



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**ÇEVREDE KALICI ORGANİK KİRLETİCİLERDEN
PERFLOROALKİL BİLEŞİKLERİNİN TAYİNİNE
YÖNELİK KROMATOĞRAFİK ANALİZ YÖNTEMİNİN
GELİŞTİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

AYSUN AKSOY MUTLU

KİMYA ANABİLİM DALI

İzmir
2024

EGE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(Yüksek Lisans Tezi)

ÇEVREDE KALICI ORGANİK KİRLETİCİLERDEN
PERFLOROALKİL BİLEŞİKLERİNİN TAYİNİNE
YÖNELİK KROMATOĞRAFİK ANALİZ
YÖNTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Aysun AKSOY MUTLU

Danışman: Prof. Dr. F. Nil ERTAŞ

Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Tezli Yüksek Lisans Programı

İZMİR
2024

Aysun Aksoy Mutlu tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “*Çevrede kalıcı organik kirleticilerden Perfloroalkil Bileşiklerinin tayinine yönelik kromatografik analiz yönteminin geliştirilmesi (Development of chromatographic analysis method for perfluoroalkyl compounds of permanent organic pollutants in the environment)*” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve **4 Eylül 2024** tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Fatma Nil Ertaş

Raportör Üye : Prof. Dr.

Üye : Prof. Dr.

Üye : Prof. Dr.

Üye : Prof. Dr.



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Çevrede kalıcı organik kirleticilerden Perfloroalkil Bileşiklerinin tayinine yönelik kromatografik analiz yönteminin geliştirilmesi (Development of chromatographic analysis method for perfluoroalkyl compounds of permanent organic pollutants in the environment)**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

07 / 08 / 2024

Aysun Aksoy Mutlu



ÖZET**ÇEVREDE KALICI ORGANİK KİRLETİCİLERDEN
PERFLOROALKİL BİLEŞİKLERİNİN TAYİNİNE YÖNELİK
KROMATOĞRAFİK ANALİZ YÖNTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ****AKSOY MUTLU, Aysun**

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatma Nil ERTAŞ

Eylül 2024, 92 sayfa

Kalıcı organik kirleticiler (POP'lar) biyolojik ve fotokimyasal bozunmaya dayanıklı, uzun mesafelere taşınabilen ve çevrede kalıcı bileşikler olarak biyobirikime uğrayabilir ve besin zincirine girerek, insan sağlığı ve çevre üzerinde olumsuz etkilerde bulunabilir. Kalıcı organik kirleticilerden yüksek hidrofilik ve lipofilik özelliğe sahip PFAS lar günlük hayatımızda sıkça kullandığımız birçok üründe bulunmakta ve bu bileşiklerin toksik etkileri ortaya çıktıkça yerine yasal yükümlülüklerden kaçınmak için benzer özelliklere sahip ancak daha kısa zincirli bileşikler piyasaya sürülmektedir. Bu durumda bu bileşiklerin çevre ve toplum sağlığına etkisinin kontrol altına alınabilmesi için duyarlı ve güvenilir analiz tekniklerine gereksinim vardır.

Bu tez çalışmasında yasal olarak izlenen bileşiklerin kısa zincirli muadilleri olarak kullanıma sürülen ve toksik etkileri belirsizlik içeren iki önemli kirletici (PFHpA) perfloroheptanoik asit ve (PFHxA) perfloroheksanoik asit bileşiklerin analizi üzerinde durulmuştur. Bu bileşiklerin su numunelerinde analizi için katı faz ekstraksiyon (SPE) ile ayrılmasının ardından, LC-MS/MS sistemi ile analizi incelenmiştir. Çeşme sularında PFHxA ve PFHpA tayinine yönelik daha duyar sonuçların eldesi ve olası girişimcilerin de uzaklaştırılabilmesi için üç farklı nitelikte SPE kartuş denenmiş ve ayrıca asidik türlerin özütlenmesinde ve analizinde pH koşullarının etkisi de incelenmiştir. Daha sonra geliştirilen yöntem çeşme suyu örneklerine uygulanmıştır.

Anahtar kelime: PFAS, perfloroheksanoik asit, perfloroheptanoik asit, SPE, LC-MS/MS



ABSTRACT**DEVELOPMENT OF CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS
METHOD FOR PERFLUOROALKYL COMPOUNDS OF
PERMANENT ORGANIC POLLUTANTS IN THE ENVIRONMENT**

AKSOY MUTLU, Aysun

MSc in Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Fatma Nil ERTAŞ

September, 2024, 92 pages

Persistent organic pollutants (POPs) can bioaccumulate as compounds that are resistant to biological and photochemical degradation, can be transported over long distances and persist in the environment, and can enter the food chain and have adverse effects on human health and the environment. Perfluoroalkyl species (PFAS) are persistent organic pollutants with high hydrophilic and lipophilic properties and widely used in many daily products. Since their toxic effects emerge, the compounds with similar properties but shorter chains are introduced to the market to avoid legal liabilities. In this case, sensitive and reliable analysis techniques are needed to control the effects of these compounds on the environment and public health.

This thesis study focused on the analysis of two important pollutants (PFHpA) perfluoroheptanoic acid and (PFHxA) perfluorohexanoic acid compounds, which are put into use as short-chain equivalents of legally monitored compounds and whose toxic effects are uncertain. After these compounds were separated by solid phase extraction (SPE) for analysis in water samples, their analysis was examined with the LC-MS/MS system. In order to obtain more sensitive results for the determination of PFHxA and PFHpA in tap water and to remove possible interference, three different SPE cartridges were tested and the effect of pH conditions on the extraction and analysis of acidic species was also examined. Then, the developed method was applied to tap water samples.

Keywords: PFAS, perfluorohexanoic acid, perfluoroheptanoic acid, SPE, LC-MS/MS



ÖNSÖZ

Günümüzde sebep olduğu kolaylıklar nedeniyle kullandığımız bir çok malzemeye entegre olan kalıcı organik kirleticilerin besin zincirine girerek insan sağlığı (kimi kanser türleri, kardiyovasküler ve tiroid hastalıkları, kronik böbrek yetmezliği, hepatotoksisite, yüksek kolesterol obezite, doğum kusurları, bağışıklık ve üreme sistemlerinde fonksiyon bozukluğu vb.) üzerinde oluşturduğu ciddi sağlık sorunları ve çevre üzerindeki olumsuzluklar sebebiyle bu bileşiklerin kontrol altına alınabilmesi için duyarlı ve güvenilir analiz tekniklerine gereksinim vardır.

Bu tez kapsamında sağladığı cihaz ve aparat destekleriyle Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Uygulama Merkezi'nde (ARGEFAR) yürüttüğüm çalışmalar ile yasal olarak izlenen uzun zincirli bileşiklerin kısa zincirli muadilleri olarak kullanıma sürülen ve toksik etkileri belirsizlik içeren iki önemli kirletici (PFHpA) perfloroheptanoik asit ve (PFHxA) perfloroheksanoik asit bileşiklerin analizi üzerine verdiğim katkılardan dolayı mutlu ve guruluyum.

İZMİR

07/08/2024

Aysun AKSOY MUTLU



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
ÖNSÖZ	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. Organik Çevre Kirleticileri	1
1.2 Perfloroalkil bileşikleri (PFAS'lar)	3
1.3. PFAS Tayininde Kullanılan Analitik Teknikler	7
1.4. PFAS Analizine Yönelik Örnek Hazırlama Teknikleri	10
1.5 Tezin Amacı	19
2. DENEYSEL KESİM	21
2.1. Kimyasal Reaktifler ve Deneysel Malzemeler	21
2.2. Kullanılan Cihazlar	21
2.3. Prosedür	23

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	25
3.1. Doğrudan Enjeksiyonla Kalibrasyon Çalışması	25
3.2 SPE-LC-MS/MS Yöntemi	38
3.3 SPE-LC-MS/MS Yönteminin Su örneklerine Uygulaması	52
4. GENEL DEĞERLENDİRME VE SONUÇ	59
KAYNAKLAR	61
TEŞEKKÜR	69
ÖZGEÇMİŞ	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 PFOS ve PFOA bileşiklerinin kimyasal yapıları	4
Şekil 1.2 Perfloroheksanoik asit ve Perfloroheptanoik asit bileşiklerinin kimyasal yapıları	6
Şekil 1.3 SPE tekniğinin basamakları	10
Şekil 1.4 Strata-X AW sorbentinin yapısı ve etkileşim mekanizmaları	12
Şekil 1.5 Strata-X kartuşunun tutunma mekanizmaları	12
Şekil 1.6 HLB kartuşlar ve türleri (Boonjob vd., 2014)	13
Şekil 2.1 Denemelerde kullanılan vakum pompası ile manifold ve SPE kartuşların kimyasal yapıları	23
Şekil 3.1 PFHxA standart çözeltisinden a) 1.0, b) 2.5, c) 5.0, d) 10, e) 25, f) 50 ve g) 100 ng/mL olacak şekilde LC-MS/MS sistemine enjekte edildikten sonra A) 119 akb ve B) 269 akb parçalanma ürünü için elde edilen kromatogramları	26
Şekil 3.2 Birinci yöntemle LC-MS/MS sistemine doğrudan enjeksiyonla 1-100 ng/mL aralığında PFHxA için A) pik alanlarından ve B) pik alanlarının iç standart alanları ile oranından gidilerek elde edilen kalibrasyon grafiği	28
Şekil 3.3 PFHpA standardından a) 1.0, b) 2.5, c) 5.0, d) 10, e) 25, f) 50 ve g) 100 ng/mL olacak şekilde LC-MS/MS sistemine enjekte edildikten sonra A) 169 akb ve B) 319 akb parçalanma ürünü için elde edilen kromatogramları	29
Şekil 3.4 PFHpA için birinci yöntemle LC-MS/MS sistemine doğrudan enjeksiyonla elde edilen A) pik alanları B) pik alan oranları ile çizilen kalibrasyon grafiği	31
Şekil 3.5 PFHxA standardından a) 1.0, b) 2.5, c) 5.0, d) 10, e) 25, f) 50 ve g) 100 ng/mL olacak şekilde LC-MS/MS sistemine enjekte edildikten sonra A) 119 akb ve B) 269 akb parçalanma ürünü için elde edilen kromatogramları	32
Şekil 3.6 PFHxA için ikinci yöntemle kalibrasyon çalışmalarına ilişkin A) ortalama pik alanları ve B) iç standart pik alanına oranlanarak elde edilen değerlerden gidilerek oluşturulan kalibrasyon grafikleri	34
Şekil 3.7 PFHpA standardından a) 1.0, b) 2.5, c) 5.0, d) 10, e) 25, f) 50 ve g) 100 ng/mL olacak şekilde LC-MS/MS sistemine enjekte edildikten sonra A) 169 akb ve B) 319 akb parçalanma ürünü için ikinci yöntemle elde edilen kromatogramlar	35

ŞEKİLLER DİZİNİ DEVAM

Şekil 3.8 İkinci yöntemle PFHpA için LC-MS/MS sistemine doğrudan enjeksiyonla elde edilen A) pik alanları, B) pik alan oranları ile çizilen kalibrasyon grafikleri	37
Şekil 3.9 HLB kartuş ile işlem sonrası a) PFHxA, b) PFHpA ve c) iç standart için alınan LC-MS/MS kromatogramları	39
Şekil 3.10 SPE işleminde farklı pH ve hacimde fosfat tamponları ile koşullamanın pik alanları üzerine etkisi	40
Şekil 3.11 C-18 kartuş ile işlem sonrası a) PFHxA, b) PFHpA ve c) iç standart için alınan LC-MS/MS kromatogramları	41
Şekil 3.12 SPE işleminde farklı pH ve hacimde fosfat tamponları ile koşullamanın pik alanları üzerine etkisi	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1 Çevrede varlığı tespit edilen kalıcı organik kirleticilerin özellikleri	2
Çizelge 1.2 Perfloroheptanoik asit ve perfloroheksanoik asidin fizikokimyasal özellikleri (Pubchem-A ve Pubchem-B)	7
Çizelge 1.3 Yüzeysel (YS) ve atık sularda (AS) PFAS tayin yöntemlerinin kimi özellikleri	16
Çizelge 2.1 LC-MS/MS ile yürütülen birinci yöntemin çalışma koşulları	22
Çizelge 2.2 LC-MS/MS ile yürütülen ikinci yöntemin çalışma koşulları	22
Çizelge 2.3 Hedef analitlerin iyon kütleleri (akb)	23
Çizelge 2.4 SPE işleminin aşamaları	24
Çizelge 3.1 Farklı derişimlerde PFHxA için birinci yöntemle elde edilen pik alanları, ortalama değerleri ve iç standart pik alanı ile oranları	27
Çizelge 3.2 Farklı derişimlerde PFHpA için birinci yöntemle elde edilen pik alanları ve iç standart pik alan değerleri ile oranı ($A_{\text{ö}}/A_{\text{IS}}$)	30
Çizelge 3.3 İkinci yöntemle farklı derişimlerde PFHxA için elde edilen pik alanları ve iç standart pik alanı ile oranlandığında elde edilen değerler	33
Çizelge 3.4 İkinci yöntemle farklı derişimlerde PFHpA için elde edilen pik alanları ve iç standart pik alanı ile oranlandığında elde edilen değerler	36
Çizelge 3.5 Her iki yöntemle hedef analitin pik alanlarından gidilerek, oluşturulan kalibrasyon grafiklerinin özellikleri ve yöntemin analitik performansları	38
Çizelge 3.6 Farklı kartuş türleri ile SPE işlem sonrası birinci yöntemle ölçülen pik alanları ve 10 ng/mL standart için elde edilen pik alan değerleri	42
Çizelge 3.7 Farklı pH'larda fosfat tamponu ile koşullama sonrası 20 ng/mL standart ile yürütülen SPE işleminde her aşama sonrası elde edilen pik alan değerleri	43
Çizelge 3.8 Farklı türde SPE kartuşları ile işlem sonrası ikinci ölçüm yöntemine göre hedef analitler için elde edilen pik alan değerleri	44
Çizelge 3.9 İki farklı hacimde PFHxA standart çözeltilerinin ve kör çözeltilinin SPE işleminin farklı aşamalarındaki pik alan değerleri ve her aşamada birinci yöntemle ölçüm öncesi eklenen iç standarda ilişkin veriler	45
Çizelge 3.10 İki farklı hacimde PFHxA standart çözeltilerinin ve kör çözeltilinin üç farklı SPE kartuşla özütleme verimine ilişkin birinci ölçüm yöntemi ile alınan veriler	46
Çizelge 3.11 İki farklı hacimde PFHpA standart çözeltilerinin ve kör çözeltilinin SPE işleminin farklı aşamalarındaki pik alan değerleri ve her aşamada birinci yöntemle ölçüm öncesi eklenen iç standarda ilişkin veriler	47
Çizelge 3.12 İki farklı hacimde PFHpA standart çözeltilerinin ve kör çözeltilinin üç farklı SPE kartuşla özütleme verimine ilişkin birinci ölçüm yöntemi ile alınan veriler	48

ÇİZELGELER DİZİNİ DEVAM

Çizelge 3.13 İki farklı hacimde PFHxA standart çözeltilerinin ve kör çözeltilinin SPE işleminin farklı aşamalarındaki pik alan değerleri ve her aşamada ikinci yöntemle ölçüm öncesi eklenen iç standarda ilişkin veriler	49
Çizelge 3.14 İki farklı hacimde PFHxA standart çözeltilerinin ve kör çözeltilinin üç farklı SPE kartuşla özütleme verimine ilişkin ikinci ölçüm yöntemi ile alınan veriler	50
Çizelge 3.15 İki farklı hacimde PFHpA standart çözeltilerinin ve kör çözeltilinin SPE işleminin farklı aşamalarındaki pik alan değerleri ve her aşamada ikinci yöntemle ölçüm öncesi eklenen iç standarda ilişkin veriler	51
Çizelge 3.16 İki farklı hacimde PFHpA standart çözeltilerinin ve kör çözeltilinin üç farklı SPE kartuşla özütleme verimine ilişkin ikinci ölçüm yöntemi ile alınan veriler	52
Çizelge 3.17 Çeşme suyu (ÇS) örneklerinde PFHxA tayini için birinci yöntemle alınan pik alanları ve iç standart alanlarına oranları	53
Çizelge 3.18 Çeşme suyu (ÇS) örneklerinde PFHxA tayini için ikinci yöntemle alınan pik alanları ve iç standart alanlarına oranları	54
Çizelge 3.19 Çeşme suyu (ÇS) örneklerinde PFHpA tayini için birinci yöntemle alınan pik alanları ve iç standart alanlarına oranları	56
Çizelge 3.20 Çeşme suyu (ÇS) örneklerinde PFHpA tayini için ikinci yöntemle alınan pik alanları ve iç standart alanlarına oranları	57
Çizelge 4.1 İki farklı hacimde standart çözeltilerinin ve kör çözeltilinin üç farklı SPE kartuşla özütleme verimine ilişkin her iki yöntemle alınan veriler	60

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
ACN	: Asetonitril
Cl-PFPECA	: Kloroperfloropolieter Karboksilat
diPAP	: Polifloroalkil Fosfat Diesterleri
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
ESI-MS/MS	: Elektrospray İyonlaşma Tandem Kütle Dedektörü
FTOH	: Fluorotelomer Alkoller
FOSA	: N-alkil Fluorooktan Sulfonamidler
GC-HRMS	: Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi
HRMS	: Orbitrap Kütle Spektrometresi
LC-MS/MS	: Tandem Kütle Spektrometrelili Sıvı Kromatografi
LC-APPI- MS	: Atmosferik Basıncılı Fotoiyonlaşma Kütle Spektrometrisi ile Eşleştirilmiş Sıvı Kromatografi
LDTD/APCI	: Lazer Diyot Termal İyonlaşma Tekniği
LOD	: Yöntemin Belirtme Sınırı
LOQ	: Tayin Sınırı
OPE	: Alev Geciktirici Organofosfat Esterlerin
NH ₄ COOH	: Amonyum Format
NH ₄ OH	: Amonyum Hidroksit
MeOH	: Metanol
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
PASF	: Perfloroalkan Sülfonil Florürler
PBDE	: Polibromlu Difenil Eterler
PCB	: Poliklorlu Bifeniller
PFAA	: Polifloroakileter Asitler
PFAI	: Perfloroalkil İyodürler
PFAS	: Perfloroalkil Bileşikleri
PFBS	: Perflorobütan Sülfonat
PFC	: Perfloro Bileşikleri
PFCA	: Perflorlu Karboksilatlar
PFHpA	: Perfloroheptanoik Asit
PFHxA	: Perfloroheksanoik Asit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ DEVAM

PFOA	: Perflorooktanoik Asit
PFOS	: Perflorosülfonik Asit
PFPA	: Perflorlu Fosfonatlar
PFPE	: Per- ve Polifloroalkil Eterler
PFPeA	: Perfloropentanoik Asit
PFPiA	: Perfloro Fosfinatlar
PFSA	: Perfloroalkil Sülfonat Analogları
POP	: Kalıcı Organik Kirleticiler
PTFE	: Politetrafloroetilen
PVDF	: Poliviniliden Florür
Q-TOF	: Orbitrap ve Kuadropol Uçuş Zamanlı sistem
SPE	: Katı Faz Özütleme
PFHxS	: Perflorohekzan Sülfonik Asit
UNEP	: Birleşmiş Milletler Çevre Programı
UPC 2	: Ultra Performanslı Yakınsama Kromatografisi
USEPA	: ABD Çevre Koruma Ajansı

1. GİRİŞ

1.1. Organik Çevre Kirleticileri

Bugün çevrede bulunan organik yapılı kirleticilerin büyük bir kısmı endüstriyel faaliyetler sonucu çevreye verilen ürünlerden kaynaklıdır. Bunların içinde kimileri kolay bozunabilen türler olsa da parçalanma ürünlerinin etkisi de dikkate alınmalıdır. Bununla birlikte çevrede kolay bozunmayan, kimyasal, fotokimyasal ve biyolojik bozunmaya dayanıklı **Kalıcı Organik Kirleticiler** (POP'lar) daha çok dikkat çekmektedir (Devendrapandi vd., 2024).

Kalıcı organik kirleticiler çevrede yaygın kirleticiler biçiminde küresel bir kirlilik sorunu haline gelmiştir. Çevredeki kalıcılıkları nedeniyle besin zincirine girerek, hayvan ve insan dokularında biyobirikim potansiyeli arz etmektedir (Fu vd., 2003). Ayrıca POP'lar hava, yüzey suları ve okyanus akıntıları yoluyla uzun mesafelere taşınarak sınır ötesi yayılım gösterebilir ve bu kirleticilerin kontrolü için uluslararası çaba gerekmektedir.

Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP), Stockholm Sözleşmesi'nde **kirli düzine** olarak bilinen 12 organoklorlu POP'u listelemiştir. Bunlar kimyasal yapılarına göre polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar), organoklorlu pestisitler ve organofosfatlar gibi farklı özelliklere ve etkilere sahip olan birçok gruba ayrılabilir. Ayrıca bu gruplara ek olarak poliklorlu bifeniller (PCB'ler), poliklorlu dibenzo-p-dioksinler, poliklorlu difenil eterler ve çok sayıda flor ya da brom içeren aromatik bileşikler de sayılabilir (Pozo vd. 2019).

Çizelge 1.1'de kalıcı organik kirleticilerin kaynakları ve çevre ve sağlık üzerine etkileri verilmiştir. Bu bileşiklerin bir kısmı hâlâ yaygın olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır. Sebep olduğu ciddi sağlık sorunları arasında kimi kanser türleri, kardiyovasküler ve tiroid hastalıkları, kronik böbrek yetmezliği, hepatotoksisite, yüksek kolesterol obezite, doğum kusurları, bağışıklık ve üreme sistemlerinde fonksiyon bozukluğu sayılabilir (Devendrapandi vd. 2024).

Stockholm Sözleşmesinin hedef aldığı 12 POP, çevreyi kirletmeleri ve zehirli olmaları nedeniyle büyük endişe kaynağıdır. Bu bileşiklere ek olarak çevresel kirleticiler olarak diğer tehlike arz eden kalıcı organik kirleticiler de bulunmaktadır. Dolayısıyla doğru ve duyar analitik yöntemler geliştirilerek, POP'ların çevredeki düzeylerinin izlenmesi bu açıdan büyük önem taşır.

Çizelge 1.1 Çevrede varlığı tespit edilen kalıcı organik kirleticilerin özellikleri

POP Türü	Kirletici kaynağı	Çevredeki hareketi	Sağlık etkisi	Kaynak
Poliklorlu bifeniller (PCBs)	Elektrikli cihazlar, soğutucular, yalıtım malzemeleri	Sucul ortamda biyobirikim	Kanserojen, Gelişim bozukluğu	Xu vd. 2023
Poliaromatik hidrokarbonlar (PAHs)	Petrol yanması, taşıt emisyonları	Toprak ve suda kalıcı	Kanserojen, mutajenik, toksik	Kumar vd. 2023
Organoklorlu pestisitler	Tarım ilacı, insektisit	Gıda zincirinde birikim	Endokrin bozucu, toksik	Dev vd. 2023
Polibromlu difenil eterler (PBDEs)	Alev geciktirici, elektronik malzeme	Organizmada biyobirikim	Nörotoksisite, Gelişim bozukluğu	Lan vd., 2023
Dioksinler ve Furanlar	Yanma ve atık yanması	Uzun mesafelere taşınım	Kanserojen, Gelişim bozukluğu	Wacławek vd., 2022
Perfloro bileşikler (PFCs)	Yapışmaz kaplamalar, alev söndürücü köpük	Çevrede kalıcı	Sağlık etkileri incelemede	İbrahim vd. 2024
Organofosfatlar	Tekstil ve plastiklerde alev geciktirici	Biyobozunma potansiyeli	Potansiyel toksisite	Bolan et al. (2023)
Endokrin bozucular (EDC)	Plastikler, kişisel bakım ürünleri	Yaygın kontaminasyon	Hormonal bozukluk, Kısırlık	Guoliang vd. 2022
Uçucu Organik Bileşikler (VOCs)	Endüstriyel emisyonlar, çözücüler	Buharlaşıma ile havaya karışır	Hava kirliliğine dayalı sağlık sorunları	Ang vd. 2022
Klorlu çözücüler	Endüstriyel üretim, yağ gidericiler	Yeraltı sularını kirletebilir	Kanserojen, Merkezi sinir sistemi hasarı	Naghdi vd. 2023

Bu zararlı etkilerin küresel çapta gözlenir olması nedeniyle kalıntıların giderimi üzerine çalışmalar artmaktadır. Bu da izlenebilirlik açısından bu kirleticilerin çevredeki düzeylerinin doğru ve duyarlı tespitini gerektirmektedir. Bu noktada istenilen düzeyde duyarlı ve seçici analizleri için örnek hazırlama ve uygun ölçüm yöntemlerin geliştirilmesi bakımından analitik kimyanın önemi büyüktür.

