T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

NİTRO- ve PEROKSİT- TİPİ ENERJETİK MALZEMELERİN TAYİNİ İÇİN YENİ ANALİTİK YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Furkan Burak ŞEN

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa Reşat APAK

II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Mustafa BENER

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

İSTANBUL-2022

Bu çalışma, 5.01.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Mustafa Reşat APAK (Danışman)
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Doç. Dr. Burcu BEKDEŞER
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr. Birsen DEMİRATA ÖZTÜRK
İstanbul Teknik Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi

Prof. Dr. Musa ŞAHİN
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa'nın abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

ÖNSÖZ

Doktora ve yüksek lisans eğitimim boyunca çalışmalarımda her daim bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren, akademik ve bilimsel kimliğiyle örnek aldığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Reşat Apak'a her türlü destek ve yardımlarından dolayı en derin ve içten teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitimim boyunca olumlu tavrıyla beni motive eden, bilgi ve deneyimi ile yol gösteren, bilimsel ve manevi her türlü desteğini benden esirgemeyen, aynı zamanda ikinci danışmanım olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Mustafa Bener'e sabrı ve desteği için en içten dileklerimle teşekkürlerimi sunarım.

Her türlü konuda yanımda olan, destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen hocam Öğr. Gör. Ayşe Nur Önem'e,

Çalışmalarım boyunca her zaman pozitif yaklaşan ve her türlü konuda yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. Burcu Bekdeşer'e,

Ayrıca çalışmalarım boyunca bana destek olan hocalarım Doç. Dr. Saliha Esin Çelik, Araş. Gör. Dr. Esin Akyüz'e ve Anabilim Dalındaki diğer tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Tez izleme jürisinde yer alan sayın hocalarım Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN ve Prof. Dr. Birsen DEMİRATA ÖZTÜRK'e tez çalışmalarıma verdikleri katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Hayatım boyunca beni destekleyen ve tüm kararlarımda arkamda olan babam İdris ŞEN, annem Nebahat ŞEN ve kardeşim Anıl Okay ŞEN'e yürekten teşekkürlerimi sunarım.

"YÖK 100/2000 Doktora Burs Projesi" kapsamında "Enerjik Malzemeler Teknolojileri" öncelikli alanından girmiş olduğum doktora eğitimim sırasında burs sağlayarak destekleyen Yüksek Öğretim Kurulu'na,

2018-2022 yılları arasında doktora eğitimim sırasında "TÜBİTAK 2211A-Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı" kapsamında burs sağlayarak destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) teşekkürlerimi sunarım.

Ocak 2022 Furkan Burak ŞEN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **viii**
TABLO LİSTESİ ..... **ix**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **x**
ÖZET ..... **xii**
SUMMARY ..... **xiv**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL KISIMLAR **6**
2.1.ENERJETİK MALZEMELER 6
2.1.1.Enerjetik Malzemelerin Tanımı 6
2.1.2.Enerjetik Malzemelerin Tarihçesi ve Kullanımı 6
2.1.3.Enerjetik Malzemelerin Sınıflandırılması 7
2.2. NİTROAROMATİK ENERJETİK MALZEMELER VE ÖZELLİKLERİ 9
2.2.1. TNT Kullanımının Tarihi ve TNT'nin Özellikleri 9
2.3. PEROKSİT TEMELLİ PATLAYICILAR VE ÖZELLİKLERİ 10
2.3.1. Hidrojen Peroksitin Özellikleri ve Kullanım Alanları 11
2.3.2. Peroksit Temelli Patlayıcı, TATP 12
2.4. TNT'NİN ANALİZ YÖNTEMLERİ 13
2.4.1. Spektroskopik Yöntemler 13
2.4.1.1. UV-Görünür Bölge Spektroskopisi ile Tayinler *13*
2.4.1.2. Floresans Spektroskopisi ile Tayinler *15*
2.4.2. Kromatografik Yöntemler 15
2.4.2.1. Sıvı Kromatografisi ile Tayinler *15*
2.4.2.1. Gaz Kromatografisi ile Tayinler *16*
2.4.3. Voltametrik Yöntemler 16
2.5. HİDROJEN PEROKSİT VE TATP'NİN ANALİZ YÖNTEMLERİ 17
2.5.1. Spektroskopik Yöntemler 17
2.5.1.1. UV-Görünür Bölge Spektroskopisi ile Tayinler *17*
2.5.1.2. Floresans Spektroskopisi ile Tayinler *18*

2.5.2. Kromatografik Yöntemler 18
2.5.2.1. Sıvı Kromatografisi ile Tayinler 18
2.5.2.1. Gaz Kromatografisi ile Tayinler 19
2.5.3. Voltametrik Yöntemler 19
2.6. RODAMİNİN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ 19
2.6.1. Rodaminlerin Fotofiziksel Özellikleri 20
2.6.2. Literatürde Rodamin Türevlerinin Sentez Çalışmaları 20
2.6.2.1. Ksanten halkasındaki amino grubunun modifikasyonu (Rodamin 110 boyası) 21
2.7. SENSÖRLER 22
2.7.1. Kimyasal Sensörler 23
2.7.1.1. Optik sensörler 23
2.8. FLORESANS 24
2.8.1. Floresans Spektroskopisinin Temeli 24
2.8.1.1. Enerji Trasferi (Energy Transfer) 25
2.8.1.2. Sistemler Arası Geçişler (İntersystem Crossing) 25
2.8.1.3. İç Dönüşüm (İnternal Conversion) 25
2.8.1.4. Titreşimsel Dinlenme (Vibrational Relaxation) 26
3. MALZEME VE YÖNTEM 27
3.1. KULLANILAN CİHAZLAR 27
3.2. KİMYASAL MADDELER 27
3.3. TNT TAYİNİ İÇİN GELİŞTİRİLEN RODAMİN ESASLI FLOROMETRİK YÖNTEMİN UYGULANMASI 28
3.3.1.Çözeltilerin Hazırlanması 28
3.3.2.TNT Tayini için Geliştirilen Rodamin Esaslı Florometrik Yöntemin Uygulanması 28
3.3.3. Toprakta Yaygın Olarak Bulunan İyonların Varlığında TNT Tayini 28
3.3.4. Kompleks Materyallerde TNT Tayini 28
3.3.5. Geliştirilen Yöntemin Yapay Olarak Kirletilmiş Toprak Örneklerine Uygulanması 29
3.3.6. Yöntem Validasyonu için TNT'nin HPLC ile Tayini 29
3.4. H_2O_2'NİN KOLORİMETRİK TAYİNİ İÇİN GELİŞTİRİLEN REDOKS ESASLI YÖNTEMİN UYGULANMASI 29
3.4.1.Çözeltilerin Hazırlanması 29
3.4.2.TATP'nin Sentezi ve Hidrolizi 30
3.4.3.H_2O_2 Tayini için Uygulanan Yöntemler 31

3.4.3.1. Peroksidaz-ABTS yöntemi *31*
3.4.3.2. ABTS ön işlemli CUPRAC Sensörü *31*
3.4.3.3. $TiOSO_4$ yöntemi *31*
4. BULGULAR **32**
4.1. TNT TAYİNİ İÇİN GELİŞTİRİLEN RODAMİN ESASLI FLOROMETRİK YÖNTEMİNİN OPTİMUM DENEY KOŞULLARININ BELİRLENMESİ 32
4.2. TNT TAYİNİ İÇİN GELİŞTİRİLEN RODAMİN ESASLI YÖNTEMİN UYGULANMASI 33
4.2.1. Rodamin Esaslı Florometrik Yöntem ile TNT Tayini Sonuçları 34
4.2.2. Toprakta Yaygın Olan İyonların, Kompleks Materyallerin ve Kamuflaj Malzemelerinin TNT Tayinine Etkisinin Sonuçları 35
4.2.3. Toprak Örneğinden TNT'nin Geri Kazanımı ve HPLC ile Geliştirilen Yöntemin Doğrulanması 37
4.3. H_2O_2'NİN KOLORİMETRİK TAYİNİ İÇİN GELİŞTİRİLEN REDOKS ESASLI YÖNTEMİN ANALİTİK SONUÇLARI 38
4.3.1. ABTS ön işlemli CUPRAC Sensörü ile H_2O_2 Tayini 38
4.3.2. Sentetik Antioksidan Karışımları Varlığında H_2O_2'nin Tayini 40
4.3.3.Girişim Yapıcı Maddeler Varlığında H_2O_2'nin Tayini 40
4.3.4.Gıda ekstraktları, sentetik serum ve ticari ürünler varlığında H_2O_2'nin Tayini 41
4.3.5.Amin Tipi Antioksidanlar Varlığında H_2O_2'nin Tayini 43
5. TARTIŞMA VE SONUÇ **44**
KAYNAKLAR **51**
ÖZGEÇMİŞ **65**

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Enerjetik malzemelerin sınıflandırılması. 7

Şekil 2.2: Hidrojen peroksitin yapısı. 12

Şekil 2.3: TATP ve DADP'nin kimyasal yapısı. 13

Şekil 2.4: Ksanten (A) ve rodamin boyaların (B) molekül yapıları (G= ester, bir alkil klorür, sülfonil klorür veya izosiyanat fonksiyonel grupları). 19

