Etilen glikol ve gliserol esaslı DÖÇ'lerin alkil gallatlar için ekstraksiyon verimleri.....	41
Şekil 3.2 a) KoCl, b) etilen glikol ve c) DÖÇ için elde edilen FT-IR spektrumları.....	42
Şekil 3.3 Farklı hacimlerde seyreltme çözücüsü kullanılarak alkil gallatlar için elde edilen ekstraksiyon verimleri.....	44

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.4 Farklı DÖÇ hacimlerinde alkil gallatlar için elde edilen ekstraksiyon verimleri.	45
Şekil 3.5 Farklı vorteks karıştırma sürelerinde alkil gallatlar için elde edilen ekstraksiyon verimleri.....	46
Şekil 3.6 Propil gallat için elde edilen kalibrasyon grafiği, kalibrasyon denklemi ve belirleme katsayısı.	49
Şekil 3.7 Oktil gallat için elde edilen kalibrasyon grafiği, kalibrasyon denklemi ve belirleme katsayısı.	49
Şekil 3.8 a) Standart madde ilavesi yapılmayan, b) 0,25 µg/g ve c) 2,5 µg/g konsantrasyonlarında olacak şekilde standart madde ilavesi yapılan ayçiçek yağı-1 örneğinin analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı. 1: Propil gallat, 2: Oktil gallat.	51
Şekil 3.9 a) Standart madde ilavesi yapılmayan, b) 0,25 µg/g ve c) 2,5 µg/g konsantrasyonlarında olacak şekilde standart madde ilavesi yapılan ayçiçek yağı-2 örneğinin analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı. 1: Propil gallat, 2: Oktil gallat.	51
Şekil 3.10 a) Standart madde ilavesi yapılmayan, b) 0,25 µg/g ve c) 2,5 µg/g konsantrasyonlarında olacak şekilde standart madde ilavesi yapılan ayçiçek yağı-3 örneğinin analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı. 1: Propil gallat, 2: Oktil gallat.	52
Şekil 3.11 a) Standart madde ilavesi yapılmayan, b) 0,25 µg/g ve c) 2,5 µg/g konsantrasyonlarında olacak şekilde standart madde ilavesi yapılan mısır yağı örneğinin analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı. 1: Propil gallat, 2: Oktil gallat.....	52
Şekil 3.12 a) Standart madde ilavesi yapılmayan, b) 0,25 µg/g ve c) 2,5 µg/g konsantrasyonlarında olacak şekilde standart madde ilavesi yapılan fındık yağı örneğinin analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı. 1: Propil gallat, 2: Oktil gallat.....	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1	Katı örneklerin ekstraksiyonunda kullanılan tekniklerin karşılaştırılması	5
Çizelge 1.2	Yaygın olarak kullanılan bazı DÖÇ'lerin fizikokimyasal parametreleri	20
Çizelge 1.3	Sıvı örneklere uygulanan bazı DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yöntemleri.	23
Çizelge 2.1	HPLC-UV sisteminin özellikleri.....	35
Çizelge 2.2	Kalibrasyon işlemlerine ait kalibrasyon denklemleri, R^2 , LOD, LOQ değerleri.	37
Çizelge 3.1	Alkil gallatların kimyasal yapıları ve bazı fizikokimyasal parametreleri.	47
Çizelge 3.2	Alkil gallatlar için DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yönteminin analitik parametreleri	48
Çizelge 3.3	Standart madde ilavesi yapılan bitkisel yağ örneklerinin analizinden elde edilen yüzde geri kazanım ve BSS değerleri.	54
Çizelge 3.4	Yağ örneklerindeki alkil gallatlar için önerilen DES esaslı mikroekstraksiyon yönteminin literatürdeki diğer yöntemlerle karşılaştırılması.	55



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Santigrat derece
cP	: Centipoise
g	: Gram
kg	: Kilogram
kHz	: Kilohertz
L	: Litre
Log K_{ow}	: Oktanol-su dağılım sabitinin logaritması
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
MPa	: Megapaskal
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
pK _a	: Asitlik sabitinin eksi logaritması
rpm	: Dakikadaki devir sayısı

KISALTMALAR

BNE	: Bulutlanma noktası ekstraksiyonu
BSS	: Bağlı standart sapma
CE	: Kapiler elektroforez
DA	: Doğrusal aralık
DAD	: Diyot dizi dedektörü
DNA	: Deoksiribo nükleik asit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

DÖÇ	: Derin ötektik çözücü
DSSME	: Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon
DVB	: Divinilbenzen
ETAAS	: Elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi
FAAS	: Alevli atomik absorpsiyon spektrometresi
FT-IR	: Fourier dönüşümlü infrared spektrometresi
GC	: Gaz kromatografisi
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
HBA	: Hidrojen bağı alıcısı
HBV	: Hidrojen bağı vericisi
HD	: Hava destekli
HPLC	: Yüksek performans sıvı kromatografisi
HPLC-UV	: UV dedektörlü yüksek performans sıvı kromatografisi
KFE	: Katı-faz ekstraksiyon
KFME	: Katı-faz mikroekstraksiyon
KoCl	: Kolin klorür
LOD	: Gözlenebilme limiti
LOQ	: Tayin limiti
MKFD	: Matriks katı-faz dispersiyon
MKFE	: Manyetik katı-faz ekstraksiyon
OF-SFME	: Oyuk fiber sıvı-faz mikroekstraksiyon
OG	: Oktil gallat
PDMS	: Polidimetilsiloksan
PG	: Propil gallat
R ²	: Belirleme katsayısı
SFME	: Sıvı-faz mikroekstraksiyon
S/G	: Sinyal/gürültü
SS	: Standart sapma
SSE	: Sıvı-sıvı ekstraksiyon
SSME	: Sıvı-sıvı mikroekstraksiyon
TDME	: Tek damla mikroekstraksiyon
TOF-MS	: Uçuş zamanlı-kütle spektrometresi

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

UD	: Ultrasonik destekli
UDE	: Ultrasonik destekli ekstraksiyon
UV	: Ultraviyole
VD	: Vorteks destekli





BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 KİMYASAL ANALİZDE ÖRNEK HAZIRLAMA

Günümüzde sanayinin ve teknolojinin gelişmesi birçok çevre sorununun ortaya çıkmasına neden olmuş ve bu da analitik kimyada kullanılan analiz metotlarının önemini daha da artırmıştır. Birçok alanda kimyasal analizlere ihtiyaç duyulması yeni analiz metotlarının geliştirilmesine olan ilgiyi artırmaktadır. Bir numunenin kimyasal analizi değişik basamaklardan oluşmaktadır. Bu basamaklar genel olarak numune alma, örneğin analiz için hazırlanması, ölçümün yapılması ve sonuçların hesaplanması şeklinde sıralanmaktadır. Bunlar içerisinde örneğin analiz için hazırlanması basamağı özel bir öneme sahiptir.

Günümüzde enstrümantal analiz yöntemlerindeki önemli teknolojik ilerlemelere rağmen, bazı karmaşık örneklerdeki (çevre, gıda ve biyolojik örnekler) hedef analitler için enstrümantal analiz öncesinde mutlaka bir örnek hazırlama basamağına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu anlamda örnek hazırlama basamağı, analitlerin matriks ortamından ekstraksiyonu, temizlenmesi, konsantre edilmesi ve enstrümantal sistem ile uyumlu hale getirilmesi için önemli bir adımdır [1].

Enstrümantal analiz öncesi örnek hazırlama işlemleri çoğu zaman zor, pahalı ve uzun süren işlemlerdir. Uygun bir örnek hazırlama planının seçilmesi ve optimize edilmesi, analizin nihai başarısında kilit bir faktördür ve uygun bir örnek hazırlama prosedürünün seçilmesi, analizin güvenilirliğini ve doğruluğunu büyük ölçüde etkilemektedir. Yıllardır en sık kullanılan örnek hazırlama yöntemleri sıvı-sıvı ekstraksiyon ve sokslet ekstraksiyon yöntemleri olmuştur. Bu yöntemler genel olarak klasik ekstraksiyon yöntemleri olarak bilinmektedir. Fazla miktarda toksik organik çözücü harcanması ve uzun zaman alan çok adımlı prosedürler gerektirmesi klasik ekstraksiyon yöntemlerinin dezavantajları arasındadır. Örnek hazırlamada temel olarak, örnek matriksinin homojen hale getirilmesi sonrasında örnek matriksinde bulunan bir ya da

birden çok analit, farklı çözünürlük veya adsorpsiyon özellikleri kullanılarak diğer bir sıvı veya katı faza transfer edilmektedir. Bu işlem genel olarak ekstraksiyon olarak adlandırılmaktadır. Literatürde farklı örneklerin ekstraksiyonu için çok sayıda yöntem verilmektedir ve bu ekstraksiyon yöntemleri genellikle örnek matriksinin katı veya sıvı olmasına göre değişiklik göstermektedir. Kullanılan bu tekniklerin her birinin kendi avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır.

1.2 KATI ÖRNEKLER İÇİN EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

Katı örneklerdeki organik analitlerin ekstraksiyonunda farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır. Sokslet ekstraksiyonu, ultrasonik ekstraksiyon, mikrodalga esaslı ekstraksiyon, hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve matriks katı-faz dispersiyonu bu yöntemlerden en önemlileridir [2].

Sokslet ekstraksiyonu katı örneklerin ekstraksiyonu için uzun yıllardır kullanılan bir yöntemdir. Ekstraksiyon işlemi özel tasarlanmış bir cam düzenek kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bu düzeneğin alt kısmında bir cam balon, orta kısmında katı numunenin bulunduğu ekstraksiyon kolonu ve üst kısımdaysa bir soğutucu bulunmaktadır. Ekstraksiyon işlemi için homojen hale getirilen katı örnek selülozdan yapılmış bir kartuşa doldurulur ve bu kartuş Sokslet düzeneğinin orta kısmında bulunan ekstraksiyon kolonunun içine yerleştirilir. Cam balona konulan ekstraksiyon çözücüsü bir elektrikli ısıtıcı yardımıyla ısıtılır ve çözücünün buharlaşması sağlanır. Buharlaşan çözücü ilk aşamada örnek ile temas etmeden ekstraksiyon kolundan geçerek geri soğutucuya ulaşır. Geri soğutucuda yoğunlaşan çözücü ikinci aşamada kartuş içerisindeki örneğin üzerine damlamaya başlar ve çözücüyle katı örneğin teması gerçekleşmiş olur. Ekstraksiyon kolonundaki özel tasarım sifon sistemi sayesinde örnekle etkileşen çözücü belli bir hacim seviyesine ulaştığında tekrar cam balona boşalır. Bu işlem defalarca tekrarlanır ve çözücüyle katı örneğin uzun süreli teması gerçekleşmiş olur. Yöntemin maliyetinin düşük olması, örneğin defalarca temiz çözücü ile temas etmesi, uygulanmasında uzmanlık gerektirmemesi, büyük miktarlarda örneklerin ekstraksiyonuna imkan tanınması ve ekstraksiyonun ardından süzme işlemine ihtiyaç duyulmaması tekniğin avantajlı yönleridir. Uygulamanın çok zaman alması, fazla çözücü gerektirmesi ve ekstraksiyonun ardından uçurma basamağına ihtiyaç duyulması ise sokslet ekstraksiyonunun dezavantajlarıdır [3].

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi, hedef analitlerin matriks ortamından ultrasonik ses dalgalarının kullanılmasıyla izole edilmesi esasına dayanmaktadır. Genellikle ekstraksiyon için 20 kHz ile 500 kHz aralığında frekansa sahip ses dalgaları uygulanmaktadır [4]. Ultrasonik ekstraksiyon iki farklı yolla uygulanmaktadır. En yaygın kullanılan uygulamada, örnek ve ekstraksiyon çözücüsü bir kap içerisinde ultrasonik su banyosuna yerleştirilmekte ve belirli bir süre ses dalgalarına maruz tutulmaktadır. Diğer uygulamada ise bir ultrasonik prob doğrudan ekstraksiyon kabına daldırılmaktadır. Ekstraksiyon ortamında ultrasonik ses dalgaları, çözücü içerisinde birçok ufak hava kabarcığının oluşmasına ve patlamasına (kavitasyon) neden olmaktadır. Bu etki katı numunenin parçalanmasını sağladığından dolayı çözücünün katı numuneyle teması etkin bir şekilde gerçekleşmektedir [5].

Mikrodalga esaslı ekstraksiyon tekniğinde, ekstraksiyon çözücüsü mikrodalga enerjisi ile ısıtılmaktadır. Mikrodalga enerjisi 300 MHz ile 300 GHz aralığında frekansa sahip elektromanyetik radyasyondur. Mikrodalga enerjisi kullanarak ısıtma prensibi, mikrodalgaların iyonik iletim ve dipol rotasyonu ile moleküller üzerindeki doğrudan etkisine dayanmaktadır. Birçok uygulamada bu iki mekanizma aynı anda gerçekleşir. İyonik iletim, bir elektromanyetik alan uygulandığında iyonların elektroforetik göçüdür. Çözeltinin bu iyon akışına direnci sürtünmeyle sonuçlanmakta ve dolayısıyla çözelti ısınmaktadır. Mikrodalga enerjisi ile ısıtma işleminin yapılabilmesi için kullanılan çözücünün veya çözücü karışımının polar özelliğinin bulunması gerekmektedir. Polar moleküller ve iyonik çözeltiler (genellikle asitler), kalıcı bir dipol momente sahip olduklarından mikrodalga enerjisini kuvvetli bir şekilde absorbe ederler. Bununla birlikte, hekzan gibi polar olmayan çözücüler, mikrodalgalara maruz kaldıklarında ısınmazlar. Mikrodalga esaslı ekstraksiyon tekniği iki farklı sistemle gerçekleştirilmektedir. En yaygın sistem, sıcaklık ve basıncın kontrol edilebildiği kapalı bir kap içerisinde yapılan kapalı sistem ekstraksiyonudur. Diğer yöntem ise atmosferik basınç altında açık kap içerisinde gerçekleştirilmektedir [6].

Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, yüksek sıcaklık ve basınç şartlarında (50-200 °C ve 10–15 MPa) analitlerin katı örneklerden ekstraksiyonunda kullanılan bir tekniktir. Basıncılı çözücü ekstraksiyonu olarak da bilinen bu teknikte yüksek sıcaklıkla birlikte çözücünün viskozitesi ve yüzey gerilimi azalmakta ve çözücünün katı içine difüzyonun daha yüksek oranda gerçekleşmektedir. Sıcaklığın artırılması ayrıca matriks-analit etkileşimlerinin bozulmasına neden olmaktadır. Uygulanan yüksek basınç ile de çözücünün kaynama noktasının üzerindeki sıcaklıklarda sıvı halde kalması sağlanmaktadır. Dolayısıyla yüksek

sıcaklık ve basınç koşullarında yapılan ekstraksiyon işlemiyle analitler için yüksek ekstraksiyon verimleri elde edilmektedir [7].

Süperkritik sıvı ekstraksiyonu tekniğinde organik çözücüler yerine süperkritik sıvı özelliği gösteren maddeler kullanılmaktadır. Bazı maddeler kritik sıcaklık ve kritik basınç noktasının üzerinde süperkritik sıvı özelliği gösterirler. Süperkritik sıvıların fizikokimyasal özellikleri, sıvılarla gazların özellikleri arasındadır. Bu özellik süperkritik sıvıların daha etkin bir çözücü olmasını sağlamaktadır. Süperkritik sıvılar, düşük yüzey gerilimine ve viskoziteye sahip olduklarından gözenekli katılara daha kolay girebilmektedir. Süperkritik sıvı ekstraksiyonunda karbon dioksit, azot oksit, etan, propan, *n*-pentan, amonyak, florofrom, kükürt hekzaflorür ve su gibi pek çok çözücü kullanılmaktadır. Karbondioksit halihazırda süperkritik koşullara kolayca ulaşabildiği ve diğer akışkanlara göre bazı avantajlara (düşük toksisite, yanmazlık, düşük maliyet ve yüksek saflık) sahip olduğu için en çok tercih edilen bir çözücüdür. Bununla birlikte, karbondioksitin polar analitler için ekstraksiyon verimliliği düşüktür. Bu nedenle birçok uygulamada ekstraksiyon verimliliğini artırmak için metanol katkılı karbondioksit kullanılmaktadır [8].

Matriks katı faz dispersiyon (MKFD) yöntemi, ilk olarak 1989 yılında Barker ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş ve hayvan dokularındaki ilaç kalıntılarının ekstraksiyonu için kullanılmıştır [9]. Başlangıçta katı numunelerin parçalanması ve ekstraksiyonu için geliştirilmiş olsa da daha sonradan yarı-katı ve yüksek viskoziteye sahip karmaşık örneklerin ekstraksiyonunda da kullanılmıştır. Matriks katı faz dispersiyon yönteminde ilk olarak analiz edilecek örnek ile bir katı destek maddesi (oktadesil silika, C₁₈, florisil, silika jel, karbon nanotüpler gibi) havan içerisinde iyice homojen hale gelene kadar karıştırılmaktadır. Bu aşamada örnek matriksinin daha küçük parçalara ayrılması ve dispersiyonu sağlanmaktadır. Homojen hale getirilen karışım daha sonra uygun boyutlarda cam veya plastik bir kolona doldurulmakta ve bir piston yardımıyla sıkıştırılmaktadır. Ardından karışım içerisinde bulunan analitler uygun bir çözücünün kullanıldığı elüsyon işlemiyle geri kazanılmaktadır. MKFD uygulamalarında elüsyon işlemi sırasında çözücünün kolondan geçişi yerçekimi etkisiyle gerçekleşmektedir ancak vakum uygulayarak da işlem hızlandırılabilir [10]. MKFD yöntemi, katı örneklerin ekstraksiyonunda kullanılan Soxhlet ekstraksiyonu, mikrodalga esaslı ekstraksiyon, hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu gibi yöntemlere bir alternatif kabul edilmektedir. Diğer tekniklerin aksine

MKFD daha makul ekstraksiyon koşulları (oda sıcaklığı ve normal atmosfer basıncı) gerektirmektedir [11].

Katı örneklerin ekstraksiyonunda kullanılan tekniklerin bazı özelliklerine göre karşılaştırılması Çizelge 1.1’de verilmiştir.

Çizelge 1.1 Katı örneklerin ekstraksiyonunda kullanılan tekniklerin karşılaştırılması [12] .

Ekstraksiyon metodu	Örnek miktarı	Maliyet	Ekstraksiyon süresi	Çözücü kullanımı	Otomasyona uygunluk
Sokslet ekstraksiyonu	10-100 g	Düşük	6-24 saat	>100 mL	Düşük
Ultrasonik ekstraksiyon	1-30 g	Orta	3-40 dakika	<50 mL	Orta
Mikrodalga esaslı ekstraksiyon	1-10 g	Orta	5-40 dakika	<50 mL	Orta
Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu	5-50 g	Yüksek	5-40 dakika	<50 mL	Yüksek
Süperkritik sıvı ekstraksiyonu	1-10 g	Yüksek	20-60 dakika	0-10 mL	Yüksek
Matriks katı-faz dispersiyonu	0,5-10 g	Düşük	2-20 dakika	1-5 mL	Düşük

1.3 SIVI ÖRNEKLER İÇİN EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

Sıvı örnekler için uzun yıllardır kullanılan ekstraksiyon yöntemleri sıvı-sıvı ekstraksiyon (SSE) ve katı-faz ekstraksiyon (KFE) yöntemleridir. SSE yöntemi su örneğinin ve suyla karışmayan bir organik çözücünün ayırma hunisi kullanılarak çalkalanması esasına dayanmaktadır ve bilinen en eski ekstraksiyon yöntemidir. Çalkalama işlemi analitlerin oktanol-su dağılma katsayılarına göre organik çözücüye transfer olmalarını sağlamaktadır. Fazla miktarda çözücü harcanması, ekstraksiyon sırasında emülsiyon oluşması ve hepsinden önemlisi büyük miktarlarda çevresel kirleticilerin üretilmesi SSE yönteminin dezavantajlarıdır. SSE yönteminin bir başka dezavantajı ise hidrofilik analitler için uygun olmamasıdır [13].

SSE yönteminde çok fazla çözücünün ve zamanın harcanması, ayrıca bu yöntemle suda yüksek çözünürlüğe sahip polar maddelerin analizlerinin düşük verimle yapılmasından dolayı 1970’li yılların ortalarında daha pratik ve ekonomik bir yöntem olan KFE yöntemi

kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemde su numunesi, içinde 100-500 mg adsorbent bulunan tek kullanımlık kolondan geçirilmektedir. Daha sonra adsorbent üzerinde tutunan analitler uygun bir organik çözücüyle geri kazanılarak analiz edilmektedir. Bu yöntemin uygulanmasında dikkat edilmesi gereken önemli noktalar, analizi yapılacak olan maddenin bazı fizikokimyasal özelliklerine göre uygun adsorbentin ve çözücünün belirlenmesidir. Alkil bağlı silikalar, kopolimerler (çapraz bağlı polistiren-divinil benzen, hidrofilik-lipofilik dengelenmiş polimerler), molekül baskılı polimerler ve karbon esaslı adsorbentler (karbon nanotüpler ve grafen) en çok kullanılan adsorbentlerdir [14]. KFE yönteminde SSE yöntemine kıyasla daha az çözücü harcanmakta ve yüksek ekstraksiyon verimleri elde edilebilmektedir. Ancak KFE kolonunun koşullandırılması, numunenin kolondan geçirilmesi ve analitlerin kolondan geri kazanılması gibi farklı basamaklar içerdiğinden KFE tekniği zaman alıcı bir yöntemdir. Ayrıca ticari olarak temin edilen KFE kolonlarının maliyeti de oldukça yüksektir [15].

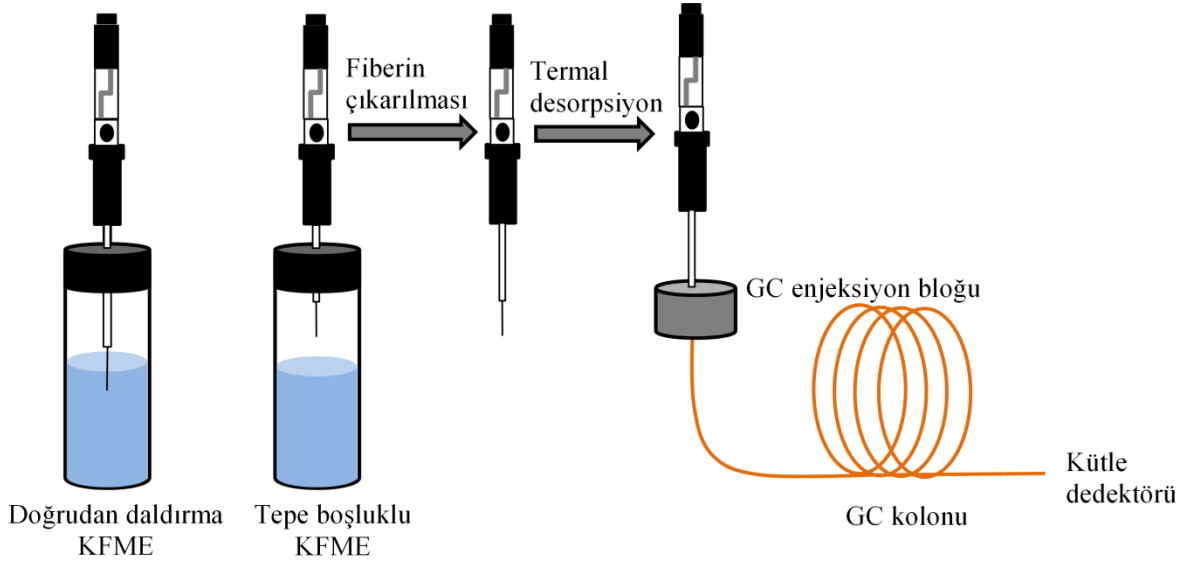
1.4 MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

Toksik etkiye sahip organik çözücülerin yüksek miktarda kullanıldığı geleneksel yöntemler, hem çevre kirliliğine yol açarak doğaya zarar vermekte hem de insan sağlığı açısından büyük tehlike oluşturmaktadır. SSE ve KFE yöntemlerinin dezavantajlarının üstesinden gelmek için, basit, hızlı, hassas, ucuz, çevre dostu ve az miktarda ekstraksiyon çözücüsü gerektiren mikroekstraksiyon yöntemleri, örnek hazırlama aşamasında son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu yöntemlerde mikrolitre seviyesinde ekstraksiyon çözücüsü kullanıldığından dolayı herhangi bir uçurma işlemine gerek duyulmadan analitlerin doğrudan kromatografik analizleri yapılabilmektedir. Mikroekstraksiyon yöntemleri geleneksel yöntemlere kıyasla analitler için yüksek zenginleştirme sağlamaktadır. Son yıllarda birçok mikroekstraksiyon esaslı örnek hazırlama yöntemi geliştirilmiş ve farklı tipteki örneklerle uygulanmıştır [16]. Katı-faz mikroekstraksiyon (KFME), tek damla mikroekstraksiyon (TDME), oyuk fiber sıvı-faz mikroekstraksiyon (OF-SFME) ve dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) yöntemleri son yıllarda geliştirilen başlıca mikroekstraksiyon yöntemleridir.

1.4.1 Katı-Faz Mikroekstraksiyon

Katı-faz mikroekstraksiyon (KFME) yöntemi ilk olarak Arthur ve Pawliszyn tarafından 1990 yılında geliştirilmiş ve bununla birlikte analitik kimyada mikroekstraksiyon yöntemlerine ilgi de başlamıştır [17]. Bu teknik, sabit bir faz (sıvı polimer veya katı adsorbent) ile kaplanmış ergimiş silika fiber ile analitler arasında ekstraksiyon dengesinin kurulması esasına dayanmaktadır. KFME yönteminin aşamaları Şekil 1.1’de verilmiştir. KFME fiberi, ergimiş silika üzerine adsorbant kaplanmasıyla elde edilir ve KFME enjektörünün içine yerleştirilir. Analiz edilecek örnek çözeltisi içerisine KFME enjektörü yerleştirilir, ardından piston aşağı doğru ittirilir, böylece fiberin iğne ucundan çıkması sağlanmış olur. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra fiber tekrar geri çekilir ve enjektörün numune ortamındaki işlemi bitmiş olur. Ardından fibere tutunmuş halde bulunan analitlerin desorpsiyonu bir organik çözücü ile veya çözücü olmadan termal desorpsiyon işlemi ile yapılmaktadır [18].