Günümüzde bu bileşiklerin içinde son yıllarda listeye alınan Perfloroalkil bileşikler (PFAS) büyük ilgi çekmektedir. Bu bileşiklere ilişkin ayrıntılı bilgiler aşağıda verilmiştir.

1.2 Perfloroalkil bileşikler (PFAS'lar)

Perfloroalkil bileşikler politetrafloroetilen (PTFE) gibi polimerler dışında ucunda hidrofilik bir işlevsel grup içeren yüksek oranda florlanmış farklı uzunluklarda hidrofobik karbon zincirinden oluşan alifatik maddeler grubuna girer. Florlu organik bileşikler hidrofobik zincir tümüyle florlanmış ise perfloro alkil (PFAS), kısmen florlanmış ise poliflороalkil adını alır (Pasecnaja vd., 2022).

Perfloroalkil bileşikler farklı uzunluklarda karbon zincirine sahip ve genel formülü C_nF_{2n+1} olan bir perfloroalkil zinciri üzerinde $-COOH$, $-SO_3H$ veya $-OH$ gibi fonksiyonel gruplar içeren sentetik bileşiklerdir (Gao vd. 2020).

Perfloro bileşikler flor-karbon bağının kararlı yapısı nedeniyle bozunmaya dirençli florlu organik kirleticilerdir. Bu bileşikler $300^\circ C$ 'e dek ısı dayanıma sahiptir. Ayrıca dielektrik sabiti yüksek olup, düşük sürtünme katsayısı ve düşük yüzey enerjisine sahiptir. PFAS'lar hidrofobik nitelikleri ve kimyasal ve ısı dayanımları nedeniyle yangın söndürme köpüğü, gıda ile temas eden yapışmaz pişirme kapları, kozmetik ve su itici kaplamaların üretiminde 70 yıldır yaygın olarak kullanılmaktadır (Dhore vd., 2021). PFAS'lar bu özellikleri nedeniyle askeriye, dericilik, havacılık, boya ve tekstil sektörlerinde çok amaçlı olarak, elektronikte yalıtım malzemesi olarak, çok sayıda tüketici ürünü için ambalaj amaçlı ve içecek kutusu astar malzemesi olarak kullanılmaktadır.

PFAS'ların üretimi elektrokimyasal florlama veya telomerizasyon tepkimeleri yoluyla gerçekleştirilir. Bunlardan ilki dallanmış yapı oluştururken, telomerizasyon ile düz zincirli alkil üretilebilir (Sungur, 2018). Günümüzde beşbinden fazla PFAS'ın üretildiği bilinmektedir ve bu bileşikler genel olarak polimerik ve polimerik olmayan olarak ikiye ayrılır.

Polimerik yapılu PFAS'lardan en çok bilineni günlük yaşamda çok kullanılan ve teflon olarak bilinen politetrafloroetilen (PTFE) ve poliviniliden florür (PVDF) gibi bileşikler içeren Floropolimerlerdir. Ayrıca yan zincirli florlanmış polimerler ve perfloropolimerler de ayrı bir grup oluşturmaktadır (Dhore vd., 2021).

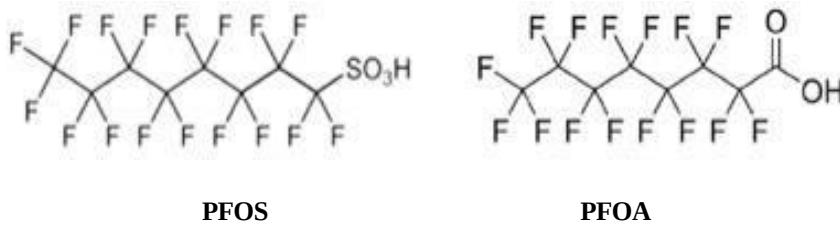
Polimerik olmayan per- veya polifloroalkiller asitler (PFAA), perfloroalkan sülfonil florürler (PASF), perfloroalkil iyodürler (PFAI) ve per- ve polifloroalkil eterler (PFPE) ve bunların türevleridir.

Arıtma yapılmadan ürün emisyonları veya dolaylı bir dönüşümün bir sonucu olarak doğaya salınan PFAS bileşikler sudan toprağa taşınabilir ve bitkiler tarafından alınarak, besin zincirine girebilir. Sindirim, solunum ve deri sistemleri yoluyla canlı vücuda alınan bu bileşikler sindirilmediği ve vücuttan atılmadığı için biyobirikime uğrar. Çevredeki PFAS bileşiklerinin çoğunluğunu polimerik olmayan tek işlevsel gruplu lineer izomerlerin karışımları oluşur. PFAS bileşikler sıklıkla çevredeki PFAA'ların öncüsü olarak davranır (Dhore vd., 2021).

PFAS'ların çevredeki dağılımını ve akıbetini uçuculuk, suda çözünürlük, karbon zinciri uzunluğu ve işlevsel grubun niteliği gibi fizikokimyasal özellikleri belirler. Suda iyonlaşarak anyonik türe dönüşen bu bileşikler sucul ortamda uzun süre kalabilir. Günümüzde küresel pazarda tanımlanmış binlerce PFAS türü içinde bilinen PFAS'lar toplam anyonik ekstrakte edilebilir florun küçük bir kısmını (%2-44) temsil eder (Gao vd. 2020).

Alkil grubundaki karbon atomlarının sayısı arttıkça molar hacim, molar kütle ve erime noktası artar. PFAS'lar içerdiği karbon sayısına bağlı olarak uzun zincirli ($C \geq 8$) ve kısa zincirli ($C \leq 7$) olarak sınıflandırılır. Zincir uzunluğu arttıkça PFAS daha hidrofobik hale gelir ve uçuculuğu azalır ve bu nedenle toprak gibi katı matrislere daha kolay tutunabilir. Kısa zincirli PFAS'lar daha uçucudur ve atmosfer hareketleri ile çok uzak konumlara taşınabilir (Dhore vd., 2021).

Uzun zincirli PFAS'lar içinde üzerinde en çok durulan türler **Şekil 1.1**'de kimyasal yapısı verilen perflorosülfonik asit (PFOS) ve perflorooktanoik asit (PFOA) türleri olup, sanayide ve evsel ürünlerde sıklıkla kullanılır. Ancak PFOS ve türevleri çevrede kalıcılıkları, zehirli etkileri, biyobirikimleri ve geniş çaplı yayılma potansiyelleri nedeniyle 2009 yılında Stockholm Sözleşmesi Ek B'de üretim ve kullanımı kısıtlanmış bileşikler listesinde yer almıştır (UNEP, 2009).



Şekil 1.1 PFOS ve PFOA bileşiklerinin kimyasal yapıları

Ülkemizde ise Çevre ve Şehircilik Bakanlığı tarafından AB yönetmeliğine göre belirlenen ve resmi gazetede yayımlanan sınır değerler her PFAS türü için 100 ng/L ve toplamda ise 500 ng/L olacak şekilde tespit edilmiştir (<https://www.resmigazete.gov.tr>, 2018).

PFAS bileşiklerinin yasal sınır getirilen türlerinin sayısı buzdağının yalnızca görünen kısmı kadardır ve bilinmeyen yeni bileşiklerle birlikte PFAS bileşik grubu çevre ve toplum sağlığını etkileme riski nedeniyle kamuoyunun ilgisini çekmektedir. Nitekim, yakın zamanda perflorooktan karboksilik asit (PFOA), perflorohekzan sülfonik asit (PFHxS) ve ilgili bileşikler için de düzenlemeler önerilmiştir (UNEP, 2015). ABD Çevre Koruma Ajansı (USEPA), florokimyasal üreticileriyle, 2015 yılına kadar üretimlerine son vererek bu uzun zincirli bileşiklerin aşamalı olarak kaldırılması konusunda anlaşmaya varmıştır (2021).

Zararlı etkileri nedeniyle kısıtlama getirilen bu PFAS bileşiklerinin yerini alabilecek bileşikler geliştirilirken, daha kısa zincirli veya florlu bir karbon zincirine bir eter bağı ekleyerek oluşturulan bileşiklerin yanısıra halkalı florlu karbon zincirleri veya florlu bir karbon zincirindeki F atomlarının sayısını azaltmak için H ve/veya Cl atomları ile yer değiştirdiği bileşiklerin sentezi üzerinde durulmaktadır (Gao vd. 2020).

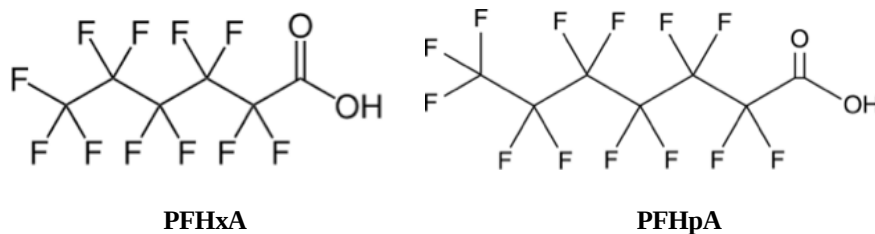
Karbon zincirinin uzunluğu PFAS türlerinin ana özelliklerindendir (Dhore vd., 2021). Uzun zincirli ($C > 8$) PFAS bileşikleri sediment ve toprakta birikime uğramakta buna karşın kısa zincirli ($C < 8$) PFAS bileşikleri ise sucul ortamda daha uzun varlık göstermektedir. Bu nedenle kısa zincirli PFAS bileşikleri daha az biyobirikme uğraması nedeniyle kullanıma sunulmuştur. Ancak, bu bileşiklerin yüksek mobilitesi ve uzun zincirli bileşiklere göre daha hidrofilik yapıları nedeniyle içme suyu dahil tüm su kitlelerini kirletme riski daha yüksektir.

PFAS'ların kısa zincirli olanların çevrede daha hareketli ve yaygın olduğu ve daha kalıcı olduğu için toplum sağlığı açısından daha büyük risk taşıdığı belirtilmiştir (Li vd., 2020). Bu kirleticilerin giderilmesinde kullanılan geleneksel adsorpsiyon, iyon değişimi ve membran filtrasyonu gibi tekniklerin giderim verimi kısa zincirli PFAS'lar için daha düşük bulunmuştur. Bunun yanısıra ileri oksidasyon teknikleri ile parçalanarak, mineralize edilebilir ancak, bu işlemlerin maliyeti yüksek olup, zaman alıcıdır. Dolayısı ile içme suyunda kısa zincirli PFAS'lar için düşük maliyetli ve verimli arıtma teknolojilerinin geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Geçmişte kullanılan PFAS'ların olumsuz etkileri nedeniyle alternatif olarak geliştirilen PFAS'ların çevre ve sağlık üzerine etkileri belirsizlik arz etmektedir. Ancak uygulamada yerini dolduracak maddelerin olmaması nedeniyle bu sağlık etkileri yeni ortaya çıkan PFAS'ların değerlendirilmesi öncelik taşımaktadır.

Nitekim, Evich vd., New Jersey’den aldıkları toprak örneklerinde çevresel açıdan kaygı verici kabul edilen kloroperfloropolieter karboksilat (Cl-PFPECA) bileşiklerinin varlığını tespit etmişlerdir (2022). Bu Cl-PFPECA’lar yerini aldıkları PFAS'lara benzer veya daha yüksek toksisiteye sahip olabileceği endişesi ile Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), PFAS maruziyet limitlerini güncellemiştir (EFSA, 2018). Toler edilebilir, vücut kütlesine (bw) göre günlük alım miktarı (TDI) PFOS ve PFOA için sırasıyla 150'den 1500 ng/kgbw gün değerine ve 1,86’dan 0,86 ng/kgbw gün değerine düşürülmüştür. Böylelikle daha katı güvenli sınır değerlerin getirilmesi ile PFAS’ların daha duyar tayinine gereksinim doğmuştur. Ek olarak, yeni ve bilinmeyenlerle birlikte daha geniş bir aralıkta PFAS'ların hızlı tespiti için analitik yöntemlerin geliştirilmesi gereklidir.

Bu tez çalışması kapsamında **Şekil 1.2**'de kimyasal yapıları verilen kısa zincirli PFAS Bileşiklerinden perflorohekzanoik asit (PFHxA) ve perfloroheptanoik asit (PFHpA) türlerinin tayini üzerinde durulacaktır.



Şekil 1.2 Perflorohekzanoik asit ve Perfloroheptanoik asit bileşiklerinin kimyasal yapıları

Bu bileşiklerin ayrılmasına esas teşkil edebilecek fizikokimyasal özellikleri **Çizelge 1.2'**de verilmiştir. Bu verilerden görüleceği üzere bu bileşiklerin uçuculuğu az olup, gaz kromatografisi ile analize uygun değildir. Ayrıca asidik özellikleri nedeniyle suda anyonik türde olma olasılığı yüksek olup, iyonik olarak bir ön ayırma/zenginleştirme işleminin ardından sıvı kromatografisi ile analizi daha uygundur.

Çizelge 1.2 Perfloroheptanoik asit ve perfloroheksanoik asidin fizikokimyasal özellikleri (Pubchem-A ve Pubchem-B)

Özellik	PFHxA	PFHpA
Mol kütlesi	314.06 g/mol	364.06
Görünüş	Renksiz, sıvı	Renksiz, sıvı
Çözünürlük	15.7 mg/L	Bilgi yok
pK _a	-0.16	-2.29
Kaynama noktası	157 °C	65
Erime noktası	12-14°C	-93.9 °C
Buhar basıncı	1.49 Pa	97 mmHg (20°C)

1.3. PFAS Tayininde Kullanılan Analitik Teknikler

PFAS'ların çevredeki davranışları ve sağlık risklerini anlayabilmek için çevresel ve biyolojik matrislerde PFAS bileşiklerinin yanı sıra potansiyel toksik etkileri olan çok sayıda tanımlanamayan analogları için de analiz yöntemlerine gereksinim vardır. Bu bileşiklerin yüzey sularındaki derişimi pg/L veya ng/L aralığında olup, florokimyasal madde üretimi yapan fabrika yakınlarında bu değer birkaç 100 ng/L düzeyine ve atık su arıtma tesisinde (WWTP) ise birkaç 100 µg/L düzeyine çıkabilir (Munoz vd., 2015). Dolayısıyla istenilen düzeye inebilecek çok duyarlı ve seçici ölçüm tekniklerine gerek duyulmaktadır.

PFAS bileşiklerinin uçuculuğu düşük olduğundan çevresel ve içme suyu örneklerinde duyar ve seçici analizleri için genellikle tandem kütle spektrometresi içeren sıvı kromatografi (LC-MS/MS) tekniği tercih edilmektedir. Ancak daha karmaşık gıda ve çevre örnekleri için ölçüm öncesi bir örnek ayırma/zenginleştirme işlemine gerek vardır (Pasecnaja vd., 2022).

Bu kirleticilerin suda çözünürlükleri analiz yönteminde önemli rol oynar. Endüstriyel kullanım sonucu çevreye verilen PFAS'ların analizinde ön basamak olarak maddelerin tanımlanması işlemi, toplam flor içeriği dahil olmak üzere inorganik florür, ekstrakte edilebilen ve edilemeyen organik flor bileşiklerini de kapsayacak şekilde tüm flor içeren türlerin aydınlatılmasını içerir.

Ayrırma gücü yüksek olan kütle spektrometrisi ile bilinmeyen organoflorlu bileşiklerin kimliklerinin saptanması yeni ortaya çıkan çevresel kirleticilerin tespit edilmesi açısından önemlidir. Bu tür bir çalışmada Ontario gölünden alınan örnekler analiz edilmiş ve %2-44'lük kısmının anyonik özütlenebilir türler olduğu tespit edilmiştir (Ruan vd., 2017). Yeni ortaya çıkan çevre kirleticileri olarak perflorobutanoik asid, perflorobutan sulfonamid tespit edilmiştir. Poliflorlu bileşikler ise; tersiyer amin ve eter/keton veya fosfat-içeren analogları ile hidrojen-/klor-süstitue analoglardır.

PFAS bileşiklerinin tayininde genellikle negatif elektrosprey iyon kaynağının yer aldığı kuadrupol tandem (ardıl) kütle dedektörlü sıvı kromatografisi (HPLC-ESI-MS/MS) kullanılmaktadır (Lin vd., 2016). Nitel analizde iki fragman iyonun oranları esas alınırken, nicel analiz öncül (precursor) ve fragman iyon arasındaki geçişler izlenerek yapılmaktadır. Bu yöntemle Perfloroalkil sülfonat analogları (PFSA) istenilen duyarlıkta pg/L düzeyinde tayin edilebilir ancak PFOS izomerlerinin analizi özel kolon gerektirir ve tüm izomerlerin ayrılması zaman alır.

Nehir suyu örneklerinde PFOS analizi için atmosferik basınçlı fotoiyonlaşma kütle spektrometrisi ile eşleştirilmiş sıvı kromatografi (LC-APPI-MS) yöntemi ile duyar analizler yapılabilmektedir (Takino vd., 2003). Bununla birlikte, yöntem yalnızca düşük iyonlaşma potansiyeline sahip analitler için uygun bulunmuştur. Kuadrupol HPLC-MS tekniği ise karmaşık matriksler için seçici bulunmamıştır. Buna ek olarak eşleşmiş (hibrit) teknikler örneğin Orbitrap ve Kuadrupol Uçuş zamanlı (Q-TOF) sistemler kullanılarak da yöntemler geliştirilmektedir. Orbitrap Tribid HRMS sistemi analit iyonlarının izolasyonu, parçalanması ve dedeksiyonu için kuadrupol, doğrusal iyon tuzağı ve orbitrap içermektedir (Lin vd., 2016).

Yüksek çözünürlüklü (resolüsyon) kütle spektrometresi (GC-HRMS) ile birleştirilmiş gaz kromatografisi kullanılarak yürütülen analizlerde ise poliflorlu anyonların uçuculuğunu arttırmak için asidik koşullar altında ilave bir 2-propanol türetme adımına ihtiyaç duyulmuştur (Langlois vd., 2007). Bununla birlikte çevre ve iç mekan havasındaki nötr PFAS uçucu olabilen fluorotelomer alkoller (FTOH) ve N-alkil fluorooktan sulfonamidler (FOSA) veya etanolleri (FOSE) için gaz kromatografisi tercih edilmektedir (Portoles vd., 2015). Ölçüm tekniklerine ek olarak Yeung ve ark., negatif elektrosprey modunda çalıştırılan bir tandem kütle spektrometresine bağlı **ultra performanslı yakınsama kromatografisi (UPC 2)** kullanmışlar ve iki karbonludan başlayarak, perfloroalkil ve polifloroalkil maddelerini ölçebilmişlerdir (Yeung vd., 2017).

Bu teknikle tek bir analiz ile perfloroalkil sülfonatlar (PFSA), perflorlu karboksilatlar (PFCA), perflorlu fosfonatlar (PFPA) ve fosfinatlar (PFPiA), polifloroalkil fosfat diesterleri (diPAP) birbiri yanında tayin edilebilmektedir. Yağmur suyu ile yapılan analizlerde zararlı etkileri bilinen uzun zincirli PFAS'lar yerine son yıllarda tercih edilen ama henüz etkileri iyi bilinmeyen kısa zincirli bileşiklerin (C2-C7 PFCA'lar ve C4 PFSA) büyük bir kısmını oluşturduğu ve tek başına C2-C3 PFAS'ların yarıya yakın bir oranda olduğu rapor edilmiştir.

Atık suda yürütülen çalışmalarda ise tesisin giriş suyuna göre çıkış suyunda belirli PFAS'ların derişiminde gözlenen artış öncü maddelerin dönüşümüne bağlanmıştır (Wang vd., 2009). Öncü bileşikler fluorotelomer-esaslı olan ve olmayan bileşikler olarak sınıflandırılabilir. Fluorotelomer alkollerin (FTOHs) farklı mikroorganizmalarca biyodönüşümü sonucu PFOA ve PFHxA oluşumu tespit edilmiştir. Diğer bileşiklerin de biyodönüşümü ile PFAS bileşiklerinin geniş bir grubunu kapsayan ürünler oluşabilmektedir.

Gremmel ve ark., geniş bir grup olarak ele aldıkları perfloro ve polifloro alkil bileşikleri için iki ayrı yöntem geliştirmişlerdir (Gremmel, vd., 2017). Birinci HPLC-MS/MS yönteminde asidik nitelikte 12 farklı madde sınıfından perfloroalkil karboksilik asitler (PFCA) ve perfloroalkil sülfonik asitler (PFSA) grubundan 47 PFAS bileşiği ve öncül maddelerle ve biyodönüşüm araürünleri analiz edilmiştir.

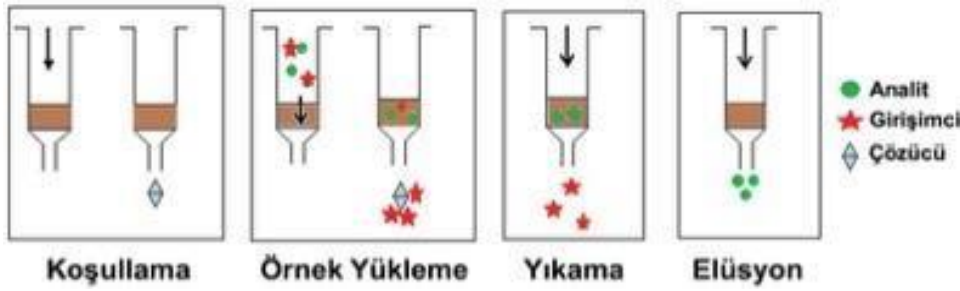
İkinci HPLC-MS/MS yönteminde ise öncekilerden farklı fizikokimyasal özelliklere sahip olması nedeniyle florotelomer alkollere (FTOH'ler) ve perflorooktan sülfonamidoetanollere uygulanmıştır. Bu çok sayıda analit için uygun iç standartlar kullanılmış ve atıksu arıtma tesislerinin çıkış suyunda FTOH biyodönüşümüne ait florotelomer karboksilli asit, poliflorlu doymuş karboksilik asitler ve PFCA gibi bileşiklerin derişiminde artış gözlenmiştir. Ayrıca, çıkış suyunda çok sayıda PFAS bileşiğinin varlığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmada ayrıca atık su gibi karmaşık bir matrikste katı faz özütleme (SPE) işleminden sonra yöntemin nicel tayin sınırı, analit ve matrikse bağlı olarak 0,3-199 ng/L arasında bulunmuştur. Bu çalışmada SPE yönteminin örnek hazırlama ve zenginleştirme için çok uygun olduğu ve ppb altı düzeylerde analize olanak tanıdığı vurgulanmıştır. Eser düzeyde kirleticiler için yöntemin doğruluk ve duyarlılığı üzerinde ölçüm tekniği kadar etkili olabilen örnek hazırlama teknikleri ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir.

1.4. PFAS Analizine Yönelik Örnek Hazırlama Teknikleri

PFAS'lar için geleneksel numune ön işlemleri sorbent bazlı özütleme veya çözücü esaslı özütleme dayalı ve birden çok adım gerektiren tekniklerdir. Son on yılda mevcut yöntemlerde iyileştirmelere dayalı veya yeni geliştirilmiş hızlı örnek ön ayırma teknikleri kullanılmaktadır. Bunlardan en sık kullanılan **katı faz özütleme** (SPE) tekniği hem sıvı hem de katı örneklerde PFAS özütleme ve/veya matris temizlemede etkilidir.

Bir polipropilen şırınga içinde paketli sorbentin ter aldığı SPE tekniğinde ayırma/deriştirme işlemi genellikle dört adımda yürütülür (**Şekil 1.3**). Birinci adım SPE kartuş içerisindeki sorbentin koşullanması olup, uygun bir çözücü ile içeriğindeki safsızlıkların giderilmesi ve istenen çözücü ortamının oluşturulması amacıyla yapılır (Mitra, 2003).



Şekil 1.3 SPE tekniğinin basamakları

Koşullama adımının ardından örnek çözelti kartuşa belli bir hızda yüklenir ve girişimcilerin giderilmesi için zayıf bir çözücü ile bir ara yıkama yapılır. Elüsyon aşamasında sorbente tutunan analitler az miktarda kuvvetli bir çözücü ile sıyrılır ve böylece hem girişimcilerden ayrılmış hem de küçük hacime deriştirilmiş olur. Bu yolla seçicilik ve duyarlık artırıldığı için tercih edilmektedir.

SPE kartuşunda yer alan sorbentler etkileşim mekanizmasına göre başlıca dört gruba ayrılabilir. Bunlardan ilki ve Si-O-Si köprüleri üzerinde silanol (Si-OH) grubu içeren polar nitelikli **silika** sorbenttir. En eski kullanıma sahip sorbentlerden biri olan silika organik çözücü ortamında çözünmüş polar bileşiklerin ayrılmasında başarılı olsa da sulu ortamlarda bulunabilen düşük veya orta polaritede organik bileşiklerin tutunması için bu sorbentlerin polaritesinin düşürülmesi gereklidir. Bu amaçla silika yüzeyi apolar bir yapı oluşturmak üzere C-8 veya C-18 gibi düz zincirli alkanlarla modifiye edilir ve geleneksel polar durgun faza ters olduğu için **ters faz** olarak adlandırılır.