Şekil 2.5: Ticari olarak temin edilebilen bazı rodamin boyaları. 21

Şekil 2.6: Rodamin 110'un simetrik ve asimetrik modifikasyonu. 22

Şekil 2.7: Nafyonun yapısı. 24

Şekil 2.8: Bir molekülük bir çift elektronundan birinin uyarılması. 25

Şekil 2.9: FRET mekanizması için spektral örtüşme. 26

Şekil 4.1: Geliştirilen yönteme (a) NaOH hacmi (b) çözücü türü ve (c) inkübasyon süresinin etkisi. 33

Şekil 4.2: 0 mg L^{-1} (referans) - 60 mg L^{-1} TNT çalışma aralığında Rodamin 110'un floresans spektrumu. 34

Şekil 4.3: TNT'nin kalibrasyon grafiği. 35

Şekil 4.4: Kamufle edici malzemelerin varlığında % TNT geri kazanımları. 37

Şekil 4.5: TNT'nin (a) 5 − 25 mg L^{-1} konsantrasyon aralığında (b) toprak ekstraktında HPLC kromatogramları. 38

Şekil 4.6: Geliştirilen optik sensörle oluşturulan H_2O_2'nin kalibrasyon grafiği. 39

Şekil 4.7: 5 mM H_2O_2 katkılı gıda ekstraktlarının ve sentetik serumun geliştirilen ABTS ön işlemli CUPRAC sensörü ve Peroksidaz-ABTS yöntemi ile bulunan H_2O_2 içerikleri (mM) (N = 3) 42

Şekil 5.1: Bazik ortamda TNT'den oluşan Meisenheimer anyonu. 45

Şekil 5.2: Rodamin donör – TNT akseptör etkileşimine dayalı Floresans Rezonans Enerji Transferi (FRET) mekanizması. 46

Şekil 5.3: Geliştirilen yöntemin şematik gösterimi. 48

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Askeri alanda kullanılan yaygın nitroaromatik patlayıcılar ve yapısal formülleri [2]. 9

Tablo 2.2: TNT'nin bazı kimyasal özellikleri. 10

Tablo 2.3: TATP ve HMTD fiziksel ve kimyasal özellikleri [86]. 11

Tablo 2.4: TATP'nin özellikleri [86]. 13

Tablo 4.1: Toprakta yaygın olarak bulunan interfere edici iyonların varlığında % TNT geri kazanımları. 36

Tablo 4.2: TNT ile enerjetik malzemelerin karışımlarının analizi sonucu elde edilen % TNT geri kazanımları. 36

Tablo 4.3: TNT tayininde geliştirilen yöntem ve HPLC yöntemlerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması. 38

Tablo 4.4: Brokoli ekstraktına ve seruma H_2O_2 katkısı ile elde edilen sonuçlar (N = 3). 39

Tablo 4.5: Geliştirilen sensör ile sentetik antioksidan karışımlarının varlığında teorik olarak beklenen ve deneysel olarak bulunan H_2O_2 konsantrasyonlarının karşılaştırılması (N = 3). 40

Tablo 4.6: H_2O_2 tayini sırasında girişim yapıcı maddelerin geliştirilen sensöre etkileri. 41

Tablo 4.7: Geliştirilen ABTS ön işlemli CUPRAC sensörü ve $TiOSO_4$ yöntemi ile ticari ürünlerin % H_2O_2 içeriği (N = 3). 42

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler **Açıklama**

A : Absorbans
C : Konsantrasyon
r : Lineer korelasyon katsayısı
I : İntensite
λ_{ex} : Eksitasyon dalga boyu
λ_{em} : Emisyon dalga boyu

Kısaltmalar **Açıklama**

ABTS : 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)
ABTS$^{\bullet+}$: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) radikali
ADN : Amonyum dinitramit
AN : Amonyum nitrat
AP : Amonyum perklorat
CUPRAC : Bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
Cu(II)-Nc : Bakır(II)-neokuproin
Cu(I)-Nc : Bakır(I)-neokuproin
DFA : Difenilamin
DNT : 2,4- Dinitrotoluen
FRET : Floresans rezonans enerji transferi
HMTD : Hekzametilen triperoksit diamin
HMX : 1,3,5,7-Tetranitro-1,3,5,7-tetraazasiklooktan
HPLC : Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HRP : Horseradish peroksidaz
H_2O_2 : Hidrojen peroksit
LOD : Dedeksiyon limiti (Limit of Detection)
LOQ : Tayin limiti (Limit of Quantitation)
Nc : Neokuproin
NFA : N-fenil-1-naftilamin
NFD : N,N'-difenil-p-fenilendiamin

PA : Pikrik asit

PETN : Pentaeritritol tetranitrat

RDX : 1,3,5-Trinitro-1,3,5-triazasiklohekzan

TNT : 2,4,6-Trinitrotoluen

TATP : Triaseton triperoksit

UV : Ultraviolet (mor ötesi)

ÖZET

DOKTORA TEZİ

NİTRO- VE PEROKSİT- TİPİ ENERJETİK MALZEMELERİN TAYİNİ İÇİN YENİ ANALİTİK YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Furkan Burak ŞEN

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Mustafa Reşat APAK

II. Danışman : Doç. Dr. Mustafa BENER

Nitroaromatik enerjik malzemelerin ve peroksit bazlı patlayıcıların hassas ve seçici tespiti insan sağlığı, çevre, kamu güvenliği ve askeri konular açısından önemli bir konudur. 2,4,6-trinitrotoluen (TNT), sualtı patlatma ve maden sanayiinde yaygın olarak kullanılan, ayrıca askeri ve terör faaliyetlerinde kara mayınları ve bomba üretiminde de kullanılan yüksek patlayıcı özelliğe sahip en önemli nitroaromatik bileşiktir. Diğer yandan birçok endüstride, arıtma tesislerinde ve biyokimyasal ortamlarda hidrojen peroksitin (H_2O_2) izlenmesi ve belirlenmesi, düşük konsantrasyonlarda bile zararlı etkileri nedeniyle önemlidir. Bu tezde hem nitroaromatik enerjik bir malzeme olan TNT'nin tayini hem de hidrojen peroksitin tayini için iki farklı yöntem geliştirilmiştir. Tezin ilk aşamasında, TNT tayini için florofor probu olarak Rodamin 110 boyası kullanılan basit ve hassas bir floresans sönümleme esaslı yöntem geliştirildi. Bu hassas florometrik yöntem, Rodamin 110' un (diğer rodaminlerden farklı) TNT ile donör-akseptör etkileşimi yapabilen birincil amin grupları nedeniyle Rodamin 110'un (λ_{ex} = 490 nm, λ_{em} = 521 nm) floresansındaki düşüşü ölçebilir. Ortaya çıkan TNT-amin kompleksi, uyarılmış Rodamin 110 floroforunun (donör) enerjisini ışınımlı olmayan dipol dipol etkileşimi ile TNT'ye (akseptör) aktardığı sırada meydana gelen floresans rezonans enerji transferi (FRET) ile Rodamin 110'un floresans emisyonunu güçlü bir şekilde sönümlemiştir. Floresans sönümleme, TNT konsantrasyonu ile lineer olarak değişti. LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,71 mg L^{-1} ve 2,38 mg L^{-1} olarak bulundu. Benzer patlayıcılar, yaygın toprak iyonları ve olası kamuflaj malzemelerinin önerilen yönteme müdahale etmediği, kolay metodolojisi, düşük

maliyeti, duyarlılığı ve analiz hızı ile önemli avantajlar sunduğu tespit edildi. Tezin ikinci aşaması, pozitif hatalara neden olduğu bilinen interferanslar olarak bilinen antioksidanların varlığında H_2O_2 tayini için redoks bazlı kolorimetrik sensör önermektedir. Öte yandan, yaygın olarak kullanılan peroksidaz bazlı yöntemlere enzim inhibitörleri interfere etmektedir. Geliştirilen yöntem antioksidan giderimi ve H_2O_2 tayini olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır. İlk adımda, antioksidanlar, persülfat tarafından üretilen 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) radikali ($ABTS^{\bullet+}$) kullanılarak basitçe uzaklaştırıldı. Antioksidan eliminasyonundan sonra örneklerdeki H_2O_2, bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) kolorimetrik sensörü kullanılarak belirlendi. Bir nafyon persülfonat membranı üzerinde immobilize edilmiş sensörü hazırlamak için CUPRAC reaktifi olan bakır (II)-neocuproine (Cu(II)-Nc) kullanıldı. Açık mavi Cu(II)-Nc, sensör üzerinde H_2O_2 ile sarı-turuncu renkli Cu(I)-Nc kelatına indirgendi ve 450 nm'de absorbans artışı kaydedildi. H_2O_2 için elde edilen LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,33 ve 1,10 μM bulundu. Önerilen yöntem, doğrusallık, toplamsallık, kesinlik ve geri kazanım açısından doğrulandı. Katkılı gıda ekstraktları, sentetik serum ve bazı ticari ürünlerin (gıda sterilizasyon çözeltisi, beyazlatıcı diş macunu ve saç ağartma çözeltisi) H_2O_2 içeriğinin, peroksidaz-ABTS ve titanil sülfat referans yöntemlerinin sonuçlarıyla karşılaştırılabilir olduğu bulundu. Ayrıca, amin tipi antioksidanların varlığında peroksit tipi patlayıcı triaseton triperoksit (TATP) başarıyla tayin edildi. Önerilen basit ve düşük maliyetli yöntem, enzimatik yöntemleri olumsuz etkileyen çevresel ajanlar (ağır metaller, pestisitler, sülfhidril ajanlar, vb.) tarafından inhibe edilmemektedir. Ayrıca karmaşık örneklerin bulanıklığına ve renkli bileşenlerine karşı duyarsızdır.