KFME tekniği, doğrudan daldırma ekstraksiyon, tepe boşluklu ekstraksiyon ve membran korumalı ekstraksiyon olmak üzere üç farklı şekilde uygulanmaktadır. Doğrudan daldırma yönteminde fiber sıvı örneğin içerisine daldırılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmektedir. Tepe boşluklu analizde ise fiber numune ile doğrudan temas halinde değildir. Buhar fazındaki analitler, difüzyon veya doğal hava akımı yolu ile fibere ulaşmaktadır. Bu yöntemde fiber, numunede bulunan yüksek molekül ağırlıklı ve uçucu olmayan safsızlıkların zararlı etkilerinden korunmaktadır. Tepe boşluklu KFME yöntemi genellikle katı veya sıvı örneklerdeki uçucu analitlerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Membran korumalı yöntem ise genellikle çok kirli numunelerde fiberin zarar görmesini engellemek için kullanılmaktadır. Membran korumalı yöntem, çok düşük uçuculuğa sahip analitlerin belirlenmesinde tepe boşluklu yöntemle göre daha avantajlıdır. Ayrıca analitlere göre uygun membranın seçilmesi yöntemle ilave seçicilik kazandırmaktadır. Membran korumalı yöntemde analitlerin membrandan geçerek fibere ulaşması gerektiğinden ekstraksiyon hızı diğer uygulamalara göre daha yavaştır [19].



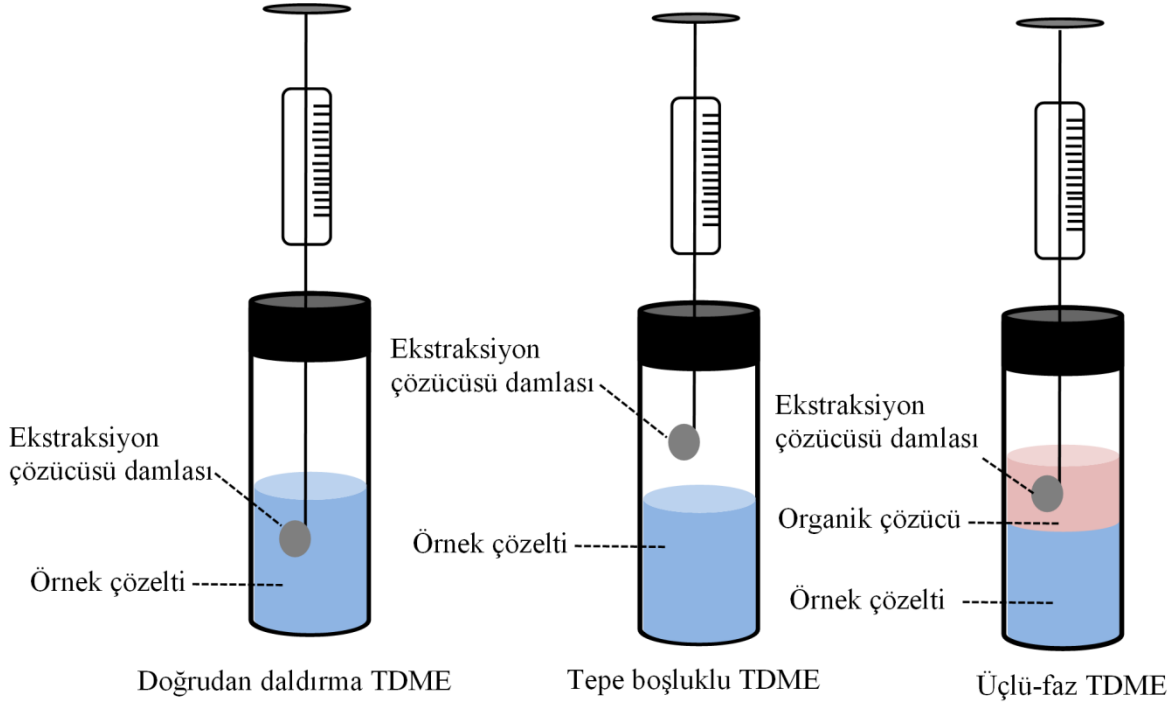
Şekil 1.1 KFME yönteminin şematik gösterimi.

KFME yöntemlerinde ekstraksiyon verimliliği sabit fazın türü, numune hacmi, sıcaklık, ekstraksiyon süresi, iyon şiddeti, uygulama biçimi, analitlerin fiberden desorpsiyonu ve türevlendirme gibi birçok parametreye bağlıdır. Yöntemin hassasiyeti esas olarak analitlerin örnek ile fiberin sabit fazı arasındaki dağılıma katsayılarına bağlıdır. Polar bileşikler için polar sabit fazlar, apolar bileşikler için ise apolar sabit fazlar kullanılmaktadır. Ekstraksiyon verimliliği ayrıca sabit fazın film kalınlığı ile de değişiklik göstermektedir. Kalın filmler ince filmlere kıyasla daha fazla miktarda analitin ekstraksiyonuna olanak sağlamaktadır. Kalın filmlere sahip fiberler, analitlerin uçucu olması durumuna daha etkilidirler. Böylece kromatografik analiz sistemine kayıp olmadan daha iyi taşınırlar. Diğer taraftan, yüksek kaynama noktalarına sahip maddelerin izolasyonu ve zenginleştirilmesi için ise ince filmler tavsiye edilmektedir. Çünkü ekstraksiyon ve desorpsiyon adımları nispeten daha kısa sürede gerçekleşmektedir [20]. Fiber kaplama malzemesi (sabit faz) olarak genellikle polidimetilsiloksan (PDMS), divinilbenzen (DVB), poliakrilat, karboksen ve karbovaks (polietilen glikol) gibi adsorbentler veya bunların karışımları kullanılmaktadır. Genel uygulamalar için PDMS kaplı fiberler yaygın olarak kullanılmaktadır [21]. Son yıllarda ise fiber kaplama malzemesi olarak molekül baskılı polimerler, metal-organik kafes yapılar, iyonik sıvılar ve bazı karbon malzemelerin (aktif karbon, karbon nanotüpler ve grafen) kullanıldığı KFME yöntemleri geliştirilmiştir [22].

1.4.2 Tek Damla Mikroekstraksiyon

Damla esaslı mikroekstraksiyon yöntemi ilk olarak 1995 yılında Liu ve Dasgupta tarafından geliştirilmiş ve bu yöntem ile bir gaz karışımı içerisindeki amonyak ve kükürt dioksit gazlarının ekstraksiyonu tek bir sıvı damlası ile yapılmıştır [23]. Ardından, 1996 yılında aynı araştırmacılar tarafından bir kloroform damlası (1,3 µL) kullanılarak sodyum dodesil sülfat iyon çiftinin ekstraksiyonunu gerçekleştirilmiştir [24]. Yaklaşık aynı zamanlarda Jeannot ve Cantwell tarafından, bir sulu örnek içerisindeki analitin (4-metilasetofenon) bir teflon çubuğun ucunda bulunan *n*-oktan (8 µL) damlası ile ekstrakte edildiği bir yöntem geliştirilmiştir [25]. Bu çalışmaları takiben, bir mikro-enjektörün iğne ucunda asılı duran tek damla çözücü ile analitlerin ekstraksiyonuna dayanan yöntemler geliştirilmiş ve bu yöntemler genel olarak tek damla mikroekstraksiyon (TDME) olarak adlandırılmıştır.

TDME yönteminin şematik gösterimi Şekil 1.2’de verilmiştir. Yönteminin doğrudan daldırma TDME, tepe boşluklu TDME ve üçlü faz TDME olmak üzere farklı uygulama biçimleri bulunmaktadır. Doğrudan daldırma TDME yönteminde analitlerin ekstraksiyonu için organik damla doğrudan örnek çözeltisine daldırılmaktadır. Tepe boşluklu TDME yönteminde ise organik damla örnek çözeltisine temas etmeden üst kısımda bulunmaktadır. Üçlü-faz TDME yönteminde ise sulu çözeltideki analitler önce organik çözücüye ve ardından bir su damlasına transfer olmaktadır. Her bir uygulamada da ekstraksiyon sonrası çözücü damlası mikroenjektörün içerisine çekilmekte ve ardından uygun bir enstümental yöntem ile analiz edilmektedir.



Şekil 1.2 TDME yönteminin şematik gösterimi.

TDME yöntemi, karmaşık cihazlara ihtiyaç duyulmadan kurulumun basitliği ile diğer mikroekstreksiyon yöntemlerine avantaj sağlamaktadır. Çoğu durumda bir mikroenjektör gerekli olan tek alettir. Bu yöntemde analitler büyük hacimdeki örneklerden tek bir damla ekstreksiyon çözücüsüne transfer olduğundan yüksek orandan zenginleştirme sağlanmaktadır. Organik damlanın mikroenjektör iğnesinin ucunda kararsız olması ve ekstreksiyon sırasında düşebilmesi ise yöntemin en belirgin dezavantajıdır. TDME yönteminde genellikle organik damlanın türü, damlanın hacmi, örnek çözeltinin iyon şiddeti ve pH'sı, ekstreksiyon sıcaklığı, karıştırma türü ve süresi gibi ekstreksiyon verimliliğini etkileyen parametreler incelenmektedir. TDME yönteminde geleneksel organik çözümler kullanılmaktadır. Bunun yanında yöntemin uygulanabilirliğini daha geniş bir analit yelpazesine genişletmek için iyonik sıvılar ve derin ötektik çözümler gibi daha yeni ve geleneksel olmayan çözümler de son zamanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Damla oluşturmak için kullanılacak olan organik çözümlerin düşük uçuculuğa ve buhar basıncına sahip olması ve aynı zamanda örnek çözeltiyle veya temas halinde olduğu faz ile karışmaması gerekmektedir. Aynı zamanda çözümlerin yeterli viskoziteye sahip olması damlanın iğne ucunda kararlı olarak kalabilmesi bakımından önemlidir. TDME yöntemlerinde organik damlanın hacmi genellikle 0,2 ile 5 μL arasında değişmekle birlikte 30 μL 'ye kadar çıkabilmektedir. Ancak yüksek hacimli damlalar iğne ucunda daha kararsız olduklarından ekstreksiyon sırasında düşebilmektedir. Ekstreksiyon

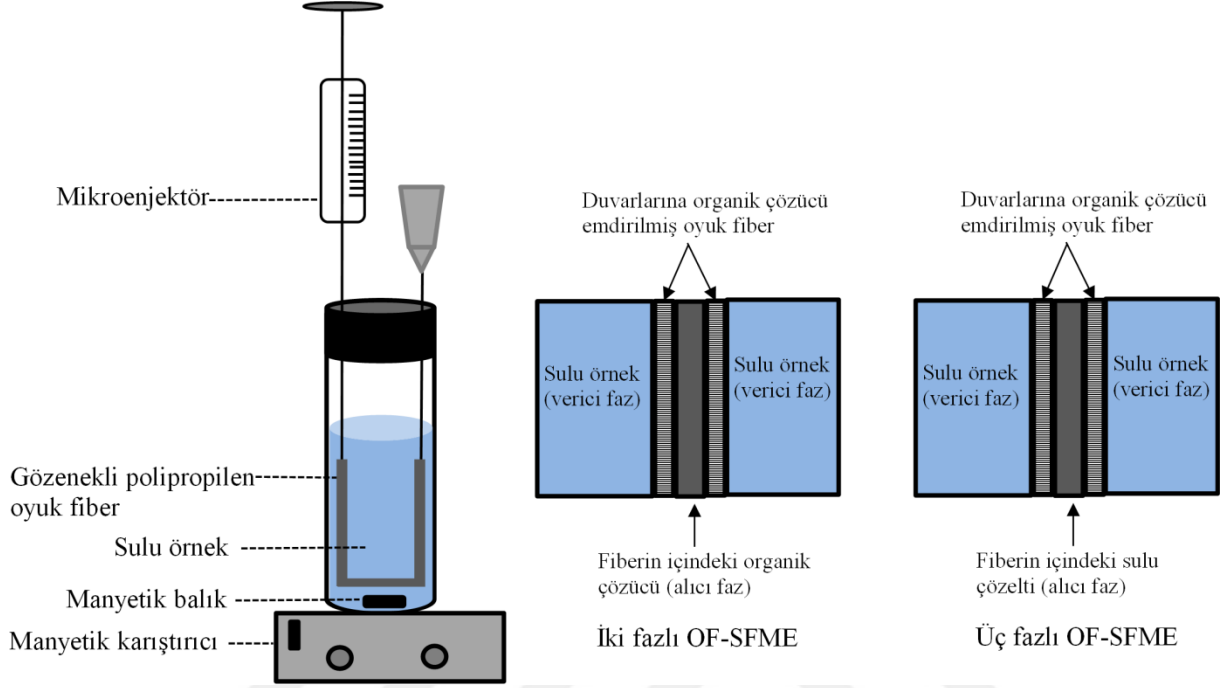
sırasında sıcaklığın artırılması, analitlerin daha fazla buharlaşmasına ve özellikle tepe boşluklu TDME yönteminde ekstraksiyon verimliliğinin artmasına yol açmaktadır. Ekstraksiyon sırasında örnek çözeltinin karıştırılması analitlerin fazlar arası transferini hızlandırmaktadır. Ancak karıştırma işleminin çok kuvvetli yapılması damlanın düşmesine neden olabilmektedir. Genellikle, karıştırma süresinin uzun tutulması ekstrakte edilen analit miktarının artmasına neden olmaktadır. Bununla birlikte, uzun süreli karıştırma işlemleri damlanın kararlılığını azaltmaktadır [26].

1.4.3 Oyuk Fiber Sıvı-Faz Mikroekstraksiyon

Oyuk fiber sıvı-faz mikroekstraksiyon (OF-SFME) yöntemi ilk olarak 1999 yılında Pedersen-Bjergaard ve Rasmussen tarafından TDME yönteminin kararlılığının artırılması amacıyla geliştirilmiştir. Bu yöntemde metamfetamin model bileşik olarak seçilmiş ve bu bileşiğin sulu örnekten ekstraksiyonu, gözenekleri ince 1-oktanol filmi ile kaplanmış ve içerisinde 25 µL asidik çözelti bulunan polipropilen fiber kullanılarak gerçekleştirilmiştir [27]. OF-SFME yönteminde ilk olarak polipropilen fiber toluen veya oktanol gibi düşük polariteli bir organik çözücünün içine batırılmakta ve fiberin gözeneklerinde ince sıvı bir membran oluşması sağlanmaktadır. Ardından ekstraksiyon çözücüsü (alıcı faz) bir mikroenjektör yardımıyla fiberin içerisine doldurulmaktadır. Fiberin gözeneklerinde bulunan sıvı membran sayesinde ekstraksiyon çözücüsünün örnek çözelti ile karışması engellenmektedir. OF-SFME yönteminde, analitler sulu bir örnekten (verici faz), sıvı membran vasıtasıyla polipropilen fiberin içine yerleştirilmiş alıcı çözeltiliye ekstrakte edilmektedir. Daha sonra, alıcı çözelti mikroenjektör ile toplanarak analiz edilmektedir [28].

OF-SFME yöntemi ekstrakte edilecek analitin türüne göre iki fazlı veya üç fazlı modlarda gerçekleştirilmektedir. İki fazlı OF-SFME modunda, analitler sulu bir örnekten (verici faz) gözeneklerinde hareketsiz bir şekilde suyla karışmayan bir çözücü bulunan polipropilen fiberin içerisindeki organik çözücüye (alıcı faz) ekstrakte edilmektedir. Üç fazlı OF-SFME yönteminde ise analitler sulu bir örnekten (verici faz) gözenekleri organik membran kaplı polipropilen oyuk fiberin içerisindeki başka bir sulu faza (alıcı faz) ekstrakte edilmektedir. OF-SFME yönteminin şematik gösterimi Şekil 1.3'de verilmiştir. Üç fazlı OF-SFME modunda organik membran, her ikisi de sulu çözelti olan alıcı ve verici fazlar arasında bariyer görevi yaparak bu iki fazın karışmasını önlemektedir. İki fazlı OF-SFME esas olarak hidrofobik bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılmakta ve ekstraksiyon sonrası alıcı faz gaz

kromatografisi (GC) ile analiz edilmektedir. Üç fazlı OF-SFME ise polar analitlerin ekstraksiyonu için kullanılmakta ve alıcı fazın analizi sıvı kromatografisi (LC) veya kapiler elektroforez (CE) kullanılarak yapılmaktadır [29].



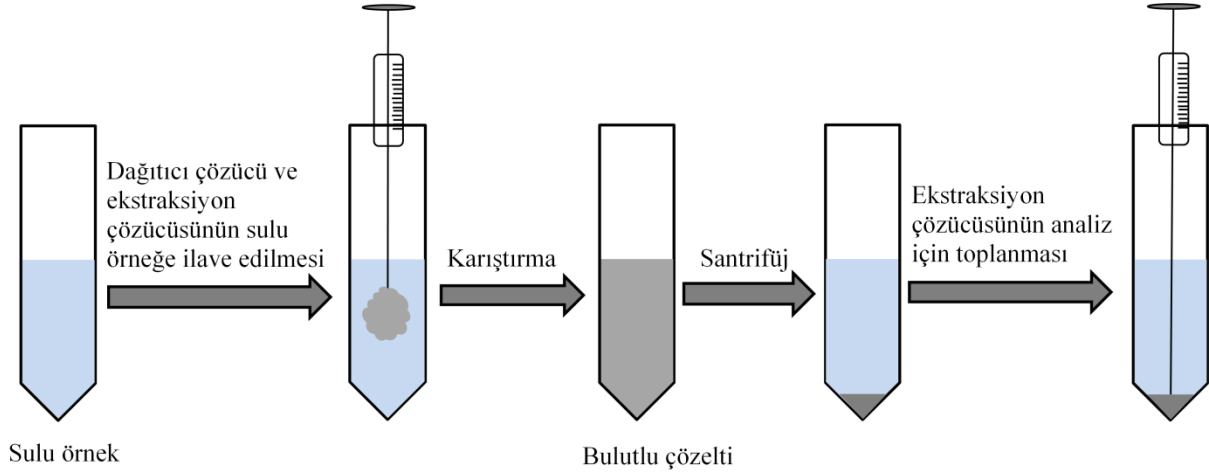
Şekil 1.3 OF-SFME yönteminin şematik gösterimi.

OF-SFME yöntemlerinin, düşük hacimde çözücü gerektirmesi ve analitler için yüksek zenginleştirme sağlaması gibi avantajları vardır. Yöntemin en büyük dezavantajı uzun ekstraksiyon sürelerinin gerekli olmasıdır. Normalde, 2 mL'nin altındaki örnek hacimleri için ekstraksiyon süresi 15 ila 45 dakika arasındadır. Buna karşın 1 L numuneler için dengeye ulaşmak için 2 saat bile gerekebilmektedir [28].

1.4.4 Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon

Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) yöntemi ilk olarak Rezaee ve arkadaşları tarafından 2006 yılında geliştirilmiştir [30]. Bu mikroekstraksiyon tekniğinde suyla karışmayan bir ekstraksiyon çözücüsü ve suyla karışabilen bir dağıtıcı çözücü bir mikroyerleştirici yardımıyla aynı anda sulu örneğe ilave edilmekte ve ekstraksiyon çözücüsünün çok küçük damlacıklar halinde sulu çözelti içerisinde dağılması sağlanmaktadır. Ekstraksiyon çözücüsünün ve dağıtıcı çözücünün sulu örneğe hızlıca ilave edilmesi bulutlu bir karışımın meydana gelmesine neden olmaktadır. Bu aşamada çok geniş yüzey alanına sahip çözücü

damlacıklarıyla analitlerin maksimum teması gerçekleşmekte ve analitler çözücü fazına transfer olmaktadır. Santrifüj işlemiyle sulu fazdan ayrılan ekstraksiyon çözücüsü mikroyenjektör ile toplanarak analiz edilmektedir. DSSME yönteminin şematik gösterimi Şekil 1.4’de verilmiştir.



Şekil 1.4 DSSME yönteminin şematik gösterimi.

DSSME yöntemlerinde genellikle ekstraksiyon çözücünün türü ve hacmi, dağıtıcı çözücünün türü ve hacmi, örnek çözeltinin pH'sı, iyon şiddeti ve ekstraksiyon süresi gibi ekstraksiyon verimini etkileyen parametreler incelenmektedir. Uygun bir ekstraksiyon çözücüsünün seçimi, DSSME yöntemler için ana parametredir. Ekstraksiyon çözücüsünün bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir. Ekstraksiyon çözücüsünün yoğunluğunun suyun yoğunluğundan daha yüksek olması, ekstraksiyon sonrasında çözücüsünün sulu fazdan ayrılmasında avantaj sağlamaktadır. Ayrıca ekstraksiyon çözücüsünün sudaki çözünürlüğünün düşük olması, ekstraksiyon kabiliyetinin iyi olması ve iyi kromatografik davranış göstermesi de istenen özelliklerdir. Klorobenzen, kloroform, karbon tetraklorür ve tetrakloroetilen gibi klorlu organik çözücüler genellikle yüksek yoğunluklarından dolayı ekstraksiyon çözücüleri olarak tercih edilmektedir. DSSME yöntemlerinde dağıtıcı çözücünün ise hem suyla hem de ekstraksiyon çözücüsü ile karışabilir özellikte olması gerekmektedir. Metanol, etanol, asetonitril ve aseton en yaygın kullanılan dağıtıcı çözücülerdir. Ekstraksiyon çözücüsünün hacminin zenginleştirme faktörü üzerinde büyük etkisi vardır. Ekstraksiyon çözücüsünün hacminin yüksek tutulması seyrelme etkisi nedeniyle analitlerin zenginleştirme faktörlerinin azalmasına neden olmaktadır. Genel olarak, DSSME yöntemlerinde kullanılan ekstraksiyon çözücüsü hacimleri 5 ile 100 μL arasında değişiklik göstermektedir. Dağıtıcı çözücünün hacmi, ekstraksiyon çözücüsünün sulu örnek içerisindeki dağılıma derecesini etkilediğinden

ekstraksiyon verimliliğini de doğrudan etkilemektedir. Genellikle, dağıtıcı çözücü hacimleri 0,5 ile 1,5 mL aralığında seçilmektedir. DSSME yöntemlerinde ekstraksiyon çözücüsünün sulu çözelti içerisinde dağılması bir dağıtıcı çözücü yardımıyla yapıldığı için ilave bir karıştırma işlemine gerek duyulmamaktadır. Sınırsız yüzey alanına sahip çözücü damlacıkları ile analitler arasındaki etkileşim çok hızlı dengeye ulaşmaktadır. Ekstraksiyon dengesine çok hızlı ulaşılması DSSME yöntemlerinin en önemli avantajıdır [31].

1.5 MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNDE KULLANILAN ÇÖZÜCÜLER

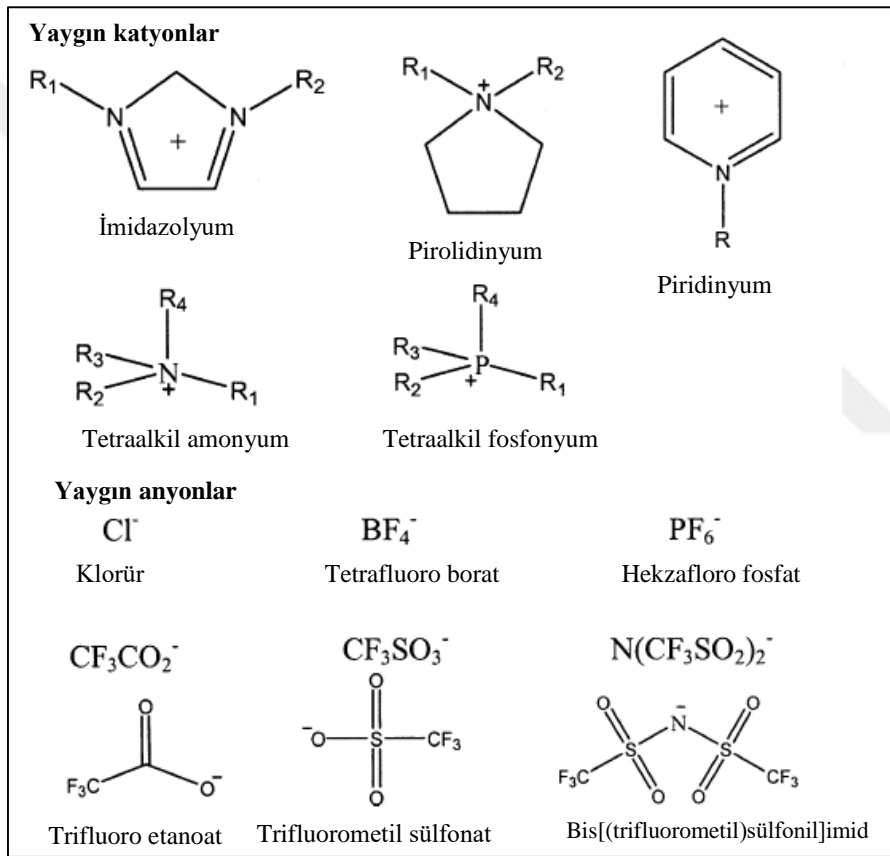
Mikroekstraksiyon yöntemlerinde uygun ekstraksiyon çözücüsünün seçilmesi önemlidir. Ekstraksiyon çözücüsünün sudaki çözünürlüğünün düşük olması, analitler için yüksek ekstraksiyon kabiliyetine sahip olması ve iyi kromatografik performans göstermesi istenen özelliklerden bazılarıdır. Klorobenzen, kloroform, karbontetraklorür ve tetrakloroetilen gibi bazı klorlu hidrokarbonlar yüksek yoğunluklarından dolayı DSSME tekniğinde yaygın olarak tercih edilmektedir. Ekstraksiyon çözücüsünün yüksek yoğunluğa sahip olması DSSME tekniğinde avantaj sağlamaktadır. Ekstraksiyon sonrasında santrifüj işlemiyle birlikte yüksek yoğunluğa sahip çözücü dibi konik olan tüpün alt kısmında toplanmakta ve ardından çözücü mikroyenjektör yardımıyla sulu fazdan ayrılarak analiz edilmektedir [31].