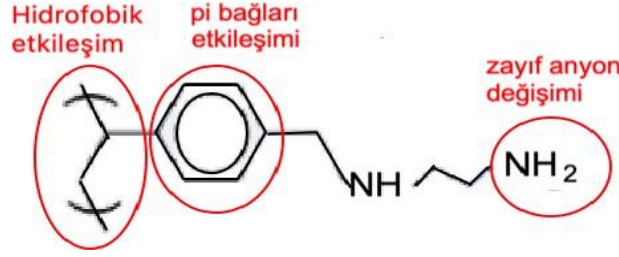
Silika dışında farklı fonksiyonel gruplar içeren ve dolayısıyla polaritesi geniş bir aralıkta değişebilen polimerik yapılar da sorbent olarak kullanılabilir. Son yıllarda ise aşağıda da bahsedileceği üzere farklı polaritede kutuplar içeren moleküller için aynı anda her iki özelliğe de yanıt verebilecek hidrofilik ve lipofilik yapıları bir arada içeren HILIC kolonlar da geliştirilmiştir.

Analitin ayırmada esas teşkil eden özelliklerinden polarite dışında analitin asidik/bazik özelliğini oluşturan ve ortam pH'ına göre iyonlaşabilen fonksiyonel grubu içermesi de önemlidir. Bu durumda sorbent olarak içerdiği anyonik ve katyonik gruplar üzerinden iyon değişimi yapabilen *anyon değiştirici* veya *katyon değiştirici* kartuşlar seçilebilir. Bu sorbentler içerdiği fonksiyonel grup üzerinde iyonlaşmanın kuvvetli ve zayıf olmasına göre de isimlendirilir. Son olarak molekül çapına göre büyük molekülleri elemeye gözenekli sorbentleri içeren ve *boyut dışlama* ilkesine göre çalışan kartuşlar da mevcuttur.

PFAS'lar suda çözünen, uçuculuğu az olan polar bileşikler olup, çevresel pH'larda anyonik türde oldukları için sorbent olarak zayıf anyon değiştirici (Oasis WAX, Strata-X AW) veya polimerik ters fazlar tercih edilmektedir. SPE işleminde örnek yükleme hacmi 100 mL ile 1.0 L arasındadır. Elüsyon aşamasında ana seçenek metanol (MeOH) olup, % 0.1 NH₄OH ilavesiyle iyonlaşma ve sorbentte bileşiklerin tutulma riski azaltılabilir (Lorenzo vd., 2018). Zayıf anyon değiştirici (WAX) kartuşların özellikleri aşağıda verilmiştir.

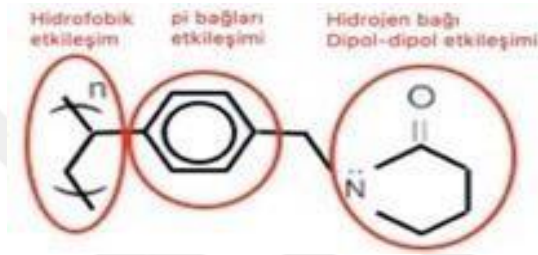
Oasis WAX: Kuvvetli asidik bileşiklerin hızlı, basit ve son derece seçici numune hazırlanması için optimize edilmiş, zayıf anyon değişimi esaslı polimerik ters fazlı karışık modlu bir sorbent olan bir sorbent içerir.

Strata-X AW: Asitlik sabiti $pK_a < 5$ olan asidik bileşiklerin tamamen tutulmasına olanak tanıyan, %100 organik yıkama koşullarını mümkün kılan, zayıf anyon değiştirme fonksiyonlu polimerik sorbent içerir. Bu kartuşun tutunma mekanizmaları aşağıda verildiği üzere zayıf anyon değişiminin yanı sıra aromatik halka üzerinden $\pi-\pi$ etkileşimi veya doymuş hidrokarbon zinciri üzerinden de hidrofobik etkileşimini de içerir (**Şekil 1.4**).



Şekil 1.4 Strata-X AW sorbentinin yapısı ve etkileşim mekanizmaları

Strata-X kuvvetli organik çözücü ile yıkama koşulları altında nötr, asidik veya bazik bileşiklerin güçlü şekilde tutulmasını sağlayan ters faz işlevselleştirilmiş polimerik sorbent içerir. Etkileşim mekanizması aşağıda verilmiştir (Şekil 1.5).

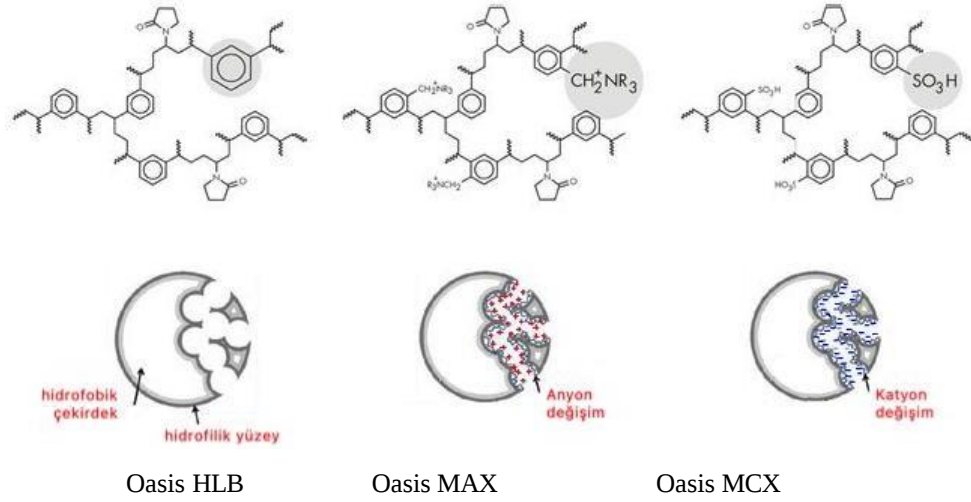


Şekil 1.5 Strata-X kartuşunun tutunma mekanizmaları

Son yıllarda geniş kullanım alanı bulan hidrofilik-lipofilik (**HILIC**) kartuşlar adından da anlaşılacağı üzere hedef analitin hem su seven (hidrofilik) hem de sudan korkan (hidrofobik) kesimi ile etkileşir. Bu amaçla kullanılan kartuş sorbentlerinden **Oasis HLB**; basit bir prosedürle çeşitli matrislerden çok çeşitli asidik, bazik ve nötr bileşiklerin ekstraksiyonu için geliştirilmiş evrensel bir polimerik ters fazlı sorbent olan Oasis HLB sorbentini içerir.

Bu sorbentler ayrıca aşağıdaki şekilde görüleceği üzere katyonik ve anyonik gruplar da içerebilir ve böylelikle hidrofilik ve hidrofobik etkileşimin yanı sıra sırasıyla anyon ve katyon değiştirici olarak da davranabilir (Şekil 1.6).

İçme sularında per- ve polifloroalkil maddelerin (PFAS) analizi için ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) Yöntem 537.1 ve 533 standart yöntemlerini önermiştir. Birçok ülkede yasal düzenlemelerin gerektirdiği düşük düzeylere inebilmek için geliştirilen standart yöntemde (EPA-533) zayıf anyon değiştirici WAX kartuş kullanılmaktadır. Çevresel ve arıtma suyu analizlerinde de yaygın olarak kullanılan bu yöntemin hem içilebilir hem de içilemez sularda kullanım performansını değerlendirmek üzere laboratuvarlar arası bir çalışma yürütülmüştür (Whitaker vd, 2021).



Şekil 1.6 HLB kartuşlar ve türleri (Boonjob vd., 2014)

Yukarıda bahsedilen çalışmada elde edilen geri kazanım değerleri her iki yöntemin de içilemez su örneklerinde PFAS analizi için genel olarak uygulanabilir olduğunu, ancak uzun zincirli PFAS'ın özütleme veriminin düştüğünü göstermektedir. Bu yöntemle ilgili bir diğer zorluk, birlikte özütlenebilen inorganik anyonların, kendi izotopik olarak etiketlenmiş analogları bulunmayan PFAS üzerinde neden olduğu olası etkilerdir. Deneysel sonuçlar, ara yıkama ve elüsyon prosedürlerinin geliştirilmesiyle bu zorlukların azaltılabileceğini göstermektedir.

Benzer şekilde bir diğer çalışmada kısa zincirli asit bileşikleri için istenen ppt düzeyinde belirtme sınırına ulaşmada zemin sinyalinin düşürebilmek için sarf malzemelerinin ve kullanılan diğer aparatların da dikkatli seçilmesi gerektiği vurgulanmıştır (<http://www.restek>). Ülkemizde ise ulusal mevzuatlar gereği AB direktifleri uygulandığından, perflorlu bileşikler listeye alınmıştır (ÇŞB, 2018). Ülkemizde PFOA ve PFOS'un üretimi, satışı ve kullanımı sınırlandırılmıştır.

Bu konuda ülkemizde yürütülen bir çalışmada musluk suyu ve marketlerde satılan plastik ve cam şişe içme sularında 10 adet perfloroalkil maddenin derişimleri ölçülmüştür (Endirlik vd., 2019). Bu çalışmada Taniyasu ve ark geliştirdiği ve WAX kartuşun kullanıldığı yöntemin küçük bir modifikasyonu uygulanmıştır (Taniyasu vd., 2005). Sonuçlara göre musluk suyu örneklerinde en sık tespit edilen bileşikler perflorohekzanoik asit (PFHxA), perflorobütan sülfonat (PFBS) ve perfloropentanoik asit (PFPeA) olup, ng/L düzeyindedir. Şişe sularında ise musluk suyuna göre düşük tespit edilmiştir.

Literatürde son yıllarda yayımlanan çalışmaların büyük bir bölümü çevresel sular ve sediment ortamında davranışı ve atık su arıtma tesislerinden elde edilen su örneklerinde yürütülen analizler üzerinedir. Çevresel sularda PFAS'ların sediment üzerine sorpsiyonunda hidrofobik etkileşimlerin önemli rol oynadığı ve yapılan bölüşüm (partisyon) çalışmalarında sedimentin temasta olduğu su kitlesinin pH'ı ile sedimentin organik madde içeriğinin etkin olduğu bildirilmiştir (Higgins ve Luthy, 2006).

Buna karşın daha sonra yayımlanan bir çalışmada PFAS bileşikleri için sediment-su dağılımında zincir uzunluğunun da etkili olduğu tespit edilmiştir (Ahrens vd, 2009). Kısa zincirli (<C8) PFAS'lar yalnızca çözünmüş fazda tespit edilirken, uzun zincirli (>C8) PFAS'ların ise sedimente tutunmuş olduğu rapor edilmiştir. Bu bilgidен hareketle Zhang ve ark., Çin'de yer alan Dianchi Gölü'nden toplanan su ve sediment örneklerini her iki gruba da hitap eden HLB kartuş ile işlem sonrası LC-MS/MS ile analiz ettiklerinde suda baskın kirleticinin PFOA; sedimentte ise PFOS olduğunu tespit etmişlerdir (Zhang vd., 2012).

Munoz ve ark., su örneklerinde 15 farklı poli- ve perfloroalkil bileşiğinin tayini için Strata X-AW kartuşu ile ön ayırma ve zenginleştirme ve grafitle temizleme işleminin ardından lazer diyot termal iyonlaşma (LDTD/APCI) tekniği ile eşleşmiş yüksek ayırma gücüne sahip orbitrap kütle spektrometresi (HRMS) ile duyarlı ölçümler gerçekleştirilmiştir (Munoz vd., 2015). Geliştirilen yöntem yüzeysel su ve atık su örneklerinde yüksek geri kazanım değerleri ile uygulanmıştır.

Lin ve ark. nehir örneklerinde LC-Orbitrap Tribrid HRMS yöntemi ile perfloroalkil sülfonatların (PFSA) tayinine yönelik olarak farklı SPE kartuşlarının verimini incelemişlerdir (Lin vd., 2016). Bu amaçla oktadesil (C18), hidrofilik-lipofilik denge polimeri (HLB) ve zayıf anyon değişim polimeri (WAX) kartuşları kullanılmıştır. C18 ve HLB kartuşlarının prosedürleri benzer olup, metanol ve su karışımı ile koşullanır ve su örnekleri yüklendikten sonra vakum altında kurutulur ve metanolle elüe edilir.

WAX kartuş ise metanol, %0,1 NH₄OH içeren alkali metanol ve saf su ile koşullandıktan sonra örnek yükleme ve metanol ve asetik asit-amonyum asetat tampon çözeltisi ile yıkanır ve vakum altında kurutulup, alkali metanol çözeltisi ile sıyrılır. Tüm özütler azot atmosferinde kurutulur ve 1 mL 7:3 metanol:su karışımı ile çözülüp, uygun miktarda sisteme enjekte edilir.

Elde edilen verilere göre ters fazlı adsorpsiyon mekanizmasının, kısa zincirli PFBS moleküllerini tutmak için yetersiz olabileceği, ancak WAX içerikli sorbentte tersiyeramin fonksiyonel grubunun, poliflorlu anyonlarla tatmin edici düzeyde etkileşim gösterdiği rapor edilmiştir. Buna karşın, uzun zincirli PDFS için gerikazanımlar tüm kartuşlar için de tatminkar bulunmamıştır. Sonuç olarak SPE yönteminin yeni çıkan poliflorlu maddelere uygulanabilir olduğu gösterilmiştir.

Boiteux ve ark. su, sediment, toprak ve çamur örneklerinde perfloro karboksilik asitler, perfloroalkil sülfonik asitler, doymuş karboksilik asit, doymamış karboksilik asit, sülfonamid ve sülfonamid betain (FTAB) gibi florotelomerler dahil olmak üzere çok sınıflı PFAS'ların LC-MS yöntemi ile analiz koşullarını incelemişlerdir (Boiteux vd. 2016). Bu geniş analit grubunun tayini için Strata X-AW kartuş seçilmiş ve 12 adet iç standart kullanılmıştır. Hedef analitler dışındaki PFAS bileşiklerinin öngörülmesinde bazik koşullarda perfloroalkil asit öncüllerinin karboksilasyonuna yönelik bir parametre kullanılmış ve yangın söndürücü üretim tesisine yakın noktalardan alınan örneklerde en yüksek derişimdeki bileşiğin 6:2 FTAB olduğu tespit edilmiştir.

Cavaliere ve ark. sediment örneklerinde aralarında 11 adet perflorlu bileşiğin yer aldığı 22 adet endokrin bozucu bileşiğin tayinine yönelik bir yöntem geliştirmişlerdir (Cavaliere vd., 2016). Sediment örneklerinin ultrasonik yardımcı özütlemesinin ardından sorbent olarak grafitize karbon siyahı içeren SPE kartuştan geçirilen örnekler LC-MS/MS sistemine enjekte edilerek, tüm analitlerin yüksek gerikazanımlarla tespit edilebildiği bir yöntem geliştirilmiştir.

Wang ve ark. sulara beş adet PFAS bileşiğini tayin için silika jel üzerine immobilize edilmiş iyonik sıvıları (IIL) bir pasif örnekleyicide alıcı faz olarak kullanmışlardır (Wang vd., 2017). Bu sistemle bölüşüm katsayıları özellikle kısa zincirli PFAS bileşikleri için, HLB sistemine göre daha yüksek bulunmuştur. SPE ile ayırma sonrası yüzeysel sular ve atık sulara PFAS tayinine yönelik sıvı kromatografik analiz yöntemlerinin özellikleri **Çizelge 1.3**'te verilmiştir.

Yukarıda ayrıntılarıyla verilen içme suyu ve yüzeysel suların dışında PFAS tayini biyoizleme amaçlı balık örneklerinde (Cervený vd., 2016; Campo vd., 2016) de yürütülmüştür. Ayrıca insan sütünde (Beser, vd. 2019) ve saçında (Piva vd., 2021) da yapılan analizlere ek olarak su geçirmez nitelikte ceket örneklerinde de analiz gerçekleştirilmiştir (Gremmel vd., 2016).

Çizelge 1.3 Yüzeysel (YS) ve atık sularda (AS) PFAS tayin yöntemlerinin kimi özellikleri

Matriks ve işlem	SPE Kartuş ve Çözücü Türü	Cihaz ve Modu	Kromatografik Ayırma Koşulları	Gerikazanım (%)	LOD/LOQ (ng/L)	Kaynak
Çevre suyu Filtrasyon	Oasis HLB Yıkama: ACN Elüsyon: ACN	LC-(ESI) MS/MS (QqQ) SRM modu	Waters BEH C8 H ₂ O (0.1% FA) ACN (0.1%FA)	40-110	2-6	Wang, 2011
Göl suyu ve sediment	Oasis HLB Yıkama: MeOH: H ₂ O Elüsyon: MeOH	HPLC-MS/MS LDTD/APCIHR MS (Orbitrap) Tam tarama modu	Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 A: MeOH B: 2.5mM NH ₄ CH ₃ COO	PFHxA:61-83 (Sed) PFHpA:76-97 (Sed)	PFHxA(sed) 0.020/0.066 PFHpA(sed) 0.020/0.066	Zhang, 2012
Atıksu yüzey suyu	Strata X-AW Yıkama: H ₂ O Elüsyon: 2x MeOH: H ₂ O (NH ₄ OH 0.1%) Örn Tem: Grafit kartuş	GC-(APCI) MS/MS (QqQ) SRM modu	96 kuyucuklu PPy tabakalarda 40°C’de kurutulur→ısıtıl desorpsiyonla kuartz aktarım tüpünden sisteme verilir. EtAc (2 L/dk)	38-106 (Atık su)	AS: 0,3-4 YS: 0,03-0,2	Munoz, 2015
Atıksu yüzey suyu	Oasis HLB (500 mg) Yıkama: MeOH: H ₂ O (5:95) Elüsyon: EtAc	GC-(APCI) QTOF-MS SRM modu	TraceGold TG-Wax MS GC-(EI ve CI)	80-97	1-5 fg	Portoles, 2015
Yüzey suyu	Strata-X 200 mg Elüsyon: MeOH (0.1% NH ₄ OH)	UHPLC-(ESI) MS/MS (QqQ) SRM modu UHPLC-(ESI) QqTOF-MS IDA modu	Poroshell EC-C18 A:H ₂ O (10 mM AF) B:MeOH(10 mM AF) Akış:0,3 mL/dak.	67-99 (QqTOF MS)	QqTOF-MS: 0,1-50	Campo, 2015

Çizelge 1.3 Devam

Matriks ve işlem	SPE Kartuş ve Çözücü Türü	Cihaz ve Modu	Kromatografik Ayırma Koşulları	Gerikazanım (%)	LOD/LOQ (ng/L)	Kaynak
Yüzey suyu	Serdolith PAC 3 (500 mg) Yıkama: H ₂ O Elüsyon: 5x DCM LLE 2x DCM	GC-(EI) MS/MS (QqQ) SRM modu	HP-5MS	45-77	2,7-26,6	Wolschke, 2015
Atıksu yüzey suyu	WAX Yıkama: FA ve MeOH Elüsyon: MTBE:MeOH %1 NH ₄ OH 9:1	HPLC-(ESI) Orbitrap MS PRM modunda	Kinetex C18 kolon A:ACN (10 mM AF) B:MeOH/ACN (1:1) Akış:Grad. 0,3 mL/dak	AS: 99-116 YS: 98-111	0,1-0,5	Zacs, 2016
Atıksu yüzey suyu	SPE Oasis WAX Yıkama: MeOH ve 25 mM AcOH:AA Elüsyon: 0,1% NH ₄ OH içeren MeOH	LC-(ESI) Orbitrap Tribrid HRMS tam tarama modu ve LC-(ESI) MS/MS (QqQ) SRM modu	ACQUITY UPLC C18 A:H ₂ O (1 mM AA) B: MeOH(1 mM AA)	63-103 (Orbitrap)	Orbitrap: 0,007-0,06 QqQ: 0,01-0,05	Lin, 2016
Yüzey suyu	Strata-X 200 mg Elüsyon: MeOH (0,1% NH ₄ OH)	UHPLC-(ESI) MS/MS (QqQ) SRM modunda	Kinetex XB-C18 A:H ₂ O (10 mM AF) B: MeOH (10 mM AF)	55-94	0,01-2,00	Campo, 2016
Yüzey suyu	Strata-X AW 200mg Yıkama: H ₂ O Elüsyon: MeOH, MeOH (0.1% NH ₄ OH) ve DCM: C ₃ H ₈ O (0.1% NH ₄ OH) 7:3	UHPLC-(ESI) MS/MS (QqQ) SRM modu	Waters Acquity BEH C18 A: H ₂ O (2 mM AA): MeOH 9:1 B: MeOH	15-187	4-10	Boiteux, 2016

Çizelge 1.3 Devam

Matriks ve işlem	SPE Kartuş ve Çözücü Türü	Cihaz ve Modu	Kromatografik Ayırma Koşulları	Gerikazanım (%)	LOD/LOQ (ng/L)	Kaynak
Yüzey suyu	Serdolith PAC 3 (500 mg) Yıkama: H ₂ O Elüsyon: 5x DCM LLE 2x DCM	GC-(EI) MS/MS (QqQ) SRM modu	HP-5MS	45-77	2,7-26,6	Wolschke, 2015
Atıksu yüzey suyu	WAX Yıkama: FA ve MeOH Elüsyon: MTBE:MeOH %1 NH ₄ OH 9:1	HPLC-(ESI) Orbitrap MS PRM modunda	Kinetex C18 kolon A:ACN (10 mM AF) B:MeOH/ACN (1:1) Akış:Grad. 0,3 mL/dak	AS: 99-116 YS: 98-111	0,1-0,5	Zacs, 2016
Atıksu yüzey suyu	SPE Oasis WAX Yıkama: MeOH ve 25 mM AcOH:AA Elüsyon: 0,1% NH ₄ OH içeren MeOH	LC-(ESI) Orbitrap Tribrid HRMS tam tarama modu ve LC-(ESI) MS/MS (QqQ) SRM modu	ACQUITY UPLC C18 A: H ₂ O (1 mM AA) B: MeOH (1 mM AA)	63-103 (Orbitrap)	Orbitrap: 0,007-0,06 QqQ: 0,01-0,05	Lin, 2016
Yüzey suyu	Strata-X 200 mg Elüsyon: 0.1% NH ₄ OH içeren MeOH	UHPLC-(ESI) MS/MS (QqQ) SRM modunda	Kinetex XB-C18 A:H ₂ O (10 mM AF) B: MeOH (10 mM AF)	55-94	0,01-2,00	Campo, 2016
Yüzey suyu	Strata-X AW 200mg Yıkama: H ₂ O Elüsyon: MeOH, MeOH (0.1% NH ₄ OH) ve DCM: C ₃ H ₈ O (0.1% NH ₄ OH) 7:3	UHPLC-(ESI) MS/MS (QqQ) SRM modu	Waters Acquity BEH C18 A:H ₂ O (2 mM AA): MeOH 9:1 B: MeOH	15-187	4-10	Boiteux, 2016

1.5 Tezin Amacı

PFAS bileşiklerinin toksik etkileri ortaya çıktıkça yerine yasal yükümlülüklerden kaçınmak için benzer özelliklere sahip ancak daha kısa bileşikler piyasaya sürülmektedir. Bu durumda bu bileşiklerin çevre ve toplum sağlığına etkilerinin kontrol altına alınabilmesi için duyarlı ve güvenilir analiz tekniklerine gereksinim vardır. Grubumuz içinde PFOA ve PFOS bileşiklerinin su numunelerinde analizine yönelik tez çalışması yürütülmektedir. Bu tez çalışmasında ise yasal olarak izlenen bileşiklerin kısa zincirli muadilleri olarak kullanıma sürülen ve toksik etkileri belirsizlik içeren diğer iki önemli kirletici perfloroheptanoik asit (PFHpA) ve perfloroheksanoik asit (PFHxA) bileşiklerinin analizi üzerinde durulacaktır. Bu bileşiklerinin su numunelerinde analizi için katı faz ekstraksiyon (SPE) ile ayrılmasının ardından, LC-MS/MS sistemi ile analizi incelenmesi hedeflenmiştir.