Ocak 2022, 82 sayfa.

Anahtar kelimeler: Enerjetik malzemeler, 2,4,6-trinitrotoluen (TNT), Spektroflorometre, Hidrojen peroksit (H_2O_2), Optik sensör

SUMMARY

Ph.D. THESIS

DEVELOPMENT OF NEW ANALYTICAL METHODS FOR DETERMINATION OF NITRO- AND PEROXIDE- TYPE ENERGETIC MATERIALS

Furkan Burak ŞEN

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Mustafa Reşat APAK

Co-Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Mustafa BENER

Sensitive and selective detection of nitroaromatic energetic materials and peroxide-based explosives are an important issue in regard to human health, environmental, public security and military issues. 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) is the most important nitroaromatic compound with high explosive feature, which is widely used in underwater blasting and mining industry, as well as in the production of land mines and bombs in military and terrorist activities. On the other hand monitoring and determining hydrogen peroxide (H_2O_2) in many industries, treatment plants and biochemical media is important because of its harmful effects even at low concentrations. In this thesis, two different methods have been developed for both the determination of TNT, and the determination of H_2O_2. In the first stage of the thesis, a simple and sensitive fluorescence quenching-based assay utilizing Rhodamine 110 as fluorophore probe was developed for the determination of TNT. This sensitive fluorometric method could measure the decrease in fluorescence of Rhodamine 110 (λ_{ex} = 490 nm, λ_{em} = 521 nm) owing to the primary amine groups of Rhodamine 110 (different from other rhodamines) capable of donor-acceptor interaction with TNT. The resulting TNT-amine complex can strongly quench the fluorescence emission of Rhodamine 110 by fluorescence resonance energy transfer (FRET) which occurs as the excited Rhodamine 110 fluorophore (donor) transfers its energy to TNT (acceptor) by non-radiative dipole dipole interaction. Fluorescence quenching varied linearly

with TNT concentration. LOD and LOQ values were found to be 0.71 and 2.38 mg L^{-1}, respectively. Similar explosives, common soil ions, and possible camouflage materials were found not to interfere with the proposed method, offering significant advantages with its easy methodology, low-cost, sensitivity, and rapidity of analysis. The second stage of the thesis is proposes a redox-based colorimetric sensor for the determination of hydrogen peroxide in the presence of antioxidants which are known interferents causing positive errors. On the other hand, the widely used peroxidase-based methods are interfered by enzyme inhibitors. The developed method consists of two stages, namely antioxidant removal and H_2O_2 determination. In the first step, antioxidants were removed simply using 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical ($ABTS^{\bullet+}$) produced by persulfate. After antioxidant elimination, H_2O_2 in samples was determined by using the CUPRAC (CUPric ion Reducing Antioxidant Capacity) colorimetric sensor. The CUPRAC reagent, copper(II)-neocuproine (Cu(II)-Nc), was used to prepare the sensor immobilized on a nafion persulfonate membrane. The light blue Cu (II)-Nc was reduced by H_2O_2 to the yellow-orange colored Cu(I)-Nc chelate on the sensor, and the absorbance increase at 450 nm was recorded. The LOD and the LOQ values obtained for H_2O_2 were 0.33 and 1.10 μM, respectively. The proposed assay was validated in terms of linearity, additivity, precision and recovery. The H_2O_2 contents of spiked food extracts, synthetic serum and certain commercial products (i.e. food sterilization solution, whitening toothpaste and hair bleaching solution) were found to be comparable to the results of peroxidase-ABTS and titanyl sulfate reference assays. In addition, peroxide-type explosive triacetone triperoxide (TATP) was successfully determined in the presence of amine-type antioxidants. The proposed simple and low-cost assay is not inhibited by environmental agents (most heavy metals, pesticides, sulfhydryl agents, etc.) adversely affecting enzymatic methods. It is additionally insensitive to turbidity and colored components of complex samples.

January 2022, 82 pages.

Keywords: Energetic materials, 2,4,6-trinitrotoluene (TNT), Spectroflorometer, Hydrogen peroxide, Optical sensor

1. GİRİŞ

Enerjetik malzemeler, kendiliğinden hızlı bir şekilde bozunmaya uğrayabilen, açığa çıkan ısı ve reaksiyon ürünü gazlar sebebiyle çok yüksek bir basınç meydana getirebilen kimyasal bileşik veya karışımlardır [1]. Son yıllarda askeri faaliyetlerde kullanılan enerjetik maddelerin rastgele depolama veya nakliyesi sebebiyle çok ciddi çevresel ve biyolojik zararlar ortaya çıkmıştır. Toprak ve atık sudaki enerjetik madde kirliliğinin giderilmesi çok zor ve pahalıdır. İnsanların ise bu kirliliğe maruz kalması anemiye ve anormal karaciğer fonksiyonlarına yol açabilir. Bundan dolayı enerjetik malzemelerin doğru, hızlı ve güvenilir tayin yöntemlerinin geliştirilmesi hem toprak ve su arıtımında hem de kamu güvenliği açısından oldukça önemli hale gelmiştir [2]. Enerjetik malzemeler kullanım amacına, patlama şekillerine veya kimyasal yapılarına göre çok farklı şekillerde sınıflandırılmaktadırlar. Kimyasal yapılarına göre sınıflandırma; nitro bileşikleri (nitroaromatikler, nitroaminler, nitrat esterleri), klorat ve perklorat, azotürler, patlama yatkınlığı yüksek maddeler (fulminatlar, peroksitler ve ozonitler, asetilen ve asetilitler) şeklinde yapılabilmektedir. Enerjetik malzemeler askeri ve sivil amaçlı oldukça sık kullanılmaktadır ve askeri amaçlı olarak; bombaların ve kara mayınların yapımında en yüksek etkiye sahip enerjetik madde nitroaromatik tür olan 2,4,6-trinitrotoluen (TNT)'dir. Bu sebeplerden dolayı; kolorimetri [3-5] ve spektroflorometri [6-8] gibi geleneksel tekniklerin yanı sıra, elektroanaliz [9,10], yüzey geliştirilmiş Raman spektroskopisi [11,12], nötron aktivasyon analizi [13], Fourier dönüşüm infrared spektrometrisi [14], X-ışını kırınımı [15] ve iyon mobilite spektrometrisi [16] gibi nispeten daha karmaşık ve pahalı enstrümantasyon gerektiren birçok analitik teknik, çeşitli örnek matrislerinde TNT tayini için geliştirilmiştir. Literatürde mevcut olan florometrik yöntemler, floresans malzemelerin (metalik nanoskoplar, organik boyalar, kuantum noktaları, karbon noktaları ve kemosensörler) floresans yoğunluğundaki değişikliklerin patlayıcıların varlığında ölçülmesine dayanmaktadır. Nitroaromatik patlayıcıların florometrik tespitinde problemlerden biri, yöntemin özgünlüğünü sınırlayan çeşitli nitroaromatik yapılar arasındaki benzerliktir [17]. Rodamin boyaları, mükemmel floresans özelliklerinden dolayı floresans sinyalleme tekniklerine dayanan ortak uygulamalara sahiptir [18]. 450 ile 700 nm arasında geniş bir emisyon aralığına sahip bir dizi rodamin türevi vardır [19]. Ticari olarak temin edilebilen rodamin boyaları olmasına rağmen,

farklı koşullar altında çeşitli gereksinimleri karşılamak için yeni rodamin boyaları hala üretilmektedir [20,21]. Bazı rodaminler, suda ve organik çözücülerde değişen floresans özellikleri sergileyebilir, ancak bu değişken özelliklerin arkasındaki mekanizma tam olarak anlaşılmamıştır [22,23]. Bu çalışmanın florometrik probu olarak seçilen Rodamin 110 boyası, elektron donörleri olarak iki birincil amin grubuna sahip olduğu için oldukça floresanstır. Rodamin boyalarının güçlü floresans özelliklerinden, özellikle ağır metaller [24,25], tiyoller [26,27] ve TNT [28] için floresans rezonans enerji transferi (FRET) mekanizması kullanılarak birçok tayin yönteminin geliştirilmesinde yararlanılmıştır. FRET mekanizmasında, uyarılmış bir florofordan komşu alıcı moleküle dipol-dipol etkileşimi yoluyla radyasyon emisyonu olmaksızın bir enerji transferi vardır [29]. Alıcı analitin absorpsiyon bandı ile uyarılmış floresan vericinin emisyon bandı arasında kısmi bir örtüşme olması durumunda, FRET oluşur ve orijinal floresansın sönümlenmesiyle sonuçlanır, böylece hedef analitlerin kolay ve hassas bir şekilde saptanmasını sağlar. Tez çalışmasının ilk aşamasında, bir floresan prob olarak Rodamin 110 boyası kullanılarak TNT'yi tayin için bir florometrik yöntem geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemde, alkali test ortamında TNT'den oluşturulan Meisenheimer anyonu, FRET mekanizması yoluyla Rodamin 110'un floresans sönümlenmesine neden olmuştur. Önerilen yöntemde, Rodamin 110'un floresans sönümlenmesi, TNT konsantrasyonuna bağlı olarak lineer bulunmuştur. Ayrıca önerilen yöntem kullanılarak TNT tayininde; yaygın toprak iyonlarından, ev deterjanlarından, şekerden (temsili D-(+)-glukoz), parasetamol-kafein bazlı ağrı kesiciden ve benzeri enerjik maddelerden (RDX, HMX, DNT ve PA) gelebilecek olası interfere etkileri incelenmiştir. Ayrıca önerilen yöntem TNT ile kirlenmiş toprak örneklerine uygulanmış ve sonuçlar literatürde bulunan HPLC yöntemi ile doğrulanmıştır.