Mikroekstraksiyon yöntemlerinde yüksek yoğunluğa sahip klorlu organik çözücülerin yanında sudan daha düşük yoğunluğa sahip ekstraksiyon çözücüleri de kullanılmaktadır. Sudan daha düşük yoğunluğa sahip çözücüler olarak 1-undekanol, 1-oktanol, 1-dekanol, 1-dodekanol, 2-dodekanol, toluen, n-hekzan, karbon disülfid, siklohekzan, ksilen, dekanolik asit, heptanol ve heksadekan gibi çözücüler kullanılmaktadır [32]. Bu çözücüler sudan daha düşük yoğunluğa sahip olduklarından ekstraksiyon sonrasında sulu numunenin yüzeyinde ince bir tabaka halinde toplanmaktadır. Bu şekilde ince çözücü tabakasının mikroyenjektör ile çekilerek sulu fazdan ayrılması oldukça zordur. Bu nedenle düşük yoğunluğa sahip ekstraksiyon çözücülerinin kullanıldığı yöntemlerde özel tasarlanmış ekstraksiyon kaplarına ihtiyaç duyulmaktadır [33].

Mikroekstraksiyon yöntemlerinde geleneksel organik çözücülerden başka, toksik özellikleri daha düşük ve daha çevre dostu olan bazı çözücüler de son zamanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu geleneksel olmayan çözücüler arasında iyonik sıvılar ve derin ötektik çözücüler en yaygın kullanılanlardır.

1.5.1 İyonik Sıvılar

İyonik sıvılar, organik bir katyon ve organik ya da inorganik bir anyondan oluşan ve normal atmosfer basıncında 100 °C'den daha düşük erime noktasına sahip olan tuzlardır. Oda sıcaklığında sıvı olan iyonik sıvılar ise genel olarak "oda sıcaklığı iyonik sıvıları" olarak adlandırılırlar ve bu tuzların erime noktaları 25 °C'nin altındadır. İyonik sıvıların yapısında, genellikle imidazolyum, pirolidinyum, piridinyum, amonyum veya fosfonyum gibi hacimli organik katyonlar ve tetrafloroborat, hekzaflorofosfat ve bromür gibi anyonlar bulunmaktadır. İyonik sıvıların yapısında yaygın olarak bulunan katyon ve anyonlar Şekil 1.5'de verilmiştir [34].



Şekil 1.5 İyonik sıvıların sentezinde yaygın kullanılan katyon ve anyonlar.

İyonik sıvılar, ihmal edilebilir buhar basıncı, iyi ısıl kararlılık, elektrolitik iletkenlik, ayarlanabilir viskozite, yeniden kullanılabilirlik ve yanmazlık gibi birçok etkileyici özelliğe sahiptirler. İyonik sıvıların fiziksel ve kimyasal özellikleri sentezlerinde kullanılan anyon ve katyonun özelliklerine bağlı olarak önemli ölçüde değişiklik göstermektedir. Sonuç olarak, çeşitli katyonlar ve anyonların kombinasyonları, farklı özelliklerde iyonik sıvıların elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Sahip oldukları bu özgün özellikleri ve kolay

hazırlanabilmeleri, iyonik sıvıların hem akademik çalışmalarda hem de endüstride kullanımlarında dikkate değer bir artışa yol açmıştır [34].

İyonik sıvılar, geleneksel organik çözücülere alternatif olarak kabul edilmekte ve organik sentez, elektrokimya, sıvı-faz ekstraksiyonu, temiz teknoloji için kataliz ve polimerizasyon işlemleri gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Örnek hazırlama için en sık kullanılan yöntemlerden biri olan sıvı-sıvı ekstraksiyonu, hedef bileşiğin karışmayan iki faz arasında dağılması esasına dayanmaktadır. İyonik sıvılar metal iyonları, küçük organik moleküller ve biyolojik bileşikler gibi çeşitli analitlerin sıvı-sıvı ekstraksiyonunda yaygın olarak uygulanmaktadır. Genel olarak, metal iyonlarının sulu çözeltilerden ekstraksiyonu için taç eterleri gibi bir kompleksleşme reaktifinin ve bir iyonik sıvının kombinasyonu kullanılmaktadır [35].

İyonik sıvılar sahip oldukları özellikleri nedeniyle mikroekstraksiyon yöntemlerinde de yaygın olarak kullanılmıştır. Liu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 1-oktil-3-metilimidazolyum hekzafluorofosfat kaplı KFME fiberi boyalardan benzen, toluen, etilbenzen ve ksilenlerin ekstraksiyonu için kullanılmıştır. KFME fiberi her ekstraksiyon öncesinde iyonik sıvı ile kaplanmış ve ekstraksiyon sonrası fiberin gaz kromatografisinin enjeksiyon bloğuna yerleştirilmesiyle analitlerin desorpsiyonu ve analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonrası fiber üzerindeki iyonik sıvı çözücü ile yıkamak suretiyle uzaklaştırılmış ve bir sonraki örnekleme için yeniden taze iyonik sıvı ile kaplanmıştır. İyonik sıvının viskozitesinin yüksek olması KFME fiberi üzerine kaplanmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca iyonik sıvının uçucu olmaması ve termal kararlılığının iyi olması analitlerin termal desorpsiyonu sırasında iyonik sıvının fiber üzerinde kalmasını sağlamıştır. İyonik sıvı kaplı KFME fiberi, ticari olarak temin edilen PDMS kaplı fiber ile benzer tekrarlanabilirlik sonuçları göstermiştir. Ancak iyonik sıvının fiber üzerinde nispeten daha ince bir kaplama meydana getirmesi nedeniyle iyonik sıvı kaplı fiberin hassasiyeti ticari olarak temin edilen fibere göre daha düşük bulunmuştur [36]. Yapılan bir başka çalışmada ise KFME fiber kaplama malzemesi olarak polimerik imidazolyum bazlı bir iyonik sıvı sentezlenmiş ve hazırlanan polimerik iyonik sıvı kaplı KFME fiberi şarap örneklerindeki bazı esterlerin ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Hazırlanan bu tip bir KFME fiberinin termal kararlılığının iyi olduğu ve uzun ömürlü olduğu gözlenmiştir. Ayrıca ticari olarak temin edilen PDMS kaplı fiberler ile benzer analitik performans sergilediği tespit edilmiştir [37]. Yakın zamanlarda KFME fiber kaplama

malzemesi olarak çeşitli çapraz bağlı polimerik iyonik sıvıların kullanıldığı yeni yöntemler geliştirilmiştir [38,39].

İyonik sıvıların sıvı-faz mikroekstraksiyon yöntemlerinde ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanıldığı uygulamalar da oldukça yaygındır. Tek damla mikroekstraksiyon (TDME) yönteminde ekstraksiyon çözücüsü, bir şırınga iğnesinin ucunda asılı bir damla şeklinde bulunur ve bu damla ekstraksiyon sırasında çözeltiye daldırılır (doğrudan daldırma TDME) veya çözeltiye daldırılmadan tepe boşluğunda (tepe boşluklu TDME) tutulur. İyonik sıvılar ihmal edilebilir buhar basıncına sahiptir. Dolayısıyla iyonik sıvıların bu özelliği özellikle tepe boşluklu TDME uygulamalarında buharlaşma ile damla hacimlerinin azalmamasını sağlamaktadır. Bu anlamda, uçuculuklarının olmaması iyonik sıvıların nispeten yüksek sıcaklıklarda kullanılmasına da olanak sağlamaktadır. İyonik sıvılar yüksek viskozite ve yüzey gerilimine sahiptirler. Bu özellikleri iyonik sıvı damlasının iğne ucunda daha kararlı kalmasına neden olmaktadır. Ancak yüksek viskozite analitlerin difüzyon ve kütle transfer hızını azaltmakta ve sonuç olarak daha uzun ekstraksiyon süreleri gerektirmektedir. İyonik sıvıların sudaki çözünürlüğü sahip oldukları anyonların yapısı ve karakterine göre değişiklik göstermektedir. Anyonların hidrofobik özelliği [Br]⁻~[Cl]⁻<[BF₄]⁻<[PF₆]⁻<[NTf₂]⁻ sırasında artış göstermektedir. Doğrudan daldırma TDME yöntemlerinde kullanılacak olan iyonik sıvı seçilirken sudaki çözünürlüğünün çok düşük olmasına dikkat edilmelidir. Ancak tepe boşluklu TDME yöntemlerinde iyonik sıvının çözünürlüğü kısıtlayıcı değildir [40].

İyonik sıvıların dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) yönteminde ekstraksiyon çözücü olarak kullanımı da oldukça yaygındır. İyonik sıvıların ekstraksiyon çözücüsü olarak DSSME yönteminde kullanımı ilk defa Zhou ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Zhou ve arkadaşları çevre sularındaki organofosforlu pestisitlerin ekstraksiyonu için sıcaklık kontrollü DSSME yöntemi geliştirmişler ve bu yöntemde ekstraksiyon çözücüsü olarak 1-hekzil-3-metilimidazolyum hekzafluorofosfat kullanmışlardır. Bu yöntemde 50 mL su örneğine 50 µL iyonik sıvı ilave edilmekte ve ardından karışım su banyosunda 80 °C de bir süre bekletilmektedir. Bu sayede iyonik sıvının sulu numune içerisinde tamamen çözünmesi sağlanmaktadır. Ardından homojen karışım bir buz banyosunda soğutulmakta ve bu aşamada iyonik sıvının çözünürlüğünün azalmasıyla birlikte bulutlu bir karışım meydana gelmektedir. Karışım santrifüj edildiğinde analitleri içeren iyonik sıvı fazı ile sulu faz birbirlerinden ayrılmaktadır [41]. Benzer bir çalışmada ise ekstraksiyon çözücüsü olarak çok az miktarda 1-hekzil-3-metilimidazolyum hekzafluorofosfat ve 1-hekzil-3-metilimidazolyum bis

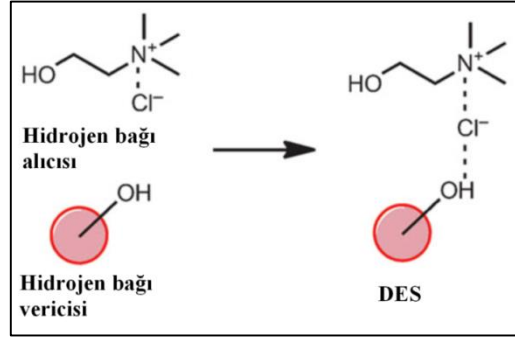
(trifluorometilsülfolil) imid karışımı kullanılmış ve sulu örneklerdeki Hg^{+2} iyonları kompleksleri halinde ekstrakte edildikten sonra spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Ekstraksiyon sırasında iyonik sıvı karışımının önce suda çözünmesi ve sonra yeniden geri kazanılması için ısıtma ve soğutma işlemleri sıralı olarak uygulanmıştır [42]. Bu çalışmaları takiben organik ve inorganik analitlerin ekstraksiyonu için çok sayıda iyonik sıvı esaslı DSSME yöntemi geliştirilmiş ve bu yöntemlerde iyonik sıvının sulu çözelti içerisinde dağıtılması farklı mekanizmalarla (dağıtıcı çözücü kullanımı, sonikasyon ve vorteks karıştırma gibi) gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemlerde ekstraksiyon çözücüsü olarak genellikle hekzafluoro fosfat (PF_6^-) anyonuna sahip hidrofobik iyonik sıvılar tercih edilmiştir [43].

1.5.2 Derin Ötektik Çözücüler

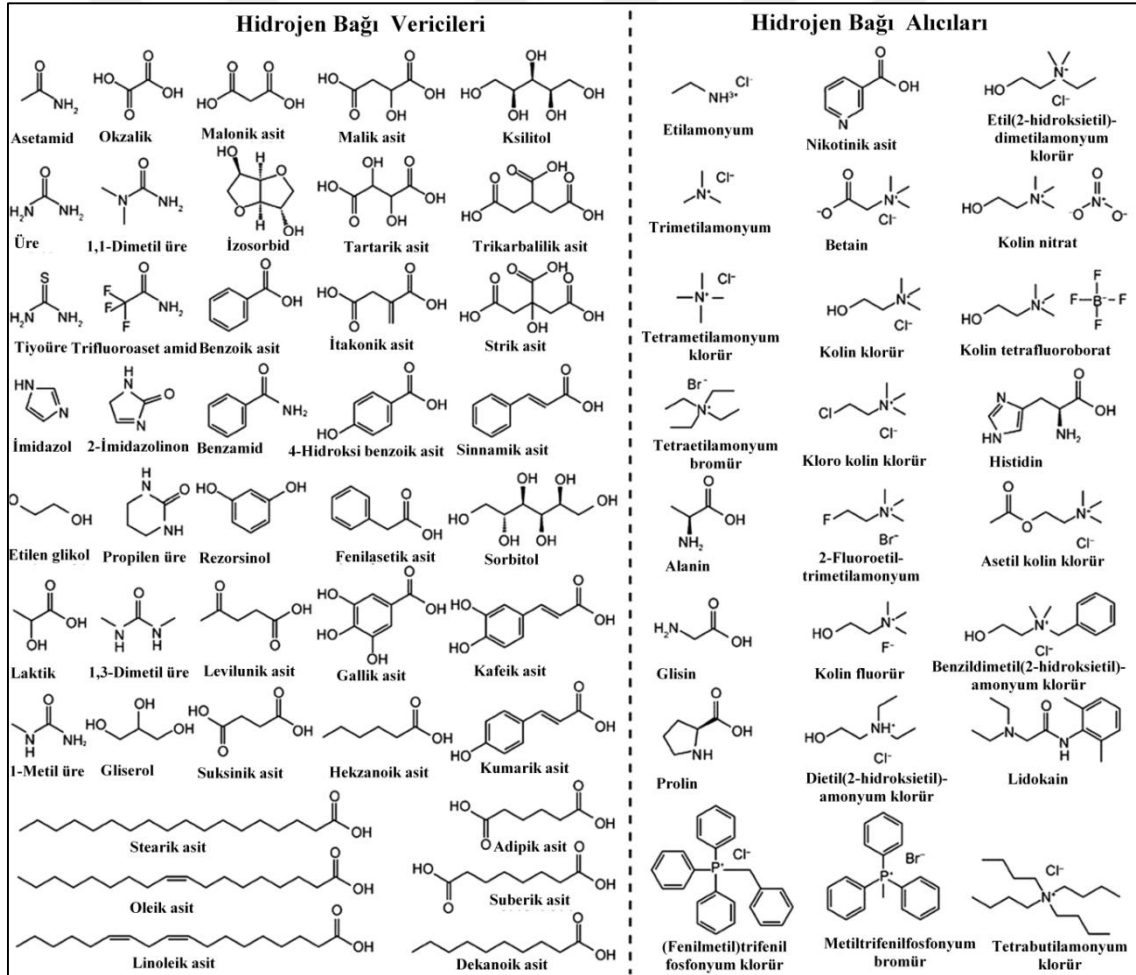
Yeşil kimyanın gelişmesiyle birlikte birçok araştırmacı yeşil çözücülerin keşfedilmesi ve uygulanmasına odaklanmıştır. Yeşil çözücü sınıfında kabul edilen iyonik sıvılar özel fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı büyük dikkat çekmektedir. Düşük buhar basıncına ve yüksek kaynama noktasına sahip olmaları iyonik sıvıları verimli ve çevre dostu çözücüler haline getirmektedir. Bununla birlikte iyonik sıvıların zayıf biyobozunurluk ve yüksek maliyet gibi sınırlamaları da bulunmaktadır. İyonik sıvıların bu sınırlamaları derin ötektik çözücülerin (DÖÇ) ortaya çıkmasını sağlamıştır [44].

DÖÇ'ler, kuaternize amonyum tuzları ile aminler gibi hidrojen bağı alıcıları ve karboksilli asitler gibi hidrojen bağı vericilerinin karışımından meydana gelmektedir. DÖÇ'ler iki katının ötektik bir karışım oluşturarak, kendini oluşturan bileşenlerden çok daha düşük erime noktasına sahip bir sıvı oluşturmasıyla meydana gelmektedir. İlk DÖÇ, 2003 yılında erime noktası 302 °C olan kolin klorür (KoCl) ve erime noktası 133 °C olan üre kullanılarak elde edilmiştir. Bu başlangıç maddelerinin kombinasyonu, oda sıcaklığında sıvı olan ve erime noktası 12 °C olan ötektik bir karışımı meydana getirmiştir [45]. Erime noktası düşmesine hidrojen bağları neden olmaktadır. Karışımı oluşturan bileşenler arasında meydana gelen kuvvetli hidrojen bağları, her bir bileşenin kendi başına kristallenmesini engellediğinden oda sıcaklığında sıvı olan bir karışım meydana gelmektedir [46]. DÖÇ'lerin sentezinde, KoCl en yaygın kullanılan hidrojen bağı alıcısıdır. Hidrojen bağı vericisi olarak ise genellikle üre, etilen glikol ve gliserol kullanılmaktadır. Bunların yanında diğer bazı alkoller, amino asitler, karboksilik asitler ve şekerler de hidrojen bağı vericisi olarak kullanılmaktadır [47]. DÖÇ'lerin genel sentez mekanizması Şekil 1.6'da ve DÖÇ'lerin hazırlanmasında yaygın

olarak kullanılan hidrojen bağı vericileri ve hidrojen bağı alıcılarının kimyasal yapıları ise Şekil 1.7’de verilmiştir.



Şekil 1.6 DÖÇ’lerin genel sentez mekanizması [46].



Şekil 1.7 DÖÇ’lerin sentezinde yaygın olarak kullanılan hidrojen bağı vericileri ve hidrojen bağı alıcıları [46].

DÖÇ'lerin en önemli özelliklerinden bir tanesi, organik ve inorganik maddelerin katı ve sıvı örneklerden ekstraksiyonunda ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılabilmesidir [3]. Ekstraksiyon proseslerinde DÖÇ'lerin çözücü olarak kullanımları, viskozite, yoğunluk, örnek matriksi ile karışabilirlik ve polarite gibi bazı fiziksel özelliklerine bağlıdır. Örnek matriksinde bulunan analitlerle etkileşimlerini kolaylaştırmak için düşük viskoziteli çözücüler seçmek daha uygundur. Bunun yanında ekstraksiyon sonrası faz ayrımının sağlanabilmesi için örnek matriksinden farklı bir yoğunluğa sahip çözücülerin seçilmesi gerekmektedir. DÖÇ'lerin viskozite, yoğunluk, iletkenlik ve polarite gibi bazı fizikokimyasal özellikleri sentezleri sırasında kullanılan maddelerin türüne ve mol oranlarına göre değişiklik göstermektedir. Yaygın olarak kullanılan bazı DÖÇ'lerin fizikokimyasal parametreleri Çizelge 1.2'de verilmiştir [48].

Çizelge 1.2 Yaygın olarak kullanılan bazı DÖÇ'lerin fizikokimyasal parametreleri [48].

DÖÇ (mol oranı)	Yoğunluk (g/cm ³)	Viskozite (centipoise, cP)	İletkenlik (mS cm ⁻¹)
KoCl:Üre (1:2)	1,25 (25 °C)	750 (25 °C)	0,20 (40 °C)
KoCl:Etilen glikol (1:2)	1,12 (25 °C)	37 (25 °C)	7,61 (20 °C)
KoCl:Gliserol (1:2)	1,18 (25 °C)	259 (25 °C)	1,05 (20 °C)
KoCl:Malonik asit (1:1)	1,25 (25 °C)	721 (25 °C)	0,55 (25 °C)
KoCl:1,4-Butandiol (1:3)	1,06	140 (20 °C)	1,64 (20 °C)
Etilamonyum klorür:Üre (1:1,5)	1,041	128 (40 °C)	--
Etilamonyum klorür:Asetamid (1:1,5)	1,14	64 (40 °C)	0,69 (40 °C)
KoCl:2,2,4-trifluoroasetamid (1:2)	1,342	77 (40 °C)	0,286 (40 °C)
Su	0,992	1	250

DÖÇ'ler genel olarak sudan daha yüksek yoğunluk değerlerine sahiptirler ve bu durum ekstraksiyon sonrasında faz ayrımının daha hızlı meydana gelmesine neden olmaktadır. DÖÇ'ler genel olarak yüksek viskozite değerlerine (>100 cP) sahiptirler. DÖÇ'lerin yüksek viskoziteye sahip olması genellikle bileşenleri arasındaki meydana gelen kuvvetli hidrojen bağları ile ilişkilendirilmektedir. DÖÇ'leri meydana getiren bileşenler arasında kurulan kuvvetli etkileşimler, DÖÇ içerisinde serbest moleküllerin hareketini azaltmakta ve bu da viskozitenin artmasına neden olmaktadır [49]. DÖÇ'lerin yüksek viskoziteye sahip olması mikroekstraksiyon uygulamalarında analitlerin DÖÇ fazına difüzyonlarını olumsuz etkilemektedir. Ancak DÖÇ'lerin sentezi sırasında KoCl oranının artırılması veya belli oranda su kullanılmasıyla viskozite kaynaklı olumsuz durum kısmen aşılmaktadır. Ayrıca ekstraksiyon sırasında sıcaklığın artırılmasıyla birlikte DÖÇ'lerin viskozitesinin azalmasına

bağlı olarak analitler için daha yüksek difüzyon oranları elde edilebilmektedir. DÖÇ'lerin yüksek viskoziteye sahip olması TDME gibi bazı mikroekstraksiyon uygulamaları için ise avantaj sağlamaktadır. TDME yöntemi, iğne ucunda asılı duran ekstraksiyon çözücü damlasına analitlerin difüzyon yoluyla transfer olması esasına dayanmaktadır. Dolayısıyla viskozitesi yüksek olan çözücüler TDME yönteminde iğne ucunda daha kararlı damlalar meydana getirmektedir [50].

DÖÇ'ler, kolay sentez, düşük maliyet, düşük uçuculuk, yüksek biyobozunurluk ve yapısal tasarımın uygulanabilirliği gibi çekici özelliklerinden dolayı son yıllarda analitik kimya alanında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. DÖÇ'ler, karmaşık örneklerdeki organik ve inorganik analitlerin (mikro)ekstraksiyonunda ekstraksiyon çözücüsü olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, DÖÇ'ler hidrojen bağı oluşturma kabiliyetlerinden dolayı hidrofilik çözücülerdir ve bu durum sulu numunelerde ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılabilirliklerini kısıtlamaktadır [51]. Bu nedenle, DÖÇ esaslı uygulamaların çoğunda matris olarak organik sıvı numuneler (bitkisel yağlar gibi) veya katılar (bitkiler ve yiyecekler) tercih edilmekte ve bu matrislerde doğal olarak bulunan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonları yapılmaktadır. Hidrofilik DÖÇ'lerin kullanımına dayanan ekstraksiyon prosedürleri ile fenolik bileşikler, flavonoidler ve terpenoidler en yaygın şekilde belirlenmiş olan biyoaktif bileşiklerdir [52].

Hidrojen bağı alıcı olarak K₂O ve hidrojen bağı vericisi olarak fenol ile hazırlanan DÖÇ'ler hidrofilik özellikleri nedeniyle sulu çözeltiye ilave edildiklerinde homojen bir çözelti meydana gelmektedir. Ardından homojen çözeltiye aprotik bir çözücünün (genellikle tetrahidrofur) ilave edilmesiyle DÖÇ'ün sulu faz içerisinde çok küçük damlacıklar halinde meydana gelmesi sağlanmaktadır. Homojen çözeltiye aprotik çözücünün ilave edilmesiyle su ve aprotik çözücü arasında kuvvetli etkileşimler meydana gelmekte ve bu durum DÖÇ'ün sulu çözelti içerisindeki çözünürlüğünü azaltmaktadır. Bu sayede DÖÇ ile sulu çözelti arasında faz ayrımı gerçekleşmektedir. Ardından santrifüjleme işlemiyle faz ayrımı sağlandıktan sonra analitleri içeren DÖÇ fazının analizi uygun bir enstrümantal teknik ile yapılmaktadır [53].

Sulu numunelerde DÖÇ'lerin genel olarak hidrofilik özellikleri nedeniyle tamamen çözünüyor olmaları ve bu nedenle de ekstraksiyon sonrasında faz ayrımının sağlanamaması araştırmacıların yeni arayışlara girmesine neden olmuştur. Yakın geçmişte farklı hidrofobik

özelliğe sahip DÖÇ'ler sentezlenmiş ve sulu numunelerdeki analitlerin ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Hidrofobik DÖÇ'ler ilk olarak farklı kuaterner amonyum tuzları (hidrojen bağı alıcısı) ve dekanıik asit (hidrojen bağı vericisi) kullanılarak sentezlenmiş ve sulu ortamdaki bazı uçucu karboksilli asitlerin (asetik asit, propiyonik asit ve butirik asit) ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Farklı kuaterner amonyum tuzları ve dekanıik asit kullanılarak hazırlanan hidrofobik DÖÇ'ler için yoğunluk değerlerinin 0,889 ile 0,942 g/cm³ ve viskozite değerlerinin ise 173 ile 783 cP arasında değiştiği bulunmuştur [51]. Yapılan bir başka çalışmada ise lidokain ve dekanıik asit kullanılarak hidrofobik DÖÇ'ler sentezlenmiş ve sulu ortamdaki bazı alkali ve geçiş metallere uzaklaştırılmasında kullanılmıştır [54]. Takip eden başka çalışmalarda ise hidrojen bağı alıcısı olarak kuaterner amonyum tuzları, timol ve mentol ve hidrojen bağı vericisi olarak ise alkil karboksilli asitler ve kafur kullanılarak hidrofobik DÖÇ'ler sentezlenmiş ve sulu numunelerdeki pestisitler [55], polisiklik aromatik hidrokarbonlar [56] ve benzofenon tipi UV filtrelerinin [57] ekstraksiyonunda kullanılmıştır.

Hidrofilik ve hidrofobik DÖÇ'ler sahip oldukları benzersiz özellikleri nedeniyle yakın geçmişte sıvı numunelerdeki birçok organik ve inorganik maddenin ekstraksiyonunda başarıyla uygulanmıştır. DÖÇ esaslı analiz yöntemlerinden bazıları Çizelge 1.3'de özetlenmiştir.