Tez çalışmasında hedef analitlerin LC-MS/MS ile tayininde iki farklı yöntem denenmiştir. Bunlardan ilki farklı polaritede ve uçuculukta olan çok sayıda analitin yan yana tayinine olanak sağlayan bir yöntemdir (Wang vd., 2011). Burada zemin sinyalini artıran bulaşların zenginleştirme işlemine kullanılan organik çözücülerden kaynaklanması nedeniyle metanol yerine asetonitril kullanılmış ve duyarlılık üzerinde etkili olduğu bilinen sinyal/gürültü (S/N) oranını iyileştirmek için organik faza modifiyer olarak 0.1% formik asit eklenmiştir. Geliştirilen bu yöntemle nehir sularında farklı nitelikte OPE'lerin duyarlı ve tekrarlanabilir şekilde ölçülebilmektedir. Bu tez çalışmasında ise daha önce PFAS bileşiklerini için daha önce kullanılmamış olan bu yöntemin performansı EPA 533 standart yöntemi ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Çeşme sularında PFHxA ve PFHpA tayinine yönelik daha duyar sonuçların eldesi ve olası girişimcilerin de uzaklaştırılabilmesi için üç farklı nitelikte SPE kartuşu denenmiştir. Literatürde benzer sorbent tarama çalışmalarına rastlanmakla birlikte (Lin vd., 2016) hedef analitler ile örtüşen bu tür bir çalışma yoktur ve bu da tez çalışmasının özgünlüğünü oluşturmaktadır.

Ayrıca daha önceki çalışmalarda dikkate alınmayan bu asidik türlerin özütlenmesinde ve analizinde ortam pH koşullarının etkisi de incelenmiştir. Geliştirilen yöntem çeşme suyu numunelerine uyarlanmıştır.



2. DENEYSEL KESİM

2.1. Kimyasal Reaktifler ve Deneysel Malzemeler

Denemelerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır. Sigma'dan alınan PFAS standartları perfloroheksanoik asit (PFHxA) %98 saflıkta olup, perfloroheptanoik asit (PFHpA) ise %97 saflıktadır. PFHxA Merck marka (Cas No: 307-24-4) olup, renksiz sıvı görünümündedir.

Bu reaktifler aşağıda ayrıntılı verildiği şekilde 3 mg olacak şekilde tartılıp 3 mL ultra saf suda çözülerek, 1000 mg/L stok çözelti hazırlanmış ve pH değerleri kaydedilmiştir. Denemelerde iç standart olarak kullanılan 2H,2H,3H,3H-perfloro undekanoik asit ise Abcr firmasından %97 saflıkta temin edilmiş ve metanolde çözülerek standart çözeltisi hazırlanmıştır.

PFHxA: 2,041 mg tartım + 2,175 mL su → pH: 2,82 (22,5 °C)

PFHpA: 4,88 mg tartım + 4,733 mL su → pH:2,66 (25,0 °C)

IS: 3,093 mg tartım + 3,317 mL metanol

LC-MS sisteminde elüent olarak Formik asit (FA, CH₂O₂) içeren su kullanılmıştır. FA (pKa: 3,75) Merck marka (Cas No: 64-18-6) olup, saflık yüzdesi %98-100 aralığındadır. Amonyum Hidroksit Merck marka (Cas No: 1336-21-6) olup, saflık yüzdesi %25-26 aralığındadır. Elüent olarak kullanılan Asetonitril (ACN) ise Merck marka (Cas No:75-05-8) olup ≥99.9% saflıktadır.

SPE çalışmalarında Strata, C-18-E (6cc/500 mg), Oasis HLB (6cc/200 mg) ve Oasis WAX (6mL/150 mg) kartuşlar kullanılmıştır. Bu kartuşların kullanım prosedürü aşağıda verilmiştir.

2.2. Kullanılan Cihazlar

Denemelerde ARGEFAR bünyesinde yer alan Mettler Toledo pH-metre, Mettler Toledo analitik terazinin yanı sıra Heidolph marka vorteks, Teknosem TAB 40-W ve WT Evaporatör kullanılmıştır. Millipore Direct-Q 8UV Ultra saf su sisteminden alınan su ile çalışmalar yürütülmüştür.

SPE denemelerinde Supelco VISIPREP™ DL manifold ile yükleme yapılmış ve ölçümlerde SHIMADZU marka ve LCMS-8040 kodlu LC-MS/MS cihazı kullanılmıştır. Bu cihazla iki farklı yöntemle koşullar uygulanmıştır.

Öncü denemelerde daha önceki bir çalışmada önerildiği şekilde C-8 kolon ve hareketli faz olarak asetonitril tercih edilmiş ve duyarlık için önem arz eden sinyal gürültü (S/N) oranını iyileştirmek için %0,1 formik asit katkısı yapılmıştır (Wang vd., 2011). Bu yöntemin çalışma koşulları **Çizelge 2.1**'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 LC-MS/MS ile yürütülen birinci yöntemin çalışma koşulları

Kolon	Zorbax 300 SB-C8 (100 mm x 4,6, 3.5 µm)		
Mobil Faz A	% 0,1 formik asitli su (pH:2,68)		
Mobil Faz B	% 0,1 formik asitli ACN		
Kolon Sıcaklığı	40°C	Akış Hızı	0,4 mL/dk
Enj. Hacmi	10 µL	Yöntem süresi	10 dk
Gradyent Elüsyon Koşulları			
Zaman (dk)	B (%)	Zaman (dk)	B(%)
0,01	%10	6.70	%100
3,00	%10	8.00	%10
5,00	%100	10.00	stop
5,01	%100		

Analizlerde kullanılan ikinci yöntemde ise standart yöntem (EPA-533) prosedürü izlenmiş ve C-18 kolonun kullanıldığı bu yöntemde nötral pH'a sahip amonyum asetat tamponundan yararlanılmıştır. Bu yöntemin ayrıntıları **Çizelge 2.2**'de verilmiştir.

Çizelge 2.2 LC-MS/MS ile yürütülen ikinci yöntemin çalışma koşulları

Kolon	Agilent Eclipse XDB-C18(150 mm x 2,1, 5,1 µm)		
Mobil Faz A	10 mM amonyum asetat tamponu (pH:6,83)		
Mobil Faz B	MeOH		
Kolon Sıcaklığı	40°C	Akış Hızı	0,4 mL/dk
Enj. Hacmi	10 µL	Yöntem süresi	10 dk
Gradyent Elüsyon Koşulları			
Zaman (dk)	B (%)	Zaman (dk)	B(%)
0.01	%10	6,70	%100
3.00	%10	8,00	%10
5.00	%100	10,00	stop
5.01	%100		

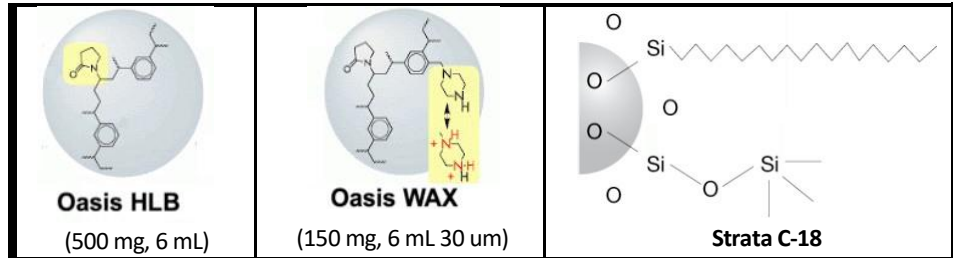
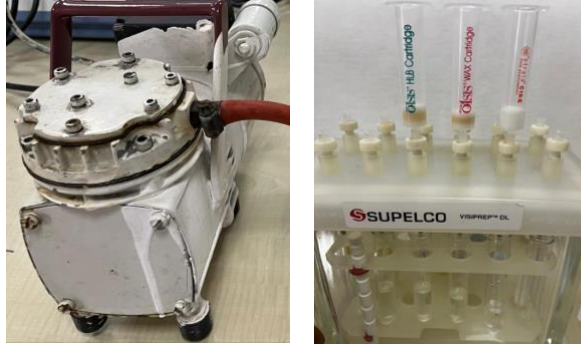
Hedef analitlerin kütle dedektöründe tespit edilen ana iyon ve ürün iyonlarının kütleleri **Çizelge 2.3**'te verilmiş ve ölçümlerde dikkate alınan iyonlar koyu renkli olarak belirtilmiştir.

Çizelge 2.3 Hedef analitlerin iyon kütleleri (akb)

Analit	tr (min)	Ana iyon	Ürün iyonlar
PFHxA	7,4	313,05	269,00 – 119,05
PFHpA	7,5	363,10	319,05 – 168,70
IS	8,1	491,10	367,00 – 387,05

2.3. Prosedür

Hedef analitlerin öncelikle standart çözeltilerinin enjeksiyonu sonucu yukarıda ayrıntıları verilen cihaz koşullarında elde edilen kromatogramlardan kütle değerleri ve alıkonma süreleri tespit edilmiştir. Ardından pik alanları ve pik alan oranlarından gidilerek, kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Daha sonraki aşamada daha duyar analiz koşullarını oluşturmak üzere katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşları denenmiştir. Bu kartuşların isimleri ve kimyasal yapıları **Şekil 2.1**'de şematik olarak verilmiştir. Bu sorbentlerle yürütülen özütleme işleminin aşamaları **Çizelge 2.4**'te özetlenmiştir.



Şekil 2.1 Denemelerde kullanılan vakum pompası ile manifold ve SPE kartuşların kimyasal yapıları

Çizelge 2.4 SPE işleminin aşamaları

SPE türü	Oasis HLB	Oasis WAX	Strata C-18
Koşullama	10 mL MeOH → 10 mL su	4 mL % 0,1 NH ₄ OH içeren metanol → 4 mL MeOH → 4 mL su	3 mL ACN → 3 mL su
Örnek yükleme	1,0 ng/mL standart çözeltiden 10 mL örnek 3 mL/dak hızla yüklenir		
Ara yıkama	5 mL %40 MeOH	4 mL 25 mM NH ₄ COOH	3 mL su → hava ile 10 dak kurutulur
Elüsyon	8 mL MeOH	4 mL % 0.1 NH ₄ OH içeren metanol	3 mL ACN (3 kez)
Buharlaştırma	1 mL kalana dek N ₂ gazı altında kurutulur	Kuruluğa dek N ₂ gazı altında kurutulur → 100 µL MeOH'de çözülür	Kuruluğa dek N ₂ gazı altında kurutulur → 1 mL 60:40 su: ACN

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

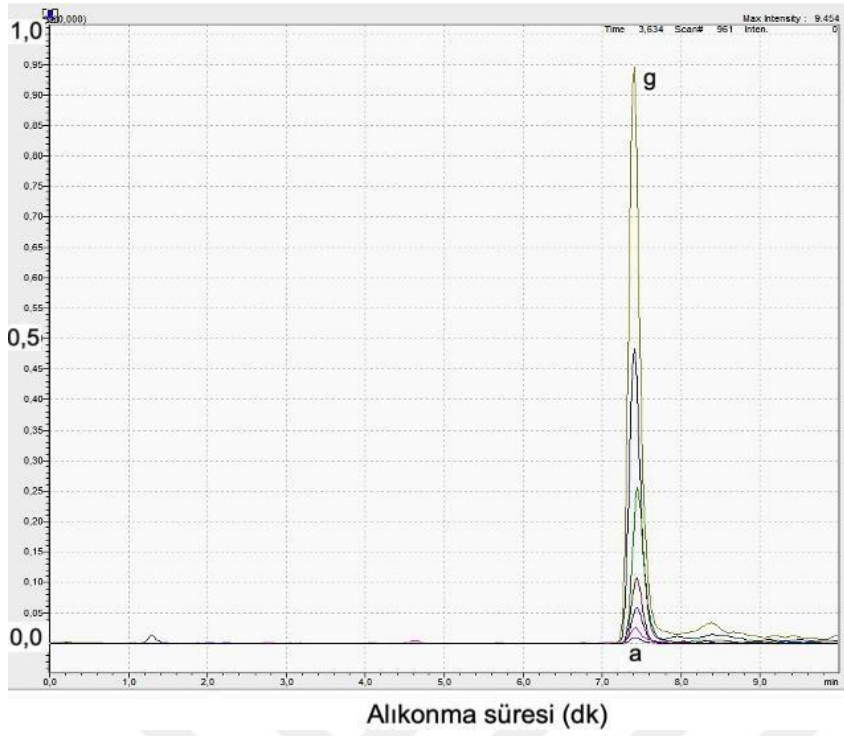
Bu tez çalışmasında öncelikle hedef analitlerin LC-MS/MS sistemi ile doğrudan enjeksiyonu ile analizi incelenmiştir. Bu amaçla ayrıntıları Deneysel Kesimde verildiği üzere hareketli faz olarak asetonitril veya metanolün kullanıldığı iki farklı yöntem kullanılmıştır. Ardından, SPE kartuşla ön ayırma ve zenginleştirme işleminin ardından analizlere devam edilmiş ve son olarak gerçek örneklerle uygulama gerçekleştirilmiştir.

3.1. Doğrudan Enjeksiyonla Kalibrasyon Çalışması

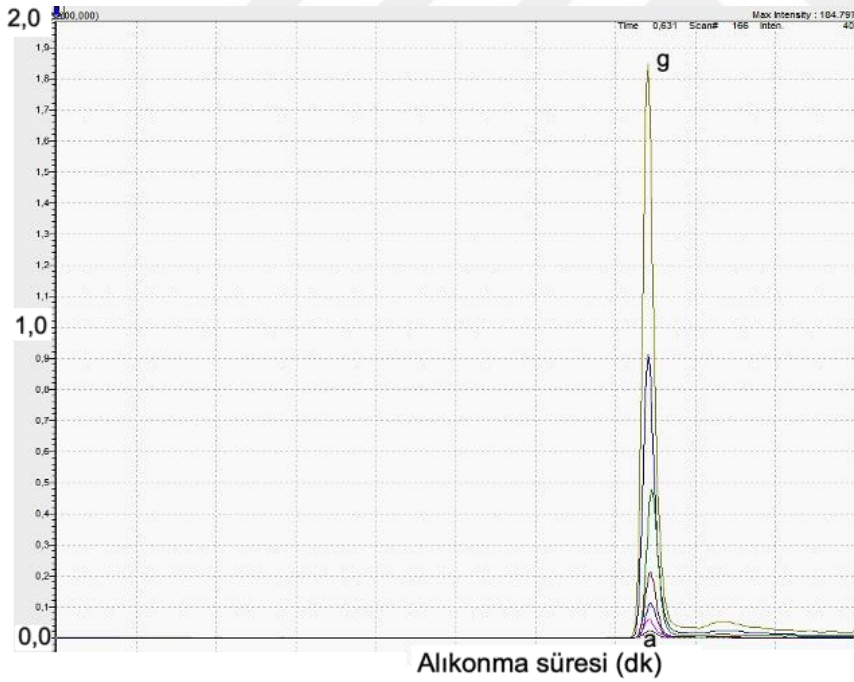
Hedef analitlerin doğrudan enjeksiyonla tayininde denenen ilk yöntem Wang ve ark tarafından alev geciktirici organofosfat esterlerin (OPEs) LC-MS/MS sistemi ile tayininde kullanılan yöntemdir (2011). Bu yöntemi ilginç kılan yönü farklı polaritede ve uçuculukta olan çok sayıda analitin yan yana tayinine olanak tanınmasıdır. Hareketli faz olarak matriksten kirlilik sürükleyebilen metanol yerine asetonitril tercih edilmiş ve ayrıca organik faza 0,1% olacak şekilde formik asit eklenerek, bu asidik fazın sinyal/gürültü (S/N) oranını iyileştirmedeki katkısı da incelenmiştir.

Bu amaçla deneysel kesimde açıklandığı üzere PFHxA ve PFHpA standartlarından 1,0-100 ng/mL aralığında saf suda hazırlanan standart çözeltilerinden LC-MS/MS sistemine enjekte edilerek **Çizelge 2.1**'de verilen koşullarda kromatogramlar elde edilmiştir.

Aşağıda 1,0-100 ng/mL aralığında değişen derişimlerde sisteme enjekte dildikten sonra 6. dakika civarında farklı iki parçalanma ürünü (119 ve 269 akb) için elde edilen pikler görülmektedir (**Şekil 3.1**).



A



B

Şekil 3.1 PFHxA standart çözeltisinden a) 1,0, b) 2,5, c) 5,0, d) 10, e) 25, f) 50 ve g) 100 ng/mL olacak şekilde LC-MS/MS sistemine enjekte edildikten sonra A) 119 akb ve B) 269 akb parçalanma ürünü için elde edilen kromatogramları

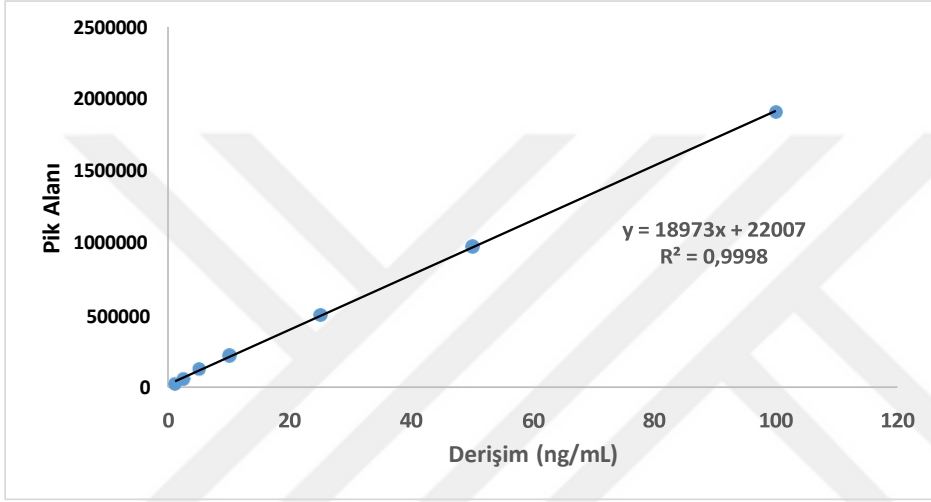
Kromatogramlardan entegrasyonla elde edilen pik alanları incelendiğinde nicel analiz için 269 akb parçalanma ürününün daha duyar olduğu görülmektedir. Bu ürün için bulunan pik alanları, iç standart için ölçülen değerlerle birlikte **Çizelge 3.1**'de listelenmiştir. Burada örnek için hesaplanan pik alanı ($A_{\bar{o}}$) ile iç standart için okunan pik alanı (A_{IS}) değerlerinin her bir enjeksiyon için oranı ($A_{\bar{o}}/A_{IS}$) esas alınmış ve üç tekrarlı ölçüm için standart sapma değerleri hesaplanarak, verilmiştir.

Çizelge 3.1 Farklı derişimlerde PFHxA için **birinci yöntemle** elde edilen pik alanları, ortalama değerleri ve iç standart pik alanı ile oranları

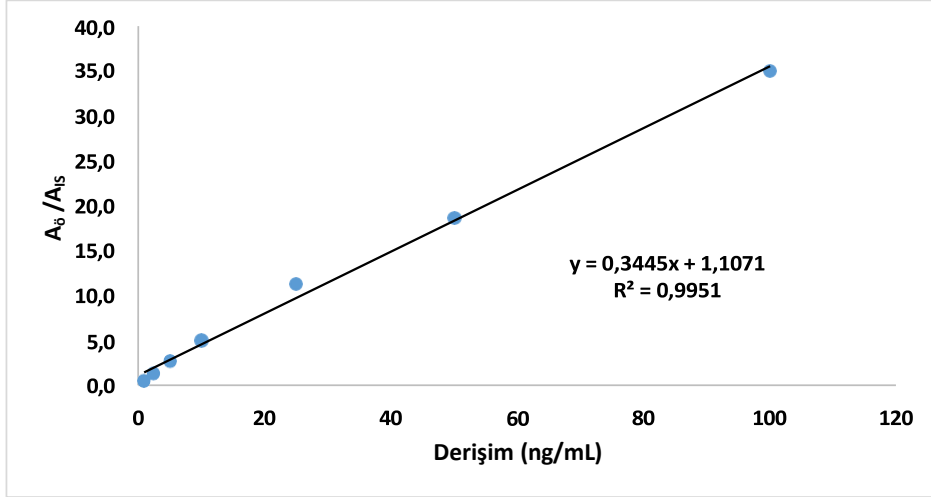
C (ng/mL)	$A_{\bar{o}}$	Ort $A_{\bar{o}} \pm SD$	A_{IS}	$A_{\bar{o}}/A_{IS}$	Ort ($A_{\bar{o}}/A_{IS}$) $\pm$ SD	RSD (%)
1,0	25784	24792 $\pm$ 1555	47538	0,542	0,539 $\pm$ 0,031	5,8
	25592		45010	0,569		
	23000		45401	0,507		
2,5	59075	61383 $\pm$ 2790	50373	1,173	1,265 $\pm$ 0,088	6,9
	64484		47864	1,347		
	60591		47530	1,275		
5,0	129094	122077 $\pm$ 6327	45257	2,852	2,611 $\pm$ 0,215	8,2
	116806		47826	2,442		
	120331		47418	2,538		
10	214169	224531 $\pm$ 10135	43783	4,892	5,048 $\pm$ 0,180	3,6
	212973		44485	4,788		
	223449		44319	5,042		
	218395		42484	5,141		
	228481		43747	5,223		
	227940		44725	5,096		
	249294		47272	5,274		
	223185		45527	4,902		
	224468		42606	5,268		
	222960		45950	4,852		
25	486081	500292 $\pm$ 21231	42152	11,532	11,352 $\pm$ 0,250	2,2
	524697		45790	11,459		
	490098		44286	11,067		
50	955874	979556 $\pm$ 23302	53912	17,730	18,857 $\pm$ 0,751	4,0
	1002458		52394	19,133		
	980336		51874	18,898		
100	1902221	1912689 $\pm$ 12228	53801	35,357	35,012 $\pm$ 0,821	2,3
	1909718		56044	34,075		
	1926129		54097	35,605		

Çizelgeden izleneceği üzere **PFHxA** standardından doğrudan enjeksiyonla ppb mertebesinde sisteme verildiğinde oldukça tekrarlanabilir sonuçlar alındığı görülmektedir. Bu verilerden pik alanı ve pik alan oranlarına göre çizilen kalibrasyon grafikleri (**Şekil 3.2**) yüksek doğrusallık içermektedir. Kalibrasyon grafiğinden gidilerek, yöntemin belirtme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) sırasıyla 0,98 ve 2,96 ng/mL olarak hesaplanmıştır.

Ayrıca kromatogramlardan elde edilen sinyal/gürültü (S/N=3) oranı esas alınarak yapılan hesaplamalarda ise LOD: 0,15 ng/mL ve LOQ ise (S/N= 10) 0.50 ng/mL olarak bulunmuştur.



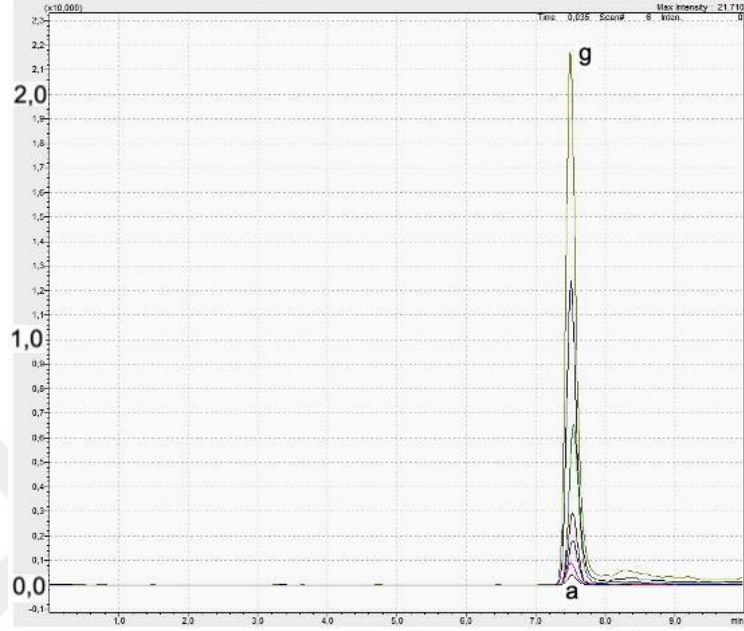
A



B

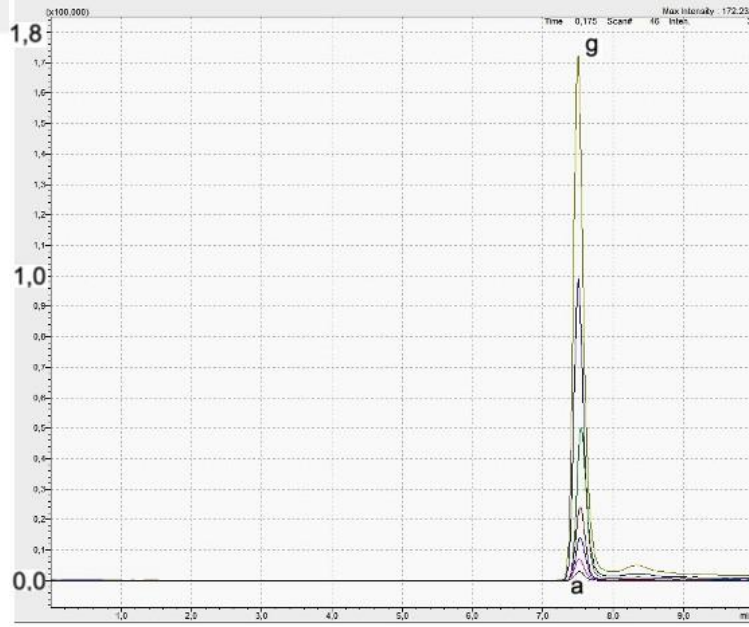
Şekil 3.2 Birinci yöntemle LC-MS/MS sistemine doğrudan enjeksiyonla 1-100 ng/mL aralığında **PFHxA** için A) pik alanlarından ve B) pik alanlarının iç standart alanları ile oranından gidilerek elde edilen kalibrasyon grafiği

Daha sonra diğer analit olan **PFHpA** için de benzer şekilde kalibrasyon çalışması yapılmış ve birinci yöntemle 1-100 ng/mL derişim aralığındaki standartların LC-MS/MS sistemine doğrudan enjeksiyonu ile elde edilen kromatogramlar **Şekil 3.3**'te verilmiştir.