Hidrojen peroksit (H_2O_2) ise termodinamik olarak kararsız olan ve oksitleyici bir madde olup ağartıcı veya antimikrobiyal özelliklerinden dolayı gıda, ilaç, tekstil, dişçilik ürünleri gibi birçok alanda kullanıma sahiptir. H_2O_2'nin, oksidaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonların ürünü olması sebebiyle düşük miktarlarda tayini oldukça önemlidir [30-36]. Fazla H_2O_2 insanlar için zararlı olduğundan, gıda ve sağlık ürünlerindeki kalıntı seviyeleri izin verilen sınırlar içinde etkin bir şekilde kontrol edilmelidir. Örneğin, Japon Sağlık ve Refah Bakanlığı, H_2O_2'nin nihai ürünlerden ayrılmasını veya çıkarılmasını talep etmektedir [37]. FDA (U.S. Food and Drug Administration) düzenlemeleri, nihai gıda ambalajında H_2O_2 seviyelerini 0,5 ppm ile sınırlar [38]. Çok çeşitli tekniklerin kullanıldığı H_2O_2 tayinlerinin çoğunluğu enzim temellidir. Fakat enzimlerin depolanma problemleri olup maliyetleri oldukça yüksektir. Öte

yandan H_2O_2, doğru konsantrasyonlarda kullanıldığı takdirde patlayıcı madde özelliği taşır ve peroksit temelli patlayıcılardan olan triaseton triperoksit (3,3,6,6,9,9-heksametil-1,2,4,5,7,8-hekzaoksasiklononan) (TATP) ve hekzametilen triperoksitdiamin (3,4,8,9,12,13-hekzaoksa-1,6-diazabisiklo[4.4.4]tetradekan) (HMTD) gibi ev yapımı patlayıcı maddelerin sentezinde başlangıç maddesi olarak da kullanılmaktadır [39-41]. Bu tür patlayıcılarda, nitro grubu (TNT vb.) patlayıcılarda olduğu gibi fonksiyonel grup olmamasından ötürü tayinleri oldukça zordur [42,43]. Bundan dolayı sentetik bir başlangıç maddesi ile TATP'nin parçalanma ürünü olan H_2O_2, peroksit patlayıcılarının kimyasal parçalanması veya UV bozunması sonucu açığa çıkarak bu maddelerin tayini için önemli bir bileşik haline gelmiştir [44]. H_2O_2 tayini için birçok spektrofotometrik [45-47], florometrik [48,49], elektrokimyasal [50] ve kemilüminesans [51] esaslı yöntemler geliştirilmiştir. TATP'nin kolorimetrik tayini, H_2O_2'ye hidroliz edildiğinde büyük ölçüde kolaylaştırılır. Bu nedenle, TATP ve HMTD'nin sentetik bir öncüsü ve bozunma ürünü olan H_2O_2, peroksit bazlı patlayıcıların tanımlanması için önemli bir bileşik olarak kabul edilir [44,52,53]. Patlayıcılar, diğer tüm enerjik maddeler gibi termodinamik olarak kararlı değildir. Bu nedenle, birçok patlayıcı oda sıcaklığında ve daha yüksek sıcaklıklarda yavaş kimyasal bozunma reaksiyonlarına girer. Amin tipi antioksidanların (difenilamin (DFA), N-fenil-1-naftilamin (NFA), N,N'-difenil-p-fenilendiamin (NFD)) itici gazları bu tür bozulmalardan korumak için stabilizörler olarak kullanıldığı bilinmektedir [54,55]. Bu nedenlerle çok çeşitli örneklerde H_2O_2'nin kontrol edilmesi ve belirlenmesi çok önemlidir.

Son yıllarda hedef analitlere duyarlı ve seçici olan optik sensörler ön plana çıkmıştır [56,57]. Genellikle çeşitli reaktiflerin uygun bir katı matris üzerinde hareketsiz hale getirilmesiyle üretilir [58]. Optik sensörler, düşük maliyet, hız, hassasiyet ve yerinde analiz gibi avantajlı özellikleri nedeniyle geleneksel enstrümantal yöntemlere göre üstün tarama araçlarıdır. Optik sensör adı verilen reaktif esaslı bu sensörler, yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahiptir. Küçük örnek hacimleriyle çalışamayan ve bulanık çözeltilerde hassas tepkiler veren geleneksel spektrofotometrik yöntemlerden farklı olarak, katı yüzeylerde renkli ürün oluşturma yetenekleri ile öne çıkmaktadır. Optik sensörlerdeki reaktifler, kovalent bağlanma, elektrostatik etkileşim ve membrana dahil etme gibi teknikler uygulanarak membran yüzeyine sabitlenir [59].

Biyolojik sistemlerde H_2O_2 miktarını belirlemek için sıklıkla peroksidaz bazlı yöntemler kullanılmaktadır [60-62]. Bununla birlikte, peroksidaz bazlı yöntemleri kullanırken, antioksidanlar gibi indirgeyici ajanların varlığı yönteme girişim yapmaktadır [63]. Bu problem

(örneğin, peroksidaz/H_2O_2 oksitleyici ara ürün için güçlü bir rakip olan sülfürden kaynaklanan) kinetik modellemeye dayalı matematiksel bir düzeltme yaklaşımı ile ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır [64]. Bu müdahaleleri ortadan kaldırabilecek başka bir yaklaşım ise, H_2O_2 tayin edilmeden önce örneği katı faz ekstraksiyonu ve/veya kromatografi ile ön işleme tabi tutarak diğer indirgeyici ajanları uzaklaştırmaktır [65]. Ancak bu ayırma teknikleri seçicilik ve maliyet gibi problemlere sebep olur. Ayrıca bu tür tekniklerle tayin süresi uzar. Bunların dışında başka bir çalışmada, H_2O_2 tayininden önce indirgeyici ajanlar inaktif edilmiştir [66]. Yöntem, peroksidaz katalizli reaksiyonu başlatmadan önce indirgeyici ajanların seçici oksidasyonuna dayanmaktadır. Bu yaklaşım, oksitlenmiş 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) ($ABTS^{\bullet+}$) ile reaksiyona giren indirgeyici ajanları spesifik olarak etkisiz hale getirir. Biyolojik sistemlerde bulunan çok çeşitli indirgeyici ajanlar/antioksidanlar bu mekanizmaya uygundur [67,68] ve $ABTS^{\bullet+}$ bu indergeyici ajanlar/antioksidanlar varlığında ABTS'ye indirgenmektedir. Ortamda kalan ABTS, peroksidaz katalizli reaksiyon kullanılarak H_2O_2 ile oksitlendiğinde $ABTS^{\bullet+}$'ya dönüşmektedir. $ABTS^{\bullet+}$'nın görünür bölgedeki yüksek molar absorptivitesi nedeniyle ortamdaki H_2O_2 seçici olarak tayin edilmiştir.

Tez kapsamında ikinci yöntem olarak ise, ABTS reaktifi ve CUPRAC sensörünün [69] avantajlı bir şekilde birlikte kullanımına dayalı olarak, antioksidanlar içeren kompleks örneklerde H_2O_2 tayini için uygulanabilir bir optik sensör geliştirilmiştir. Orijinal olarak antioksidan kapasite tayininde kullanılan CUPRAC yöntemi [70] ayrıca H_2O_2'e yanıt vermektedir. Peroksit bazlı TATP ve HMTD patlayıcıları daha önce CUPRAC sensörü kullanılarak diğer indirgeyici maddelerden kontaminasyon olmadan analiz edilmiştir [71]. Burada antioksidan bileşiklerin varlığı yönteme girişim yapacağı için, bu çalışmada ilk olarak $ABTS^{\bullet+}$ kullanılarak örnekte mevcut olan antioksidanlar uzaklaştırılmıştır. Peroksidaz yokluğunda $ABTS^{\bullet+}$'ya karşı inaktif olan hedef analit H_2O_2, CUPRAC sensörü kullanılarak ikinci aşamada belirlenmiştir. Önerilen sensör ile H_2O_2 tayini; antioksidanlar, sentetik serum, gıda ekstrakları ve ticari ürünlerin çözeltilerinde başarıyla uygulanmıştır. Sonuçlar horseradish peroksidaz (HRP) esaslı ABTS yönteminin [66] sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Ek olarak, geliştirilen bu sensör, amin tipi antioksidanların varlığında peroksit tipi patlayıcı TATP' nin belirlenmesinde de kullanılmıştır. Geliştirilen sensör, klasik yöntemlerin aksine bulanık çözeltilerde çalışabilirlik, örneklerden gelen içsel renk girişimine yanıt vermeme, reaktif tasarrufu ve yerinde analiz yeteneği gibi belirli üstünlükler sağlamıştır. Geliştirilen sensör, mevcut HRP esaslı ABTS yöntemiyle

karşılaştırıldığında, ağır metaller, pestisitler, sülfhidril ajanlar ve sülfür [72-74] tarafından inhibe edilebilen herhangi bir enzime ihtiyaç duymadan H_2O_2'yi tayin edebilmektedir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1.ENERJETİK MALZEMELER

2.1.1.Enerjetik Malzemelerin Tanımı

Enerjetik malzeme; genel olarak, hızlı tepkime veren ve ateşleme veya başlatma üzerine yoğun fazdan büyük miktarda kuvvet (yüksek hızlı ürün türlerinin üretilmesi) veya enerji (ısı veya ışık) serbest bırakan bir bileşen veya formülasyonu ifade eder. Enerjetik malzeme terimi; geleneksel patlayıcılardan, farklı ölçeklerdeki duyarsız ve/veya yeşil malzemelere (örneğin; nanomalzemeler) kadar çok çeşitli malzemeleri kapsar [75].