DÖÇ'lerin ekstraksiyon çözücü olarak kullanılmalarının yanında farklı analitik uygulamaları da bulunmaktadır. Bazı mikroekstraksiyon uygulamalarında analitlerin ekstraksiyon verimliliğinin artırılması amacıyla DÖÇ ile modifiye edilen manyetik nanopartiküller [65,66], silika [67] ve pamuk [68] gibi adsorbentler kullanılmıştır. DÖÇ'ler ayrıca bazı kromatografik uygulamalarda hareketli faz katkı maddesi olarak da kullanılmıştır. Hareketli faza düşük miktarlarda DÖÇ ilave edilmesiyle pik kuyruklanması, bant genişlemesi ve çözünürlük bakımından kromatografik performansta büyük ölçüde iyileşme sağlanmıştır [69].

Çizelge 1.3 Sıvı örneklere uygulanan bazı DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yöntemleri.

Ekstraksiyon ve tayin yöntemi	Matriks	Analit	Örnek miktarı	DÖS bileşimi (mol oranı)	DÖS hacmi (µL)	LOD (µg/L)	Ref.
DÖÇ-UD-SFME-FAAS	İlaç takviyesi ve çay	Kobalt	10 ml	KoCl:fenol (1:4)	500	1,1 µg/L	[58]
UD-DÖÇ-SFME-FAAS	Çevre suları	Krom (III) ve krom (VI)	10 ml	KoCl:fenol (1:3)	450	5,5 µg/L	[59]
DÖÇ-SFME-ETAAS	Yemeklik yağlar	Kurşun ve Kadmiyum	28 g	KoCl:üre (1:2)	200	0,2–8 ng/kg	[60]
SSME-DÖÇ-HPLC-UV	Nehir suyu	Sülfonamidler	1,5 mL	KoCl:fenol	100	1,2–2,3 µg/L	[61]
DÖÇ-SFME-HPLC-UV	Bitkisel yağlar	Bitki büyüme düzenleyicileri	1 mL	Tetrametilamonyum klorür:etilen glikol (1:3)	30	1,2–7,5 µg/mL	[62]
UD-SSME-DÖÇ-HPLC-UV	Bitkisel yağlar	Fenolik asitler	2 mL	KoCl:etilen glikol (1:2)	50	0,39–0,63 µg/L	[63]
DÖÇ-HD-DSSME-HPLC-DAD	Sulu Örnekler	Benzofenon tipi UV filtreleri	8 ml	DL-mentol:dekanolik asit (1:1)	100	0,05–0,2 µg/L	[57]
UD-DÖÇ-DSSME-GC-MS	Sulu Örnekler	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	10 mL	Timol:kafur (1:1)	200	3,9–9,8 ng/L	[56]
DÖÇ-SSME-HPLC-DAD	İçecekler	Sentetik pigmentler	10 mL	Tetrabutilamonyum klorür:oktanoik asit (1:2)	100	0,016–1,12 ng/mL	[64]

DÖÇ: Derin ötektik çözücü; UD: Ultrasonik destekli; SFME: Sıvı-faz mikroekstraksiyon; FAAS: Alevli atomik absorpsiyon spektrometresi; ETAAS: Elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi; SSME: Sıvı-sıvı mikroekstraksiyon; HPLC: Yüksek performans sıvı kromatografisi; UV: Ultraviyole dedektörü; HD: Hava destekli; DSSME: Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon; DAD: Diyot dizi dedektörü; GC-MS: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi; KoCl: Kolin klorür.

1.6 LİPİDLER

Lipidler, yiyeceklerin ve çoğu biyolojik sistemlerin önemli bir bileşenidir. Gıdalarda yoğun bir enerji kaynağı ve yağda çözünen vitaminler olarak görev yaparlar ve hücre zarlarının yapısal bileşenlerini oluştururlar ve aynı zamanda biyolojik sistemlerde önemli sinyalizasyon ajanları olarak işlev görürler. Doğal olarak oluşan veya dışarıdan ilave edilen gıda ürünlerindeki lipider, gıda işleme için bir ısı transfer ortamı sağlar ve ürünlere arzu edilen doku ve tat kazandırır. Lipidler, canlı organizmaların fonksiyonlarının büyümesi ve

korunması için gerekli ana makro besinlerden biridir, ancak aşırı miktarda lipid alımının kendine has etkileri vardır. Özellikle "kötü" lipidlerin (örneğin bazı doymuş lipidler ve trans yağlar) aşırı tüketilmesi obezite, hipertansiyon, kalp-damar hastalıkları ve kanserler gibi birçok hastalık ve sağlık koşuluyla ilişkilendirilmektedir.

“Lipid” terimi için kesin bir tanım yoktur. İlk başlarda hekzan, kloroform veya eter gibi organik çözücüler içinde çözünen ve suda çözünmeyen bileşikler lipidler olarak tanımlanmıştır. Ancak organik çözücülere kıyasla suda daha fazla çözünen bazı kısa zincirli yağ asitlerinin monoaçilgliserollerini için istisnalar ortaya çıkmaktadır. Genel olarak lipidlerin benzer yapısal özelliklere sahip geniş bir bileşikler grubu olduğu kabul edilir. Triaçilgliseroller, diaçilgliseroller, monoaçilgliseroller, glikolipidler, fosfolipidler, sfingolipidler, yağ asitleri, uzun zincirli alkoller, mumlar, steroller ve yağda çözünen vitaminler gibi çeşitli bileşikler grubu lipidler olarak tanımlanmaktadır. Lipidler çoğunlukla yağ asitleri ve gliserol esterleridir. Bitkilerde ve hayvanlarda lipidlerin yaklaşık % 98’i, sırasıyla üç, iki ve bir ester bağı içeren triaçilgliseroller, diaçilgliseroller ve monoaçilgliserollerden oluşur. Triaçilgliseroller, ticari ve diyetel öneme sahip katı ve sıvı yağlarda en bol bulunan bileşendir. Fosfolipidler, moleküllerinde hem lipofilik hem de hidrofilik kısımların varlığından dolayı yüzey aktifler ve biyolojik zarların ana bileşenlerini oluşturur. Fosfolipidler genellikle daha yüksek bir doymamışlık derecesi sergileyen triaçilgliserollerden farklı bir yağ asidi bileşimine sahiptir [70].

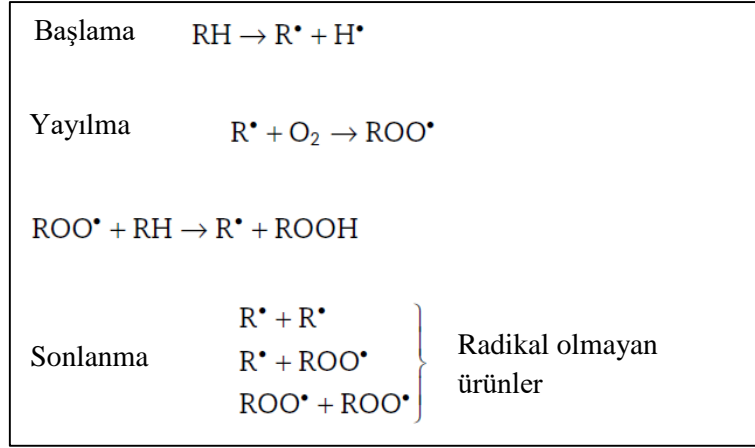
Yağ asitleri, lipidlerin yapı taşlarıdır ve büyük ölçüde lipidlerin fizikokimyasal ve fizyolojik özelliklerini belirlerler. Doğal yağlar, başlıca çift sayıda karbon atomu içeren düz zincirli yağ asitleri içerir. Bununla birlikte, doğal ve işlenmiş yağlarda tek sayıda karbon atomu içeren, dallanmış zincirli veya siklik yağ asitleri ve hidroksil asitler az miktarda bulunurlar. Doğal olarak oluşan yağ asitleri, çeşitli derecelerde doymamışlık gösterirler. Kara hayvanlarındaki depo yağların çoğu doymuş yağ asitleri içerir ve özellikle stearik asit içeriği yüksektir. Bitkisel yağların doymuş yağ asitleri içeriği nispeten düşüktür ve bitkisel yağlarda palmitik, oleik, linoleik ve linolenik asitler baskındır. Süt yağları, büyük oranda kısa zincirli yağ asitleri içerir (C₄-C₁₀). Deniz balıkları çoklu doymamış yağ asitleri bakımından oldukça zengindir. Bazı doymuş ve tekli doymamış yağ asitleri vücutta biyosentezlenebilirken, sağlık için önemli olan çoklu doymamış yağ asitleri (omega 3 ve omega 6) ancak beslenme yoluyla alınabilmektedir. Bitkiler bu yağ asitlerini sentezleyebildiklerinden hayvanlar için önemli besin kaynağıdır. Omega-3 yağ asidinin antiinflamatuvar, kardiyovasküler ve antikanser

aktiviteleri de dahil olmak üzere çeşitli sağlık etkilerine sahip olduğu bilinmektedir. Omega-3 yağları artık özel lipidler olarak çeşitli formlarda ticari olarak temin edilebilmektedir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin aksine, doymuş yağ asitlerinin sağlığa zararlı etkilerinin olduğuna inanılmakta ve koroner kalp hastalıkları ile ilişkilendirilmektedir. Bununla birlikte, stearik asidin son zamanlarda kardiyovasküler hastalık gelişiminde etkisinin olmadığı ve hatta koruyucu olduğu bulunmuştur [70].

1.7 LİPİD OKSİDASYONU VE ANTİOKSİDANLAR

Lipid oksidasyonu gıdalarda kötü koku ve tatların oluşmasının ve gıda kalitesinin bozulmasının ana nedenlerinden biridir. Gıdalardaki oksidatif değişiklikler, besin maddelerinin ve biyoaktif maddelerin kaybına ve hatta potansiyel olarak toksik bileşiklerin oluşumuna neden olarak lipid içeren gıdaların tüketim için uygun olmamasını sağlamaktadır. Lipidler ışık, ısı, enzimler, metaller, metaloproteinler ve mikroorganizmalar gibi katalitik sistemlerin varlığında oksidasyona duyarlıdır ve çoğunlukla serbest radikaller veya diğer reaktif ara ürünlerin varlığında otoksidasyon, fotooksidasyon, termal veya enzimatik oksidasyon işlemleri meydana gelir. Otoksidasyon, bunlar içerisinde en yaygın olanıdır ve serbest radikallerin zincirleme reaksiyonu yoluyla lipidlerin atmosferik oksijenle kendiliğinden reaksiyonu sonucunda gerçekleşir.

Lipid oksidasyonunun ana yollarından biri otoksidasyondur. Gıdalarda çoklu doymamış lipidlerin otoksidasyonu işlemi, genellikle lipidlerin ışığa, ısıya, iyonlaştırıcı radyasyona, metal iyonlarına veya metaloprotein katalizörlerine maruz bırakılmasıyla başlatılan serbest bir radikal zincir reaksiyonu içerir. Enzim lipoksijenaz, oksidasyonu da başlatabilir. Klasik lipid otoksidasyonu başlama (lipid serbest radikallerinin üretimi), yayılma ve sonlanma (radikal olmayan ürünlerin üretimi) reaksiyon basamaklarını içermektedir. Çoklu doymamış lipidlerin otoksidasyonu için genel bir şematik yol Şekil 1.8'de gösterilmiştir [71].

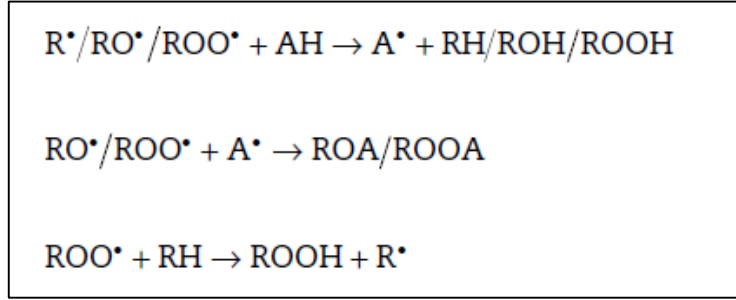


Şekil 1.8 Lipid otoksidasyon yolları.

Doymamış lipid molekülleri ısı, ışık ve metal iyonları gibi başlatıcıların varlığında, bir hidrojen atomunu kaybederek serbest radikaller meydana getirirler. Lipid radikalleri daha sonra yeni bir lipid molekülüne saldırarak hızlı ilerleyen reaksiyonun zincir taşıyıcıları olarak işlev gören peroksil radikalleri oluşturmak için oksijenle reaksiyona girerler. Bu reaksiyon, hidrojen kaynağı bulunamayana veya zincir bulunmayana kadar binlerce kez tekrar edilebilir. Dolayısıyla, lipid oksidasyonu kendiliğinden ilerleyen ve kendiliğinden hızlanan bir işlemdir. Lipid oksidasyonunun başlama süreci oldukça karmaşık ve henüz tam olarak anlaşılmiş değildir. Bununla birlikte, lipid molekülünden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla başladığına inanılmaktadır. Hidrojen atomunun kaybı, daha düşük C-H bağ enerjisinden dolayı yağ asitlerinde çift bağın yanındaki karbondan en kolay şekilde gerçekleşmektedir. Yayılma sırasında, lipid hidroperoksitleri birincil oksidasyon ürünleri olarak üretilir. Bunlar kararsızdır ve aldehitler, ketonlar, alkoller, hidrokarbonlar, uçucu organik asitler ve epoksi bileşikler gibi istenmeyen kokulara sahip olan çok çeşitli ikincil oksidasyon ürünlerine parçalanırlar. Bu aşamada hidroperoksitlerin ayrışmasından alkoksil ($RO\cdot$), peroksil ($ROO\cdot$), hidroksil ($\cdot OH$) ve yeni lipid radikalleri ($R\cdot$) üretilir ve ayrıca serbest radikallerin zincir reaksiyonuna katılır. Sonlanma aşamasında ise radikaller birbirlerini nötralize ederek çeşitli radikal olmayan ürünler oluştururlar [70].

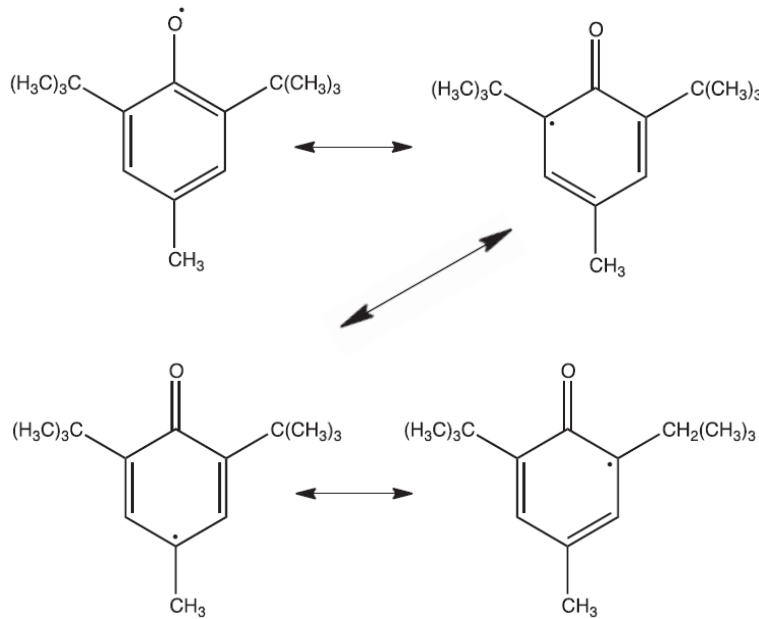
Lipid oksidasyonunu kontrol etmek için kullanılan birçok yöntem arasında antioksidanların kullanımı en etkili ve ekonomik yoldur. Dünya genelindeki gıda üreticileri, gıdalardaki lipidleri kararlı halde tutmak ve böylece ürün kalitesinin bozulmasını önlemek için antioksidanlar kullanmaktadır. Fenolik bileşikler gibi antioksidanlar, Şekil 1.9'da gösterildiği

gibi bir hidrojen atomu sağlayarak serbest radikalleri nötralize eder ve daha az reaktif olan serbest antioksidan radikalleri meydana gelir [71].



Şekil 1.9 Fenolik antioksidanların etki mekanizması

Elde edilen antioksidan radikalleri, eşleşmemiş elektronun fenol halkasındaki delokalizasyonu ile kararlı rezonans hibritleri oluştururlar (Şekil 1.10). Bu radikallerin reaktivitesi düşüktür ve genellikle yeni radikallerin oluşumunu başlatmazlar. Fenoksil radikalinin para pozisyonunda bir metil grubundan ziyade bir etil veya n-butil grubu bulunması aktiviteyi artırmaktadır. Bununla birlikte, bu pozisyonda zincirli veya dallanmış alkil gruplarının varlığı, antioksidan aktiviteyi azaltmaktadır. Fenoksil radikalinin kararlılığı, 2,6-di-tert-butil-4-metilfenolde olduğu gibi 2 ve 6 pozisyonlarındaki alkil gruplarının varlığı ile daha da artmaktadır (Şekil 1.10). Çünkü bu süstitüentler, radikal bölgesindeki sterik engeli artırmakta ve böylece antioksidan radikal içeren yayılma reaksiyonlarının oranını azaltmaktadır [71].

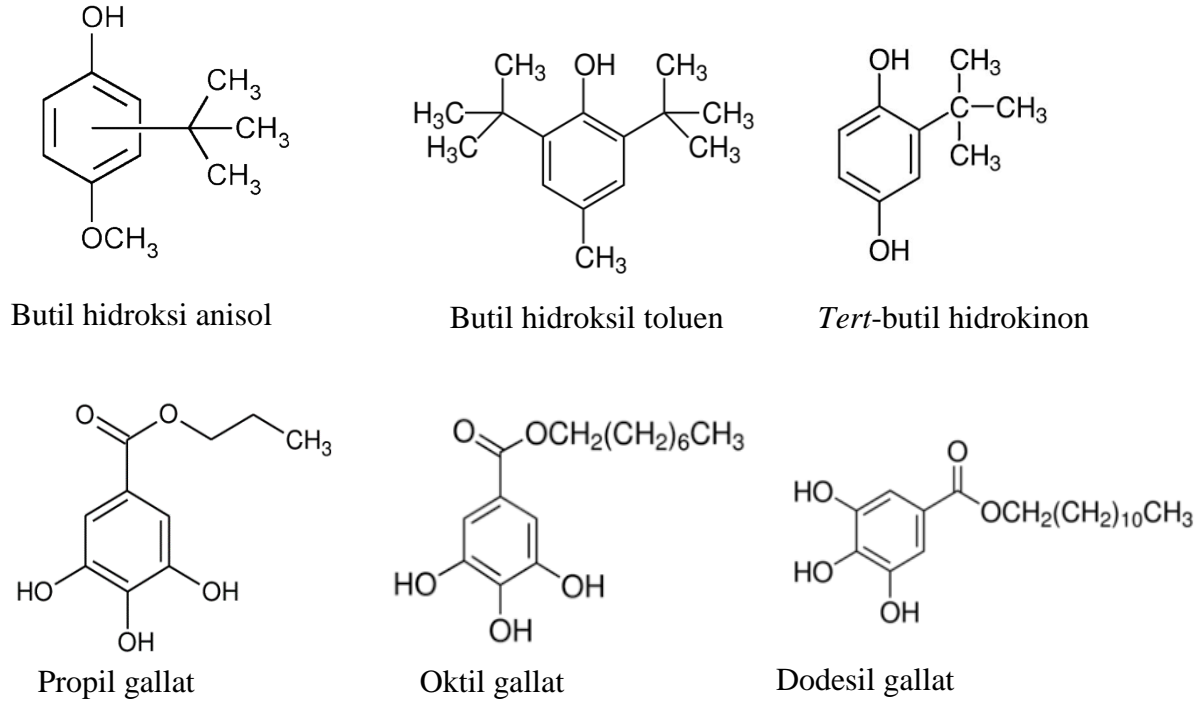


Şekil 1.10 Fenoksil radikalinin rezonans kararlılığı.

Antioksidan konsantrasyonunun otoksidasyon oranları üzerindeki etkisi antioksidanın yapısı, oksidasyon koşulları ve oksitlenen numunenin doğası dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır. Genellikle fenolik antioksidanlar yüksek konsantrasyonlarda aktivitelerini kaybeder ve başlangıç reaksiyonlarına katılarak pro-oksidan (oksitlenmeyi artırıcı) olarak davranırlar. Fenolik antioksidanlar, büyük ölçüde bozulmamış yağlara eklendiğinde oksidasyon süresinin uzatılmasında daha etkilidir. Bununla birlikte, bozulmuş yağların oksidasyonunu geciktirici etkileri yoktur. Bu nedenle oksidasyona karşı maksimum koruma sağlamak için antioksidanların işleme ve depolama sırasında mümkün olduğunca erken gıda maddelerine eklenmesi gerekir [71].

1.7 SENTETİK ANTİOKSİDANLAR

Sentetik antioksidanlar, gıda maddelerinin, ilaçların ve diğer bazı tüketime yönelik ürünlerin raf ömürlerinin uzatılması için kullanılan bileşikler grubudur [72]. Kimyasal kararlılıkları, düşük maliyetleri ve uygunlukları nedeniyle butil hidroksi anisol, butil hidroksi toluen, tert-butil hidrokinon, propil gallat, oktil gallat ve dodesil gallat birçok ülkede gıda katkı maddesi olarak en yaygın kullanılan sentetik antioksidanlardır. Yaygın kullanılan sentetik antioksidanların kimyasal yapıları Şekil 1.11’de verilmiştir.



Şekil 1.11 Yaygın kullanılan sentetik antioksidanların kimyasal yapıları.

Gıda endüstrisinde lipid oksidasyonunu engellemek veya azaltmak, toksik oksidasyon ürünlerinin oluşmasını engellemek, besinsel kaliteyi sürdürmek ve gıdanın raf ömrünü uzatmak amacıyla sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak gıda maddelerinde sentetik antioksidanların kullanımı, potansiyel toksisite etkileri nedeniyle dünya çapında pek çok ülkede sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Butil hidroksi anisol ve butil hidroksi toluenin yüksek miktarlarda kullanımının laboratuvar hayvanlarında karaciğer hasarına ve kansere yol açtığından şüphe edilmektedir. Ayrıca butil hidroksi anisol, tert-butil hidrokinon ve propil gallat gibi bazı sentetik antioksidanların nükleik asitlerle moleküler kompleksler oluşturma ve DNA'nın çift sarmal yapısına zarar verme potansiyellerinin olduğu düşünülmektedir [71]. İnsan sağlığına muhtemel olumsuz etkileri nedeniyle birçok ülkede sentetik antioksidanların kullanımları yasal mevzuatlara göre yapılmaktadır. Genel olarak, Avrupa Birliği'nde ve aynı zamanda Türkiye'de sentetik antioksidanların gıdalarda izin verilen miktarları 100 ile 200 mg/kg arasındadır [73,74].

Gıda maddelerindeki sentetik antioksidanların analizleri belirli elektrokimyasal sensörler [75,76] ve sıvı kromatografisi (LC) [77–80], miseller elektrokinetik kapiler kromatografi [81,82] ve kapiler elektroforez [83,84] gibi farklı kromatografik analiz yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Elektrokimyasal yöntemler nispeten düşük işletme maliyetleri ve daha hızlı analizler sunabilmektedir. Ancak, çoklu analitlerin olması durumunda, her bir analit konsantrasyonunun belirlenmesi için örtüşen elektrokimyasal sinyallerin kemometrik yorumlanması gerekmektedir [85]. Kromatografik analiz yöntemleri arasında ise ultraviyole dedektörlü yüksek performan sıvı kromatografisi (HPLC-UV) en yaygın kullanılan yöntemdir. Kromatografik analiz öncesinde yağ örneklerindeki sentetik antioksidanların ekstraksiyonu için sıvı-sıvı ekstraksiyonu en çok tercih edilen yöntemdir ve bu amaçla da çözücü olarak genellikle *n*-hekzan ile doymuş olan asetonitril kullanılmaktadır [78,80]. Ayrıca uygun bir çözücü ile seyreltilmiş yağ numunesinin LC sistemine doğrudan enjeksiyonuna dayanan yöntemler de mevcuttur [86,87]. Ancak, numune matriksinin karmaşıklığından dolayı herhangi bir kromatografik analiz öncesinde mutlaka bir örnek hazırlama işleminin uygulanması arzu edilen bir durumdur. Son zamanlarda sentetik antioksidanların yağ örneklerinden ekstraksiyonu için bulutlanma noktası ekstraksiyonu (BNE) [79] ve dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) [73,88] gibi bazı yeni mikroekstraksiyon yöntemleri de geliştirilmiştir.

1.8 ÇALIŞMANIN AMACI VE ÖNEMİ

Günümüzde, gıda güvenliği ve gıda güvenliğinin sağlanması en önemli konuların başında gelmektedir. Gıda güvenliğinin sağlanmasında, gıda üretimimin artırılması ve gıdaların bol bulunduğu dönemden daha az bulunduğu dönemlere kalitelerini koruyarak saklanması ve raf ömrünün uzatılması önemli bir konudur. Gıdaların daha sağlıklı olarak saklanabilmesi ve lezzetini koruyabilmesi için sentetik antioksidanların kullanılması kaçınılmazdır. Sentetik antioksidanlar izin verilen besinlerde izin verilen miktarlarda kullanıldığında sağlık riskleri minimize edilmiş maddelerdir. Ancak sentetik antioksidanların izin verilen sınır değerlerin üzerinde kullanılması insan sağlığı için bir tehdit oluşturmaktadır.

Bu çalışmada bitkisel yağ örneklerindeki bazı sentetik antioksidanların (propil gallat ve oktil gallat) DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yöntemiyle ekstraksiyonları ve ardından HPLC-UV ile analizlerini içeren bir analitik yöntem geliştirilmiştir. DÖÇ'ler kolay sentez, düşük maliyet, düşük uçuculuk, yüksek biyobozunurluk ve yapısal tasarımın uygulanabilirliği gibi çekici özelliklerinden dolayı yeni nesil yeşil çözücüler olarak kabul edilmektedir ve son zamanlarda mikroekstraksiyon yöntemlerinde ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılabilirlikleri araştırılmaktadır. Bu çalışmada, DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yönteminin geliştirilmesi genel olarak en uygun mikroekstraksiyon koşullarının seçilmesi, bu koşullar altında yöntemin analitik performansının belirlenmesi, yöntemin gerçek örneklerle uygulanması ve ardından yöntemin literatürdeki mevcut yöntemlerle karşılaştırılması aşamalarından oluşmaktadır. Literatürdeki mevcut yöntemlere alternatif olabilecek yeni mikroekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesi hem çevre hem de insan sağlığının korunması bakımından son derece önemlidir.