Alıkonma süresi (dk)

A



Alıkonma süresi (dk)

B

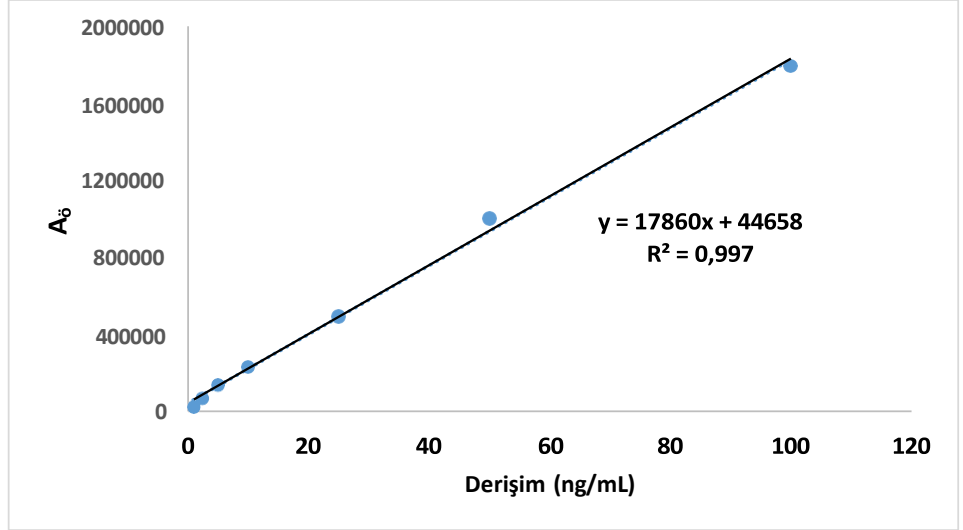
Şekil 3.3 **PFHpA** standardından a) 1,0, b) 2,5, c) 5,0, d) 10, e) 25, f) 50 ve g) 100 ng/mL olacak şekilde LC-MS/MS sistemine enjekte edildikten sonra A) 169 akb ve B) 319 ak parçalanma ürünü için elde edilen kromatogramları

Bu kromatogramlar incelendiğinde 319 akb ürün için daha duyar sonuçlar alındığı görülmektedir. Bu ürün izlenerek, elde edilen pik alanları ve iç standardın pik alanına oranları **Çizelge 3.2**'de verilmiştir. Bu verilere göre ppb aralığında doğrudan enjeksiyon için tekrarlanabilirlik değerleri oldukça iyidir ($RSD < 5\%$).

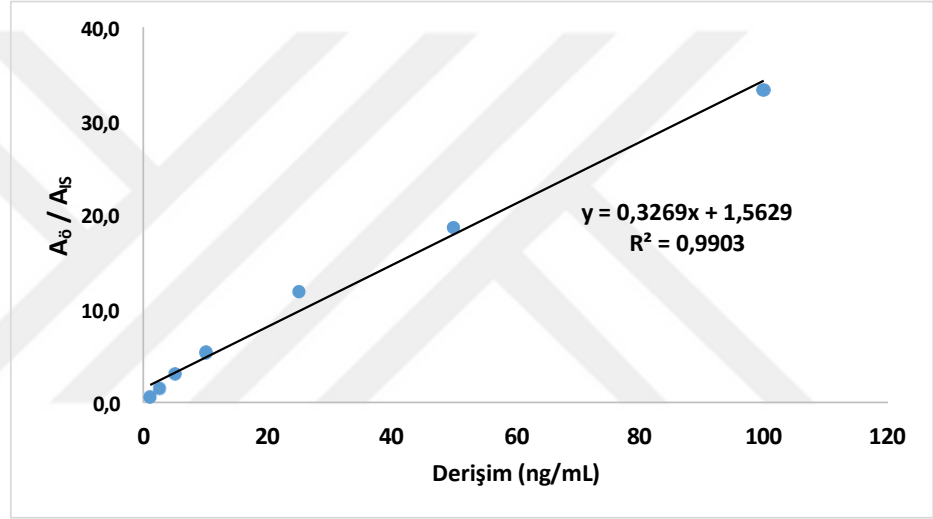
Çizelge 3.2 Farklı derişimlerde **PFHpA** için birinci yöntemle elde edilen pik alanları ve iç standart pik alan değerleri ile oranı (A_0/A_{IS})

C (ng/mL)	A_0	Ort $A_0 \pm SD$	A_{IS}	A_0 / A_{IS}	Ort (A_0/A_{IS}) $\pm SD$	RSD (%)
1,0	28548	27672 $\pm$ 1472	47538	0,601	0,602 $\pm$ 0,031	5,1
	28496		45010	0,633		
	25973		45401	0,572		
2,5	72172	68953 $\pm$ 3617	50373	1,433	1,419 $\pm$ 0,045	3,2
	69648		47864	1,455		
	65038		47530	1,368		
5,0	137115	134613 $\pm$ 7103	45257	3,030	2,876 $\pm$ 0,186	6,5
	140126		47826	2,930		
	126598		47418	2,670		
10	234409	241221 $\pm$ 8752	43783	5,354	5,424 $\pm$ 0,185	3,4
	246382		44485	5,539		
	231016		44319	5,213		
	237285		42484	5,585		
	248755		43747	5,686		
	252726		44725	5,651		
	250522		47272	5,300		
	233995		45527	5,140		
	229766		42606	5,393		
	247357		45950	5,383		
25	495442	476512 $\pm$ 16456	42152	11,754	10,833 $\pm$ 0,810	7,5
	468474		45790	10,231		
	465621		44286	10,514		
50	1005819	1016142 $\pm$ 33316	53912	18,657	19,281 $\pm$ 0,895	4,6
	989209		52394	18,880		
	1053398		51874	20,307		
100	1794985	1821151 $\pm$ 31466	53801	33,363	33,337 $\pm$ 0,986	3,0
	1812402		56044	32,339		
	1856066		54097	34,310		

PFHpA için pik alanına ve iç standart alan oranlarına dayalı olarak kalibrasyon grafiği çizildiğinde bire yakın korelasyon katsayısı ile doğrusallık elde edilmiştir (**Şekil 3.4**).



A



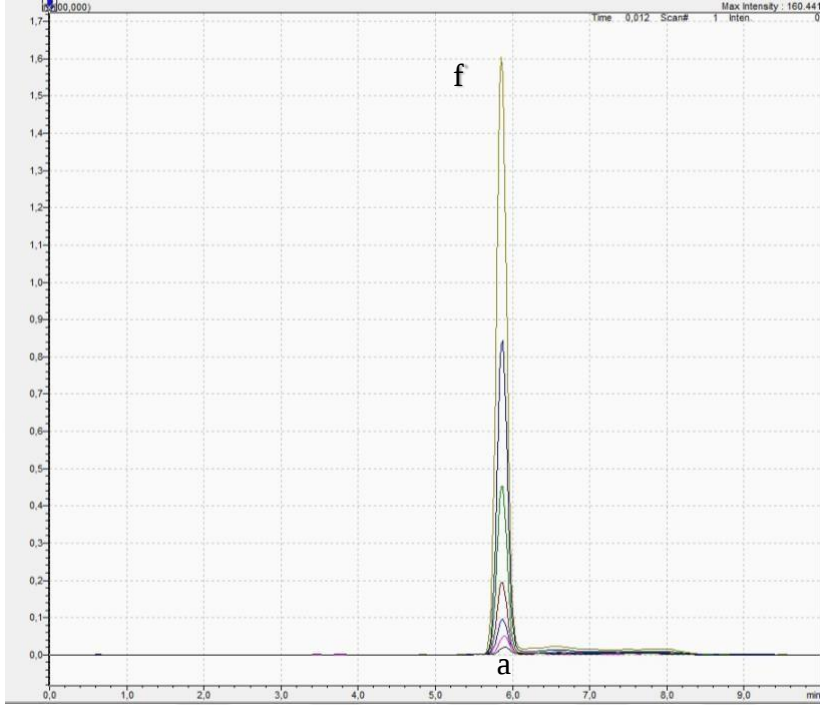
B

Şekil 3.4 PFHpA için birinci yöntemle LC-MS/MS sistemine doğrudan enjeksiyonla elde edilen A) pik alanları B) pik alan oranları ile çizilen kalibrasyon grafiği

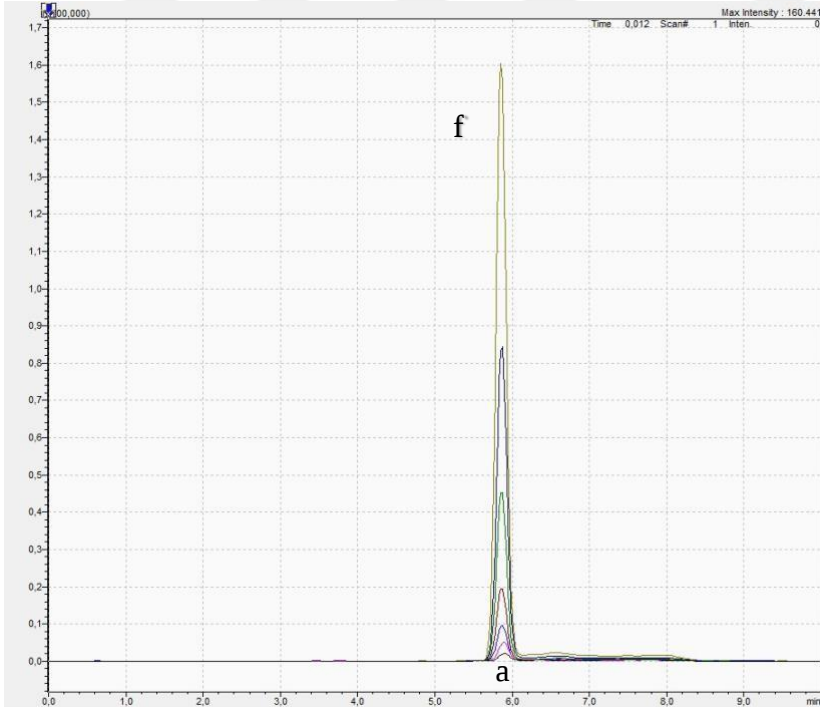
Bu verilere göre kalibrasyon grafiğinden gidilerek bulunan LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 3,51 ve 10,62 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Ayrıca S/N oranına göre yapılan hesaplamalarda ise LOD: 0,12 ng/mL ve LOQ ise 0.40 ng/mL olarak bulunmuştur.

Bu birinci yöntemin performansını karşılaştırmak için standart yöntemle (EPA 533) de aynı işlemler yürütülerek, verilerin karşılaştırması yapılmıştır.

Bu amaçla **Çizelge 2.2**'de verilen koşullarda standart yöntemi ile analiz yürütülmüş ve 1-100 ng/mL aralığında PFHxA standart çözeltilerinden LC-MS/MS sistemine enjekte edilerek alınan kromatogramlar **Şekil 3.5**'te verilmiştir.



A



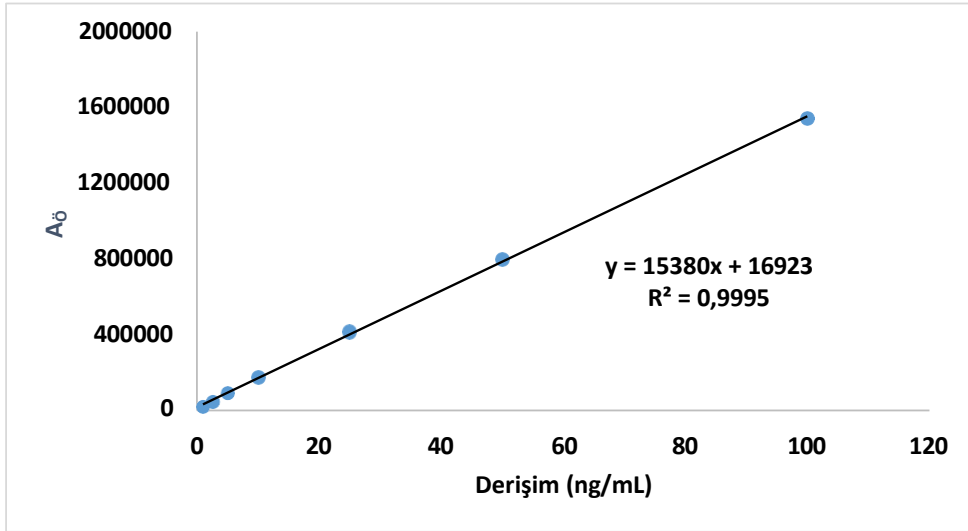
B

Şekil 3.5 PFHxA standardından a) 1,0, b) 2,5, c) 5,0, d) 10, e) 25, f) 50 ve g) 100 ng/mL olacak şekilde LC-MS/MS sistemine enjekte edildikten sonra A) 119 akb ve B) 269 akb parçalanma ürünü için elde edilen kromatogramları

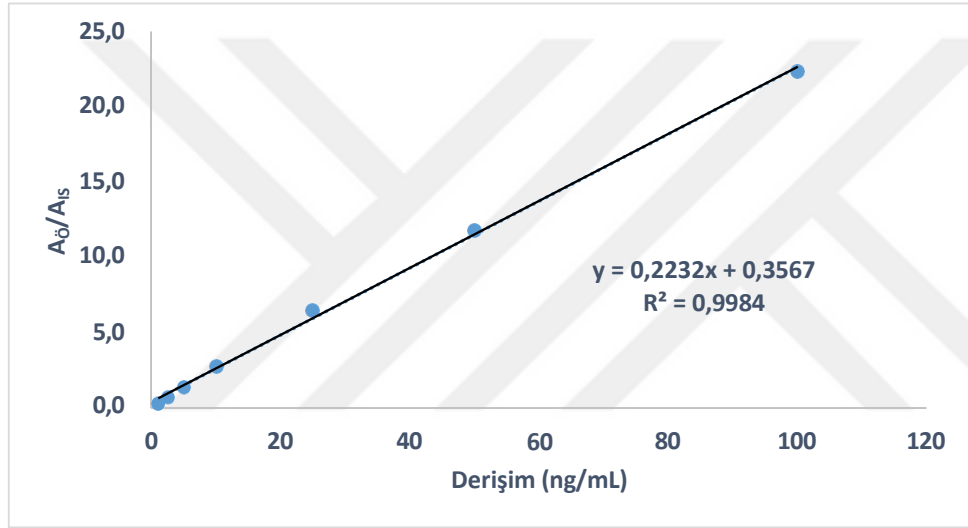
Bu kromatogramlardan elde edilen pik alanları ve iç standart pik alanı ile oranları **Çizelge 3.3**'te verilmiştir. Bu verilere göre tekrarlanabilirlik %3,0-%9,4 aralığında değişmektedir. Bu verilerle oluşturulan kalibrasyon grafikleri **Şekil 3.6**'da görülmektedir.

Çizelge 3.3 İkinci yöntemle farklı derişimlerde **PFHxA** için elde edilen pik alanları ve iç standart pik alanı ile oranlandığında elde edilen değerler

C (ng/mL)	A ₀	Ort A ₀ ±SD	A _{IS}	A ₀ / A _{IS}	Ort (A ₀ /A _{IS}) ± SD	RSD (%)
1,0	18593	19375±782	68556	0,271	0,286±0,015	5.1
	20157		67054	0,301		
	19375		67714	0,286		
2,5	46498	44965±2036	65907	0,706	0,658±0,062	9.4
	42655		72595	0,588		
	45742		67255	0,680		
5,0	88362	91792±6111	67672	1,306	1,333±0,071	5.3
	88166		68856	1,280		
	98847		69898	1,414		
10	182908	179088±3697	65277	2,802	2,741±0,113	4.1
	179610		67147	2,675		
	176139		63995	2,752		
	180021		68001	2,647		
	180534		66122	2,730		
	181444		61445	2,953		
	181464		63101	2,876		
	170381		66291	2,570		
	177012		66189	2,674		
	181366		66498	2,727		
25	422717	415287±7679	63628	6,644	6,437±0,191	3.0
	407381		63618	6,404		
	415763		66359	6,265		
50	793673	799834±11182	64707	12,266	11,834±0,521	4.4
	812741		72211	11,255		
	793088		66192	11,982		
100	1507770	1544167±32381	67404	22,369	22,388±1,114	5.0
	1554950		73059	21,283		
	1569780		66767	23,511		



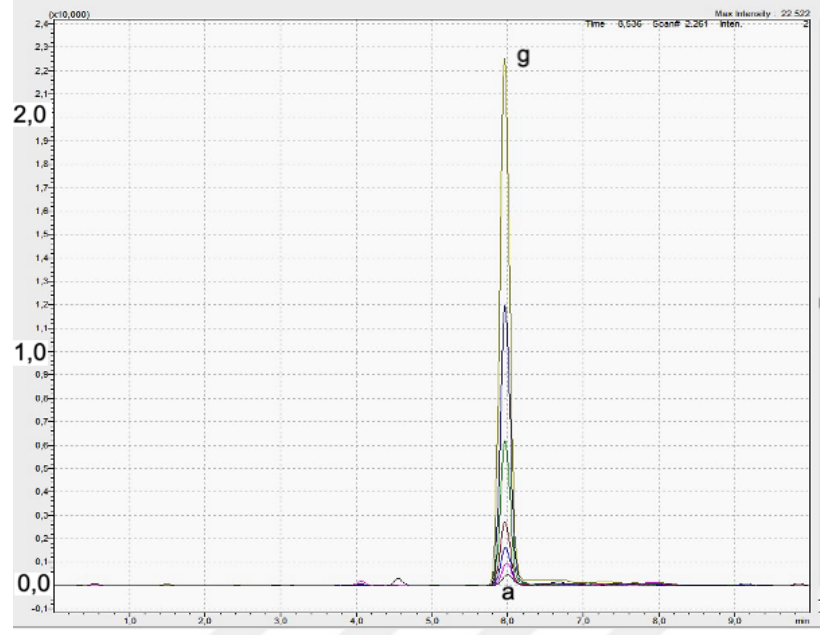
A



B

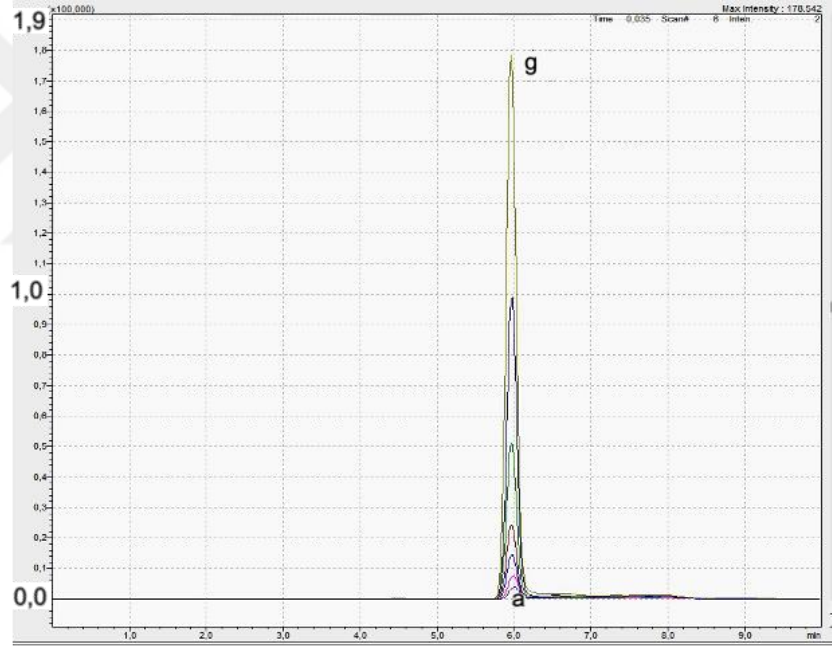
Şekil 3.6 PFHxA için ikinci yöntemle kalibrasyon çalışmalarına ilişkin A) ortalama pik alanları ve B) iç standart pik alanına oranlanarak elde edilen değerlerden gidilerek oluşturulan kalibrasyon grafikleri

Aynı koşullarda PFHpA için de kalibrasyon çalışması yürütülmüş ve farklı derişimlerde analitler için alınan kromatogramlar **Şekil 3.7**'de verilmiştir.



Alıkonma süresi (dk)

A



Alıkonma süresi (dk)

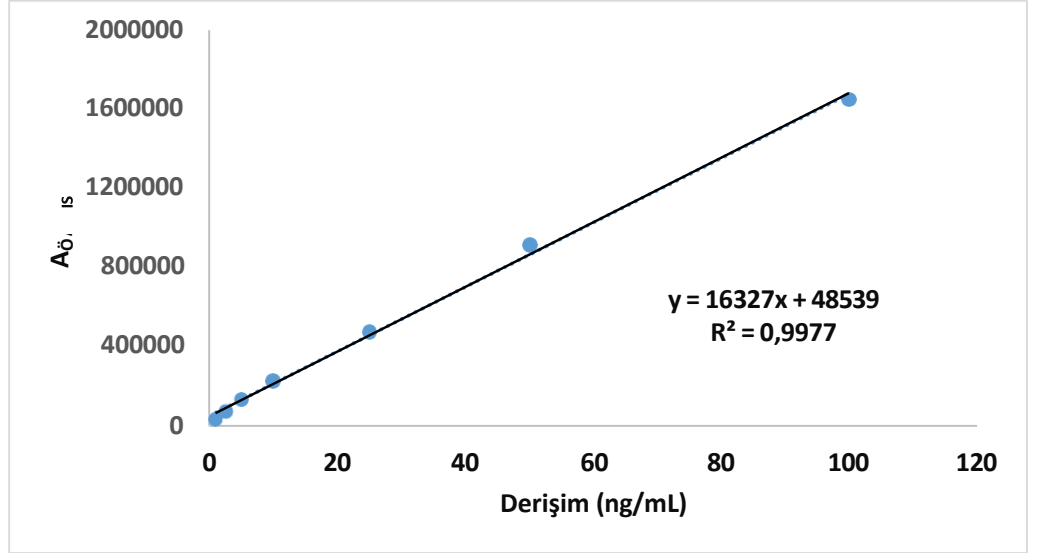
B

Şekil 3.7 PFHpA standardından a) 1,0, b) 2,5, c) 5,0, d) 10, e) 25, f) 50 ve g) 100 ng/mL olacak şekilde LC-MS/MS sistemine enjekte edildikten sonra A) 169 akb ve B) 319 akb parçalanma ürünü için ikinci yöntemle elde edilen kromatogramlar

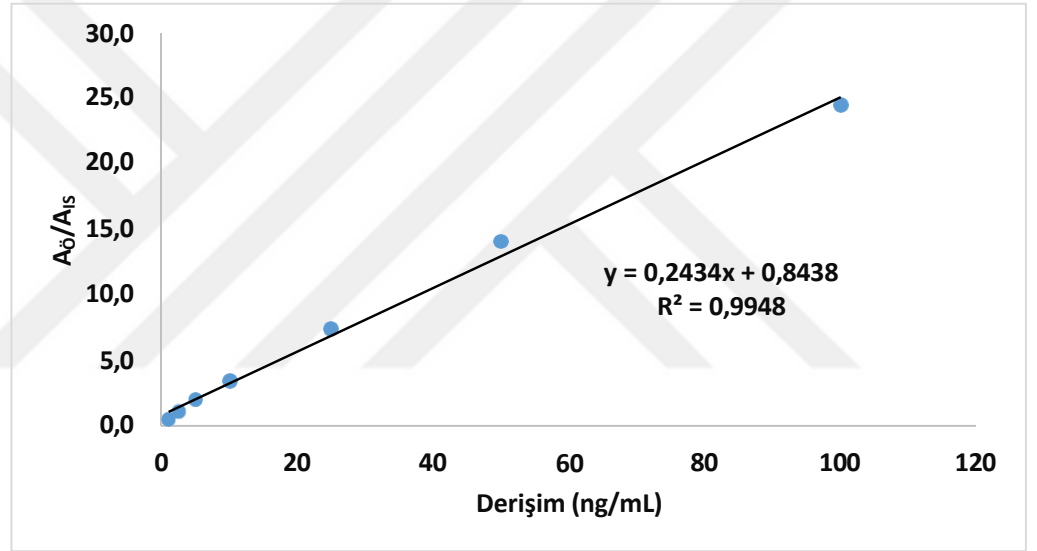
Bu kromatogramlara göre elde edilen verilere göre pik alan değerleri ve iç standart pik alanı ile oranları **Çizelge 3.4**'te verilmiştir. Bu verilerle elde edilen kalibrasyon grafikleri **Şekil 3.8**'de verilmiştir.