Patlayıcı, yapısında yükseltgen ve indirgen bileşenler bulunduran, oldukça yüksek potansiyel enerjiye sahip reaktif bir kimyasal ya da nükleer malzemedir [2,76]. Bir patlamanın oluşması için; kimyasal veya yapısal olarak kararsız bir molekül veya karışım, hızlı bir reaksiyon, büyük miktarda ısı üretimi ve reaksiyonun basınçta büyük değişiklikler meydana getirmesi için yüksek miktarda gaz halinde ürün gereklidir [1].

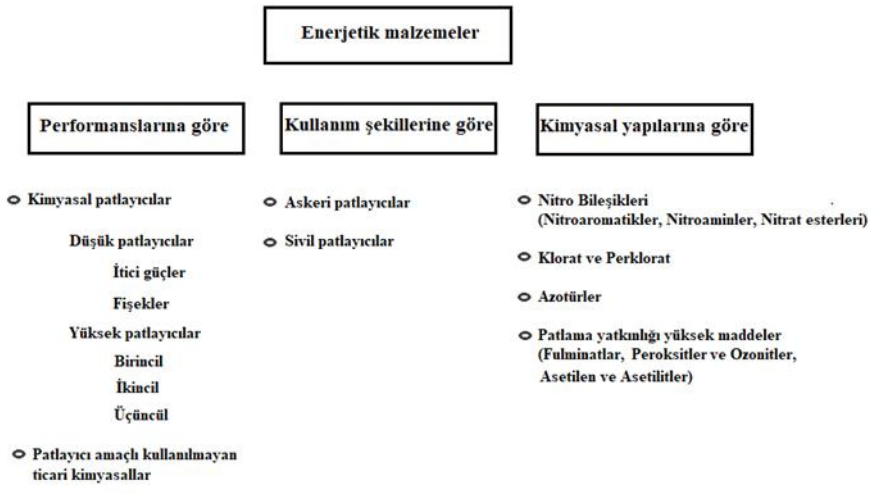
2.1.2.Enerjetik Malzemelerin Tarihçesi ve Kullanımı

Tarihteki bilinen ilk patlayıcının kömür, sülfür ve potasyum nitrat karışımından oluşan barut olduğu ve keşfinin 7. yüzyılda Çinliler tarafından yapıldığı düşünülmektedir. Çinliler, barutu hava fişek ve patlayıcı olarak kullanmışlardır. Baruttan sonra düşük etkili patlayıcı sınıfından olan nitroselüloz ve nitrogliserin Avrupa'da keşfedilmiştir. Bu keşfedilen yeni düşük etkili patlayıcılar, bir mermiyi itebilecek büyük miktarda sıcak gaz vererek kontrollü bir şekilde yavaş yandığından itici olarak adlandırılmıştır. Daha sonra pikrik asit (PA), trinitrotoluen (TNT), pentaeritritol tetranitrat (PETN), siklotetrametilen trinitramin (RDX), siklotetrametilen tetranitramin (HMX) gibi darbe, sürtünme ve ısıya karşı duyarsız olan yüksek etkili patlayıcılar keşfedilmeye başlanmıştır. Askeri faaliyetlerin ihtiyaçlarının (duman, ses ve yangın çıkarıcı) giderilmesi için piroteknik diye adlandırılan yakıt, oksitleyici, bağlayıcı ve katkı maddelerine dayalı yeni formülasyonlar da geliştirilmiştir. 1900'lerin başlarına kadar bu keşifler devam etmiş olup sonrasında tüm bunlara yüksek enerjili malzemeler (high energy materials (HEMs)) denilmiştir [77]. Günümüzde ise enerjetik malzemeler genellikle askeri ve sivil amaçlarla kullanılmaktadır. Askeri amaçlı bombaların yapımında oldukça sık kullanılmasından ötürü

küresel güvenlik açısından oldukça önemlidir. Bunların sentezi halen devam etmekte olup formülasyonlarının uygun hale getirilmesi uzun süreler almaktadır [78].

2.1.3.Enerjetik Malzemelerin Sınıflandırılması

Enerjetik malzemeler performanslarına, kullanım şekillerine ve kimyasal yapılarına göre değişen birçok türde sınıflandırılmıştır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Enerjetik malzemelerin sınıflandırılması.

Performanslarına göre sınıflandırma:

Temel olarak patlayıcılar, düşük ve yüksek patlayıcılar olarak sınıflandırılır. Düşük patlayıcılar veya itici gazlar nispeten düşük hızlarda (cm s^{-1}) yanarken, yüksek patlayıcılar km s^{-1} hızlarında patlar. Yüksek patlayıcılar (patlayanlar); birincil patlayıcılar, ikincil patlayıcılar ve üçüncül patlayıcılar olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Birincil patlayıcılar, başlatmaya karşı oldukça hassastır ve ikincil patlayıcıları ateşlemek için kullanılabildikleri için genellikle "başlatıcı patlayıcılar" olarak adlandırılırlar. Örnek olarak gümüş azotür, kurşun stifnat, kurşun azotür, diazodinitrofenol, civa fulminat, tetrazen verilmektedir. Nitroaromatikler ve nitraminler içeren ikincil patlayıcılar, yaygın olarak askeri alanlarda kullanılırlar. İkincil patlayıcılar, yalnızca belirli koşullar altında patlamak üzere formüle edildikleri için genellikle ana patlayıcı veya destekleyici patlayıcılar olarak kullanılır. Amonyum dinitramit (ADN), amonyum perklorat (AP), amonyum nitrat (AN) üçüncül patlayıcılara örnek olarak verilmektedir ve bunların hassasiyetleri birincil ve ikincil patlayıcılara göre daha düşüktür [76]. Düşük patlayacılar (alevlenenler) normal koşullar altında patlamazlar. Burada kimyasal reaksiyon çok hızlıdır ve

malzemedeki reaksiyon hızı ses hızını aşar. İtici gazlar, dumansız barut, kara barut ve piroteknik düşük patlayıcılar arasındadır [79].

Kullanım şekillerine göre sınıflandırma:

Patlayıcılar kullanım şekillerine göre askeri ve sivil amaçlı olarak ikiye ayrılmaktadır. Askeri amaçlı kullanılan patlayıcıların depolanmaları, taşınmaları ve kullanımları büyük oranda güvenlidir çünkü genellikle darbeye ve sürtünmeye karşı duyarsızdırlar [77]. Bunlara örnek olarak TNT, RDX, tetril, HMX, nitroselüloz, nitrogliserin, PA ve PETN verilmektedir. Askeriyede en yaygın kullanılan patlayıcıların performans sıralaması HMX > RDX > PETN > TNT şeklindedir [43]. Sivil amaçlı kullanılan patlayıcılar genellikle yıkıcı patlayıcı olarak bilinen fünye tarafından direkt olarak patlatılan ve madencilik, inşaat gibi alanlarında kullanılan kimyasal bileşenlerdir [77].

Kimyasal yapılarına göre sınıflandırma:

Enerjetik malzemeleri ilk kez Vant Hoff bulundurdukları fonksiyonel gruplara göre sınıflandırmıştır ve aşağıdaki fonksiyonel grupların patlayıcı özelliği kazanmasında etkin rol oynadığını belirtmiştir:

Nitro bileşikler, nitrik asit esterleri ve tuzlarında N = O,

Klorat ve perkloratlarda O – Cl,

Azotürlerde N – X (X – halojen) örneğin N – Cl,

Diazobileşikleri, bunların tuzları ve esterlerinde N = N,

Fulminatlar ve siyanojende N = C,

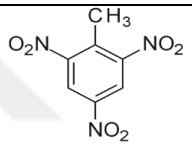
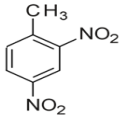
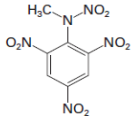
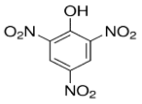
Peroksit, ozon ve ozonitlerde O – O,

Asetilen ve asetilitlerde C ≡ C [80].

2.2. NİTROAROMATİK ENERJETİK MALZEMELER VE ÖZELLİKLERİ

Nitroaromatik patlayıcılar, nitro veya metil grupları içeren bir benzen halkasından oluşurlar ve oldukça kararlı bir yapıya sahiptirler. Elektron eksikliği olan aromatik yapıları nedeniyle, diğer elektronca zengin moleküller ile π–π bağları aracılığıyla kompleksler oluşturabilir [2]. Nitroaromatik patlayıcılar ve bunların bozunma ürünleri, insanlar ve diğer memeliler için toksik ve mutajeniktir. TNT' nin ilk toksik etkileri 1920'lerde gözlendi. TNT, PA ve 2,4,6-trinitrofenil-N-metilnitramin (tetril) farelerde hemolitik anemi, karaciğer hasarı gibi rahatsızlıklara sebep olmuştur [81]. Ayrıca TNT askeri bombaların yapımında da oldukça sık kullanılan bir enerjetik malzemedir. Askeri alanda kullanılan yaygın nitroaromatik patlayıcılar ve özellikleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: Askeri alanda kullanılan yaygın nitroaromatik patlayıcılar ve yapısal formülleri [2].