BÖLÜM 2

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

2.1 KULLANILAN MADDE VE MALZEMELER

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar ile standart maddeler analitik saflıktadır. Etilen glikol, gliserol, üre, kolin klorür (KoCl), propil gallat, oktil gallat ve asetonitril Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya) firmasından, trifloroasetik asit ve *n*-hekzan Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından ve isopropil alkol Kimetsan (Ankara, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Deneysel çalışmalarda Milli-Q sisteminden (Millipore, Bedford, MA, USA) elde edilen saf su kullanılmıştır.

Sentezlenen derin ötektik çözücülerin karakterize edilmesinde Fourier dönüşümlü infrared (FT-IR) spektrometresi (Perkin Elmer) kullanılmıştır. Örnek hazırlama basamağında ısıtmalı manyetik karıştırıcı (RSM-01H, Phoenix, Garbsen, Almanya), vorteks karıştırıcı (SA8, BioCote, UK) ve santrifüj (NF 200, Nuve, Ankara, Türkiye) cihazları kullanılmıştır. Örneklerin ve standart maddelerin tartılması işleminde analitik terazi (Kern ABJ 220–4 M, Almanya) kullanılmıştır. Yağ numunelerinin ekstraksiyon tüpüne transfer edilmesinde 1000 µL hacim kapasiteli mikro pipet (Axygen, USA) ve mikrolitre hacimli ekstraksiyon çözücüsünün numunelere ilave edilmesi ve geri alınması işlemlerinde ise 100 µL hacim kapasiteli cam mikroenjektör (Hamilton, Bonaduz, İsviçre) kullanılmıştır.

Ayçiçek yağı, mısır yağı ve fındık yağı gibi bitkisel yağ örnekleri, Zonguldak'taki yerel süpermarketlerden temin edilmiştir. Toplanan yağ örnekleri vidalı kapaklı tüplere doldurulmuş ve analiz edilene kadar oda sıcaklığında saklanmıştır.

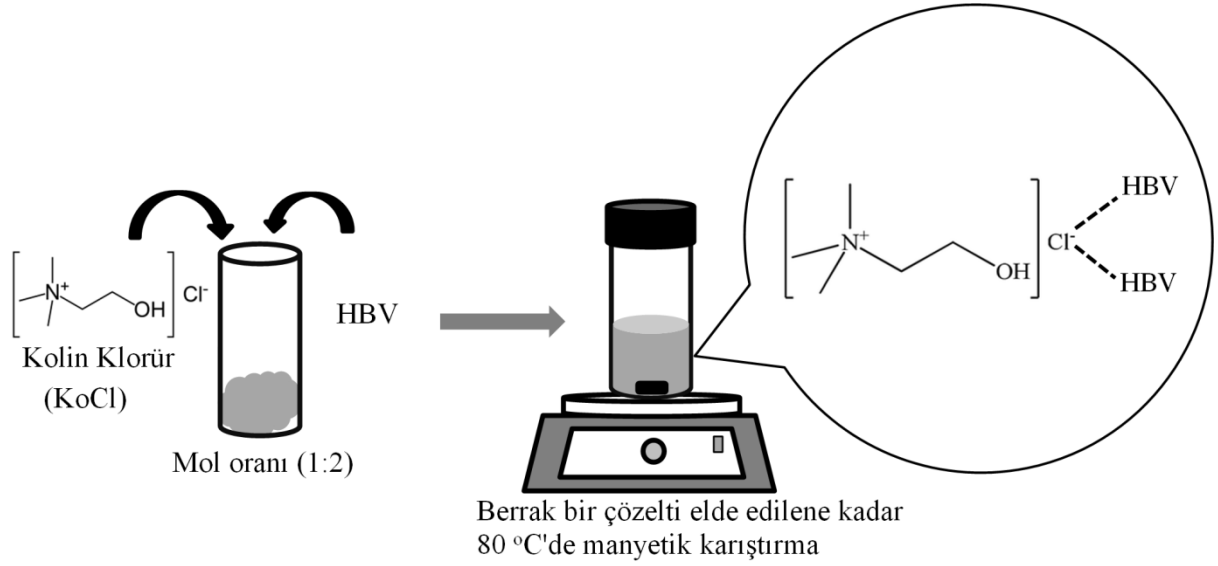
Ekstraksiyon işleminin ardından propil gallat ve oktil gallat içeren numunelerin kromatografik analizleri ultraviyole dedektörlü sıvı kromatografisi (HPLC-UV) ile yapılmıştır. HPLC-UV sistemiyle ilgili teknik özellikler ve analiz şartları Bölüm 2.5'de detaylı olarak verilmiştir.

2.2 STANDART ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

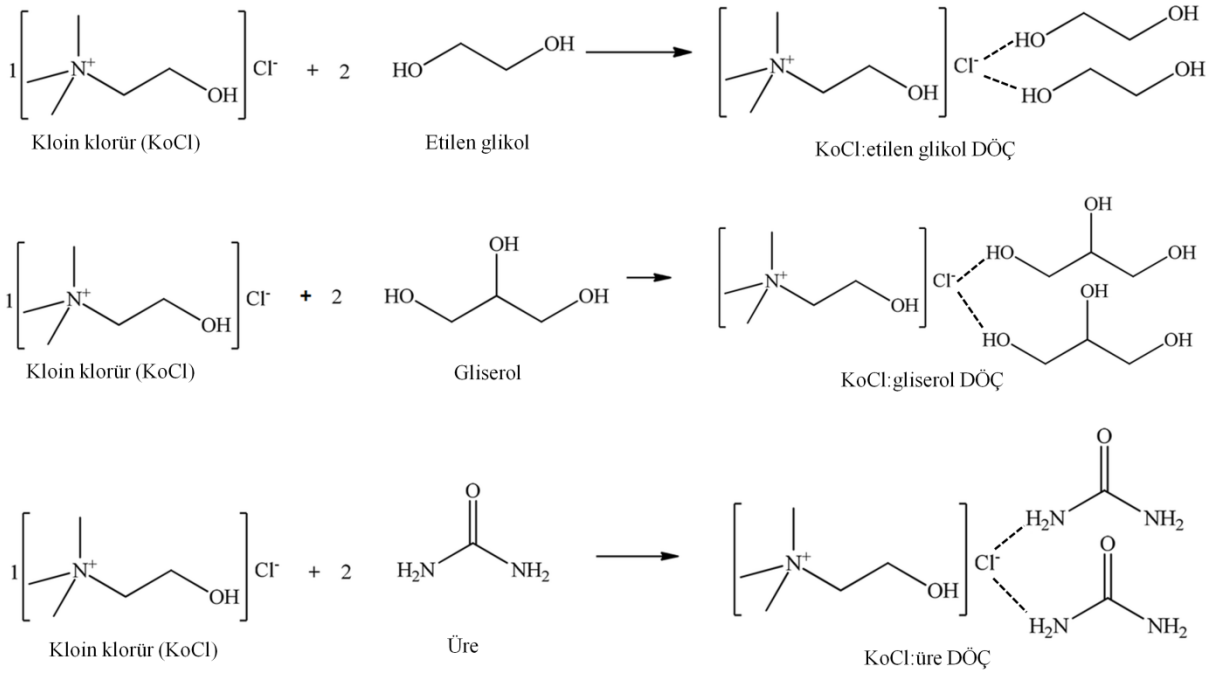
Propil gallat ve oktil gallat antioksidanlarını içeren stok standart çözelti $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda asetonitril içinde hazırlanmış ve buzdolabında $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklanmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki ara stok çözeltiler ise izopropil alkolde taze olarak hazırlanmış ve bu çözeltiler yağ örneklerine standart madde ilavesi yapılması için kullanılmıştır. Standart madde ilavesi yapıldıktan sonra ekstraksiyon öncesinde yağ matrisinde antioksidanların tamamen çözünmesi için yağ örnekleri iyice karıştırılmıştır. En uygun deney koşullarının belirlenmesinde ve kalibrasyon grafiklerinin oluşturulmasında stok çözeltiden seyreltmeyle hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki ($25 \mu\text{g/mL}$, $12,5 \mu\text{g/mL}$, $5 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL}$, $0,5 \mu\text{g/mL}$) standart çözeltiler kullanılmıştır. Hazırlanan tüm çözeltiler analiz edilene kadar buzdolabında ($+4 \text{ }^\circ\text{C}$) muhafaza edilmiştir.

2.3 DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERİN SENTEZİ

Bitkisel yağ örneklerindeki alkil gallatların ekstraksiyonunda çözücü olarak kullanılmak üzere farklı derin ötektik çözücüler (DÖÇ) sentezlenmiştir. DÖÇ sentezinde hidrojen bağı alıcısı (HBA) olarak kolin klorür (KoCl) ve hidrojen bağı vericisi (HBV) olarak ise etilen glikol, gliserol veya üre kullanılmıştır. Ağzı kapaklı bir cam kap içerisinde $0,03 \text{ mol KoCl}$ ve $0,06 \text{ mol HBV}$ berrak bir sıvı elde edilene kadar $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de karıştırılmıştır. Elde edilen KoCl esaslı DÖÇ'ler, sentezlendiği kap içerisinde oda sıcaklığında muhafaza edilmiş ve yağ örneklerinin ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Tüm DÖÇ'lerin sentezinde KoCl ve HBV'ler (etilen glikol, gliserol, üre) 1:2 mol oranında kullanılmıştır. DÖÇ'lerin sentezinin şematik gösterimi Şekil 2.1'de verilmiştir. KoCl ve farklı HBV'ler kullanılarak sentezlenen DÖÇ'lerin kimyasal sentez mekanizmaları ise Şekil 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.1 DÖÇ'lerin sentezinin şematik gösterimi.



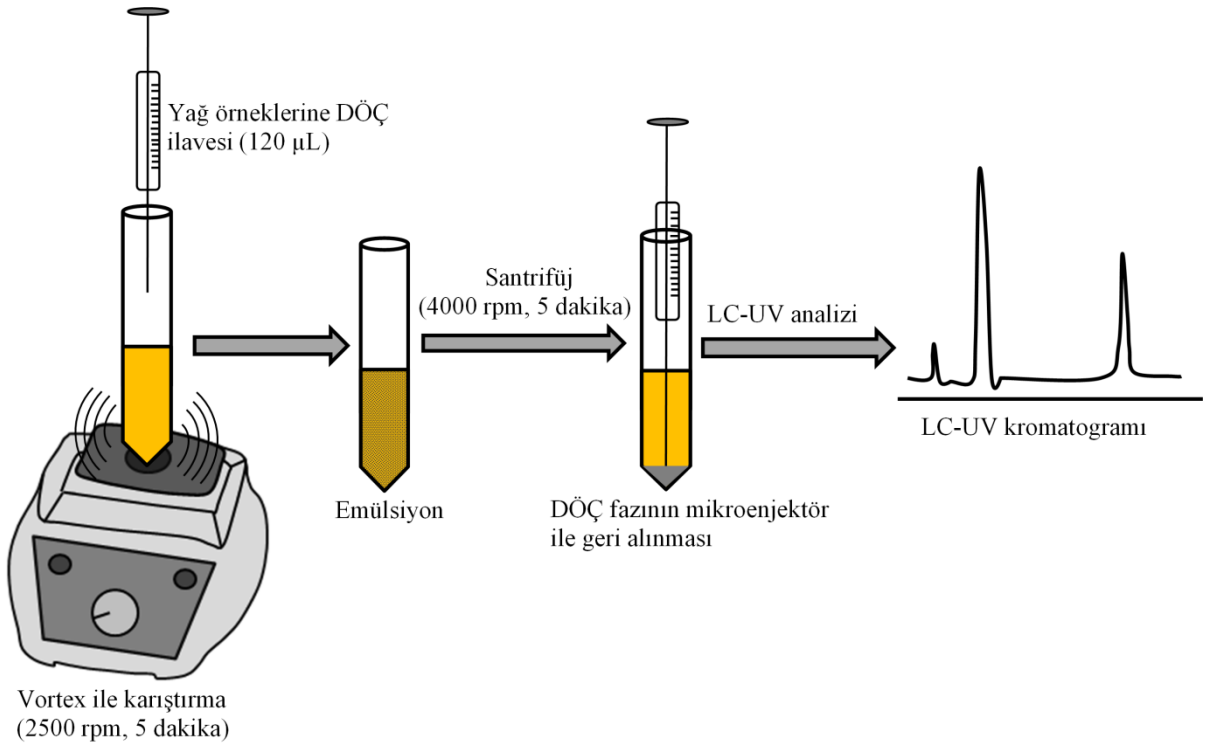
Şekil 2.2 DÖÇ'lerin kimyasal sentez mekanizmaları.

2.4 BİTKİSEL YAĞ ÖRNEKLERİNİN EKSTRAKSİYONU

Bitkisel yağ numunesi (1 g) konik tabanlı bir cam test tüpünün içinde doğru bir şekilde tartılmış ve ardından 1mL hekzan ile seyreltilmiştir. Numune, mikroenjektör yardımıyla 120 μ L DÖÇ ilave edildikten sonra 5 dakika boyunca 2500 rpm'de vorteks ile karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi sonrası numune 4000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlenmiş ve ardından

alt kısımda toplanan DÖÇ fazı mikroenjektör ile toplanmıştır. DÖÇ fazındaki alkil gallatların kromatografik analizleri HPLC-UV ile yapılmıştır.

DÖÇ esaslı ekstraksiyon işlemi ayrıca standart madde ilavesi yapılan yağ örneklerine de uygulanmıştır. Tartılan yağ örneklerine farklı konsantrasyonlarda alkil gallatları içerecek şekilde standart çözelti ilavesi yapılmış ve ardından yukarıda belirtilen adımlar uygulanmıştır. Bitkisel yağ örneklerine uygulanan ekstraksiyon işleminin şematik gösterimi Şekil 2.3'de verilmiştir.



Şekil 2.3 Bitkisel yağ örneklerine uygulanan ekstraksiyon işleminin şematik gösterimi.

2.5 KROMATOĞRAFİK ANALİZ

Yağ örneklerindeki alkil gallatların DÖÇ ile ekstraksiyonu sonrasında kromatografik analizleri HPLC-UV ile yapılmıştır. Kullanılan HPLC-UV sistemi Şekil 2.4'de verilmiştir. HPLC-UV sisteminin özellikleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.4 UV dedektörlü yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC-UV).

Çizelge 2.1 HPLC-UV sisteminin özellikleri.

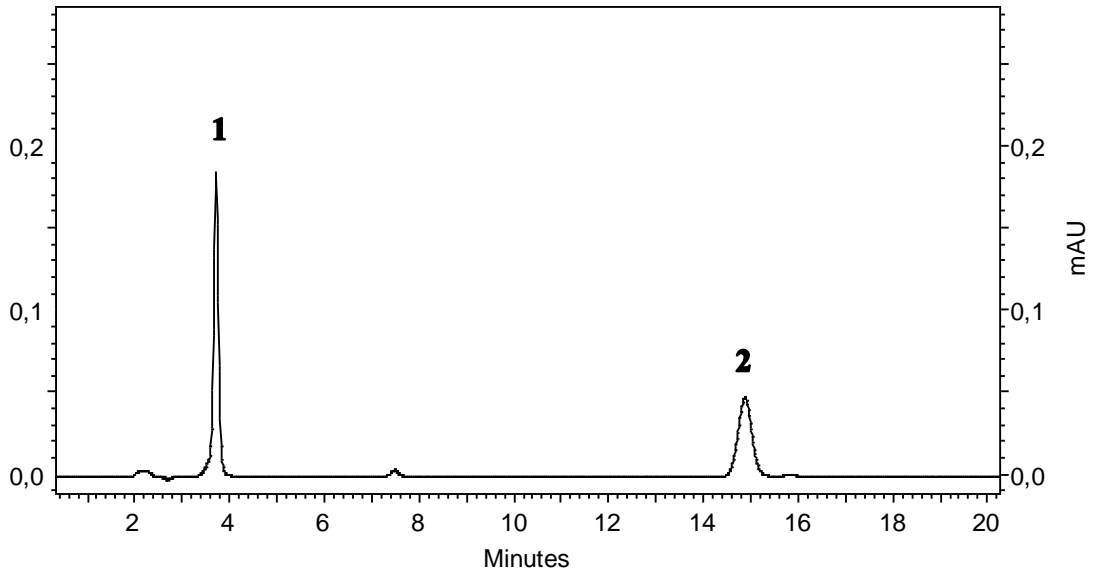
Sistem parametreleri	Sistem model ve özellikleri
Enjeksiyon sistemi	Thermo Finnigan A S3000 autosampler
Pompa sistemi	Thermo Finnigan P 1000
Degazör	Thermo Finnigan SCM 1000
Dedektör	Thermo Finnigan UV 1000
Kontrol sistemi	Thermo Finnigan SN 4000
Yazılım	ChromQuest
Analitik kolon	Phenomenex Max-RP, 250x4,6 mm, 4µm
Hareketli faz	Asetonitril ve su (% 0,1 trifloroasetik asit)
Akış hızı	1 mL/dakika
Basınç	1500-3000 psi
Sıcaklık	Ortam sıcaklığı
Enjeksiyon hacmi	20 µL
Dalga boyu	280 nm

2.6 KROMATOGRFİK ANALİZ ŞARTLARI

HPLC-UV sisteminde hareketli faz olarak, asetonitril ve % 0,1 trifloroasetik asit içeren su kullanılmıştır. Kullanılan elüsyon programına göre, hareketli fazın bileşimi % 40 asetonitril ve % 60 su ile başlamakta ve 20 dakika boyunca doğrusal bir gradiyent elüsyon ile % 90

asetonitril ve % 10 su bileşimine dönüşmektedir. Ardından, 10 dakika içinde başlangıçtaki bileşime geri dönülmektedir. Sistemin başlangıç koşulları altında dengeye gelmesi için 5 dakika beklendikten sonra bir diğer analiz işlemi başlatılmaktadır. Analizlerde, hareketli fazın akış hızı 1 mL/dakika, UV dalga boyu 280 nm ve numune enjeksiyon hacmi 20 µL olarak uygulanmıştır.

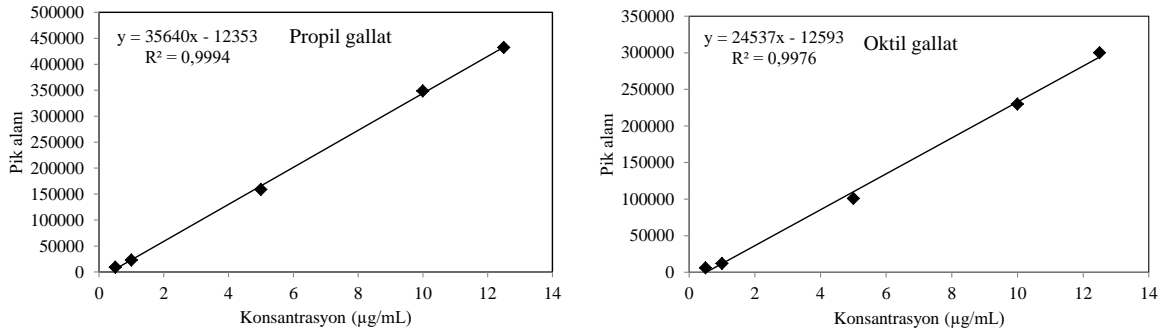
Belirlenen analiz koşullarında, alkil gallatları içeren standart çözeltinin (5 µg/mL) analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı Şekil 2.5’de verilmiştir.



Şekil 2.5 Alkil gallatları içeren standart çözeltinin (5 µg/mL) analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı (1: propil gallat, 2: oktil gallat).

2.7 KROMATOĞRAFİK SİSTEMİN KALİBRASYONU

Alkil gallatları içeren stok çözeltinin (100 µg/mL) seyreltilmesiyle hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki (12,5 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 1 µg/mL, 0,5 µg/mL) çözeltiler HPLC-UV ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarından elde edilen her bir bileşiğe ait pik alanı değerleri konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirilerek propil gallat ve oktil gallat için kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Propil gallat ve oktil gallat için oluşturulan kalibrasyon grafikleri Şekil 2.6’da verilmiştir.



Şekil 2.6 Alkil gallatlar için elde edilen kalibrasyon grafikleri.

Propil gallat ve oktil gallat için elde edilen kalibrasyon denklemleri ve belirleme katsayıları ise (R^2) Çizelge 2.2’de verilmiştir. Bununla birlikte propil gallat ve oktil gallat için sinyal/gürültü (S/G) oranı 3 alınarak kromatografik sistemin gözlenebilme limitleri (LOD) ve S/G oranı 10 alınarak ise tayin limitleri (LOQ) hesaplanmıştır. LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanmasında, konsantrasyonu 1 µg/mL olan standart alkil gallat çözeltisinin analizinden elde edilen S/G oranları kullanılmıştır.

Çizelge 2.2 Kalibrasyon işlemlerine ait kalibrasyon denklemleri, R^2 , LOD, LOQ değerleri.

	Doğrusal aralık (µg/mL)	Kalibrasyon denklemi	Belirleme katsayısı (R^2)	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
Propil gallat	0,5 – 12,5	$y = 35640x - 12353$	0,9994	0,04	0,12
Oktil gallat	0,5 – 12,5	$y = 24537x - 12593$	0,9976	0,12	0,40

y: pik alanı x: konsantrasyon (µg/mL)



BÖLÜM 3

SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

3.1 MİKROEKSTRAKSİYON ŞARTLARININ BELİRLENMESİ

Bu çalışmada, seçilen bazı alkil gallatların (propil gallat ve oktil gallat) bitkisel yağ örneklerinden DÖÇ ile vorteks karıştırma destekli ekstraksiyonunu ve ultraviyole dedektörlü yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC-UV) ile analiz edilmesini içeren bir analitik yöntem önerilmektedir. En uygun ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amacıyla DÖÇ türü, seyreltme çözücüsü hacmi, DÖÇ hacmi ve vorteks karıştırma süresi gibi bazı parametreler optimize edilmiştir. En uygun koşulların belirlenmesinde ekstraksiyon verimleri esas alınmıştır. Bu amaçla alkil gallatları içermeyen ayçiçek yağı numunesi kullanılmış ve bu numuneden alınan 1,0 g'lık tartımlar üzerinde analiz işlemi yapılmıştır. Analiz işlemi öncesinde tartılan numunelere her bir alkil gallatı 1,25 µg/g konsantrasyonunda içerecek şekilde standart çözelti ilavesi yapılmıştır. Bu işlem için izopropil alkol ile hazırlanmış 25 µg/mL konsantrasyonlu stok alkil gallat çözeltisi kullanılmış ve her seferinde tartılan numunelere bu çözültiden 50 µL ilave yapılmıştır. Standart çözelti ilavesi yapılan ayçiçek yağı numuneleri yaklaşık 1 dakika süreyle vorteks ile karıştırılmış ve alkil gallatların numune içerisinde homojen olarak çözünmesi sağlanmıştır. Ardından numunelerin ekstraksiyonu ve analizi yapılmıştır. Analiz işlemiyle belirlenen miktarın başlangıçta ilave edilen miktara oranından alkil gallatlar için kullanılan koşullardaki ekstraksiyon verimleri hesaplanmıştır. Ekstraksiyon veriminin hesaplanmasında Eşitlik 3.1 kullanılmıştır.

$$\text{Ekstraksiyon verimi (\%)} = \frac{M_a}{M} \times 100 \quad (3.1)$$

Ma: Standart madde ilavesi yapılan numunede belirlenen alkil gallat miktarı (µg)

M: Başlangıçta numuneye ilave edilen alkil gallat miktarı (µg)

Standart madde ilavesi yapılan numunedeki alkil gallatların miktarlarının belirlenmesinde Bölüm 2.7’de verilen standart çözeltilerin analizlerinden elde edilen kalibrasyon grafikleri kullanılmıştır. Her bir ekstraksiyon koşulunun belirlenmesi sırasında deneyler üç kez tekrarlanmış ve ekstraksiyon verimleri için aritmetik ortalama değerleri hesaplanmıştır. Hesaplanan ortalama ekstraksiyon verimleri optimum koşulların belirlenmesinde esas alınmıştır.

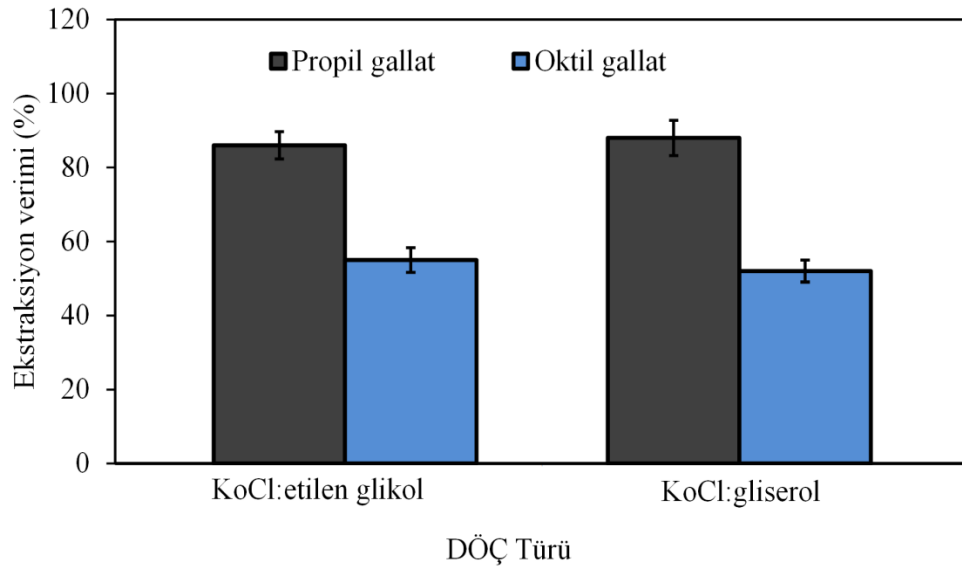
3.1.1 DÖÇ Seçimi

DÖÇ’lerin sentezinde hidrojen bağı alıcısı (HBA) ve hidrojen bağı vericisi (HBV) olarak farklı maddelerin kullanılması, meydana gelen DÖÇ’lerin yoğunluk, viskozite ve yüzey gerilimi gibi fizikokimyasal özelliklerini etkilemektedir. Dolayısıyla ekstraksiyon çözücüsünün fizikokimyasal özelliklerinin değişmesiyle birlikte hedef analitlerin ekstraksiyon verimleri de değişiklik göstermektedir. En uygun DÖÇ’ü seçmek amacıyla HBA olarak kolin klorür (KoCl) ve HBV olarak ise etilen glikol, gliserol veya üre kullanılarak üç farklı DÖÇ hazırlanmış ve bitkisel yağlardaki alkil gallatların ekstraksiyonunda kullanılmıştır. DÖÇ’lerin sentezinde HBA ve HBV için sabit 1:2 mol oranı kullanılmıştır. DÖÇ’lerin sentez mekanizmaları Bölüm 2’de Şekil 2.2’de verilmiştir.