Çizelge 3.4 İkinci yöntemle farklı derişimlerde **PFHpA** için elde edilen pik alanları ve iç standart pik alanı ile oranlandığında elde edilen değerler

C (ng/mL)	A ₀	Ort A ₀ ±SD	A _{IS}	A ₀ / A _{IS}	Ort (A ₀ /A _{IS}) ± SD	RSD (%)
1,0	34382	36349±2135	68556	0,502	0,536±0,034	6,4
	36045		67054	0,538		
	38619		67714	0,570		
2,5	69749	67065±2362	65907	1,058	0,980±0,074	7,6
	66142		72595	0,911		
	65303		67255	0,971		
5,0	132362	135109±5344	67672	1,956	1,963±0,055	2,8
	131697		68856	1,913		
	141267		69898	2,021		
10	224017	223488±5151	65277	3,432	3,419±0,087	2,5
	222273		67147	3,310		
	219945		63995	3,437		
	233092		68001	3,428		
	231489		66122	3,501		
	216436		61445	3,522		
	223856		63101	3,548		
	222656		66291	3,359		
	220034		66189	3,324		
	221082		66498	3,325		
25	472394	483043±12662	63628	7,424	7,485±0,058	0,8
	479692		63618	7,540		
	497044		66359	7,490		
50	913840	918353±32167	64707	14,123	13,580±0,485	3,6
	952539		72211	13,191		
	888681		66192	13,426		
100	1652320	1718093±57729	67404	24,514	24,898±1,049	4,2
	1760360		73059	24,095		
	1741600		66767	26,085		



A



B

Şekil 3.8 İkinci yöntemle **PFHpA** için LC-MS/MS sistemine doğrudan enjeksiyonla elde edilen A) pik alanları, B) pik alan oranları ile çizilen kalibrasyon grafikleri

Her iki yöntemin verileri birlikte değerlendirildiğinde, iç standart ile oluşturulan grafikler iyi bir doğrusallık vermekle birlikte doğrudan hedef analitin pik alanından gidilerek oluşturulan kalibrasyon grafikleri de oldukça doğrusal bulunmuştur. Bu kalibrasyon grafiklerinin eşitliği, korelasyon katsayıları ve bu verilerden gidilerek hesaplanan LOD ve LOQ değerleri tekrarlanabilirlik verileri ile **Çizelge 3.5**'te listelenmiştir.

Çizelge 3.5 Her iki yöntemle hedef analitin pik alanlarından gidilerek, oluşturulan kalibrasyon grafiklerinin özellikleri ve yöntemin analitik performansları

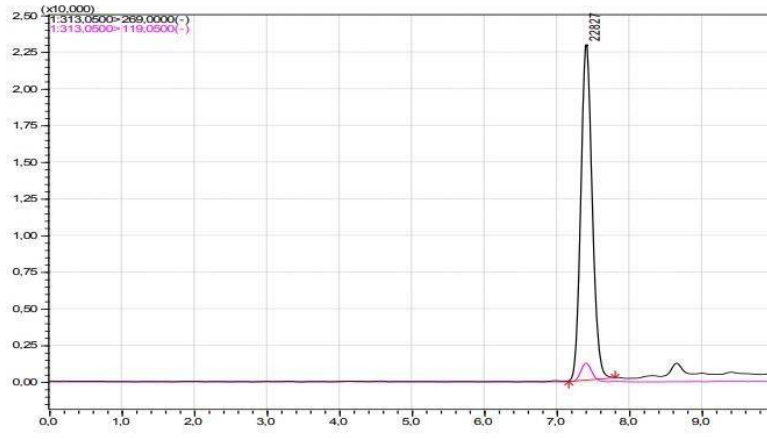
Analitik özellik		1.Yöntem		2.Yöntem	
		PFHxA	PFHpA	PFHxA	PFHpA
Eşitlik		$y=18973x+22007$	$y=17860x+44658$	$y=15380x+16923$	$y=16327x+48539$
R ²		0,9998	0,9970	0,9995	0,9959
RSD		%2,2- %8,2	%3,0- %7,5	%3,0- %9,4	%0,8- %7,6
Kalibrasyon Grafiğinden	LOD	0,98 ng/mL	3,51 ng/mL	1,37 ng/mL	2,13 ng/mL
	LOQ	2,96 ng/mL	10,62 ng/mL	4,15 ng/mL	6,47 ng/mL
S/N Oranı üzerinden	LOD	0,15 ng/mL	0,12 ng/mL	0,16 ng/mL	0,12 ng/mL
	LOQ	0,50 ng/mL	0,40 ng/mL	0,53 ng/mL	0,40 ng/mL

Bu verilere göre her iki yöntemin de tekrarlanabilirlik değerleri genellikle RSD <%10 olup, oldukça iyidir. Kalibrasyon grafiklerinden hesapla bulunan LOD ve LOQ değerleri ise her iki yöntem için birbirine yakın olup, PFHxA için birinci yöntemle daha düşük düzeylere inilebildiği ancak PFHpA için ikinci yöntemin belirtme ve tayin sınırlarının daha düşük olduğu görülmektedir.

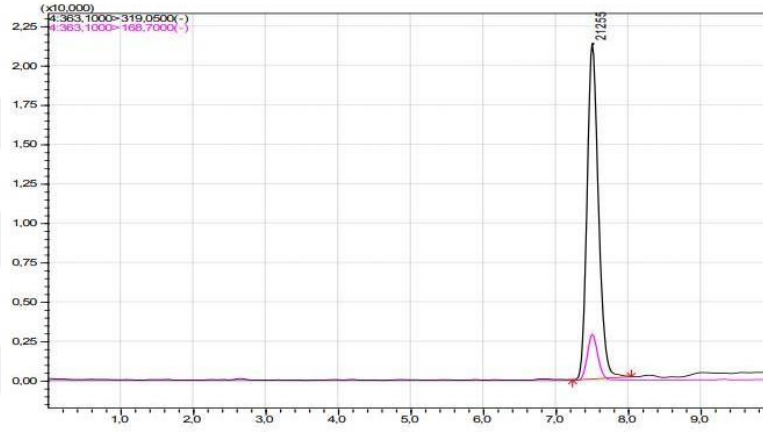
Sinyal/gürültü oranından gidilerek bulunan sınır değerler ise birbirine çok yakın bulunmuştur. Ancak bu sınır değerler suda PFHxA ve PFHpA tayini için sınır değer olan 0,1 ng/mL değerinin üstündedir ve her iki yöntem de yeterli duyarlılıkta olmadığından, analiz öncesi bir önderiştirme/zenginleştirme işlemine gerek vardır. Bu amaçla her iki yöntemin SPE koşullarındaki performansı da incelenmiş ve sonuçlar aşağıda verilmiştir.

3.2 SPE-LC-MS/MS Yöntemi

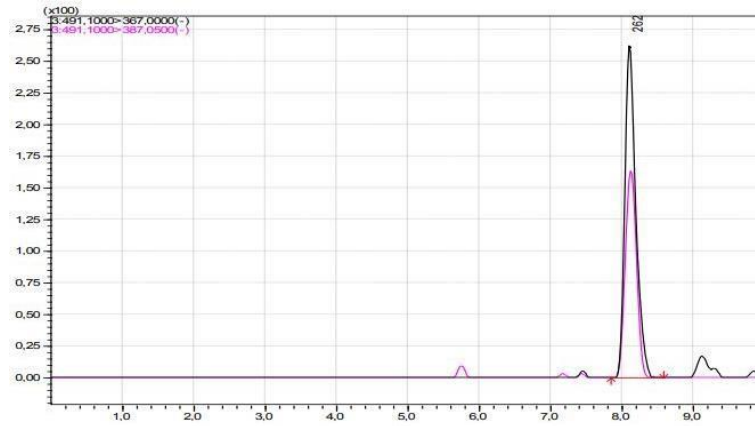
Çalışmanın bu kesiminde SPE kartuş ile ön ayırma ve zenginleştirmenin ardından analiz koşulları incelenmiştir. Bu amaçla yürütülen denemelerde C-18, HLB ve WAX olmak üzere 3 farklı sorbent içeren SPE kartuşlarla Deneysel Kesim’de **Çizelge 2.4**’te verildiği şekilde prosedür uygulanmıştır. Her 3 kartuşla işlem yapıldıktan sonra öncü çalışmalarda birinci yöntem izlenmiş ve elde edilen LC-MS/MS kromatogramlar **Şekil 3.9 –3.11**’de verilmiştir.



Alıkonma süresi (dk)

a

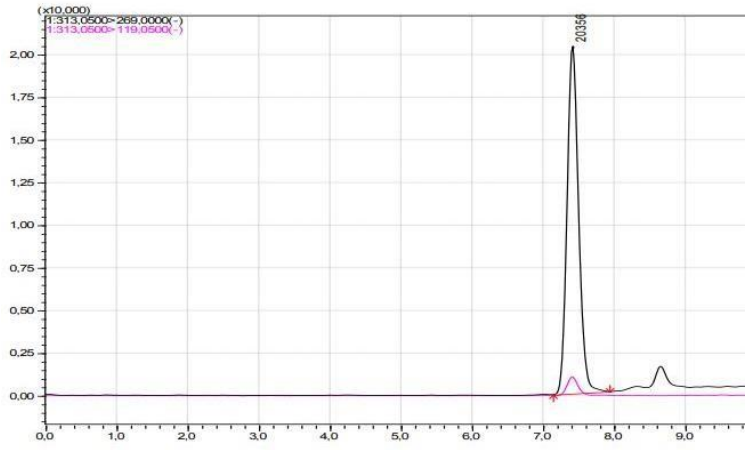
Alıkonma süresi (dk)

b

Alıkonma süresi (dk)

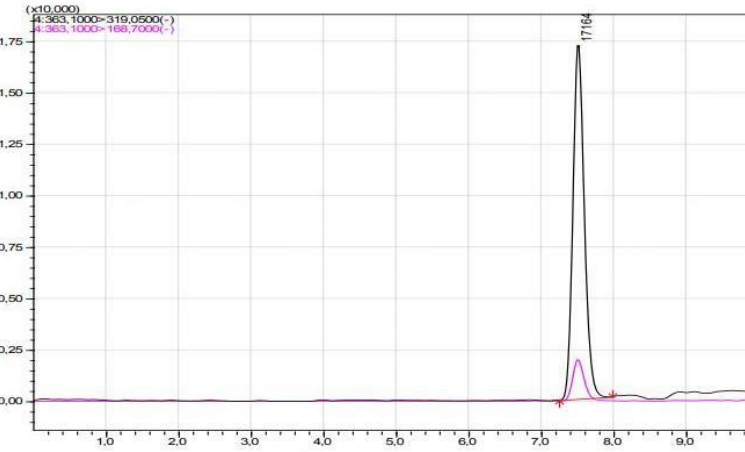
c

Şekil 3.9 HLB kartuş ile işlem sonrası a) PFHxA, b) PFHpA ve c) iç standart için alınan LC-MS/MS kromatogramları



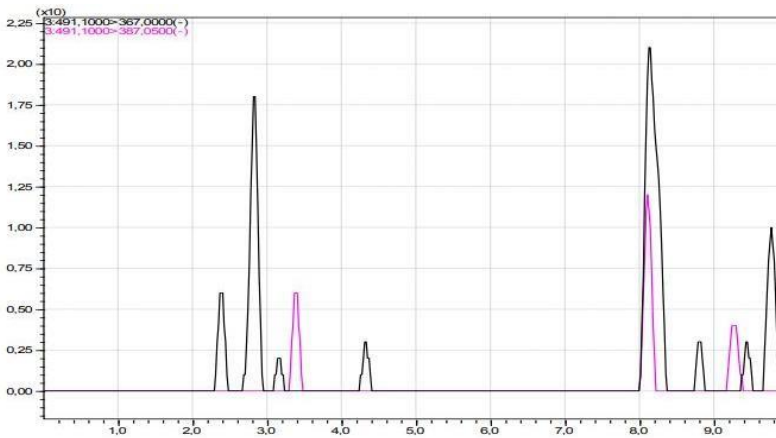
Alıkonma süresi (dk)

a



Alıkonma süresi (dk)

b



Alıkonma süresi (dk)

c

Şekil 3.10 WAX kartuş ile işlem sonrası a) PFHxA, b) PFHpA ve c) iç standart için alınan LC-MS/MS kromatogramları



Kromatogramlardan görüldüğü üzere SPE kartuşla işlem sonrası iç standart için sonuç alınamamıştır. Her üç kartuş ile özütleme sonrası birinci yöntemle analizlenen her iki analitin pik alanları **Çizelge 3.6**'da verilmiştir.

Her üç kartuşa koşullamanın ardından 10 mL 1 ng/mL örnek yüklendiği ve elüsyonun ardından kuruluğa dek deriştirilip, 1,0 mL hacme seyreltiği için on katlık deriştirme sonucu 10 ng/mL’lik deriştirime eşdeğer pik alanı beklenmektedir. Bu nedenle sonuçların karşılaştırılabilmesi için doğrudan enjeksiyonla 10 ng/mL için ölçülen ortalama pik alan değeri de çizelgeye dahil edilmiştir.

Çizelge 3.6 Farklı kartuş türleri ile SPE işlem sonrası birinci yöntemle ölçülen pik alanları ve 10 ng/mL standart için elde edilen pik alan değeri

Analit	DI (10 ng/mL)	Kartuş türü		
		HLB	WAX	C18
PFHxA	379575	248290	228808	250454
%A _{SPE} /A _{DI}	-	% 65,4	% 60,3	% 65,9
PFHpA	323369	232316	189061	209630
A _{SPE} /A _{DI}		%71,8	%58,5	%64,8

Bu verilere göre, doğrudan enjeksiyon ile elde edilen pik alanı (A_{DI}) ve SPE işlem sonrası pik alanları (A_{SPE}) değeri oranlandığında, her üç kartuş türü için genellikle %60 civarında bir gerikazanım elde edilmiştir. Sonuçlar bu haliyle tatmin edici olmadığından, SPE koşullarının optimizasyonu gereklidir.

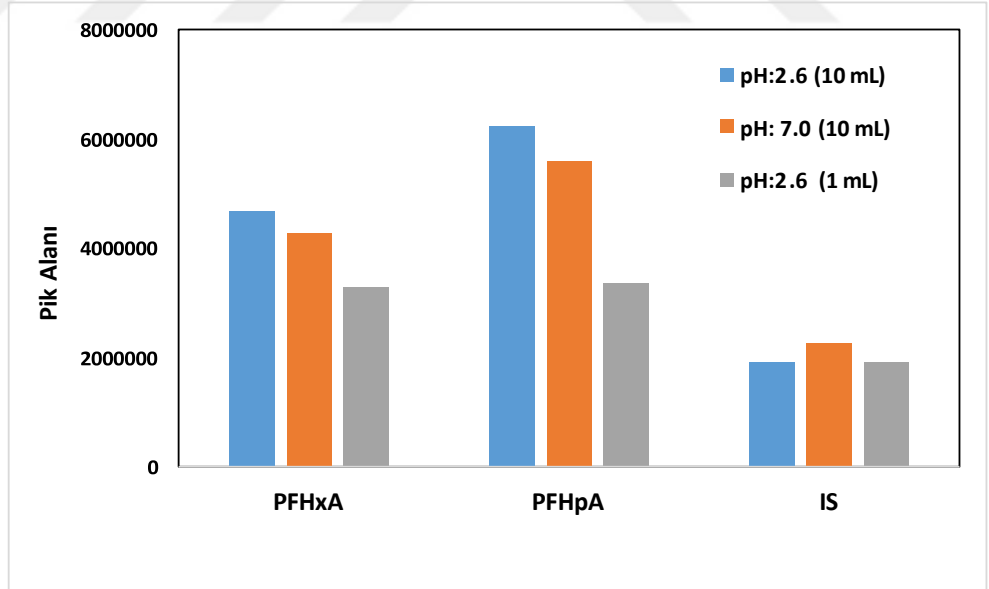
Standart yöntemde kullanılan WAX kartuş ile gerikazanımların düşük çıkması işlem sırasında oluşabilecek kayıpları düşündürmektedir. Bu durumda yeni bir deney tasarlanmış ve PFHxA için ayrı bir standart hazırlanıp, SPE koşullama adımında pH 7 fosfat tamponu yerine standartlarla uyumlu şekilde pH 2 civarında fosfat tamponu geçirilmesi planlanmıştır. Bu amaçla WAX Kartuş önce 10 mL metanol ve sonra 10 mL 0.1 M fosfat tamponu (pH:2.6) ile koşullanmış ve ardından 2 mL fosfat tamponu üzerine kartuşun kalanına 4 mL kadar saf su eklenmiştir.

Standart karışımı (pH 3,56) yüklendikten sonra ara yıkama işlemi için 10 mL 1.0 g/L amonyum asetat (pH:6,66) çözeltisi ve ardından 1.0 mL metanol kullanılmıştır. Ardından daha önce verildiği üzere kartuş 5 dk vakum altında kurutulur ve 10 mL %2’lik amonyum hidroksit içeren metanolla elüe edilir. Azot altında 55-60°C sıcaklıkta kuruyana dek uçurulur ve 1 mL (80:20) (MeOH:su) ile çözülerek cihaza verilir.

Bu işlemler sırasında oluşabilecek kayıpları denetleyebilmek için örnek yükleme ve ara yıkama aşamalarında altta biriken çözücülerin de alınıp, kurutma yapıldıktan sonra aynı çözücüde çözülüp sisteme verilmesi gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerin güvenilirliği için daha yüksek bir derişim (10 ng/mL) yüklenmiş ve **Çizelge 3.7**'de listelenen pik alan değerleri **Şekil 3.11**'de görselleştirilmiştir.

Çizelge 3.7 Farklı pH'larda fosfat tamponu ile koşullama sonrası 10 ng/mL standart ile yürütülen SPE işleminde her aşama sonrası elde edilen pik alan değerleri

Analit	Koşullama çöz. pH'ı	2.6 (10 mL)	7.0 (10 mL)	2.6 (1 mL)
PFHxA	Yükleme	24 020	18 980	4 794
	Ara Yıkama	21 240	35 250	3 065
	Elüsyon	4 672 280	4 281 370	3 286 864
PFHpA	Yükleme	201 870	58 540	16 621
	Ara Yıkama	83 000	64 950	449
	Elüsyon	6 241 780	5 581 880	3 360 174
IS	Yükleme	-	-	14 414
	Ara Yıkama	-	-	15 122
	Elüsyon	1 928 247	2 267 232	1 917 359



Şekil 3.12 SPE işleminde farklı pH ve hacimde fosfat tamponları ile koşullamanın pik alanları üzerine etkisi

Bu verilere göre SPE kartuşu işlem öncesi daha asidik bir tamponla koşullama pik alanlarını artırsa da iç standart için durum tersi olup, pik alanları nötral koşullama ile asidik koşullamaya göre beşte bir oranında artış göstermiştir. Pik alanlarının iç standarda göre oranlama yapılarak yürütülen analizlerde pH 7.0 ortamının kullanılması daha uygun olacaktır. Bununla birlikte koşullamanın 1.0 mL tampon ile yapılması sonucu pik alanlarının yarı yarıya düşürmesi nedeniyle bu hacmin yeterli olmadığı sonucuna varılmıştır.

SPE işleminde yükleme ve yıkama aşamalarında olası madde kayıplarını izleyebilmek için her aşamada alttan alınan çözeltilere de aynı işlemler uygulanıp, LC-MS/MS sistemine enjekte edildiğinde pik alanlarının elüsyona göre %1'in altında olduğu ve önemli bir kaybın olmadığı görülmüştür.

Çalışmanın bundan sonraki bölümünde SPE kartuşlarının performansı ikinci yöntemle de ölçüm yapılarak test edilmiştir. Birinci yöntemde izlenen prosedür aynı şekilde tekrar edilmiş sadece ölçüm aşamasında ikinci yöntem uygulanmıştır. Bu durumda elde edilen veriler aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.8 Farklı türde SPE kartuşları ile işlem sonrası ikinci ölçüm yöntemine göre hedef analitler için elde edilen pik alan değerleri

Analit	DI (10 ng/mL)	Kartuş türü		
		HLB	WAX	C18
PFHxA	333975	120217	212142	206919
%A _{SPE} /A _{DI}	-	%36,0	%63,5	%62,0
PFHpA	346440	222360	222995	218353
A _{SPE} /A _{DI}	-	%64,2	%64,4	%63,0
IS	75422	29560	4861	6491

Bu verilere göre her üç kartuş için gerikazanım verimleri yine %60 civarında olup, iç standart pikleri ise beklenenin altında (<%70) gözlenmiştir. Bu kartuşlar içinde en iyi verim WAX kolon ile elde edilmiştir. Çalışmanın bundan sonraki kesiminde ise iç standart ile kıyaslanmanın zorlukları dikkate alınarak, SPE işlem sonrası cihaza verilmeden önce eklenmesine karar verilmiştir. Bu amaçla öncelikle SPE işlemine tabi tutulan standart çözeltilerle her iki yöntemle ölçüm alınarak, verim çalışması tekrarlanmıştır.

Çizelge 3.9'da birinci yöntemle PFHxA için elde edilen veriler yer almaktadır. Daha sonra bu veriler kullanılarak, SPE kartuşların özütleme verimi aynı derişim ancak iki farklı hacim için iç standart verileriyle orantılı olarak hesaplanmış ve **Çizelge 3.10'**da verilmiştir.

Örnek yükleme aşamasında kullanılan örnek hacmi SPE özütleme verimi üzerinde genellikle etkilidir. Bu nedenle toplam 10 ng analit yüklenecek şekilde önce kartuşlara 10 mL hacminde 1,0 ng/mL derişiminde standart çözelti ve diğer kartuşlara da 50 mL hacminde 0,2 ng/mL standart çözeltisi yüklenmiştir. Sonuçta elüsyon aşamasında toplanan analit kuruluğa dek deriştirildikten sonra 1,0 mL çözücü içinde çözüldüğü zaman maksimum verimle 10 ng olması yani 10 ng/mL derişiminde olması beklenmektedir. Daha önceki kalibrasyon çalışmalarında da bu derişim için tekrarlanabilirlik üzerinde durulmuştur.

Çizelge 3.9 İki farklı hacimde **PFHxA** standart çözeltilerinin ve kör çözeltinin SPE işleminin farklı aşamalarındaki pik alan değerleri ve her aşamada **birinci yöntemle** ölçüm öncesi eklenen iç standarda ilişkin veriler

Yükleme hacmi (mL) ve derişim	Aşama	HLB	HLB A _{İS}	WAX	WAX A _{İS}	C18	C18 A _{İS}
10 mL → SPE +10 ng/mL st	Kör (saf su)	263237	65025	256033	76010	240934	73492
		270425	61860	264065	78026	268850	70461
		260968	61689	263235	75055	256564	72007
10 mL (1,0 ng/mL)	Yükleme	794	40870	-	33716	-	35422
	Ara yıkama	-	52359	-	45945	3729	46122
	Elüsyon	263144	79884	242945	84135	190029	66878
		258043	73414	243772	81104	185952	63048
		243552	82053	252484	80152	197899	73989
50 mL (0,2 ng/mL)	Yükleme	-	33327	-	36003	932	36666
	Ara yıkama	3056	45602	966	46754	1861	42697
	Elüsyon	223633	85136	244418	82143	149975	82794
		231735	85992	260871	78279	163744	77897
		333326	86088	260871	78279	163744	77897

Çizelge 3.10 İki farklı hacimde **PFHxA** standart çözeltilerinin ve kör çözeltinin üç farklı SPE kartuşla özütlemeye verimine ilişkin **birinci ölçüm yöntemi** ile alınan veriler

PFHxA Derişimi ve hacmi	Ölçüm Aşaması	A_0 / A_{IS}		
		HLB	WAX	C18
10 mL saf su	+ 10 ng/mL	4,21	3,19	3,55
1,0 ng/mL (10 mL)	Yükleme	0,02	0,00	0,00
	Ara yıkama	0,00	0,00	0,08
	Elüsyon	3,25	3,01	2,81
	Elüsyon verimi (elüsyon oranı/kör oranı)	%77	%94	%79
0,2 ng/mL (50 mL)	Yükleme	0,00	0,00	0,03
	Ara yıkama	0,07	0,03	0,04
	Elüsyon	3,07	3,21	2,00
	Elüsyon verimi (elüsyon oranı/kör oranı)	%73	%101	%56

Bu verilere göre PFHxA için en iyi performans gösteren WAX kartuşla PFHxA standardından her iki yükleme hacmi için de yüksek gerikazanımlar elde edilmiştir. Diğer iki kartuşun elüsyon verimi birbirine yakın olup, %80'in altındadır. Bu analiz serisinde yükleme ve ara yıkama kayıplarının görece az olduğu görülmektedir.