Kimyasal adı	**Kısaltması**	**Molekül ağırlığı** **(g mol^{-1})**	**Yapısal formülü**
2, 4, 6 – trinitrotoluen	TNT	227,1	
2, 4 – dinitrotoluen	DNT	182,14	
2, 4, 6 – trinitrofenilmetilnitramin	Tetril	222,3	
2, 4, 6 – trinitrofenol (pikrik asit)	PA	229,1	

2.2.1. TNT Kullanımının Tarihi ve TNT'nin Özellikleri

Krital yapıda ve açık sarı renkli olan 2,4,6-trinitrotoluen (TNT), Wilbrand tarafından 1863 yılında hazırlanmıştır fakat saf hali Hepp tarafından 1880 yılında hazırlanmıştır. Almanya'da 1891 yılında TNT üretimi başlamıştır ve 1902 yılında Alman ordusu tarafından kullanılmaya başlanmıştır. ABD ordusu ise 1912 yılında kullanmaya başlamıştır ve TNT, I. Dünya Savaşı (1914-1918) sırasında tüm orduların standart patlayıcısı olmuştur. O sıralar, TNT toluenin

mevcudiyeti nedeniyle sınırlı miktarda üretiliyordu. Kıtlığı gidermek için amonyum nitrat veya amatol içeren karışımlar kullanılmıştır. Bu süre zarfında bazı TNT-alüminyum (tritonaller) karışımları da kullanılmıştır. 1930'larda ve 1940'larda TNT-RDX kompozitleri geliştirilmiştir. İkinci Dünya Savaşı ile birlikte TNT'nin PETN, RDX, Tetril ve amonyum pikrat ile ikili patlayıcı karışımlarının yaygın olarak kullanılmıştır. TNT-HMX karışımları ise 1952'de geliştirilmiştir.

Üretim kolaylığı, ham maddelerinin düşük maliyeti, taşıma kolaylığı, diğer patlayıcı maddelerle uyumu, sürtünmeye karşı duyarsızlığı ve istenmeyen patlamaya karşı riskinin en alt seviyede olması gibi birçok sebepten ötürü askeri alanda kullanımı oldukça yaygın olmuştur [82]. TNT'nin alkoldeki çözünürlüğü çok az olup suda ise neredeyse çözünmez fakat benzen, toluen ve aseton içerisinde oldukça kolay şekilde çözünebilir. Isıtmaya karşı dayanıklıdır ve darbeler karşı duyarsızdır. Doğrudan tutuşturmak mümkün değildir. Bunun için önce 300 ˚C' ye kadar ısıtılıp eritilmelidir. Erimiş TNT hem kolay tutuşabilir hem de darbelere karşı daha hassastır [83]. TNT'nin bazı kimyasal özellikleri Tablo 2.2'de verilmiştir [84]. Yüksek patlama gücü için TNT, bazı diğer maddelerle karışım halinde hazırlanmıştır. Örnek olarak % 39 TNT ve % 60 RDX içeren Kompozit B patlayıcısı, % 30 TNT ve % 70 HMX içeren Oktol patlayıcısı ve % 30 TNT ve % 70 Tetril içeren Tetritol patlayıcısı verilebilir [85].

Tablo 2.2: TNT'nin bazı kimyasal özellikleri.

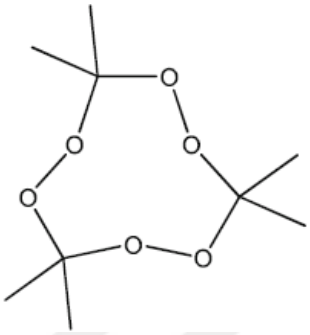
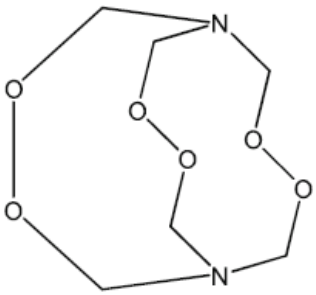
Molekül formülü	$C_7H_5N_3O_6$
Molekül ağırlığı (g mol^{-1})	227,13
Rengi	Soluk Sarı
Yoğunluğu (g cm^{-3})	1,654
Erime noktası (˚C)	80,80
Kaynama noktası (˚C)	210
Tutuşma noktası (˚C)	295

2.3. PEROKSİT TEMELLİ PATLAYICILAR VE ÖZELLİKLERİ

Peroksit bazlı patlayıcılardan triaseton triperoksit (TATP) ve heksametilen triperoksit diamin (HMTD) ilk olarak 1880'li yıllarda üç bileşen (H_2O_2, asit ve aseton (TATP için) veya heksamin (HMTD için)) ile basit şekillerde sentezlenmiştir. Sonraki yıllarda, bu peroksit bazlı patlayıcılar, nitro bazlı patlayıcılara kıyasla mekanik strese karşı aşırı hassasiyetleri, sınırlı stabiliteleri, yüksek uçuculukları ve daha düşük patlayıcı güçleri nedeniyle askeri veya sivil

amaçlarla daha az kullanılmıştır [86]. Triaseton triperoksit (TATP) ve heksametilen triperoksit diaminin (HMTD) fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 2.3).

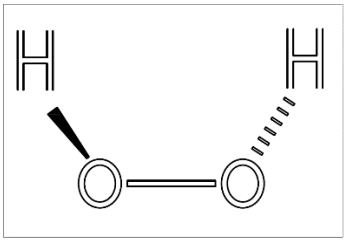
Tablo 2.3: TATP ve HMTD fiziksel ve kimyasal özellikleri [86].

	TATP	**HMTD**
Molekül yapısı		
Formülü	$C_9H_{18}O_6$	$C_6H_{12}N_2O_6$
Molekül ağırlığı (g mol^{-1})	222,24	208,17
Erime noktası (°C)	96	148
Yoğunluğu (g mL^{-1})	1,2	1,6
TNT eşdeğeri	% 88	% 60

2.3.1. Hidrojen Peroksitin Özellikleri ve Kullanım Alanları

Hidrojen peroksit, 1818 yılında Thenard tarafından, baryum peroksit ile nitrik asitin tepkimesi sonucu elde edilmiştir [87]. Carara'nın 1892 yılında hidrojen peroksitin molekül kütlesini tespit etmesi ile kimyasal formülü olan H_2O_2 doğrulanmıştır [88]. 1901 yılında Manchot tarafından katalizör olarak kullanılan alkilantrakinonlara sırasıyla hidrojenasyon, oksidasyon ve ekstraksiyon işlemleri uygulanarak yeni bir H_2O_2 sentezleme yöntemi geliştirilmiştir [89].

H_2O_2, molekül ağırlığı 34 g mol^{-1} olan renksiz ve kokusuz bir sıvıdır. % 30'luk çözeltisinin yoğunluğu 1,11 g cm^{-3}'tür. Suda çözünebilir, kuvvetlice çalkalanmasıyla ya da uzun süre açık havada bekletilmesiyle kolayca su ve oksijene dönüşen kararsız bir yapıdadır [90,91]. Güçlü bir yükseltgen madde olup derişik hali füze biliminde itici güç olarak kullanılmaktadır [90]. Ayrıca güçlü yükseltgen özelliklerinden ötürü su arıtmada, kağıt ve kumaş ağartmada, diş beyazlatmada, saç boyamada, deterjan, gıda, mineral ve petrokimyasal ürünlerin üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır [92,93].

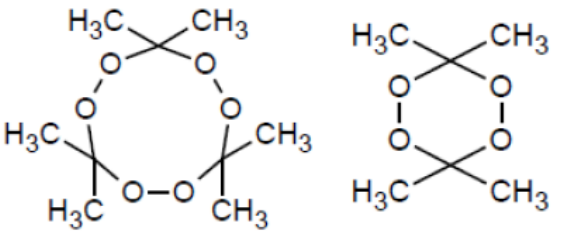


Şekil 2.2: Hidrojen peroksitin yapısı.