Yağ örneklerindeki alkil gallatların ekstraksiyonunda sentezlenen üç farklı DÖÇ (KoCl:etilen glikol, KoCl:gliserol ve KoCl:üre) test edilmiştir. Bu amaçla, her bir alkil gallatı 1,25 µg/g konsantrasyonunda içeren 1,0 g yağ örneği 100 µL DÖÇ ile 5 dakika boyunca vorteks ile karıştırılmış ve ardından DÖÇ fazının HPLC-UV ile analizi yapılmıştır. Üre içeren DÖÇ ile yapılan ekstraksiyonlarda DÖÇ’ün vorteks karıştırma işlemiyle yağ örneklerinde etkili bir şekilde dağılmadığı gözlenmiştir. Ayrıca ekstraksiyon sonrasında üre içeren DÖÇ’ün HPLC-UV analizi öncesinde mikroenjektöre çekilmesi sırasında bazı zorluklar yaşanmıştır. Bu nedenle üre esaslı DÖÇ için ekstraksiyon verimi hesaplanamamıştır. Aksine, etilen glikol ve gliserol esaslı DÖÇ’lerin kullanıldığı durumlarda ise bu tür zorluklarla karşılaşılmamıştır. Gözlenen bu sonuçlar, sentezlenen DÖÇ’lerin farklı viskoziteye sahip olmalarıyla ilişkilendirilebilir. Üre esaslı DÖÇ, etilen glikol ve gliserol esaslı DÖÇ’lere oranla oldukça yüksek viskoziteye sahiptir. Üre, gliserol ve etilen glikol esaslı DÖÇ’lerin 25 °C’deki viskoziteleri sırasıyla 750 cP, 259 cP ve 37 cP olarak değişiklik göstermektedir [49]. Çoğu DÖÇ’ler, bileşenleri arasındaki hidrojen bağı etkileşimlerinin varlığından dolayı diğer moleküler çözücülere göre daha yüksek viskozitelere (> 100 cP) sahiptirler [47]. DÖÇ’lerin

yüksek viskoziteye sahip olmaları, ekstraksiyon sırasında hedef analitlerin bu çözücülere transferini zorlaştırmaktadır. Genellikle DÖÇ'lerin viskoziteleri su eklenerek düşürülmektedir ve bu sayede analitlerin daha yüksek oranda DÖÇ fazına transfer olması sağlanabilmektedir. Ancak, su mevcudiyeti aynı zamanda çözücü ile hedef analitler arasındaki hidrojen bağı etkileşimlerinin zayıflamasına neden olmakta ve buna bağlı olarak da ekstraksiyon verimleri azalabilmektedir [52]. Suyun ekstraksiyon verimi üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı, bu basamakta viskoziteyi azaltmak için DÖÇ'lere su ilavesi yapılmamıştır.

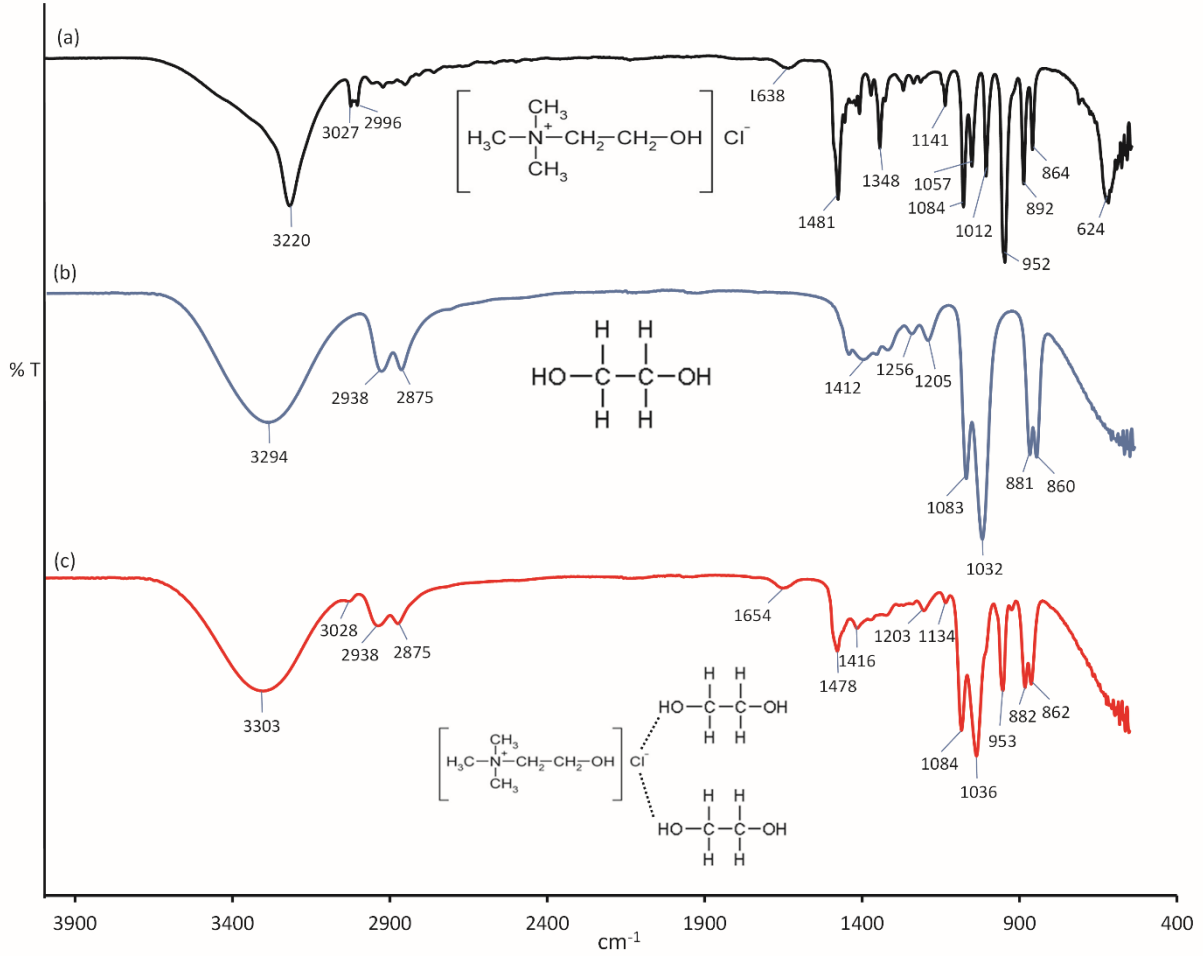
Etilen glikol ve gliserol esaslı DÖÇ'lerin alkil gallatlar için ekstraksiyon verimleri Şekil 3.1'de verilmiştir. Şekil 3.1'de görüldüğü gibi etilen glikol ve gliserol esaslı DÖÇ'ler için yakın ekstraksiyon verimleri elde edilmiştir. Yağ örneklerindeki propil gallat ve oktil gallat için ekstraksiyon verimleri sırasıyla etilen glikol esaslı DÖÇ'ün % 86 ve % 55 ve gliserol esaslı DÖÇ'ün % 88 ve % 52 olarak bulunmuştur. Ancak daha düşük viskoziteye sahip olması kullanım kolaylığı sağladığından etilen glikol esaslı DÖÇ yağ örneklerindeki alkil gallatların ekstraksiyonunda en uygun çözücü olarak seçilmiştir.



Şekil 3.1 Etilen glikol ve gliserol esaslı DÖÇ'lerin alkil gallatlar için ekstraksiyon verimleri. (Ekstraksiyon koşulları: 1 g yağ, 1,25 µg/g standart madde ilavesi, 100 µL DÖÇ, 5 dakika vorteks karıştırma süresi).

3.1.2 Etilen Glikol Esaslı DÖÇ'ün Karakterizasyonu

Yağ örneklerindeki alkil gallerin ekstraksiyonunda en uygun çözücü olarak seçilen etilen glikol esaslı DÖÇ'ün karakterizasyonu FT-IR analizi ile yapılmıştır. Bu amaçla DÖÇ ve bileşenlerinin ayrı ayrı FT-IR analizleri yapılmıştır. KoCl, etilen glikol ve DÖÇ için elde edilen FT-IR spektrumları Şekil 3.2'de verilmiştir.



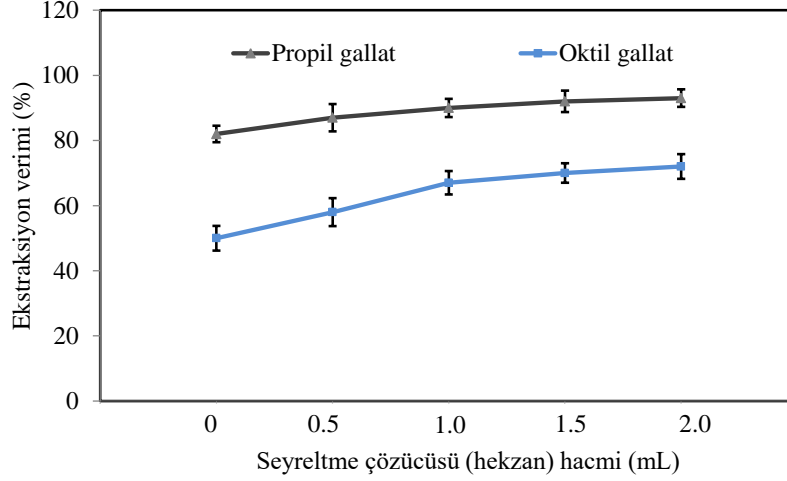
Şekil 3.2 a) KoCl, b) etilen glikol ve c) DÖÇ için elde edilen FT-IR spektrumları.

Şekil 3.2'de görüldüğü gibi etilen glikol ve DÖÇ için O-H gerilme titreşimleri sırasıyla 3294 cm⁻¹ ve 3303 cm⁻¹'de gözlenmektedir. O-H gerilme titreşimindeki kayma, DÖÇ oluşumu sırasında KoCl ve etilen glikol arasında hidrojen bağının meydana geldiğini kanıtlamaktadır. DÖÇ oluşumu sırasında etilen glikolün oksijen atomunun elektron bulutunun bir kısmı hidrojen bağına aktarılmakta ve bu da etilen glikol molekülleri arasındaki hidrojen bağı kuvvetinde azalma meydana getirmektedir [89]. Bu durum O-H absorpsiyon bandında kayma meydana getirmektedir. KoCl için 3220 cm⁻¹'de gözlenen O-H gerilme titreşim bandı ise

çakışmadan dolayı DÖÇ spektrumunda ayırt edilememektedir. Genel olarak DÖÇ spektrumunda gözlenen absorpsiyon bantları, etilen glikol için gözlenen absorpsiyon bantları ile yakın benzerlik göstermektedir. DÖÇ spektrumunda etilen glikol spektrumundan farklı olarak KoCl'den kaynaklanan 1478 cm^{-1} 'de CH_2 eğilme ve 953 cm^{-1} 'de C-N⁺ simetrik gerilme titreşimleri gözlenmiştir. Elde edilen FT-IR analiz sonuçları, literatürdeki sonuçlarla uyumlu olarak etilen glikol esaslı DÖÇ'ün meydana geldiğini ortaya koymaktadır [90–92].

3.1.3 Seyreltme Çözücüsünün Hacminin Seçimi

Yağ numunesinin uygun bir çözücü ile seyreltilmesi, ekstraksiyon verimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Yağ numunesinin seyreltilmesi yağın viskozitesini azalttığından dolayı ekstraksiyon çözücüsünün numune içerisinde dağılması daha etkili olarak gerçekleşmektedir. Bu da çözücü ile analitlerin etkileşimlerinin daha yüksek oranda gerçekleşmesini sağlamaktadır. Ayrıca yağ ve diğer safsızlıklar seyreltme çözücüsünde daha fazla çözündüğünden dolayı, yağ numunelerinin uygun bir çözücü ile seyreltilmesi safsızlıkların giderilmesinde de fayda sağlamaktadır [93]. Yağ numunelerinin seyreltilmesinde düşük toksisitesi, düşük maliyeti ve yağ ile yüksek karışabilirliği nedeniyle hekzan en çok tercih edilen çözücüdür [94]. Bu çalışmada, hekzan seyreltme çözücüsü olarak seçilmiş ve yağ numunelerin seyreltilmesinde kullanılacak en uygun hekzan hacmi belirlenmiştir. Bu amaçla, her bir alkil gallatı $1,25\text{ }\mu\text{g/g}$ konsantrasyon içeren $1,0\text{ g}$ ayçiçeği yağı numunesi farklı hacimlerde ($0\text{-}2\text{ mL}$) hekzan ile seyreltilmiş ve ardından seyreltilmiş numuneler ekstraksiyon çözücüsü olarak $100\text{ }\mu\text{L}$ KoCl:etilen glikol DÖÇ kullanılarak 5 dakika boyunca vorteks ile karıştırılmıştır. Santrifüjleme işleminin ardından yağ numunesinden ayrılan DÖÇ fazının HPLC-UV ile analizi yapılmıştır. Yağ numunesinin farklı hacimlerde hekzan ile seyreltilmesi ve ardından analiz edilmesiyle alkil gallatlar için elde edilen ekstraksiyon verimleri Şekil 3.3'de verilmiştir.



Şekil 3.3 Farklı hacimlerde seyreltme çözücüsü kullanılarak alkil gallatlar için elde edilen ekstraksiyon verimleri. (Ekstraksiyon koşulları: 1 g yağ, 1,25 µg/g standart madde ilavesi, farklı hacimlerde hekzan, 100 µL KoCl:etilen glikol DÖÇ, 5 dakika vorteks karıştırma süresi).

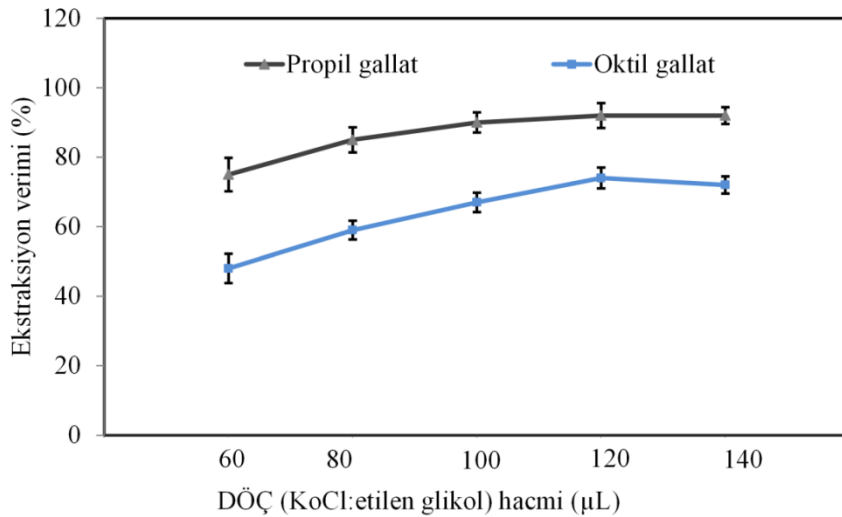
Şekil 3.3’de görüldüğü gibi hekzan hacminin 0 mL’den 1 mL’ye çıkarılmasıyla birlikte alkil gallatların ekstraksiyon verimleri artış göstermiş ve 1 mL’nin üzerine çıkıldığında ise ekstraksiyon verimlerinde önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir. Yağ numunelerinin 1 mL hekzan ile seyreltilmesi sonucunda propil gallat ve oktil gallat için ekstraksiyon verimleri sırasıyla % 90 ve % 69 olarak elde edilmiştir. Yağ numunelerinin hekzan ile seyreltilmesi viskozitenin düşmesine neden olmakta ve bu sayede ekstraksiyon sırasında DÖÇ fazının numune içerisinde daha etkili dağılması gerçekleşmektedir. Bu durum analitlerin yağdan DÖÇ fazına transferini kolaylaştırmaktadır. En yüksek ekstraksiyon verimi 1 mL hekzan ilavesiyle elde edildiğinden dolayı bu hacim en uygun seyreltme çözücüsü hacmi olarak seçilmiştir.

3.1.4 DÖÇ Hacminin Seçimi

En uygun ekstraksiyon çözücüsünün hacminin seçimi mikroekstraksiyon yöntemlerinin çoğunda önemli bir adımdır. Ekstraksiyon çözücüsünün hacminin yüksek tutulması, ekstraksiyon sonrası toplanan çözücü fazının da hacminin yüksek olmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla toplanan çözücü fazındaki analit konsantrasyonunun azalmasıyla birlikte hassasiyet de azalmaktadır. Genel olarak mikroekstraksiyon yöntemlerinde hassasiyetin artırılması amacıyla ekstraksiyon çözücüsünün hacmi düşük tutulmak istenmektedir. Ancak çözücü hacminin istenildiği kadar düşürülmesi her zaman mümkün olmamaktadır. Çünkü

ekstraksiyon sonrasında analiz için yeterli olacak kadar çözücünün geri toplanabiliyor olması da gerekmektedir [95]. Ekstraksiyon çözücü hacminin ekstraksiyon verimi üzerine etkisini incelemek için, 60 ile 140 μL arasında değişen hacimlerde KoCl:etilen glikol DÖÇ kullanılmış ve diğer deneysel parametreler (1 mL seyreltme çözücüsü ve 5 dakika vorteks karıştırma süresi) ise sabit tutulmuştur. Kullanım zorluğu olduğundan dolayı 60 μL 'den daha düşük DÖÇ hacimleri ise test edilmemiştir.

Farklı DÖÇ hacimlerinde alkil gallatlar için elde edilen ekstraksiyon verimleri Şekil 3.4'de verilmiştir. DÖÇ hacminin 60 μL 'den 120 μL 'ye çıkarılmasıyla birlikte alkil gallatların ekstraksiyon verimleri artış göstermiş ve 120 μL 'nin üzerinde DÖÇ kullanıldığında ise önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Genel olarak yüksek hacimlerde ekstraksiyon çözücüsü kullanıldığında daha uzun sürelerde karıştırma işlemine ihtiyaç duyulmaktadır. Dolayısıyla bu basamakta vorteks karıştırma süresi 5 dakikaya sabitlendiğinden dolayı 120 μL 'nin üzerinde DÖÇ kullanıldığında ekstraksiyon veriminin artış göstermemesi, bu hacimdeki DÖÇ'ün kullanılan karıştırma süresi içerisinde yağ numunesinde yeterince dağılmadığını ortaya koymaktadır. Ekstraksiyon verimi 120 μL DÖÇ hacminin üzerine çıktığında önemli bir değişiklik göstermediğinden dolayı bu hacim en uygun DÖÇ hacmi olarak seçilmiştir. 120 μL DÖÇ ile yapılan ekstraksiyon işlemiyle propil gallat ve oktil gallat için ekstraksiyon verimleri sırasıyla % 92 ve % 74 olarak bulunmuştur.

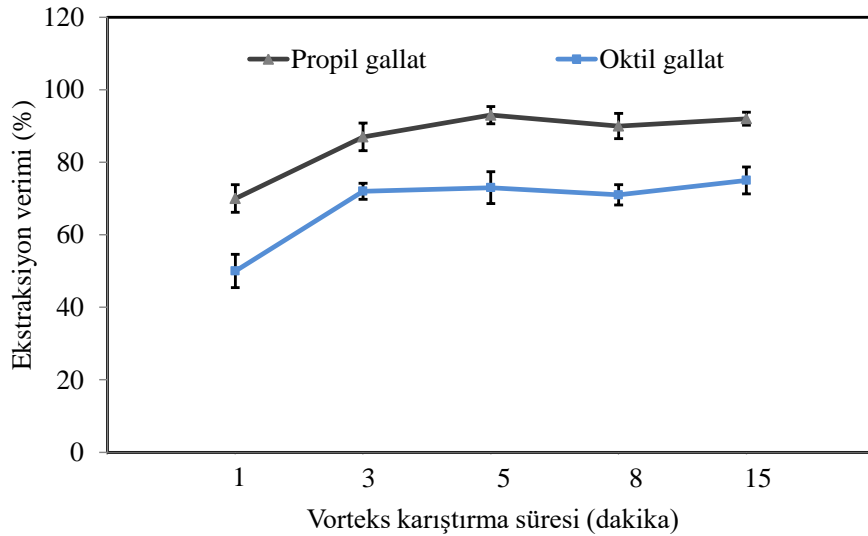


Şekil 3.4 Farklı DÖÇ hacimlerinde alkil gallatlar için elde edilen ekstraksiyon verimleri. (Ekstraksiyon koşulları: 1 g yağ, 1,25 $\mu\text{g/g}$ standart madde ilavesi, 1 mL hekzan, farklı hacimlerde KoCl:etilen glikol DÖÇ, 5 dakika vorteks karıştırma süresi).

3.1.5 Vorteks Karıştırma Süresinin Seçimi

Mikroekstraksiyon yöntemlerinde, vorteks karıştırma işlemi ekstraksiyon çözücüsünün numune içerisinde dağılmasını kolaylaştıran bir işlemdir ve bu sayede analitlerin çözücüyle etkileşimlerinin daha yüksek oranda gerçekleşmesiyle birlikte daha yüksek ekstraksiyon verimleri elde edilmektedir. Ekstraksiyon dengesine ulaşmak için vorteks karıştırma süresi optimize edilmesi gereken önemli bir parametredir. Bu basamakta, vorteks karıştırma hızı maksimumda (2500 rpm) sabit tutularak 1 ile 15 dakika arasında değişen farklı vorteks karıştırma süreleri test edilmiştir.

Farklı vorteks karıştırma sürelerinde alkil gallatlar için elde edilen ekstraksiyon verimleri Şekil 3.5’de verilmiştir. Alkil gallatlar için ekstraksiyon verimleri karıştırma süresinin 1 dakikadan 3 dakikaya çıkarılmasıyla artış göstermiş ve 3 dakikadan 5 dakikaya çıkarılmasıyla ise analite bağlı olarak ekstraksiyon verimlerinde hafifçe artış gözlenmiş veya değişiklik meydana gelmemiştir. 5 dakikanın üzerindeki sürelerde ise ekstraksiyon verimlerinde ilave bir artış gözlenmemiştir. Ekstraksiyon dengesine 5 dakika vorteks karıştırma süresinde ulaşıldığından dolayı bu süre en uygun karıştırma süresi olarak seçilmiştir.



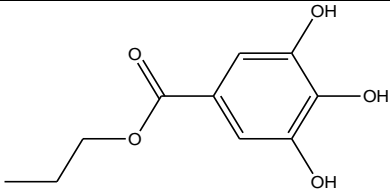
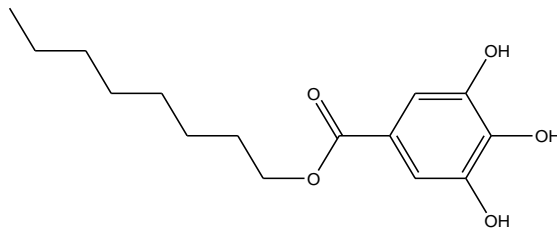
Şekil 3.5 Farklı vorteks karıştırma sürelerinde alkil gallatlar için elde edilen ekstraksiyon verimleri. (Ekstraksiyon koşulları: 1 g yağ, 1,25 µg/g standart madde ilavesi, 1 mL hekzan, 120 µL KoCl:etilen glikol DÖÇ, farklı vorteks karıştırma süreleri).

En uygun mikroekstraksiyon koşullarının belirlenmesi işleminin son basamağında ise en uygun santrifüj süresi belirlenmiştir. Santrifüjleme, ekstraksiyon tüplerinde kromatografik analiz öncesinde iki ayırt edilebilir faz (yağ örneği ve DÖÇ fazı) elde etmek için önemlidir. Santrifüj hızı 4000 rpm’de sabit tutulmuştur. Ekstraksiyon sonrası yağ örneğinin ve DÖÇ fazının etkili bir şekilde ayrılması, 4000 rpm’de 5 dakika santrifüj işlemiyle gerçekleştirilmiştir. 5 dakikanın üzerine çıkılması ise faz ayırımında önemli bir iyileştirme sağlamamıştır. Bu nedenle santrifüjleme işlemi için 4000 rpm ve 5 dakika seçilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, yağ örneklerindeki alkil gallatların ekstraksiyonunda en uygun DÖÇ olarak KoCl:etilen glikol (1:2), seyreltme çözücüsü olarak hekzan, seyreltme çözücüsü hacmi olarak 1 mL, DÖÇ hacmi olarak 120 µL, vorteks karıştırma hızı ve süresi olarak 2500 rpm ve 5 dakika, santrifüj hızı ve süresi olarak ise 4000 rpm ve 5 dakika seçilmiştir.

En uygun ekstraksiyon koşullarında, propil gallat ve oktil gallat için ortalama ekstraksiyon verimleri sırasıyla % 93 ve % 73 olarak bulunmuştur. Propil gallat ve oktil gallatın kimyasal yapıları ve bazı fizikokimyasal parametreleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Alkil gallatların kimyasal yapıları ve bazı fizikokimyasal parametreleri.