Diğer analit olan PFHpA için birinci yöntemle ölçülen değerler **Çizelge 3.11**'de ve benzer şekilde verim hesabı ise **Çizelge 3.12**'de verilmiştir.

Çizelge 3.11 İki farklı hacimde **PFHpA** standart çözeltilerinin ve kör çözeltinin SPE işleminin farklı aşamalarındaki pik alan değerleri ve her aşamada **birinci yöntemle** ölçüm öncesi eklenen iç standarda ilişkin veriler

Yükleme hacmi (mL) ve derişim	Aşama	HLB	HLB A _{IS}	WAX	WAX A _{IS}	C18	C18 A _{IS}
10 mL → SPE +10 ng/mL st	Kör (saf su)	262456	65025	281216	76010	263824	73492
		267464	61860	268859	78026	264760	70461
		284798	61689	271270	75055	255485	72007
10 mL (1,0 ng/mL)	Yükleme	2805	40870	4056	33716	4348	35422
	Ara yıkama	5174	52359	2588	45945	4254	46122
	Elüsyon	252400	79884	232712	84135	172796	66878
		242797	73414	219236	81104	190932	63048
		241134	82053	228995	80152	202807	73989
50 mL (0,2 ng/mL)	Yükleme	8901	33327	8821	36003	7008	36666
	Ara yıkama	4635	45602	4573	46754	8798	42697
	Elüsyon	211334	85136	229688	82143	205511	82794
		201678	85992	230083	78279	200078	77897
		205636	86088	238019	78279	203462	77897

Çizelge 3.12 İki farklı hacimde **PFHpA** standart çözeltilerinin ve kör çözeltinin üç farklı SPE kartuşla özütleme verimine ilişkin **birinci ölçüm yöntemi** ile alınan veriler

PFHxA Derişimi ve hacmi	Ölçüm Aşaması	A_0 / A_{IS}		
		HLB	WAX	C18
10 mL saf su	+ 10 ng/mL	3,70	3,59	3,63
1,0 ng/mL (10 mL)	Yükleme	0,07	0,12	0,12
	Ara yıkama	0,10	0,06	0,09
	Elüsyon	3,14	2,78	2,78
	Elüsyon verimi (elüsyon oranı/kör oranı)	%85	%77	%77
0,2 ng/mL (50 mL)	Yükleme	0,27	0,25	0,19
	Ara yıkama	0,10	0,10	0,21
	Elüsyon	2,41	2,93	2,55
	Elüsyon verimi (elüsyon oranı/kör oranı)	%65	%82	%70

Bu veriler değerlendirildiğinde yine WAX kartuşun PFHpA analizinde yüksek hacim örnek yüklemeler için daha verimli olduğu görülmektedir. Bundan sonraki çalışmalarda ölçüm yöntemi olarak standart yöntem kullanılmış ve her iki analit için elde edilen veriler aşağıda **Çizelge 3.13** ve **Çizelge 3.14**'te verilmiştir.

Bu verilere göre kartuşların özütleme performansını kıyaslayabilmek için her aşamada elde edilen pik alanlarını iç standart pik alanına oranlayarak, elde edilen oranı kör çözelti için elde edilen değerle kıyaslamak yoluna gidilmiştir. Kör çözelti olarak SPE kartuştan 10 mL saf su geçirildikten sonra ölçüm öncesi 10 ng/mL olacak şekilde standart katımı yapılmış ve kuruluğa dek deriştirme, çözücüde çözme gibi diğer işlemler bu numune için de tekrarlanmıştır. Bu yolla elde edilen oran özütleme performansı hakkında daha net bir fikir verecektir.

Çizelge 3.13 İki farklı hacimde **PFHxA** standart çözeltilerinin ve kör çözeltilinin SPE işleminin farklı aşamalarındaki pik alan değerleri ve her aşamada **ikinci yöntemle** ölçüm öncesi eklenen iç standarda ilişkin veriler

Yükleme hacmi (mL) ve derişim	Aşama	HLB	HLB A _{İS}	WAX	WAX A _{İS}	C18	C18 A _{İS}
10 mL → SPE +10 ng/mL st	Kör (saf su)	188167	81403	196674	74048	196566	76376
		194228	79276	192900	76868	186170	81116
		194113	80615	199841	79067	197666	79768
10 mL (1,0 ng/mL)	Yükleme	2805	66239	3054	59275	1970	63869
	Ara yıkama	2895	64474	2935	65950	4158	64551
	Elüsyon	182287	78861	187650	75734	144766	74332
		176242	78809	172155	73118	143830	75356
		183895	82180	179745	71943	133713	70570
50 mL (0,2 ng/mL)	Yükleme	2632	63276	3136	71718	3117	69892
	Ara yıkama	4697	67808	2263	64703	3202	66463
	Elüsyon	153600	86657	182262	78623	114366	84160
		160189	79251	173392	83121	116713	73338
		155337	90421	177533	79982	118317	86236

Bu verilerin ışığında 10 mL standart yükleme sonucu HLB ve WAX kartuşlarının %95 performansla özütlemeye sağladığı ve diğer işlem aşamaları sırasında önemli kayıpların olmadığı tespit edilmiştir. C18 kartuş ile verimli sonuç alınamadığı tespit edilmiştir.

SPE kartuşlara yüklenen hacmin 10 mL'den 50 mL'e çıkarılması ile aynı miktar analit yüklenmiş olmakla birlikte verimin düştüğü gözlenmiştir. Bu aşamalarda önemli bir kayıp olup olmadığını test etmek için yükleme ve ara yıkama adımlarında da kurutma/çözme işlemleri yapılarak analiz yürütüldüğünde A_Ö/A_{İS} oranları 0,03-0,07 arasında değiştiği gözlenmiştir.

Bununla birlikte HLB kolonda WAX kolona göre daha fazla bir düşmenin gözlenmesi büyük hacim örnek yüklemeleri için WAX kolonun daha iyi sonuç vereceğini işaret etmektedir. Bu durumda geliştirilen ölçüm yöntemi ile WAX kolonun birlikte kullanımı sonucu sularda PFHxA için istenilen düzeyde zenginleştirme sağlayacağı görülmüştür.

Çizelge 3.14 İki farklı hacimde **PFHxA** standart çözeltilerinin ve kör çözeltinin üç farklı SPE kartuşla özütleme verimine ilişkin **ikinci ölçüm yöntemi** ile alınan veriler

PFHxA Derişimi ve hacmi	Ölçüm Aşaması	A_0 / A_{IS}		
		HLB	WAX	C18
10 mL saf su	+ 10 ng/mL	2,39	2,56	2,45
1,0 ng/mL (10 mL)	Yükleme	0,04	0,05	0,03
	Ara yıkama	0,04	0,04	0,06
	Elüsyon	2,26	2,44	1,92
	Elüsyon verimi (elüsyon oranı/kör oranı)	%95	%95	%78
0,2 ng/mL (50 mL)	Yükleme	0,04	0,04	0,04
	Ara yıkama	0,07	0,03	0,05
	Elüsyon	1,84	2,21	1,44
	Elüsyon verimi (elüsyon oranı/kör oranı)	%77	%86	%59

Benzer şekilde diğer analit olan PFHpA için de üç farklı kartuşun verimi için birinci yöntemle ölçüm alınarak sonuçlar **Çizelge 3.15**'te verilmiştir. Ardından, SPE kartuşların özütleme verimi iç standart verileriyle orantılı olarak hesaplanmış ve **Çizelge 3.16**'de listelenmiştir.

Çizelge 3.15 İki farklı hacimde **PFHpA** standart çözeltilerinin ve kör çözeltinin SPE işleminin farklı aşamalarındaki pik alan değerleri ve her aşamada **ikinci yöntemle** ölçüm öncesi eklenen iç standarda ilişkin veriler

Yükleme hacmi (mL) ve derişim	Aşama	HLB	HLB A _{IS}	WAX	WAX A _{IS}	C18	C18 A _{IS}
10 mL→ +10 ng/mL st	Kör (saf su)	233433	81403	235888	74048	263824	233898
		241831	79276	234592	76868	264760	228389
		237102	80615	236763	79067	255485	235127
10 mL (1,0 ng/mL)	Yükleme	14072	66239	16084	59275	4348	17006
	Ara yıkama	17697	64474	14295	65950	4254	18043
	Elüsyon	213738	78861	212551	75734	172796	166725
		215065	78809	200676	73118	190932	168337
		228235	82180	209299	71943	202807	159409
50 mL (0,2 ng/mL)	Yükleme	18657	63276	21893	71718	7008	17138
	Ara yıkama	17270	67808	14718	64703	8798	20804
	Elüsyon	172642	86657	205519	78623	205511	176641
		173803	79251	211929	83121	200078	168094
		183581	90421	205117	79982	203462	171197

Çizelge 3.16 İki farklı hacimde **PFHpA** standart çözeltilerinin ve kör çözeltinin üç farklı SPE kartuşla özütleme verimine ilişkin **ikinci ölçüm yöntemi** ile alınan veriler

PFHxA Derişimi ve hacmi	Ölçüm Aşaması	A_0 / A_{IS}		
		HLB	WAX	C18
10 mL saf su	+ 10 ng/mL	2,95	3,08	1,12
1,0 ng/mL (10 mL)	Yükleme	0,21	0,27	0,26
	Ara yıkama	0,27	0,22	0,24
	Elüsyon	2,74	2,82	1,15
	Elüsyon verimi (elüsyon oranı/kör oranı)	%93	%92	%102
0,2 ng/mL (50 mL)	Yükleme	0,29	0,31	0,41
	Ara yıkama	0,25	0,23	0,42
	Elüsyon	2,07	2,58	1,18
	Elüsyon verimi (elüsyon oranı/kör oranı)	%70	%84	%105

Bu verilere göre her iki hacim için en verimli özütleme C18 ile sağlandığı görülmektedir. Ancak bu durum referans noktası olarak alınan kör çalışmasındaki bir hatadan da kaynaklanabilir düşüncesi ile dikkate alınmamıştır. Bu durumda yüksek hacimli örnek yüklemelerinde WAX kartuş HLB kartuşa göre daha iyi bir verim sağlanmaktadır. Buna ek olarak yükleme ve ara yıkama aşamalarında derişim kaybı PFHxA'e göre PFHpA için daha yüksek gözlenmiştir. Tüm bu verilerin ışığında örnek uygulaması için şehir şebekesine bağlı çeşme suyundan alınan örnek yüklemesi yapılmıştır.

3.3 SPE-LC-MS/MS Yönteminin Su örneklerine Uygulaması

Bundan sonraki çalışmalar çeşme suyunda her iki analit için WAX kartuşla zenginleştirme işleminin ardından her iki ölçüm yönteminin kullanımını içermektedir. Bu amaçla şehir şebeke suyuna bağlı çeşme suyundan alınan numuneler 10 mL ve 50 mL olacak şekilde iki WAX kartuşuna ayrı ayrı yüklenmiş ve elüsyon sonrası içine iç standart çözeltisinden 10 ng/mL olacak şekilde eklenmiştir.

Herhangi bir analit kaybının izlenebilmesi için yükleme ve yıkama aşamalarından sonra da kurutma ve ölçüm işlemleri tekrarlanarak, bu basamaklara ilişkin ölçümler de alınmıştır. PFHxA için birinci yöntemle ölçülen değerler **Çizelge 3.17**'de verilmiştir. Ayrıca 100 ng/mL standart için LC-MS/MS sistemine doğrudan enjeksiyonla elde edilen pik alanları da verilmiştir.

Çizelge 3.17 Çeşme suyu (ÇS) örneklerinde PFHxA tayini için birinci yöntemle alınan pik alanları ve iç standart alanlarına oranları

Örnek	A _ö	Ort A _ö ±SD	A _{is}	A _ö / A _{is}	Ort (A _ö /A _{is}) ± SD	RSD (%)
DI standart (100 ng/mL)	877942	900682±25044	18333	47,889	52,032±4,190	8,1
	927523		16484	56,268		
	896581		17262	51,940		
10 mL ÇS (elüsyon)	2717	4460±2000	20316	0,134	0,191±0,072	37,9
	6644		24438	0,272		
	4019		24169	0,166		
10 mL ÇS (yükleme)	-	-	15463	-	-	-
10 mL ÇS (ara yıkama)	302	-	25149	0,012	-	-
10 mL ÇS + 1 ng/mL st (elüsyon)	166032	171177±5374	18480	8,984	8,674±0,526	6,1
	170746		19032	8,972		
	176754		21912	8,067		
10 mL ÇS+st (yükleme)	-	-	14399	-	-	-
10 mL ÇS+st (ara yıkama)	705	-	16950	0,042	-	-
50 mL ÇS (elüsyon)	21276	24131±2638	21043	1,011	1,223±0,189	15,5
	26478		19235	1,377		
	24640		19249	1,280		
50 mL ÇS (yükleme)	270	-	16210	0,017	-	-
50 mL ÇS (ara yıkama)	590	-	17303	0,034	-	-

Bu sonuçlar incelendiğinde 10 mL çeşme suyu için alınan sonuçlarda önemli bir salınım gözlenmiş ve iç standart pik alanlarına oranların bağıl standart sapması oldukça yüksek bulunmuştur. Ancak 10 mL su numunesine 1,0 ng/mL olacak şekilde katım yapılarak da işlem tekrarlanmış ve bu durumda hesaplanan RSD<10 olduğu gözlenmiştir. 50 mL su numunesi için de aynı işlem tekrarlandığında bir sonuç alınamamıştır. Ancak yükleme ve yıkama sonrası oluşan kayıplar iç standartla karşılaştırıldığında düşük (<%3) düzeyde bulunmuştur.

Amonyum asetatın mobil faz olarak kullanıldığı diğer yöntemle analiz tekrarlandığında elde edilen veriler **Çizelge 3.18**'de listelenmiştir. Bu yöntemle alınan sonuçların tekrarlanabilirliği daha iyi bulunmuş ancak 50 mL örnek yüklemesinde ise yüksek hacimde çözelti tutunan analitleri sürüklediği için sonuç alınamamıştır. Ayrıca yükleme ve yıkama aşamasındaki kayıplar birinci yönteme göre daha yüksek bulunmuştur. 10 mL çeşme suyu örneği ve standart katımlı su örneğinin yüklenmesinden sonra yıkama aşaması için ölçülen pik alan değerlerinin elüsyon aşamasındaki değerlere oranı sırasıyla %63 ve %9,6 düzeyindedir.

Çizelge 3.18 Çeşme suyu (ÇS) örneklerinde PFHxA tayini için ikinci yöntemle alınan pik alanları ve iç standart alanlarına oranları

Derişim	A _ö	Ort A _ö ±SD	A _{is}	A _ö / A _{is}	Ort (A _ö /A _{is}) ± SD	RSD (%)
DI standart (100 ng/mL)	1311224	1290865±500393	63036	20,801	19,446±1,435	7,4
	1233478		68749	17,942		
	1327894		67770	19,594		
10 mL ÇS (elüsyon)	12487	12405±511	65754	0,190	0,193±0,003	1,6
	12870		65663	0,196		
	11857		61426	0,193		
10 mL ÇS (yükleme)	1709	-	62389	0,027	-	-
10 mL ÇS (ara yıkama)	7762	-	61639	0,126	-	-
10 mL ÇS + St (elüsyon)	147397	143270±3631	60353	2,442	2,275±0,173	7,6
	141850		67636	2,097		
	140564		61486	2,286		
10 mL ÇS + st (yükleme)	2597	-	58456	0,044	-	-
10 mL ÇS + st (ara yıkama)	13806	-	76833	0,180	-	-

Bu verilerin ışığında her iki yöntemle 10 mL çeşme suyu için PFHxA düzeyleri (C_{ör}) 1,0 ng/mL standart katımlı örnek (C_{ör+st}) için bulunan iç standart orantılı pik alan ortalama değerleriyle aşağıdaki formül gereğince hesaplanmıştır;

$$\frac{C_{ör}}{C_{ör}+C_{st}} = \frac{(A_{ör}/A_{is})}{(A_{ör+st}/A_{is})}$$

$$\text{Birinci yöntem için; } \frac{C_{ör}}{C_{ör}+C_{st}} = \frac{0,191}{8,674} = 0,022$$

$$C_{ör} (1-0,022) = 0,022 \times 1,0$$

$$C_{ör} = 0,023 \text{ ng/mL olarak hesaplanmıştır.}$$

İç standart pik alanları ile kıyaslamak doğruluk açısından önemli bir katkı sağlasa da kimi zaman doğrudan pik alanlarından giderek de analizin değerlendirilmesi farklı bir bakış açısı sağlayabilir. Bu nedenle doğrudan örnek elüsyonu ve 1.0 ng/mL standart katımlı örnek için elde edilen elüsyonların pik alanlarından gidilerek aşağıdaki formülden

$$\frac{C_{ör}}{C_{ör}+C_{st}} = \frac{A_{ör}}{A_{ör+st}} = \frac{4460}{171177} = 0,026$$

$$C_{ör} (1-0,026) = 0,026 \times 1$$

$C_{ör} = 0,027$ ng/mL hesaplanır ve bu da iç standart orantılı hesaplanan değerle uyumlu bulunmuştur. Ancak her iki değer de 10 katlık deriştirme faktörü dikkate alınsa da daha önce hesaplanan LOD değerlerinin altında kalmaktadır.

İkinci yöntemle elde edilen veriler değerlendirildiğinde tekrarlanabilirlik değerlerinin daha iyi ($RSD < \%10$) olmasına karşın yıkama aşamasındaki kayıplar oldukça düşündürücüdür. Bu yöntemle yukarıdaki formüller kullanılarak her iki hesaplama da yapılmış ve bu değerler

$$\frac{C_{ör}}{C_{ör}+C_{st}} = \frac{(A_{ör}/A_{IS})}{(A_{ör+st}/A_{IS})} = \frac{0,193}{2,275} = 0,085$$

$$C_{ör} (1-0,085) = 0,085 \times 1,0 \quad C_{ör} = 0,093 \text{ ng/mL olarak hesaplanmıştır.}$$

Doğrudan örnek ve 1,0 ng/mL standart katımlı örnek için elde edilen pik alanlarından gidilerek aşağıdaki formülden

$$\frac{C_{ör}}{C_{ör}+C_{st}} = \frac{A_{ör}}{A_{ör+st}} = \frac{12405}{143270} = 0,086$$

$C_{ör} (1-0,086) = 0,086 \times 1 = 0,094$ ng/mL hesaplanır ve bu değer iç standart orantılı değere oldukça yakındır.

Farklı iki yöntemle hesaplanan derişim değerleri (0,023 ng/mL ve 0,093 ng/mL) arasında üç katlık bir fark olması düşündürücü olsa da düzey olarak LOD değerinin altında olması kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir.

Benzer şekilde diğer analit olan PFHpA için de çeşme suyu örneklerinde her iki yöntem için analiz sonuçları **Çizelge 3.19** ve **Çizelge 3.20**'da verilmiştir.

Çizelge 3.19 Çeşme suyu (ÇS) örneklerinde PFHpA tayini için birinci yöntemle alınan pik alanları ve iç standart alanlarına oranları

Derişim	A _ö	Ort A _ö ±SD	A _{is}	A _ö / A _{is}	Ort (A _ö /A _{is}) ± SD	RSD (%)
DI standart (100 ng/mL)	794998	812225±15104	18333	43,364	46,902±3,217	6,9
	818479		16484	49,653		
	823198		17262	47,688		
10 mL ÇS (elüsyon)	8675	9978±1786	20316	0,427	0,434±0,055	12,6
	12014		24438	0,492		
	9245		24169	0,383		
10 mL ÇS (yükleme)	2307	-	15463	0,149	-	-
10 mL ÇS (ara yıkama)	2578	-	25149	0,103	-	-
10 mL ÇS + 1 ng/mL st	129908	130073±3449	18480	7,030	6,595±0,469	7,1
	126710		19032	6,658		
	133602		21912	6,097		
10 mL ÇS+st (yükleme)	3271	-	14399	0,227	-	-
10 mL ÇS + st (ara yıkama)	2743	-	16950	0,162	-	-
50 mL ÇS (elüsyon)	17212	17979±1276	21043	0,818	0,909±0,097	10,6
	17274		19235	0,898		
	19452		19249	1,011		
50 mL ÇS (yükleme)	3072	-	16210	0,190	-	-
50 mL ÇS (ara yıkama)	2625	-	17303	0,152	-	-
50 mL ÇS + 1 ng/mL st	134038	136354±2545	10667	12,566	12,601±0,031	0,2
	135945		10778	12,613		
	139078		11016	12,625		
50 mL ÇS + st (yükleme)	2149	-	16543	0,130	-	-
50 mL ÇS + st (ara yıkama)	-	-	17879	-	-	-

Bu verilere göre PFHpA için tekrarlanabilirlik değerleri RSD<%15 olup, yükleme ve yıkama aşamasında kayıplar önemli düzeylerde (%20-25) gözlenmektedir. Bu yöntemle yukarıdaki formüller kullanılarak 10 mL örnek yükleme için hesaplama yapılmış ve sudaki düzeyi

$$\frac{C_{ör}}{C_{ör}+C_{st}} = \frac{(A_{ör/A_{is}})}{(A_{ör+st/A_{is}})} = \frac{0,434}{6,595} = 0,066$$

$C_{ör} (1-0,066) = 0,066 \times 1,0 = 0,071 \text{ ng/mL}$ olarak hesaplanmıştır.

50 mL örnek yükleme için ise;

$$\frac{C_{ör}}{C_{ör}+C_{st}} = \frac{(A_{ör}/A_{IS})}{(A_{ör+st}/A_{IS})} = \frac{0,909}{12,601} = 0,072$$

$C_{ör} (1-0,072) = 0,072 \times 1,0 = 0,078$ ng/mL olarak hesaplanmıştır.

Bu iki değer birbirine yakın olmakla birlikte her ikisi de LOD değerinin altındadır. Ayrıca ara işlem adımlarında kayıpların yüksek olması da sonuçların güvenilirliğini etkilemektedir. Bu analit için ikinci ölçüm yöntemi de uygulanmış ve veriler aşağıda sunulmuştur.

Çizelge 3.20 Çeşme suyu (ÇS) örneklerinde PFHpA tayini için ikinci yöntemle alınan pik alanları ve iç standart alanlarına oranları

Derişim	A _ö	Ort A _ö ±SD	A _{IS}	A _ö / A _{IS}	Ort (A _ö /A _{IS}) ±SD	SD(%)
DI Standart (100 ng/mL)	1491958	1545756±56866	63036	23,668	23,252±0,737	3,2
	1540050		68749	22,401		
	1605259		67770	23,687		
10 mL ÇS (elüsyon)	24092	24172±332	65754	0,366	0,377±0,020	5,3
	23887		65663	0,364		
	24537		61426	0,399		
10 mL ÇS (yükleme)	17022	-	62389	0,273	-	-
10 mL ÇS (ara yıkama)	11739	-	61639	0,190	-	-
10 mL ÇS+St (1,0 ng/mL)	157895	159400±5030	60353	2,616	2,527±0,088	3,5
	165011		67636	2,440		
	155295		61486	2,526		
10 mL ÇS+st (yükleme)	13956	-	58456	0,239	-	-
10 mL ÇS+st (ara yıkama)	11400	-	76833	0,148	-	-
50 mL ÇS (elüsyon)	25937	24363±1405	65522	0,396	0,371±0,022	5,9
	23918		65723	0,364		
	23234		65696	0,354		
50 mL ÇS (yükleme)	13049	-	63344	0,206	-	-
50 mL ÇS (ara yıkama)	10548	-	66245	0,159	-	-
50 mL ÇS + St (Elüsyon)	134164	133988±2522	54796	2,448	2,454±0,030	1,2
	136417		56211	2,427		
	131382		52852	2,486		
50 mL ÇS + st (yükleme)	12231	-	55874	0,219	-	-
50 mL ÇS + st (ara yıkama)	5575	-	69459	0,080	-	-

Bu ikinci yöntemle elde edilen veriler PFHpA için daha iyi bir tekrarlanabilirlik ($RSD < \%6$) elde edildiğini göstermektedir. Ancak, yükleme ve ara yıkama aşamasında kayıplar önemli boyutta gözlenmektedir. Bu yöntemle yukarıdaki formüller kullanılarak 10 mL örnek için yapılan hesaplama aşağıdadır.

$$\frac{C_{\text{ör}}}{C_{\text{ör}} + C_{\text{st}}} = \frac{(A_{\text{ör}}/A_{\text{IS}})}{(A_{\text{ör}+st}/A_{\text{IS}})} = \frac{0,377}{2,527} = 0,149$$

$$C_{\text{ör}} (1-0,149) = 0,149 \times 1,0 \quad C_{\text{ör}} = 0,175 \text{ ng/mL olarak hesaplanmıştır.}$$

50 mL örnek yükleme için ise;

$$\frac{C_{\text{ör}}}{C_{\text{ör}} + C_{\text{st}}} = \frac{(A_{\text{ör}}/A_{\text{IS}})}{(A_{\text{ör}+st}/A_{\text{IS}})} = \frac{0,371}{2,454} = 0,151$$

$$C_{\text{ör}} (1-0,151) = 0,151 \times 1,0 = 0,177 \text{ ng/mL olarak hesaplanmıştır.}$$

Bu iki değer birbirine yakın olmakla birlikte her ikisi de LOD değerinin altındadır. Bu değeri artırmanın yolu deriştirme faktörünün yükseltilmesi yani daha büyük hacimde örnek yüklemesi biçiminde olsa da ara işlem kayıpları daha farklı bir önlem alma gereğini ortaya koymaktadır.