2.3.2. Peroksit Temelli Patlayıcı, TATP

TATP, 1895 yılında Wolffenstein tarafından sentezlenmiş olup beyaz kristal katı yapıdadır ve keskin kokuludur. Organik çözücülerde (aseton, kloroform ve toluen) iyi çözünür. Erime noktası 96 ˚C ve molekül ağırlığı 222,24 g mol^{-1}'dür [94]. Enerjetik materyallerin patlama özelliklerinin belirleyicisi en zayıf bağlarıdır. Örneğin; nitro grubu patlayıcılarındaki bağ C−NO_2 iken peroksit tipi patlayıcılarda -O−O- bağıdır. Endüstride peroksitler, antibakteriyel veya ağartıcı olarak kullanılmaktadır. Burada kullanılan peroksitlerde yetersiz oksijen (tek O−O bağı) olduğundan dolayı C ve H gaz çıkışı yetersizdir. Bu sebepten dolayı da endüstri alanında kullanılan peroksitler patlayıcı özelliği göstermezler. Peroksitlerde molekül ağırlığı azaldıkça mekanik olarak hassasiyet ve patlama özelliği artar. Molekül ağırlığı düşük olan primer dialkil peroksitler patlayıcı özelliğe sahiptir. Peroksitlerin itme gücü, patlama basıncı gibi özelliklerini TNT ile kıyaslayabilmek için TNT eşdeğeri bir hesap yapılır. Örneğin; TATP ve HMTD her bir molekülde 3 adet O−O bağı içerirler ve TNT eşdeğeri değerleri sırasıyla % 88 ve % 60'tır. Bu nedenle organik peroksitlerden patlama verimleri en yüksek olan TATP ve HMTD bileşikleridir [42,44]. TATP, patlama sonrası ayrışma ürünü olmayan bir bileşiktir. Bunun yanı sıra aromatik yapı veya nitro grubu olmaması tayinini zorlaştırmaktadır. Tayinler ancak patlama sonra kalan eser miktarda TATP ile yapılabilmektedir [42].

TATP ile aseton peroksit dimeri DADP'nin IUPAC isimeri sırasıyla 3,3,6,6,9,9-hekzametil-1,2,4,5,7,8-hekzaoksasiklononan ve 3,3,6,6-tetrametil-1,2,4,5-tetraoksan'dır. TATP ve DADP'nin kimyasal yapıları Şekil 2.3'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3: TATP ve DADP'nin kimyasal yapısı.

Tez kapsamında geliştirilen sensörlerle tayini yapılan TATP'nin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2.4'de gösterilmiştir.

Tablo 2.4: TATP'nin özellikleri [86].

Özellikleri	TATP
Molekül ağırlığı (g mol^{-1})	222,24
Formülü	$C_9H_{18}O_6$
TNT eşdeğeri	% 88
Erime noktası (˚C)	96
Yoğunluğu (g mL^{-1})	1,2
Patlama gücü (km s^{-1})	5,3

2.4. TNT'NİN ANALİZ YÖNTEMLERİ

2.4.1. Spektroskopik Yöntemler

2.4.1.1. UV-Görünür Bölge Spektroskopisi ile Tayinler

TNT tayini için Analitik Kimya Anabilim dalı kürsümüzde çok sayıda spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. 2004 yılında yapılan çalışmada, toprak ve yer altı sularında TNT ile PA tayini için alkali ortamda Meisenheimer anyonunun organik faza ekstraksiyonuna dayanan bir yöntem geliştirilmiştir. Burada TNT için 4 − 40 mg L^{-1} ve PA için 5 − 75 mg L^{-1} derişim aralığında lineer kalibrasyon çalışması yapılmıştır. TNT için LOD değeri 0,13 mg L^{-1} ve PA için LOD değeri 0,4 mg L^{-1} olarak bulunmuştur [95].

2008 yılında TNT'nin alkali ortamda oluşturduğu Meisenheimer anyonunun, kuvvetli bazik Dowex 1-X8 reçinesi ile katı faz ekstraksiyonunun gerçekleştirilmesi esasına dayanan miktar tayini yapılmıştır. Bir saat kadar kalıcılık gösteren, katı reçinede ve çözelti fazında oluşan TNT

miktarı ile orantılı olan turuncu rengin şiddetini ölçen yöntemde, lineer çalışma aralığı 0,4 − 40 mg L^{-1} olarak bulunmuştur [96].

2005 yılında, pH değişikliklerinden ve yaygın toprak iyonlarından etkilenmeyen bir TNT tayin yöntemi geliştirilmiştir. Yöntem, TNT'nin su-aseton çözeltisinden disikloheksilamin (DCHA)-izobütilmetil keton (IBMK) (10/1, v/v) organik çözücü karışımına ekstraksiyonuna dayanmaktadır. Çalışmada lineer kalibrasyon çalışması 0,2 − 20 mg L^{-1} derişim aralığında yapılmıştır [97].

2009 yılında, patlama sonrası eser miktarda kalan TNT'nin hızlı ve yüksek hassasiyetli tayini için bir yöntem geliştirilmiştir. Dioktilftalat ile plastikleştirilmiş polivinilklorür polimer matriksinde yük transfer reaktifi olarak disiklohekzilamin tutulmuştur. Test çubukları şeklinde kesilmiş polimerler TNT ile muamele edilmiş ve spektrofotometrik ölçümler 530 nm'de yapılmıştır. Lineer çalışma aralığı 5 − 50 mg L^{-1} olarak bulunan sensör için LOD değeri 3 mg L^{-1}'dir [98].

2019 yılında yapılan bir başka TNT tayini için, katyonik yüzey aktif madde setil trimetil amonyum bromür (CTAB) ve indirgen sodyum borhidrür kullanılarak altın nanoparçacık sentezlenmiştir. Sentez esnasında katılan dietilditiyokarbamatın (DDTC) elektrostatik olarak nanoparçacıklarla etkileşime girmesi sağlanmıştır. Daha sonra DDTC, TNT ve/veya tetrilin – NO_2 gruplarıyla yük transfer etkileşimine girerek nanoparçacıkların agregasyona uğramasına sebep olmuştur. TNT ve tetril derişimiyle orantılı bir renk değişimi meydana gelmiş ve absorbans ölçümleri TNT için 534 nm'de tetril için 458 nm'de yapılmıştır. Geliştirilen kolorimetrik sensörün TNT için LOD değeri 8 mg L^{-1} ve tetril için LOD değeri 0,8 mg L^{-1}'dir [99].

TNT'nin pikomolar seviyesinde basit ve hassas tayini için altın nanopartiküllerin kullanıldığı bir başka çalışmada, sisteamin stabilize AuNP'ler sentezlenmiştir. Başlangıçta kırmızı olan AuNP'ler TNT ve sisteamin arasındaki donör-akseptör etkileşimi sebebiyle agregasyona uğramışlar ve renk maviye dönüşmüştür. Burada artan TNT miktarı ile 520 nm'deki absorpsiyon pikinde bir azalma ve 650 nm'deki absorpsiyon pikinde artış gözlenmektedir. A_{520} için A_{650}'nin oranının TNT'nin 5×10^{-9} ile 5×10^{-13} M ($r = 0,991$) aralığındaki derişiminin logaritması ile doğrusal olduğu bulunmuştur [100].

Yapılan bir başka çalışmada, sitrat ile stabilize edilen AuNP'lerin yüzeyine 1,2-etilendiamin (EDA) tutturularak optik bir sensör geliştirilmiştir. Burada TNT ile EDA arasında oluşan donör-akseptör etkileşimi ile AuNP'ler agregasyona uğramıştır ve oluşan renk farkından TNT tayin edilmiştir. Yöntem için LOD değeri 40 pM'dır [101].

2.4.1.2. Floresans Spektroskopisi ile Tayinler

TNT ve 4-nitrofenolün (4-NP) hızlı ve hassas tayini için geliştirilmiş olan florometrik yöntemde öncelikle bovin serum albümin kullanılarak işlevselleştirilmiş floresans özelliği olan altın nanokümeler sentezlenmiştir ve prob olarak kullanılmıştır. Filtre kağıtlarına tutturulan probun floresans özelliğinin artan TNT ve 4-NP miktarı ile azalmasına dayanan yöntemde, TNT için çalışma aralığı $10^{-8} - 5 \times 10^{-5}$ M, 4-NP için $10^{-9} - 5 \times 10^{-5}$ M olarak bulunmuştur. TNT ve 4-NP için LOD değerleri ise 10 nM ve 1 nM'dır [102].

Yapılan bir başka çalışmada, 3-aminopropiltrimetoksisilan kullanılarak elde edilen silikon kuantum noktaları prob olarak kullanışmıştır. Elde edilen bu silikon kuantum noktalarındaki amin grubu ile TNT arasındaki güçlü etkileşime sonucu probun floresans şiddetinin azalmasına dayanan yöntemde çalışma aralığı 5 − 500 nM olup LOD değeri 1 nM'dır [103].

2.4.2. Kromatografik Yöntemler

2.4.2.1. Sıvı Kromatografisi ile Tayinler

2005 yılında yapılan bir çalışmada TNT gibi 21 farklı enerjetik maddenin ve bozunma ürününün tek bir yöntemle kromatografik ayırımı yapılmıştır. Bu çalışmada gözenekli grafit karbon kolon kullanılarak enerjetik maddelerin tayini ve karakterizasyonu için LC-MS yöntemi geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemle enerjetik maddeler için LOD değerleri 0,5 − 41,2 ng arasında değişkenlik göstermiştir [104].

Diğer bir çalışmada; TNT, PETN, RDX ve HMX' in ekstraksiyonu, ayırımı ve tayini için geliştirilmiş olan HPLC sistemi bulutlanma noktası ekstraksiyonuyla birleştirilmiştir. Setil trimetil amonyum bromür (CTAB) ve Triton X-114 ile ektrakte edilen enerjetik madde örnekleri HPLC-UV ile analizlenmiştir. Örnekler için ön deriştirme faktörü 40 olup LOD değerleri TNT için 0,08 μg L^{-1}, PETN için 0,40 μg L^{-1}, RDX için 0,14 μg L^{-1} ve HMX için 0,09 μg L^{-1} olarak bulunmuştur [105].