Alkil gallatlar	Kimyasal yapı	pK _a [96]	Log K _{ow} [97]
Propil gallat		7,9	2,6
Oktil gallat		7,9	5,2

pK_a: Asitlik sabitinin eksi logaritması

Log K_{ow}: Oktanol-su dağılım sabitinin logaritması

Hem propil gallat ve hem de oktil gallat için pK_a değeri yaklaşık aynıdır ve değeri 7,9’dur [96]. Dolayısıyla pK_a değerlerinin yaklaşık aynı olması her iki alkil gallatın hidroksil oksijenlerinin aynı elektron yoğunluğuna sahip olduğu anlamını taşımaktadır. Bu da her iki

alkil gallatın hidrojen bağı oluşturma potansiyellerinin benzer olduğunu göstermektedir. Alkil gallatların yağ ortamından DÖÇ fazına hidrojen bağı yaparak transfer olduğu düşünüldüğünde her iki gallat için benzer ekstraksiyon verimleri elde edilmesi gerekirdi. Ancak elde edilen sonuçlara göre oktil gallat için elde edilen ekstraksiyon verimi daha düşüktür. Ekstraksiyon verimlerindeki bu farklılık bileşiklerin hidrofobik özelliklerinin farklılığı ile açıklanabilir. Propil gallat ve oktil gallat için oktanol-su dağılım katsayısı ($\text{Log } K_{ow}$) sırasıyla 2,6 ve 5,2'dir [97]. Alkil gallatların hidrofobik özelliği alkil zincirinin uzunluğunun artmasıyla artmaktadır. Oktil gallatın hidrofobik özelliğinin daha fazla olması yağ ile daha kuvvetli hidrofobik etkileşim kurmasına neden olmaktadır. Bu nedenle de ekstraksiyon sırasında hidrojen bağı oluşturarak DÖÇ fazına transfer olması propil gallata oranla daha zayıf gerçekleşmektedir.

3.2 METODUN ANALİTİK PERFORMANSI

Önerilen metodun performansı, optimize edilen deneysel koşullar altında değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede metodun doğrusal aralığı, belirleme katsayısı (R^2), gözlenebilme limiti (LOD), tayin limiti (LOQ), gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliği incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Alkil gallatlar için DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yönteminin analitik parametreleri

Alkil gallatlar	LA ^a	R ^{2b}	LOD ^c	LOQ ^d	BSS% ^e	BSS% ^f
Propil gallat	0,01–5	0,9995	2,1	7,0	4,6	5,4
Oktil gallat	0,01–5	0,9996	4,6	15,3	6,4	7,5

^aDoğrusal aralık ($\mu\text{g/g}$).

^bBelirleme katsayısı.

^cGözlenebilme limiti ($\mu\text{g/kg}$, $S/G = 3$).

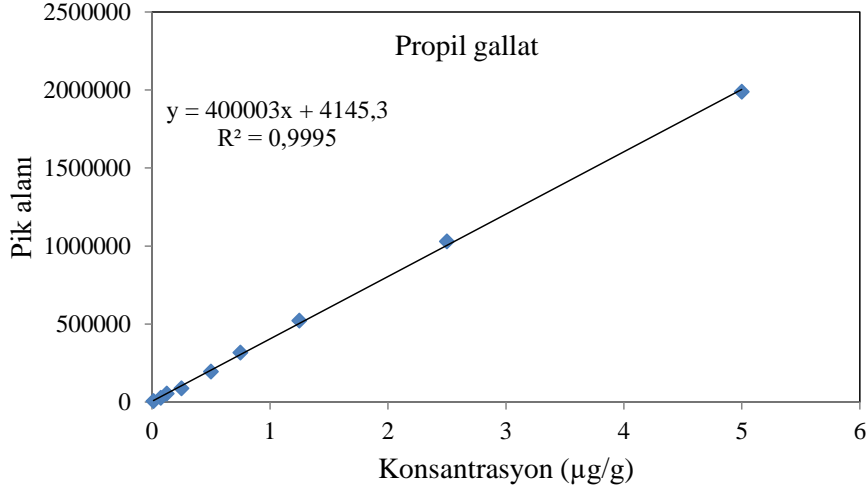
^dTayin limiti ($\mu\text{g/kg}$, $S/G = 10$).

^eGün-içi bağıl standart sapma ($C = 0,5 \mu\text{g/g}$, $n = 5$).

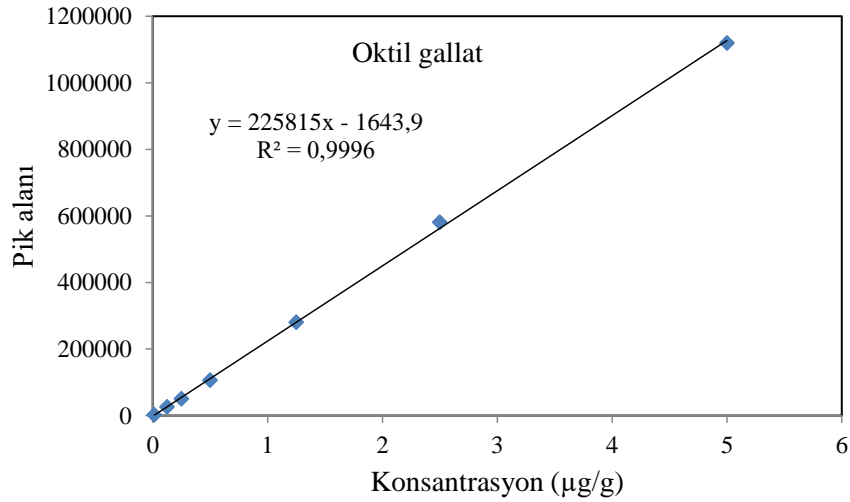
^fGünler-arası bağıl standart sapma ($C = 0,5 \mu\text{g/g}$, $n = 3$).

Çizelge 3.2'de görüldüğü gibi metodun doğrusallığı propil gallat ve oktil gallat için 0,01-5 $\mu\text{g/g}$ konsantrasyon aralığında incelenmiştir. Bu amaçla 1,0 g yağ örneklerine belirlenen konsantrasyonlarda alkil gallatları içerecek şekilde standart madde ilavesi yapılmış ve ardından yağ örneklerin optimum koşullarda KoCl: etilen glikol ile ekstraksiyonu yapılmıştır. Yapılan HPLC-UV analizleri sonucunda alkil gallatlar için elde edilen pik alanı değerleri konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir. Propil gallat ve oktil gallat için elde edilen kalibrasyon grafikleri, kalibrasyon denklemleri ve belirleme

katsayıları (R^2) Şekil 3.6 ve Şekil 3.7’de verilmiştir. Propil gallat ve oktil gallat için kalibrasyon grafiklerinden elde edilen R^2 değerleri sırasıyla 0,9995 ve 0,9996 olarak bulunmuştur. Bu değerler metodun doğrusallığının oldukça iyi olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 3.6 Propil gallat için elde edilen kalibrasyon grafiği, kalibrasyon denklemini ve belirleme katsayısı.



Şekil 3.7 Oktil gallat için elde edilen kalibrasyon grafiği, kalibrasyon denklemini ve belirleme katsayısı.

Çizelge 3.2’de verilen metodun gözlenebilirlik limitleri (LOD), propil gallat ve oktil gallat için sinyal/gürültü (S/G) oranı 3 alınarak, metodun tayin limitleri (LOQ) ise S/G oranı 10 alınarak hesaplanmıştır. LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanmasında, 0,125 µg/g konsantrasyonunda

alkil gallatları içeren yağ örneğinin analizinden elde edilen S/G oranları kullanılmıştır. LOD değerleri propil gallat ve oktil gallat için sırasıyla 2,1 µg/kg ve 4,6 µg/kg, LOQ değerleri ise sırasıyla 7,0 µg/kg ve 15,3 µg/kg olarak bulunmuştur.

Metodun tekrarlanabilirliği gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirlik olarak hesaplanmıştır. Yağ örneğine 0,5 µg/g konsantrasyon seviyesinde olacak şekilde standart alkil gallat çözeltisi ilave edilmiş ve örnekler gün içerisinde beş kez ve sıralı üç gün boyunca analiz edilmiştir. Geliştirilen metodun gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliği bağıl standart sapma (BSS) olarak hesaplanmıştır. BSS değerlerinin hesaplanmasında Eşitlik 3.2 kullanılmıştır.

$$\text{Bağıl standart sapma (BSS \%)} = \frac{SS}{X_{\text{ort}}} \times 100 \quad (3.2)$$

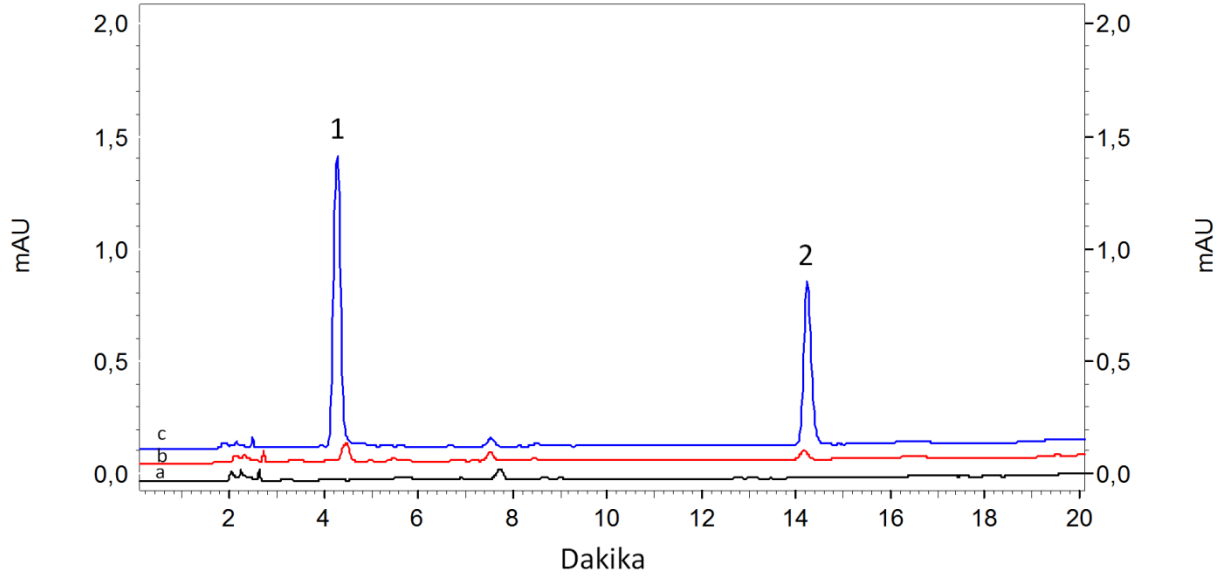
SS: Tekrarlı analiz sonuçlarının standart sapması

X_{ort}: Tekrarlı analiz sonuçlarının aritmetik ortalaması

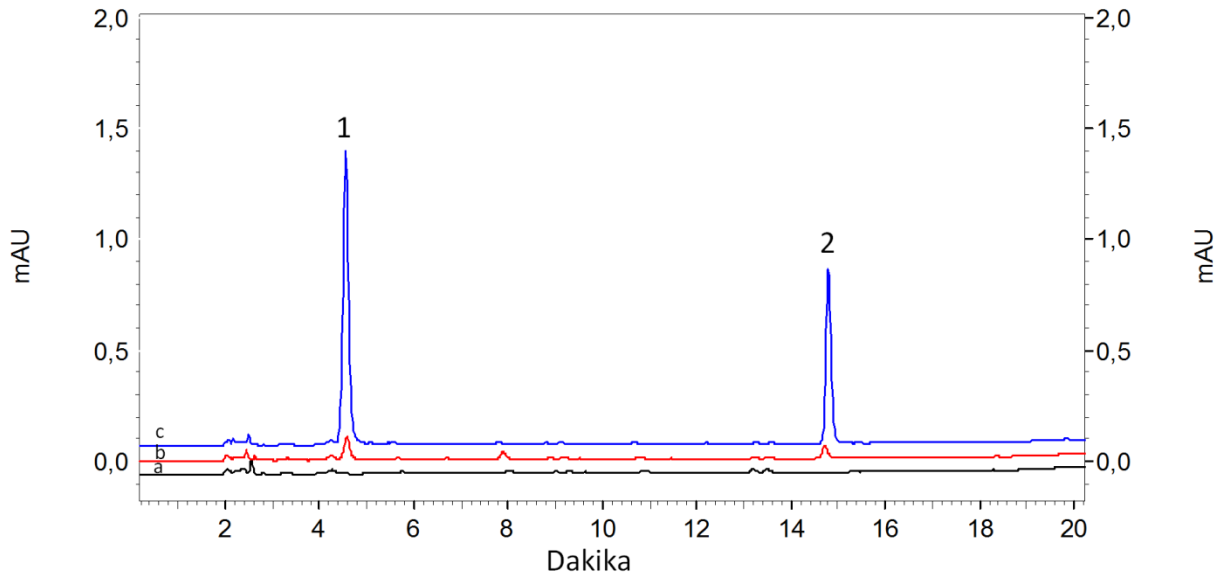
Propil gallat ve oktil gallat için gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirlik sonuçları sırasıyla % 4,6–6,4 ve % 5,4–7,5 arasında değişiklik göstermiştir. Sonuçlar metodun iyi bir tekrarlanabilirliğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

3.3 ÖNERİLEN METODUN FARKLI YAĞ ÖRNEKLERİNE UYGULANMASI

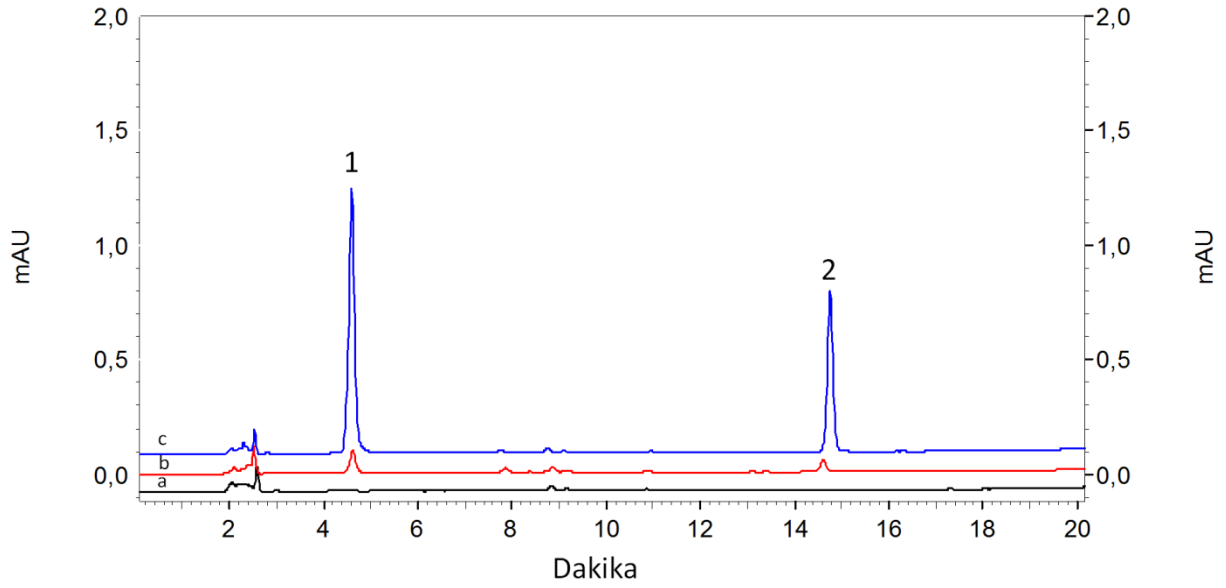
Önerilen DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yönteminin farklı yağ örneklerine uygulanabilirliğinin araştırılması amacıyla Zonguldak'taki farklı marketlerden toplanan üç farklı bitkisel yağ örneği (ayçiçek yağı, mısır yağı ve fındık yağı) önerilen yöntem kullanılarak analiz edilmiştir. Bitkisel yağ örnekleri hem standart madde ilavesi yapılmadan, hem de alkil gallatları 0,25 µg/g ve 2,5 µg/g konsantrasyonlarında içerecek şekilde standart madde ilavesi yapıldıktan sonra analiz edilmiştir. Standart madde ilavesi yapılmayan ve yapılan farklı yağ örneklerinin önerilen metot ile analizlerinden elde edilen HPLC-UV kromatogramları sırasıyla Şekil 3.8, Şekil 3.9, Şekil 3.10, Şekil 3.11 ve Şekil 3.12'de verilmiştir.



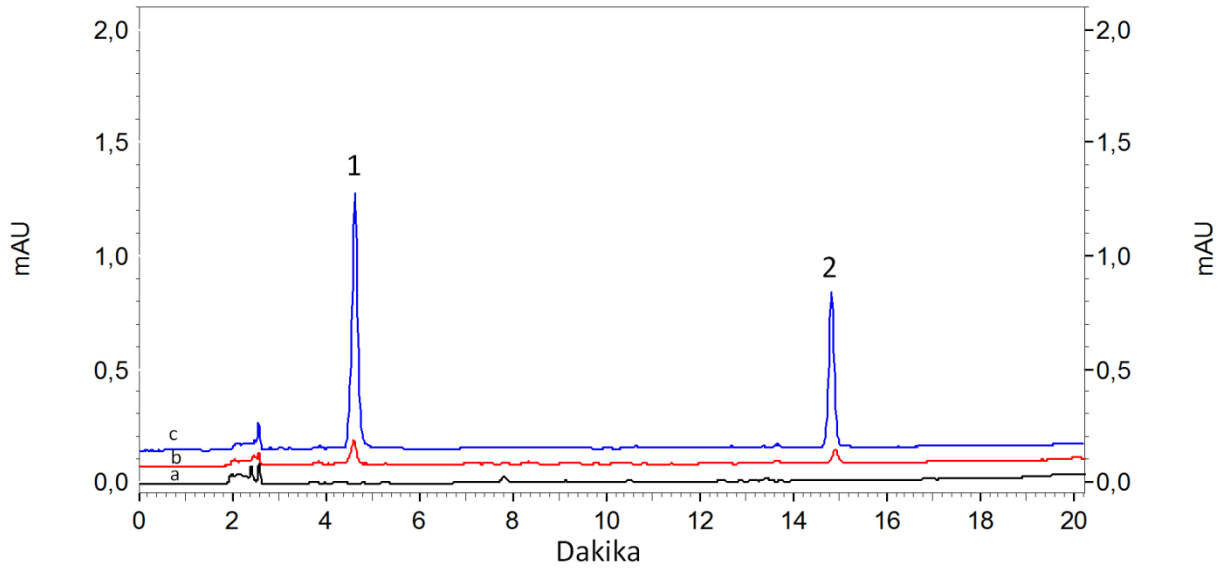
Şekil 3.8 a) Standart madde ilavesi yapılmayan, b) 0,25 $\mu\text{g/g}$ ve c) 2,5 $\mu\text{g/g}$ konsantrasyonlarında olacak şekilde standart madde ilavesi yapılan ayçiçek yağı-1 örneğinin analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı. 1: Propil gallat, 2: Oktil gallat.



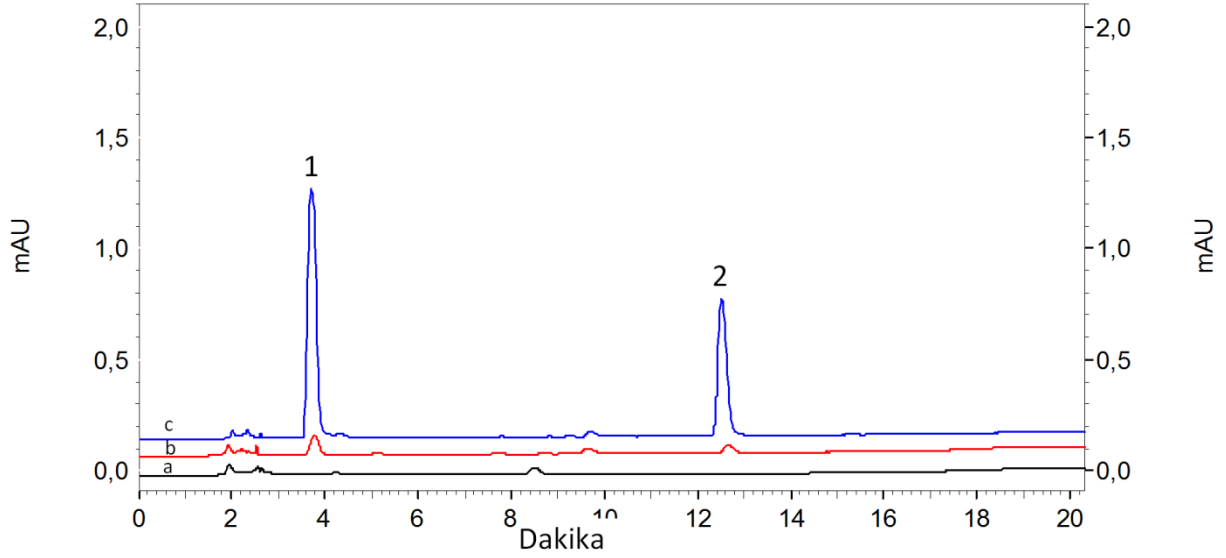
Şekil 3.9 a) Standart madde ilavesi yapılmayan, b) 0,25 $\mu\text{g/g}$ ve c) 2,5 $\mu\text{g/g}$ konsantrasyonlarında olacak şekilde standart madde ilavesi yapılan ayçiçek yağı-2 örneğinin analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı. 1: Propil gallat, 2: Oktil gallat.



Şekil 3.10 a) Standart madde ilavesi yapılmayan, b) 0,25 $\mu\text{g/g}$ ve c) 2,5 $\mu\text{g/g}$ konsantrasyonlarında olacak şekilde standart madde ilavesi yapılan ayçiçek yağı-3 örneğinin analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı. 1: Propil gallat, 2: Oktil gallat.



Şekil 3.11 a) Standart madde ilavesi yapılmayan, b) 0,25 $\mu\text{g/g}$ ve c) 2,5 $\mu\text{g/g}$ konsantrasyonlarında olacak şekilde standart madde ilavesi yapılan mısır yağı örneğinin analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı. 1: Propil gallat, 2: Oktil gallat.



Şekil 3.12 a) Standart madde ilavesi yapılmayan, b) 0,25 µg/g ve c) 2,5 µg/g konsantrasyonlarında olacak şekilde standart madde ilavesi yapılan fındık yağı örneğinin analizinden elde edilen HPLC-UV kromatogramı. 1: Propil gallat, 2: Oktil gallat.

Farklı bitkisel yağ örnekleri hem standart madde ilavesi yapılmadan, hem de alkil gallatları 0,25 µg/g ve 2,5 µg/g konsantrasyonlarında içerecek şekilde standart madde ilavesi yapıldıktan sonra analiz edilmiştir. Standart madde ilavesi yapılmayan yağ örneklerinin hiç birinde alkil gallat tespit edilmemiştir. Standart madde ilavesi yapılan yağ örneklerinin önerilen yöntemle analizleri sonucunda bulunan konsantrasyon değerlerinin başlangıçta eklenen konsantrasyon değerlerine oranlanmasıyla alkil gallatlar için bağıl geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Analizler, her bir standart madde ilavesi için üç kez tekrarlanmış ve tekrarlı analiz sonuçlarından yöntemin bağıl standart sapması (BSS) hesaplanmıştır. Çizelge 3.3’de bitkisel yağ örnekleri için bulunan bağıl geri kazanım değerleri ve BSS değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.3 Standart madde ilavesi yapılan bitkisel yağ örneklerinin analizinden elde edilen yüzde geri kazanım ve BSS değerleri.

Yağ örneği	Eklenen (µg/g)	Propil gallat		Oktil gallat	
		Geri kazanım (%)	BSS (% , n=3)	Geri kazanım (%)	BSS (% , n=3)
Ayçiçek yağı-1	0,25	83	4,8	84	5,7
	2,50	96	2,4	98	3,2
Ayçiçek yağı-2	0,25	78	3,8	93	4,2
	2,50	98	2,7	100	2,2
Ayçiçek yağı-3	0,25	90	4,3	87	4,6
	2,50	99	4,0	106	5,2
Mısır yağı	0,25	86	5,4	79	5,5
	2,50	90	2,5	87	2,0
Fındık yağı	0,25	92	3,2	86	4,7
	2,50	104	3,4	98	4,4

Çizelge 3.3’de görüldüğü gibi, yağ örneklerine uygulanan DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yönteminin geri kazanım değerlerinin % 78 ile % 106, BSS değerlerinin ise % 2,0 ile % 5,7 arasında değişim gösterdiği bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, önerilen metodun bitkisel yağ örneklerindeki alkil gallatların belirlenmesinde güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

3.4 ÖNERİLEN METODUN DİĞER METOTLARLA KARŞILAŞTIRILMASI

Bitkisel yağ örneklerindeki alkil gallatların belirlenmesi için önerilen DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yöntemi, literatürdeki mevcut yöntemlerle karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmada örnek miktarı, ekstraksiyon çözücüsünün türü, ekstraksiyon çözücüsünün hacmi, ekstraksiyon süresi ve bazı analitik performans parametreleri (BSS, LOD ve geri kazanım) esas alınmıştır. Metotların karşılaştırma detayları Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4 Yağ örneklerindeki alkil gallatlar için önerilen DES esaslı mikroekstraksiyon yönteminin literatürdeki diğer yöntemlerle karşılaştırılması.

Metot	Analit	Örnek miktarı (g)	Ekstraksiyon çözücüsü	Çözücü hacmi (mL)	Ekstraksiyon süresi (dakika)	BSS (%)	LOD	Geri kazanım (%)	Kaynak
BNE-HPLC-DAD	PG	2	Triton X-114	5	30	<2,2	1,9 µg L ⁻¹	86–88	[98]
UDE-HPLC-UV	PG	10	Metanol + asetonitril	45	15	<4,0	300 µg L ⁻¹	103–108	[77]
SSE-LC-TOF-MS	PG OG	0,25	Asetonitril + hekzan	3	5	<6,3	20 µg kg ⁻¹ 20 µg kg ⁻¹	82–96	[78]
DSSME-HPLC-DAD	PG OG	0,025	Asetonitril + hekzan	1	2	<2,7	10 µg L ⁻¹ 15 µg L ⁻¹	94–105	[73]
DSSME-MKFE-HPLC-UV	PG	2	Heptanol	0,16	~3	<6,7	1,2 µg L ⁻¹	90–92	[88]
VD-DÖÇ-SSME-HPLC-UV	PG OG	1	KoCl:etilen glikol DÖÇ	0,12	5	<7,5	2,1 µg kg ⁻¹ 4,6 µg kg ⁻¹	78–106	Bu çalışma

BNE: bulutlanma noktası ekstraksiyonu; HPLC: yüksek performans sıvı kromatografisi; DAD: diyot dizi dedektörü; UDE; Ultrasonik destekli ekstraksiyon; UV: ultraviyole; SSE; sıvı-sıvı ekstraksiyon; TOF-MS: uçuş zamanlı-kütle spektrometresi; DSSME: dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon; MKFE: manyetik katı-faz ekstraksiyon; VD: vorteks destekli; DÖÇ: derin ötektik çözücü; SSME: sıvı-sıvı mikroekstraksiyon; PG: propil gallat; OG: oktil gallat; BSS: bağlı standart sapma; LOD: gözlenebilme limiti.