4. GENEL DEĞERLENDİRME VE SONUÇ

Kalıcı organik kirleticilerin çevre ve insan sağlığına olumsuz sonuçları nedeniyle kontrol altına alınabilmesi için çevre örneklerinde duyarlı ve seçici analitik yöntemlerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu tez çalışmasında yasal olarak izlenen bileşiklerin kısa zincirli muadilleri olarak kullanıma sürülen ve toksik etkileri belirsizlik içeren iki önemli kirletici (PFHpA) perfloroheptanoik asit ve (PFHxA) perflorohekzanoik asit bileşiklerinin analizi incelenmiştir.

Tez çalışmasının ilk kısmında bu bileşiklerin LC-MS/MS sistemine doğrudan enjeksiyonu ile analizi ve iç standart pik alanları ile kıyaslayarak, kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Bu amaçla öncelikle farklı polaritede ve uçuculukta olan çok sayıda analitin yanyana tayinine olanak tanıyan bir yöntem esas alınmıştır. Hareketli faz olarak matriksten kirlilik sürükleyebilen metanol yerine asetonitril tercih edilmiş ve ayrıca organik faza 0.1% olacak şekilde formik asit eklenerek, bu asidik fazın sinyal/gürültü (S/N) oranını iyileştirmedeki katkısı da incelenmiştir. Bu amaçla PFHxA ve PFHpA için 1-100 ng/mL aralığında saf suda hazırlanan standart çözeltilerinden LC-MS/MS sistemine enjekte edilerek iyi bir doğrusallık elde edilmiş ve kalibrasyon verilerinden gidilerek, LOD ve LOQ değerleri ppb düzeyinde tespit edilmiştir. Daha sonra standart EPA 533 yöntemi ile de kıyaslandığında benzer sonuçların alındığı görülmüştür.

Ancak bu düzeyler su numunelerinde analiz için yeterli düzeyde olmadığından, daha duyar sonuçların eldesi ve olası girişimcilerin de uzaklaştırılabilmesi için üç farklı nitelikte katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşları ile ayrılmasının ardından, LC-MS/MS sistemi ile analizi incelenmiştir. Bu amaçla HLB, WAX ve C18 kolonları kullanılmış ve ayrıca asidik türlerin özütlenmesinde ve analizinde pH koşullarının etkisi de incelenmiştir.

Standart çözeltilerle birlikte iç standart olarak kullanılan bileşiğin de kartuşa yüklenmesinden sonra her üç kartuş için gerikazanım verimleri %60 civarında olup, kabul edilebilir değer altındadır. Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda iç standardın SPE işlem sonrası cihaza verilmeden önce eklenmesine karar verilmiştir. Bu amaçla öncelikle SPE işlemine tabi tutulan standart çözeltilerle her iki yöntemle ölçüm alınarak, verim çalışması tekrarlanmış ve daha sonra bu veriler kullanılarak, SPE kartuşların özütleme verimi aynı derişim ancak iki farklı hacim için iç standart verileriyle orantılı olarak hesaplanmıştır.

SPE kartuşa yüklenen hacmin özütleme verimi üzerinde etkisini ortaya çıkarmak için aynı miktar (10 ng) analit yüklenecek şekilde iki farklı hacimde (10 ve 50 mL) standart çözelti yüklenmiş ve **Çizelge 4.1**'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1 İki farklı hacimde standart çözeltilerinin ve kör çözeltinin üç farklı SPE kartuşla özütleme verimine ilişkin her iki yöntemle alınan veriler

Analit	Yükleme Hacmi ve derişimi	Birinci yöntem			İkinci yöntem		
		HLB	WAX	C18	HLB	WAX	C18
PFHxA	10 mL 1,0 ng/mL	%77	%94	%79	%95	%95	%78
	50 mL 0,2 ng/mL	%73	%101	%56	%77	%86	%59
PFHpA	10 mL 1,0 ng/mL	%85	%77	%77	%93	%92	%102
	50 mL 0,2 ng/mL	%65	%82	%70	%70	%84	%105

Çalışılan analitlerden PFHxA için en iyi performans gösteren WAX kartuşla yüksek gerikazanımlar elde edilmiştir. Diğer iki kartuşun elüsyon verimi birbirine yakın olup, 50 mL yükleme hacmi için %80'in altındadır. Bu analiz serisinde yükleme ve ara yıkama kayıplarının öncekine göre daha az olduğu görülmektedir. Diğer analit olan PFHpA için ise en verimli özütlemenin C18 ile sağlandığı görülmektedir. Ancak bu durum referans noktası olarak alınan kör çalışmasında düşük oran eldesine bağlanmıştır ve bu da verimi etkilemektedir. Bu durumda yüksek hacim yüklemelerde WAX kartuş HLB kartuşa göre daha iyi bir verim sağlanmaktadır. Buna ek olarak yükleme ve ara yıkama aşamalarında PFHpA kaybı PFHxA'ye göre daha yüksek gözlenmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında kısa zincirli PFAS bileşiklerinden PFHxA ve PFHpA için duyarlı ve seçici bir yöntem geliştirilmiş olup, çeşme suyu örneklerine uygulaması yapıldığında belirtme sınırının altında olduğu gözlenmiştir.

Daha duyar ölçümler için daha büyük hacimde örnek yüklenerek, deriştirme faktörünün büyütülmesi gerekmektedir ancak ara basamaklarda gözlenen kayıplar nedeniyle farkı bir yaklaşım arayışına girilmelidir. Bu da daha duyar bir cihaz ve daha uygun bir kolonla duyarlılığın artırılması biçiminde ilerideki çalışmalarda dikkate alınacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahrens vd. 2009.** Partitioning behavior of per – and polyfluoroalkyl compounds between pore water and sediment in two sediment cores from Tokyo Bay. Japan. Ahrens, L., Yamashita, N., Yeung, L.W.Y., Taniyasu, S., Horii, Y., Lam, P.K.S., 2009. Environ. Sci. Technol. 43, 6969–6975.
- Ang vd. 2022.** Sonoelectrochemical processes for the degradation of persistent organic pollutants. Ang, W.L., McHugh, P.J., Symes, M.D. Chem Eng J 444, 136573.
- Beser, vd. 2019.** Determination of 21 perfluoroalkyl substances and organophosphorus compounds in breast milk by liquid chromatography coupled to orbitrap high-resolution mass spectrometry, Beser, M. I., Pardo, O., Beltran, J., Yusa, V. Analytica Chimica Acta 1049: 123-132
- Boiteux vd. 2016.** Analysis of 29 per- and polyfluorinated compounds in water, sediment, soil and sludge by liquid chromatography–tandem mass spectrometry, Boiteux, V., Bach, C., Sagres, V., Hemard, J., Colin, A., Rosin, C., Munoz, J.F., Dauchy, X., Int. J of Environ. Anal. Chem, 96 (8): 705–728
- Bolan vd. 2023.** Bolan, S., Padhye, L.P., Mulligan, C.N., Alonso, E.R., Saint-Fort, R., Jasemizad, T. Surfactant-enhanced mobilization of persistent organic pollutants: potential for soil and sediment remediation and unintended consequences. J Hazard Mater 443, 130189.
- Boonjob vd., 2014.** Retention and selectivity of basic drugs on solid-phase extraction sorbents: Application to direct determination of β -blockers in urine, Boonjob, W., Sklenářová, H., Lara, F.J., García-Campaña, A.M., Solich, P., Anal Bioanal Chem, 406:4207–4215.
- Campo vd., 2016.** Analysis of the presence of perfluoroalkyl substances in water, sediment and biota of the Jucar River (E Spain). Sources, partitioning and relationships with water physical characteristics, Campo, J. Lorenzo, M. Pérez, F. Picó, Y., Farré, M. Barceló, D. Environmental Research 147: 503–512

- Cavaliere vd. 2016.** Multiresidue analysis of endocrine-disrupting compounds and perfluorinated sulfates and carboxylic acids in sediments by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry, Cavaliere, C., Capriotti, A.L., Ferraris, F., Foglia, P., Samperi, R., Ventura, S., Laganà, A. J. of Chromatogr. A, 1438: 133–142
- Cervený vd., 2016.** Perfluoroalkyl substances in aquatic environment-comparison of fish and passive sampling approaches, Cervený, D., Grabic, R., Fedorova, G., Grabicova, K., Turek, J., Kodes, V., Golovko, O., Zlabek, V., Randak, T. Environmental Research 144: 92–98
- ÇŞB, 2018.** Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Kalıcı organik kirleticiler hakkında yönetmelik. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2018/11/20181114-4.htm> (Erişim tarihi: 15.07.2024).
- Dev vd. 2023.** Effect of persistent organic pollutants in patients with ischemic stroke and all stroke: a systematic review and meta-analysis. Dev, P., Chakravarty, K., Pandey, M., Ranjan, R., Cyriac, M., Mishra, V.N. Toxicology 494, 153567.
- Devendrapandi vd., 2024.** Innovative remediation strategies for persistent organic pollutants in soil and water: A comprehensive review, Devendrapandi, G., Liu, X., Balu, R., Ayyamperumal, R., Arasu, M.V., Lavanya, M., Reddy V.R.M., Kim, W.K., Karthika, P.C., Environ. Research 249 (2024) 118404
- Dhore vd., 2021.** Per/polyfluoroalkyl substances production, applications and environmental impacts, Dhore, R., Murthy, G.S. Bioresource Technology 341, 125808
- EFSA, 2008.** Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA), and their salts. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain, EFSA. J. 653, 1-131.
- EFSA, 2018.** Risk to human health related to the presence of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid in food, EFSA. J. 16, 5194.

- Endirlik vd. 2019.** Assessment of perfluoroalkyl substances levels in tap and bottled water samples from Turkey, Endirlik, B.Ü., Bakır, E., Boşgelmez, İ.İ., Eken, A., Narin, İ., Gürbay, A., Chemosphere 235: 1162-1171
- EPA-533.** Determination of per-and polyfluoroalkyl substances in drinking water by isotope dilution anion exchange solid phase extraction and liquid, U.S. Environmental Protection Agency, Method 533,
- Evich vd., 2022.** Environmental Fate of Cl-PFPECAs: Predicting the Formation of PFAS Transformation Products in New Jersey Soil, Evich, M.G., Davis, M., Weber, E.J., Tebes-Stevens, C., Acrey, B. Henderson, W.M., Goodrow, S., Bergman, E., Washington, John W. Environ. Sci. Technol. 2022, 56, 7779–7788
- EU, 2018.** Directive of the European Parliament and the Council on the quality of water intended for human consumption. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX:52017PC0753>
- Fiedler vd. 2020.** Global interlaboratory assessments of perfluoroalkyl substances under the Stockholm Convention on persistent organic pollutants, Fiedler, H., van der Veen, I., de Boer, J. Trends in Analytical Chemistry 124 (2020) 115459
- Fu vd., 2003.** Persistent organic pollutants in environment of the Pearl River Delta, China: an overview, Fu, J., Mai, B., Sheng, G., Zhang, G., Wang, X., Peng, P., Xiao, X., Ran, R., Cheng, F., Peng, X., Wang, Z., Tang, W., Chemosphere 52: 1411–1422
- Gao vd., 2020.** Trends and perspectives in per-and polyfluorinated alkyl substances (PFASs) determination: Faster and broader, Gao, K. Chen, Y., Xue, Q., Fu, J., Fu, K., Fu, J., Zhang, A., Cai, Z., Jiang, G., Trends in Analytical Chemistry 133, 116114.
- Gremmel vd., 2016.** Systematic determination of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in outdoor jackets, Gremmel, C. Fromel, T., Knepper, T.P., Chemosphere 160:173-180

Gremmel, vd., 2017. HPLC–MS/MS methods for the determination of 52 perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in aqueous samples, Gremmel, C., Frömel T., Knepper, T.P. Anal Bioanal Chem, 409:1643–1655

Guoliang vd. 2022. Persistent organic pollutants in Chinese waterways: occurrence, remediation, and epidemiological perspectives. Guoliang, Y., Fang, D., Chowdhury, A., Aixin, Z., Sajid, M. Reg Stud Mar Sci 56, 102688.

<http://www.restek> **<https://www.restek.com/global/en/articles/analyze-epa-method-533-pfas-reliably-with-resprep-wax-spe>**, Erişim tarihi 15.07.2024

Higgins ve Luthy, 2007. Modeling sorption of anionic surfactants onto sediment materials: an a priori approach for perfluoroalkyl surfactants and linear alkylbenzene sulfonates. Higgins, C.P., Luthy, R.G., 2007. Environ. Sci. Technol. 41, 3254–3261.

Ibrahim vd. 2024. Ibrahim, I.A., Rawindran, H., Alam, M.M., Leong, W.H., Sahrin, N.T., Ng, H.-S. Mitigating persistent organic pollutants from marine plastics through enhanced recycling: a review. Environ Res 240, 117533.

Kumar vd. 2023. Exploring the role of microbes for the management of persistent organic pollutants. Kumar, M., Saggi, S.K., Pratibha, P., Singh, S.K., Kumar, S., J Environ Manage 344, 118492.

Lan vd. 2023. Association between exposure to persistent organic pollutants and pubertal timing in boys and girls: a systematic review and meta-analysis Lan, H., Hu, Z., Gan, H., Wu, L., Xie, S., Jiang, Y. Ecotoxicol Environ Saf 265, 115540.

Langlois vd., 2007. Mass spectral studies of perfluorooctane sulfonate derivatives separated by high-resolution gas chromatography, Langlois, I. Berger, U. Zencak, Z. Oehme, M., Rapid Commun. Mass Spectrom. 21: 3547–3553.

Liu ve Hou, 2023. Physical exercise and persistent organic pollutants, Liu, C., Hou, H. Helion, 9 (2023) e19661

Li vd., 2020. Short-chain per- and polyfluoroalkyl substances in aquatic systems: Occurrence, impacts and treatment, Li, F., Duan, J., Tian, S., Ji, H., Zhu, Y., Wei, Z., Zhao, D., Chemical Engineering Journal 380 (2020) 122506

- Lin vd., 2016.** Simultaneous qualitative and quantitative analysis of fluoroalkyl sulfonates in riverine water by liquid chromatography coupled with Orbitrap high resolution mass spectrometry, Lin, Y., Liu, R., Hu, F., Liu, R., Ruan, T., Jiang, G., *Journal of Chromatography A*, 1435: 66–74
- Lorenzo vd., 2018.** Analytical challenges to determine emerging persistent organic pollutants in aquatic ecosystems, Lorenzo, M., Campo, J., Pico, Y., *Trends in Analytical Chemistry* 103: 137-155
- Mitra, 2003.** *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, Ed. Somenath Mitra, John Wiley & Sons, 2003
- Munoz vd., 2015.** Quantitative analysis of poly- and perfluoroalkyl compounds in water matrices using high resolution mass spectrometry: Optimization for a laser diode thermal desorption method, Munoz, G., Duy S.V., Budzinski, H., Labadie, P., Liu, J., Sauvé, S., *Analytica Chimica Acta* 881: 98–106
- Naghdi vd. 2023.** Naghdi, S., Shahrestani, M.M., Zendehbad, M., Djahaniani, H., Kazemian, H., Eder, D. Recent advances in application of metal-organic frameworks (MOFs) as adsorbent and catalyst in removal of persistent organic pollutants (POPs). *J Hazard Mater* 442, 130127.
- Pasecnaja vd., 2022.** Occurrence of selected per- and polyfluorinated alkyl substances (PFASs) in food available on the European market – A review on levels and human exposure assessment, Pasecnaja, E., Bartkevics, V., Zacs, D., *Chemosphere* 287: 132378
- Piva vd., 2021.** Determination of perfluoroalkyl substances (PFAS) in human hair by liquid chromatography-high accurate mass spectrometry (LC-QTOF), Piva, E. Fais, P. Cecchetto, G. Montisci, M. Viel, G. Pascali, J.P. *J of Chrom. B* 1172: 122651
- Portoles vd., 2015.** Gas chromatography–tandem mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization for fluorotelomer alcohols and perfluorinated sulfonamides determination, Portolés, T., Rosales, L.E., Sancho, J.V., Santos, F.J., Moyano, E., *J of Chrom. A*, 1413:107–116

Pozo vd., 2019. Analytical methods for the determination of emerging contaminants in sewage sludge samples. A review, Pozo, L.M., G3mez3, B.A., G3mez3, B.R., Garc3a-C3rcolesa, M.T., 33pa, M., G3mez3, A.Z. Talanta 192: 508–533

Pubchem-A <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluorohexanoic-acid>, Erişim tarihi: 15.07.2024

Pubchem-B <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluoroheptanoic-acid>, Erişim tarihi: 15.07.2024

Ruan vd., 2017. Analytical methodology for identification of novel per- and polyfluoroalkyl substances in the environment, T. Ruan, and G. Jiang, Trends in Analytical Chemistry 95:122-131

Sungur vd., 2018. Determination of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) in food and beverages. Sungur, S., K3roęlu, M., Turgut, F., Int. J. Environ. Anal. Chem. 98 (4), 360–368.

Taniyasu vd., 2005. Analysis of fluorotelomer alcohols, fluorotelomer acids, and short-and long-chain perfluorinated acids in water and biota. Taniyasu, S., Kannan, K., So, M.K., Gulkowska, A., Sinclair, E., Okazawa, T., Yamashita, N., J. Chromatogr., A 1093, 89e97.

UNEP, 2009. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants: Geneva, Switzerland.

UNEP, 2015. Request for Information Specified in Annex E for Pentadecafluorooctanoic Acid (CAS No: 335-67-1, PFOA, Perfluorooctanoic Acid), its Salts and PFOA-Related Compounds, 2015.

USEPA, 2021. United States Environmental Protection Agency, Method 1633-Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LC-MS/MS.

- Xu vd. 2023.** Persistent organic pollutants exposure and risk of autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis, Xu, K., Li, Z., Qiao, J., Wang, S., Xie, P., Zong, Z., *Environ Pollut* 336, 122439.
- Waclawek, vd. 2022.** Cyclodextrin-based strategies for removal of persistent organic pollutants. Waclawek, S., Krawczyk, K., Silvestri, D., Padil, V.V.T., Rezanka, ˇ M., Cerník, M. *Adv Colloid Interface Sci* 310, 102807.
- Wang vd., 2009.** 8-2 Fluorotelomer alcohol aerobic soil biodegradation: pathways, metabolites, and metabolite yields. Wang N, Szostek B, Buck RC, Folsom PW, Sulecki LM, Gannon, JT. *Chemosphere*, 75(8):1089–96
- Wang, vd. 2011.** Development of an ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for high throughput determination of organophosphorus flame retardants in environmental water, Wang, X., Liu, J., and Yin, Y., *J of Chrom. A*, 1218: 6705–6711.
- Wang, vd., 2017.** Application of an immobilized ionic liquid for the passive sampling of perfluorinated substances in water, L. Wanga, X. Gong, R. Wanga, Z. Gana, Y. Lua, H. Suna, *J of Chrom. A*, 1515 (2017) 45–53
- Whitaker vd, 2021.** An interlaboratory study on EPA methods 537.1 and 533 for per- and polyfluoroalkyl substance analyses, Whitaker, J.S., Hrabak, R.B., Neslund, C., Whitaker, J. S., Hrabak, R. B., Ramos, M., Neslund, C., & Li, Y. *AWWA Water Science*, e1234.
- Zhang vd., 2012.** Determination and partitioning behavior of perfluoroalkyl carboxylic acids and perfluorooctanesulfonate in water and sediment from Dianchi Lake, China, Y. Zhang, W. Meng, C. Guo, J. Xu, T. Yu, W. Fan, L. Li, *Chemosphere* 88: 1292–1299



TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince benden desteğini esirgemeyen, çalışmalarına yön veren, akademik çalışma ve bilimsel araştırmalar ile tanışmamı sağlayan, kendisinden çok şey öğrendiğim, her konuda destek ve yardımını hissettiğim danışmanım Prof. Dr. F. Nil ERTAŞ'a bilgiden ziyade bilgiye nasıl ulaşılacağını öğreten ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Hasan ERTAŞ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Araştırma ve uygulama konusunda desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Kemal Volkan ÖZDOKUR'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince araştırma, uygulama ve manevi olarak benden desteğini esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. Barış GÜMÜŞTAŞ ve Merve TANRIÖVER'e teşekkür ederim.

Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Uygulama Merkezi (ARGEFAR) Müdürü Doç. Dr. İskender İNCE' ye çalışmalarım boyunca sağladıkları değerli destek ve imkanlar için teşekkür ederim.

Hayatım boyunca yaptığım her işte ve her kararda yanımda olduklarını hissettiğim, desteklerini benden esirgemeyen annem Meliha AKSOY ve babam Yaşar AKSOY'a teşekkür ederim.

Sevgi, saygı, sabır ve hoşgörüsü bana destek olan sevgili eşim Aydın MUTLU ve bu süreçte gözlerindeki ışık ile yolumu aydınlatan canım oğlum Alp MUTLU'a en içten duygularına teşekkür ederim. Siz olmasaydınız başaramazdım.

Aysun AKSOY MUTLU

Ağustos 2024,

İzmir



ÖZGEÇMİŞ

AYSUN AKSOY MUTLU

EĞİTİM BİLGİLERİ

2021 - : Ege Üni. Fen Bil. Enstitüsü, Kimya/Analitik Kimya Yüksek Lisans

2008 - 2013 : Pamukkale Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Lisans

İŞ TECRÜBESİ

2023 - : Ege Üniversitesi Klinik Biyokimya Laboratuvarı

2014 - 2023 : Ege Üniversitesi ARGEFAR (İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma - Uygulama Merkezi)

BİLİMSEL ÇALIŞMALAR

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler

1- *Aysun Aksoy Mutlu*, Merve Meşin, K. Volkan Özdokur, Barış Gümüştas, F. Nil Ertas, **Investigation of chromatographic determination of short-chain perfluoroalkyl compounds in tap water**, SUIC (International Sustainability In Life Congress), 19-22 MAYIS 2024, Kusadası, AYDIN

2- Merve Meşin, *Aysun Aksoy Mutlu*, K. Volkan Özdokur, Barış Gümüştas, F. Nil Ertas, **Chromatographic Analysis Methods on Determination of Perfluoroalkyl Compounds**, SUIC (International Sustainability In Life Congress), 19-22 MAYIS 2024, Kusadası, AYDIN

Katıldığı Bilimsel Toplantılar

1) 2. Ulusal Biyosidal Kongresi (9-13 Kasım 2015, İzmir)

2) SUIC (International Sustainability In Life Congress) (19-22 Mayıs 2024, Aydın)

EĞİTİM ve SERTİFİKALAR

Sözsüz İletişim (Beden Dili), Elginkan Vakfı, 2007.

- Zaman Yönetimi, Elginkan Vakfı, 2007.
- Kozmetik Ürün Yönetimi, Kimyagerler Derneği, 2011
- İyi Üretim Uygulamaları (GMP), Kimyagerler Derneği, 2011
- TS-EN ISO 9001 Kalite Yönetim Sistemi, Anda Grup, 2011
- TS-EN ISO 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistem, Anda Grup, 2011
- Ohsas 18001 iş sağlığı ve güvenliği, Anda Grup, 2011
- TS EN iso 14001 Çevre Yönetim Sistemi Belgesi, Anda Grup, 2011
- CV Hazırlama ve Mülakat Teknikleri, Kronos Akademi, 2011
- TS EN ISO 9001:2009 KYS, ARGEFAR, 2014
- İş Güvenliği Uzmanlığı, ÇSGB, 2014
- Argefar, AR-GE ve İnovasyon Projeleri Hazırlama, EBİLTEM-TTO, 2015
- TS EN ISO/IEC 17025, ARGEFAR, 2015
- Laboratuvarda Güvenli Çalışmaya Yönelik Bilinçlendirme ve Farkındalık, Labsafe, 2017
- Sorun Çözme Teknikleri, Elginkan Vakfı, 2018
- TS-EN ISO 9001 Kalite Yönetim Sistemi, Elginkan Vakfı, 2018