Çizelge 3.4’de görüldüğü gibi önerilen yöntemde, mevcut yöntemlerin çoğundan daha az miktarda numune ve çözücü kullanılmaktadır. Bu durum önerilen metoda daha ekonomik olma özelliği kazandırmaktadır. Ayrıca önerilen metodun ekstraksiyon süresi (5 dakika) mevcut bazı metotların ekstraksiyon sürelerinden (5 – 30 dakika) daha kısadır. Bu da önerilen metoda zaman tasarrufu bakımından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ekstraksiyon çözücülerini kıyaslandığında ise önerilen metotta kullanılan KoCl:etilen glikol DÖÇ, diğer metotlarda kullanılan organik çözücülere (metanol, hekzan, asetonitril gibi) oranla daha çevre dostudur. Hassaslık, doğruluk ve tekrarlanabilirlik bakımından yöntemler kıyaslandığında ise bütün yöntemlerde elde edilen LOD, BSS ve geri kazanım değerleri yakın benzerlik göstermektedir. Karşılaştırma sonuçları göz önüne alındığında, önerilen DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yönteminin yağ örneklerindeki alkil gallatların belirlenmesinde kullanılabilecek hızlı, kullanımı kolay, ekonomik, çevreye duyarlı ve hassas bir yöntem olduğunu ortaya çıkmaktadır.

3.5 GENEL DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, bitkisel yağ örneklerindeki bazı alkil gallatların (propil gallat ve oktil gallat) DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yöntemiyle analizlerine yönelik hassas, kolay uygulanabilen ve

ekonomik bir metot geliştirilmiştir. Geliştirilen metot, 1 mL hekzan ile seyreltilmiş 1.0 g yağ numunesinin 120 µL KoCl:etilen klorür DÖÇ ile 5 dakika boyunca vorteks ile karıştırılmasını, ardından faz ayrımı için santrifüjlemeyi ve son aşamada ise analitleri içeren DÖÇ fazının HPLC-UV ile doğrudan analizini içermektedir. Optimizasyon aşamasında ekstraksiyon verimini etkileyen bazı önemli parametreler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, yağ örneklerindeki alkil gallatların ekstraksiyonunda en uygun DÖÇ olarak KoCl:etilen glikol (1:2), seyreltme çözücüsü olarak hekzan, seyreltme çözücüsü hacmi olarak 1 mL, DÖÇ hacmi olarak 120 µL, vorteks karıştırma hızı ve süresi olarak 2500 rpm ve 5 dakika, santrifüj hızı ve süresi olarak ise 4000 rpm ve 5 dakika seçilmiştir.

En uygun ekstraksiyon koşullarında, propil gallat ve oktil gallat için ortalama ekstraksiyon verimleri sırasıyla % 93 ve % 73 olarak bulunmuştur. Metot gözlenebilir limitleri (LOD), propil gallat ve oktil gallat için sırasıyla 2,1 µg/kg ve 4,6 µg/kg olarak bulunmuştur. Propil gallat ve oktil gallat için gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirlik sonuçları sırasıyla % 4,6–6,4 ve % 5,4–7,5 arasında değişiklik göstermiştir. Sonuçlar metodun iyi bir tekrarlanabilirliğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Alkil gallatların farklı bitkisel yağ örneklerinden mikroekstraksiyonu verimli bir şekilde yapılmıştır. Standart madde ilavesi yapılan yağ örnekleri için geri kazanım değerlerinin % 78 ile % 106 arasında değişim gösterdiği bulunmuştur. Yağ örneklerindeki alkil gallatların belirlenmesi için önerilen DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yöntemi, literatürdeki mevcut yöntemlerle karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonuçları, önerilen DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yönteminin yağ örneklerindeki alkil gallatların belirlenmesinde kullanılabilecek hızlı, kullanımı kolay, ekonomik, çevreye duyarlı ve hassas bir metot olduğunu ortaya koymuştur.

Bu çalışma kapsamında yağ örneklerindeki alkil gallatların analizine yönelik önerilen DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon yöntemi, literatürdeki klasik mikroekstraksiyon yöntemlerinin uygulamalarını genişletmekte ve sahip olduğu avantajlar ile mevcut yöntemlere alternatif oluşturmaktadır. Ayrıca bu çalışmada sunulan yöntemin alkil galatlardan başka diğer fenolik antioksidanların analizi için de uygulanabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda, bu çalışma kapsamında önerilen yöntemin, ileriki zamanlarda yapılacak olan DÖÇ esaslı mikroekstraksiyon çalışmaları için yol gösterici olabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Sarafraz-Yazdi A and Amiri A** (2010) Liquid-phase microextraction. *TrAC Trends Anal. Chem.* 29: 1–14.
- [2] **Ramos L, Ramos J J and Brinkman U T** (2005) Miniaturization in sample treatment for environmental analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* 381: 119–140.
- [3] **De Castro M L and Garcia-Ayuso L E** (1998) Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Anal. Chim. Acta*, 369: 1–10.
- [4] **Szreniawa-Sztajnert A, Zabiegała B and Namieśnik J** (2013) Developments in ultrasound-assisted microextraction techniques for isolation and preconcentration of organic analytes from aqueous samples. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 49: 45–54.
- [5] **Pico Y** (2013) Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 43: 84–99.
- [6] **Eskilsson C S and Björklund E** (2000) Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J. Chromatogr. A* 902: 227–250.
- [7] **Sun H Ge, X Lv Y and Wang A** (2012) Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. *J. Chromatogr. A*, 1237: 1–23.
- [8] **Zougagh M, Valcárcel M and Rios A** (2004) Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness. *TrAC Trends Anal. Chem*, 23: 399–405.
- [9] **Barker S A, Long A R and Short C R** (1989) Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. *J. Chromatogr. A.*, 475: 353–361.
- [10] **Albero B, Sánchez-Brunete C, Donoso A and Tadeo J L** (2004) Determination of herbicide residues in juice by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1043: 127–133.
- [11] **Capriotti A L, Cavaliere C, Giansanti P, Gubbiotti R, Samperi, R and Laganà A** (2010) Recent developments in matrix solid-phase dispersion extraction. *J. Chromatogr. A.*, 1217: 2521–2532.
- [12] **Hyötyläinen T** (2009) Critical evaluation of sample pretreatment techniques. *Anal. Bioanal. Chem.*, 394: 743–758.
- [13] **Nováková L and Vlčková H A** (2009) review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: chromatography and sample preparation. *Anal. Chim. Acta*, 656: 8–35.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [14] **Andrade-Eiroa A, Canle M, Leroy-Cancellieri V and Cerdà V** (2016) Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). *TrAC Trends Anal. Chem.*, 80: 641–654.
- [15] **Hennion M C** (1999) Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 856: 3–54.
- [16] **Plotka-Wasyłka J, Owczarek K and Namieśnik J** (2016) Modern solutions in the field of microextraction using liquid as a medium of extraction. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 85: 46–64.
- [17] **Arthur C L and Pawliszyn J** (1990) Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. *Anal. Chem.*, 62: 2145–2148.
- [18] **Kataoka H, Lord H L, and Pawliszyn J N** (2000) Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 880: 35–62.
- [19] **Lord H and Pawliszyn J** (2000) Evolution of solid-phase microextraction technology. *J. Chromatogr. A*, 885: 153–193.
- [20] **Wardencki W, Michulec M and Curyło J** (2004) A review of theoretical and practical aspects of solid-phase microextraction in food analysis. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 39: 703–717.
- [21] **Dietz C, Sanz, J and Cámara C** (2006) Recent developments in solid-phase microextraction coatings and related techniques. *J. Chromatogr. A*, 1103: 183–192.
- [22] **Ke Y, Zhu F, Zeng F, Luan, T, Su C and Ouyang G** (2013) Preparation of graphene-coated solid-phase microextraction fiber and its application on organochlorine pesticides determination. *J. Chromatogr. A*, 1300: 187–192.
- [23] **Liu S and Dasgupta P K** (1995) Liquid droplet. A renewable gas sampling interface. *Anal. Chem.*, 67: 2042–2049.
- [24] **Liu H and Dasgupta P K** (1996) Analytical chemistry in a drop. Solvent extraction in a microdrop. *Anal. Chem.*, 68: 1817–1821.
- [25] **Jeannot M A and Cantwell F F** (1996) Solvent microextraction into a single drop. *Anal. Chem.*, 68: 2236–2240.
- [26] **Tang S, Qi T, Ansah P D, Fouemina J C N, Shen W, Basheer C and Lee H K** (2018) Single-drop microextraction. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 108: 306–313.
- [27] **Pedersen-Bjergaard S and Rasmussen K E** (1999) Liquid– liquid– liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. *Anal. Chem.*, 71: 2650–2656.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [28] **Pedersen-Bjergaard S and Rasmussen K E** (2008) Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid–liquid extraction. *J. Chromatogr. A*, 1184: 132–142.
- [29] **Psillakis E and Kalogerakis N** (2003) Developments in liquid-phase microextraction. *TrAC Trends Anal. Chem*, 22: 565–574.
- [30] **Rezaee M, Assadi Y, Hosseini M-R M, Aghaee E, Ahmadi F and Berijani S** (2006) Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. *J. Chromatogr. A*, 1116: 1–9.
- [31] **Xiao-Huan Z, Qiu-Hua W U, Zhang M-Y, Guo-Hong X I and Zhi W** (2009) Developments of dispersive liquid-liquid microextraction technique. *Chin. J. Anal. Chem.*, 37: 161–168.
- [32] **Campillo N, Vinas, P, Šandrejová J and Andruch V** (2017) Ten years of dispersive liquid–liquid microextraction and derived techniques. *Appl. Spectrosc. Rev*, 52: 267–415.
- [33] **Kocúrová L, Balogh I S, Šandrejová J and Andruch V** (2012) Recent advances in dispersive liquid–liquid microextraction using organic solvents lighter than water. A review. *Microchem. J.*, 102: 11–17.
- [34] **Sun P and Armstrong D W** (2010) Ionic liquids in analytical chemistry. *Anal. Chim. Acta*, 661: 1–16.
- [35] **Luo H, Dai S and Bonnesen P V** (2004) Solvent extraction of Sr²⁺ and Cs⁺ based on room-temperature ionic liquids containing monoaza-substituted crown ethers. *Anal. Chem.*, 76: 2773–2779.
- [36] **Liu J, Li N, Jiang G, Liu J, Jönsson J Å and Wen M** (2005) Disposable ionic liquid coating for headspace solid-phase microextraction of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in paints followed by gas chromatography–flame ionization detection. *J. Chromatogr. A*, 1066: 27–32.
- [37] **Zhao F, Meng Y and Anderson J L** (2008) Polymeric ionic liquids as selective coatings for the extraction of esters using solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. A*, 1208: 1–9.
- [38] **Yu H, Merib J and Anderson J L** (2016) Crosslinked polymeric ionic liquids as solid-phase microextraction sorbent coatings for high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1438: 10–21.
- [39] **Pacheco-Fernández I, Najafi A, Pino V, Anderson J L, Ayala J H and Afonso A M** (2016) Utilization of highly robust and selective crosslinked polymeric ionic liquid-based sorbent coatings in direct-immersion solid-phase microextraction and high-performance liquid chromatography for determining polar organic pollutants in waters. *Talanta*, 158: 125–133.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [40] **Marcinkowski Ł, Pena-Pereira F, Kloskowski A and Namieśnik J** (2015) Opportunities and shortcomings of ionic liquids in single-drop microextraction. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 72: 153–168.
- [41] **Zhou Q, Bai H, Xie G and Xiao J** (2008) Trace determination of organophosphorus pesticides in environmental samples by temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction. *J. Chromatogr. A*, 1188: 148–153.
- [42] **Baghdadi M and Shemirani F** (2008) Cold-induced aggregation microextraction: a novel sample preparation technique based on ionic liquids. *Anal. Chim. Acta*, 613: 56–63.
- [43] **Trujillo-Rodríguez M J, Rocío-Bautista P, Pino V and Afonso A M** (2013) Ionic liquids in dispersive liquid-liquid microextraction. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 51: 87–106.
- [44] **Tang B, Zhang H and Row K H** (2015) Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples. *J. Sep. Sci.*, 38: 1053–1064.
- [45] **Abbott A P, Capper G, Davies D L, Rasheed R K and Tambyrajah V** (2003) Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. *Chem. Commun.*, 70–71.
- [46] **Li X and Row K H** (2016) Development of deep eutectic solvents applied in extraction and separation. *J. Sep. Sci.*, 39: 3505–3520.
- [47] **Ruesgas-Ramón M, Figueroa-Espinoza M C and Durand E** (2017) Application of deep eutectic solvents (DES) for phenolic compounds extraction: overview, challenges, and opportunities. *J. Agric. Food Chem.*, 65: 3591–3601.
- [48] **Cunha S C and Fernandes J** (2018) Extraction techniques with deep eutectic solvents. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 105: 225–239.
- [49] **Zhang Q, Vigier K D O, Royer S and Jerome F** (2012) Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. *Chem. Soc. Rev.*, 41: 7108–7146.
- [50] **Yousefi S M, Shemirani F and Ghorbanian S A** (2018) Enhanced headspace single drop microextraction method using deep eutectic solvent based magnetic bucky gels: Application to the determination of volatile aromatic hydrocarbons in water and urine samples. *J. Sep. Sci.*, 41: 966–974.
- [51] **van Osch D J, Zubeir L F, van den Bruinhorst A, Rocha M A and Kroon M C** (2015) Hydrophobic deep eutectic solvents as water-immiscible extractants. *Green Chem.*, 17: 4518–4521.
- [52] **Zainal-Abidin M H, Hayyan M, Hayyan A and Jayakumar N S** (2017) New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: A review. *Anal. Chim. Acta*, 979: 1–23.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [53] **Shishov A, Bulatov A, Locatelli M, Carradori S and Andruch V** (2017) Application of deep eutectic solvents in analytical chemistry. A review. *Microchem. J*, 135: 33–38.
- [54] **van Osch D J, Parmentier D, Dietz C H, van den Bruinhorst A, Tuinier R and Kroon M C** (2016) Removal of alkali and transition metal ions from water with hydrophobic deep eutectic solvents. *Chem. Commun*, 52: 11987–11990.
- [55] **Florindo C, Branco L C and Marrucho I M** (2017) Development of hydrophobic deep eutectic solvents for extraction of pesticides from aqueous environments. *Fluid Phase Equilibria*, 448: 135–142.
- [56] **Makoś P, Przyjazny A and Boczkaj G** (2018) Hydrophobic deep eutectic solvents as “green” extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. *J. Chromatogr. A*, 1570: 28–37.
- [57] **Ge D, Zhang Y, Dai Y and Yang S** (2018) Air-assisted dispersive liquid–liquid microextraction based on a new hydrophobic deep eutectic solvent for the preconcentration of benzophenone-type UV filters from aqueous samples. *J. Sep. Sci*, 41: 1635–1643.
- [58] **Arain M B, Yilmaz E ve Soylak M** (2016) Deep eutectic solvent based ultrasonic assisted liquid phase microextraction for the FAAS determination of cobalt. *J. Mol. Liq*, 224: 538–543.
- [59] **Yilmaz E ve Soylak M** (2016) Ultrasound assisted-deep eutectic solvent based on emulsification liquid phase microextraction combined with microsample injection flame atomic absorption spectrometry for valence speciation of chromium (III/VI) in environmental samples. *Talanta*, 160: 680–685.
- [60] **Karimi M, Dadfarnia S, Shabani A M H, Tamaddon F and Azadi D** (2015) Deep eutectic liquid organic salt as a new solvent for liquid-phase microextraction and its application in ligandless extraction and preconcentration of lead and cadmium in edible oils. *Talanta*, 144: 648–654.
- [61] **Liu L and Zhu T** (2017) Emulsification liquid–liquid microextraction based on deep eutectic solvents: an extraction method for the determination of sulfonamides in water samples. *Anal. Methods*, 9: 4747–4753.
- [62] **Tan T, Li Z, Mao X, Wan Y and Qiu H** (2016) Deep eutectic solvent-based liquid-phase microextraction for detection of plant growth regulators in edible vegetable oils. *Anal. Methods*, 8: 3511–3516.
- [63] **Khezeli T, Daneshfar A and Sahraei R** (2016) A green ultrasonic-assisted liquid–liquid microextraction based on deep eutectic solvent for the HPLC-UV determination of ferulic, caffeic and cinnamic acid from olive, almond, sesame and cinnamon oil. *Talanta*, 150: 577–585.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [64] **Zhu S, Zhou J, Jia H and Zhang H** (2018) Liquid–liquid microextraction of synthetic pigments in beverages using a hydrophobic deep eutectic solvent. *Food Chem*, 243: 351–356.
- [65] **Karimi M, Shabani A M H, Dadfarnia S** (2016) Deep eutectic solvent-mediated extraction for ligand-less preconcentration of lead and cadmium from environmental samples using magnetic nanoparticles. *Microchim. Acta*, 183: 563–571.
- [66] **Yousefi S M, Shemirani F and Ghorbanian S A** (2017) Deep eutectic solvent magnetic bucky gels in developing dispersive solid phase extraction: application for ultra trace analysis of organochlorine pesticides by GC-micro ECD using a large-volume injection technique. *Talanta*, 168: 73–81.
- [67] **Tang B, Park H E and Row K H** (2014) Preparation of chlorocholine chloride/urea deep eutectic solvent-modified silica and an examination of the ion exchange properties of modified silica as a Lewis adduct. *Anal. Bioanal. Chem*, 406: 4309–4313.
- [68] **Karimi M, Dadfarnia S and Shabani A M H** (2017) Application of deep eutectic solvent modified cotton as a sorbent for online solid-phase extraction and determination of trace amounts of copper and nickel in water and biological samples. *Biol. Trace Elem. Res*, 176: 207–215.
- [69] **Tan T, Zhang M, Wan Y and Qiu H** (2016) Utilization of deep eutectic solvents as novel mobile phase additives for improving the separation of bioactive quaternary alkaloids. *Talanta*, 149: 85–90.
- [70] **Shahidi F and Zhong Y** (2010) Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chem. Soc. Rev*, 39: 4067–4079.
- [71] **Shahidi F and Ambigaipalan P** (2015) Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects–A review. *J. Funct. Foods*, 18: 820–897.
- [72] **Sin D W, Wong Y C, Mak C Y, Sze S T and Yao W Y** (2006) Determination of five phenolic antioxidants in edible oils: Method validation and estimation of measurement uncertainty. *J. Food Compos. Anal*, 19: 784–791.
- [73] **Xu S, Liu L, Wang Y, Zhou D, Kuang M, Fang D, Yang W, Wei S, Xiao A and Ma L** (2016) Simultaneous determination of six synthetic phenolic antioxidants in edible oils using dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography with diode array detection. *J. Sep. Sci*, 39: 3205–3211.
- [74] **Çabuk H ve Köktürk M** (2013) Low density solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of synthetic antioxidants in beverages by high-performance liquid chromatography. *Sci. World J.*, 2013.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [75] **Cui M, Huang J, Wang Y, Wu Y and Luo X** (2015) Molecularly imprinted electrochemical sensor for propyl gallate based on PtAu bimetallic nanoparticles modified graphene–carbon nanotube composites. *Biosens. Bioelectron*, 68: 563–569.
- [76] **Sivasankaran U, Vikraman A E, Thomas D and Kumar K G** (2016) Nanomolar Level Determination of Octyl Gallate in Fats and Oils. *Food Anal. Methods*, 9: 2115–2123.
- [77] **Saad B, Sing Y Y, Nawi M A, Hashim N, Ali A S M, Saleh M I, Sulaiman S F, Talib K M and Ahmad K** (2007) Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. *Food Chem*, 105: 389–394.
- [78] **Xiu-Qin L, Chao J, Yan-Yan S, Min-Li Y and Xiao-Gang C** (2009) Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. *Food Chem*, 113: 692–700.
- [79] **Chen M, Hu X, Tai Z, Qin H, Tang H, Liu M and Yang Y** (2013) Determination of four synthetic phenolic antioxidants in edible oils by high-performance liquid chromatography with cloud point extraction using tergitol TMN-6. *Food Anal. Methods*, 6: 28–35.
- [80] **Kim J-M, Choi S-H, Shin G-H, Lee J-H, Kang S-R, Lee K-Y, Lim H-S, Kang T S and Lee O-H** (2016) Method validation and measurement uncertainty for the simultaneous determination of synthetic phenolic antioxidants in edible oils commonly consumed in Korea. *Food Chem*, 213: 19–25.
- [81] **Delgado-Zamarreno M M, Sanchez-Perez A, Maza I G and Hernandez-Mendez J** (2000) Micellar electrokinetic chromatography with bis (2-ethylhexyl) sodium sulfosuccinate vesicles: Determination of synthetic food antioxidants. *J. Chromatogr. A*, 871: 403–414.
- [82] **Guan Y, Chu Q, Fu L, Wu T and Ye J** (2006) Determination of phenolic antioxidants by micellar electrokinetic capillary chromatography with electrochemical detection. *Food Chem*, 94: 157–162.
- [83] **Xiang Q, Gao Y, Xu Y and Wang E** (2007) Capillary electrophoresis-amperometric determination of antioxidant propyl gallate and butylated hydroxyanisole in foods. *Anal. Sci*, 23: 713–717.
- [84] **Huang H-Y, Cheng Y-J and Lin C-L** (2010) Analyses of synthetic antioxidants by capillary electrochromatography using poly (styrene–divinylbenzene–lauryl methacrylate) monolith. *Talanta*, 82: 1426–1433.
- [85] **Ziyatdinova G K, Saveliev A A, Evtugyn G A and Budnikov H C** (2014) Simultaneous voltammetric determination of phenolic antioxidants with chemometric approaches. *Electrochimica Acta*, 137: 114–120.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [86] **Wang J-Y, Wu H-L, Chen Y, Sun Y-M, Yu Y-J, Zhang X-H and Yu R-Q** (2012) Fast analysis of synthetic antioxidants in edible vegetable oil using trilinear component modeling of liquid chromatography–diode array detection data. *J. Chromatogr. A*, 1264: 63–71.
- [87] **Wang J-Y, Wu H-L, Sun Y-M, Gu H-W, Liu Z, Liu Y-J and Yu R-Q** (2014) Simultaneous determination of phenolic antioxidants in edible vegetable oils by HPLC–FLD assisted with second-order calibration based on ATLD algorithm. *J. Chromatogr. B*, 947: 32–40.
- [88] **Li X, Meng D, Zhang L, Zhao J and Yang Y** (2018) Low-density solvent-based dispersive liquid–liquid microextraction coupled with hydrophobic magnetic nanoparticles for determination of synthetic phenolic antioxidants in vegetable oils by high-performance liquid chromatography. *Sep. Sci. Technol*, 53: 2224–2231.
- [89] **Vieira L, Schennach R and Gollas B** (2015) In situ PM-IRRAS of a glassy carbon electrode/deep eutectic solvent interface. *Phys. Chem. Chem. Phys*, 17: 12870–12880.
- [90] **Hayyan M, Abo-Hamad A, AlSaadi M A and Hashim M A** (2015) Functionalization of graphene using deep eutectic solvents. *Nanoscale Res. Lett*, 10:324.
- [91] **Delgado-Mellado N, Larriba M, Navarro P, Rigual V, Ayuso M, García J and Rodríguez F** (2018) Thermal stability of choline chloride deep eutectic solvents by TGA/FTIR-ATR analysis. *J. Mol. Liq*, 260: 37–43.
- [92] **Aissaoui T** (2015) Novel contribution to the chemical structure of choline chloride based deep eutectic solvents. *Pharm Anal Acta*, 6:1–4.
- [93] **Li N, Zhang L, Nian L, Cao B, Wang Z, Lei L, Yang X, Sui J, Zhang H and Yu A** (2015) Dispersive micro-solid-phase extraction of herbicides in vegetable oil with metal–organic framework MIL-101. *J. Agric. Food Chem*, 63: 2154–2161.
- [94] **Reboredo-Rodríguez P, Rey-Salgueiro L, Regueiro J, González-Barreiro C, Cancho-Grande B and Simal-Gándara J** (2014) Ultrasound-assisted emulsification–microextraction for the determination of phenolic compounds in olive oils. *Food Chem*, 150: 128–136.
- [95] **Caballero-Casero N, Ocak M, Ocak Ü and Rubio S** (2014) Quick supramolecular solvent-based microextraction for quantification of low curcuminoid content in food. *Anal. Bioanal. Chem*, 406: 2179–2187.
- [96] **Makahleh A, Saad B and Bari M F** (2015) Handbook of Antioxidants for Food Preservation. Elsevier, 51–78.
- [97] **André C, Castanheira I, Cruz J M, Paseiro P and Sanches-Silva A** (2010) Analytical strategies to evaluate antioxidants in food: a review. *Trends Food Sci. Technol*, 21: 229–246.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [98] **Chen M, Xia Q, Liu M and Yang Y** (2011) Cloud-point extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography for the determination of synthetic phenolic antioxidants in edible oils. *J. Food Sci*, 76: C98–C103.





ÖZGEÇMİŞ

Yasemin Yılmaz, 1976 yılında Hatay ili Antakya ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Hatay ili Antakya ilçesinde tamamladıktan sonra lisans öğrenimini 1994 – 1998 yılları arasında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde yaptı. 1998-2003 yılları arasında Ankara’da özel bir dershanede kimya öğretmeni olarak çalıştı. 2003-2010 yılları arasında İstanbul’da Milli Eğitim Bakanlığı’na bağlı okullarda görev yaptı. 2010-2016 yılları arasında Zonguldak’ta Milli Eğitim Bakanlığı’na bağlı okullarda görev yaptı. 2016 yılında Milli Eğitim Bakanlığı’ndaki görevinin yanı sıra eş zamanlı olarak Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı. 2016 yılı haziran ayından beri halen İstanbul’da Milli Eğitim Bakanlığı’na bağlı okullarda görevine devam etmektedir.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres : 19 Mayıs Mah. İnönü Cad. Sarı Konak Apt. kat:2 Daire: 5, Kadıköy /İSTANBUL

Tel : (+90) 533 546 16 17

E-posta : yasemingen76@hotmail.com