2.4.2.1. Gaz Kromatografisi ile Tayinler

Elektron yakalama dedektörlü gaz kromatografisi (GC-ECD) kullanılarak yapılan bir çalışmada nitramin tipi ve nitroaromatik enerjetik maddelerin tayini için yöntem geliştirilmiştir. Çalışmada lineer çalışma aralığı 2,5 − 50 ng'dır ve LOD değerleri ise 4 ng'dan daha az olarak bulunmuştur [106].

2013 yılında, nitroaromatik enerjetik maddelerin su örneklerinden ekstraksiyonu karbon nanotüplerle desteklenmiş mikroekstraksiyon kullanılarak yapılmış olan çalışmada bir GC-MS yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada tayin sınırları 0,03 mg L^{-1} ile 0,94 mg L^{-1} aralığında bulunmuştur [107].

2.4.3. Voltametrik Yöntemler

TNT ve DNT tayini için 2013 yılında Analitik Kimya Anabilim dalı kürsümüzde yapılan çalışmada, camsı karbon çalışma elektrodu kullanılarak döngüsel voltametri (CV) yöntemi kullanılmıştır. Tayinin mekanizması TNT ve DNT'de bulunan nitro gruplarının amin grubuna indirgenmesine dayanmaktadır. TNT için lineer çalışma aralığı 40 − 120 mg L^{-1} olup LOD değeri 10,8 mg L^{-1}'dır. DNT için lineer çalışma aralığı 40 − 140 mg L^{-1} olup LOD değeri 11,2 mg L^{-1}'dır. Çalışmada diğer enerjetik maddelerle karışımlar da incelenmiştir. Yöntemin sonuçları ise GC-MS ile kıyaslanmıştır [108].

Yine kürsümüzde yapılan bir başka çalışmada modifiye camsı karbon elektrot kullanılmıştır. Öncelikle elektrot yüzeyi poli(o-fenilendiamin-anilin) ile kaplanmıştır ve sonrasında altın nanoparçacıklar ile modifiye edilmiştir. Sonuç olarak TNT, DNT ve tetrile karşı seçimli sensör geliştirilmiştir. TNT için lineer çalışma aralığı 2,5 − 40 mg L^{-1} olup LOD değeri 2,1 mg L^{-1}'dir. DNT için lineer çalışma aralığı 2 − 40 mg L^{-1} olup LOD değeri 1,28 mg L^{-1}'dır. Tetril için lineer çalışma aralığı 5 − 100 mg L^{-1} olup LOD değeri 3,8 mg L^{-1}'dir. Doğrulama ise GC-MS ile yapılmıştır [109].

Mikro gözenekli-metal-organik malzemenin elektrokimyasal polimerizasyonu esasına dayanan moleküler baskılı polimerler sentezlenerek TNT tayininde sensör olarak kullanılan çalışmada, mikro gözenekli-metal-organik malzeme, kalıp molekül olarak TNT'in kullanıldığı altın nanoparçacıklarla modifiye edilmiş p-aminotiyofenol ile elektrokimyasal kaplanmış altın çalışma elektrodu yüzeyinde oluşturulmuştur. Sensör ile edilen sonuçlarda TNT için lineer

kalibrasyon çalışması 4,4 fM − 44 nM derişim aralığında yapılmıştır ve LOD değeri 0,04 fM bulunmuştur [110].

2.5. HİDROJEN PEROKSİT VE TATP'NİN ANALİZ YÖNTEMLERİ

2.5.1. Spektroskopik Yöntemler

2.5.1.1. UV-Görünür Bölge Spektroskopisi ile Tayinler

2004 yılında yapılan ve spektroskopik H_2O_2 tayinine ilk örnek olarak verilebilecek çalışmada, asidik ortamda H_2O_2, molibdat iyonu ve peroksimolibdik asit arasında üçlü kompleksten oluşan rengin şiddeti 330 nm'de ölçülmüştür. Çok hassas olmayan yöntemde tayin sınırı 0,2 mM olarak bulunmuştur [111].

Kürsümüzde yapılan çalışmada Cu(II)-2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (neokuproin) reaktifiyle Cu(II) iyonunun indirgenmesiyle hidrojen peroksit tayini yapılmıştır. Yöntemin lineer aralığı 0 − $1{,}4 \times 10^{-4}$ M olarak bulunmuştur [112].

Bir başka çalışmada HRP enzimi katalizör olarak kullanılarak, bromopirogallol kırmızısı (BRP) ile H_2O_2 tayini ve biyolojik türlerin (glukoz, kolesterol, ürik asit) analizi yapılmıştır. Yöntemin çalışma aralığı $2{,}1 \times 10^{-7} - 1{,}5 \times 10^{-5}$ M' dır [113]. H_2O_2'nin reaksiyon hızı ortamın pH'sına, sıcaklığına vb. parametrelere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu amaçla katalizörler kulanılarak saatler veya günler süren H_2O_2 reaksiyonları hızlandırılabilmektedir [114].

Bir başka spektrofotometrik çalışmada ise katalizör olarak hemoglobin kullanılmıştır. Substrat olarak o-fenilendiamin (OPD) kullanılarak reaksiyon ürünü 2,3-diaminofenazin'in absorbansı 425 nm dalgaboyunda ölçülmüştür. Tayin sınırı $9{,}2 \times 10^{-9}$ M hidrojen peroksit olarak belirlenmiştir [115].

TATP ve HMTD tayini için kürsümüzde yapılan çalışmada, bu iki enerjetik maddenin renk reaksiyonlarına olanak sağlayabileceği fonksiyonel gruplarının olmamasından ötürü HCl ile H_2O_2'e bozundurulması sağlanmıştır ve ürün bakır(II)-neokuproin (Cu(II)-Nc) yani CUPRAC reaktifiyle tayin edilmiştir. Asidik hidrolizden sonra nötralleştirilen örnekler Cu(II)-Nc reaktifi ile reaksiyona sokulmuştur ve reaktifin H_2O_2 ile indirgenmesiyle açığa çıkan Cu(I)-Nc'in 454 nm'de absorpsiyon ölçümleri yapılarak tayin gerçekleştirilmiştir. Sonrasında ise reaktif emdirilmiş nafyon membranda tutturulmuş Cu(II)-Nc'in H_2O_2'e yanıt verdiği sensör

geliştirilmiştir. TATP için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,042 mg L^{-1} ve 0,14 mg L^{-1} olarak bulunmuştur. Nafyon membranda LOD ve LOQ sırasıyla 0,65 mg L^{-1} 0,20 mg L^{-1} olarak bulunmuştur. HMTD için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,21 mg L^{-1}'ve 0,064 mg L^{-1} olarak bulunmuştur. Nafyon membranda LOD ve LOQ 0,64 mg L^{-1} sırasıyla 0,19 mg L^{-1} ve 0,64 mg L^{-1} olarak bulunmuştur [71].

Kürsümüzde yapılan bir diğer çalışmada, ucuz ve sahada kullanımı kolay sensör geliştirilmiştir. Çalışma, TATP'nin kuvvetli asidik ortamda hidrojen peroksite hidrolizi sonrası Fe_3O_4 magnetit nanopartiküller varlığında oluşan hidroksil radikallerinin DMPD reaktifi ile tayin edilmesi esasına dayanır. Reaksiyon sonucu oluşan $DMPD^+$ radikal katyonunun rengi 554 nm dalgaboyunda ölçülmüştür. Yöntemin LOD değeri ise 0,47 mg L^{-1} olarak bulunmuştur [116].

2.5.1.2. Floresans Spektroskopisi ile Tayinler

Floresans sönümleme esasına dayanan yapılan bir çalışmanın temeli, asetat tampon çözeltisinde (pH 3,09) floresansı olmayan bir bileşik oluşturmak için H_2O_2'nin 3,3'-dietiloksadikarbosiyanin iyodür ile reaksiyonuna dayanır. Yöntemde eksitasyon dalga boyu 570 nm, emisyon dalga boyu 604 nm'dir. Lineer çalışma aralığı $5 \times 10^{-7} - 9 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} aralığındadır. Önerilen yöntem yağmur suyu örneklerinde H_2O_2 tayini için başarılı şekilde uygulanmıştır [117].

Borilbenzil alkol, düşük bir floresans bileşik oluşturmak için florofor kumarine bağlanır. Hidrojen peroksitle muamele sonucu, deboronasyon süreci yüksek floresans özellik gösteren kumarin ve emisyon artışı ile sonuçlanır [118].

2.5.2. Kromatografik Yöntemler

2.5.2.1. Sıvı Kromatografisi ile Tayinler

5-Br-PADAP ligandı kullanarak yapılan çalışmada, ters faz likit kromatografisi kullanılarak Titanyum (IV) ve Vanadyum (V)'un H_2O_2 ile üçlü kompleksi oluşturularak hidrojen peroksitin tayini yapılmıştır. Yöntemde mobil faz olarak 5-Br-PADAP ve TBA^+Br^- eklenmiş metanol:su (80:20, v/v) karışımı kullanılmıştır. TBA^+Br^- eklenmesiyle sabit fazdaki silanol gruplarıyla etkileşme sonucu iyon değişimi sağlanarak pik alanın büyümesi amaçlanmıştır. Titanyum kompleksinın daha kararlı olması için mobil faz olarak asetonitril yerine metanol seçilmiştir. Vanadyum (V) komplekslerinde böyle bir bozucu etki görülmediğinden mobil faz olarak asetonitril:su (50:50, v/v) karışımı kullanılmış ve bazik ortamda pik simetrisi bozulduğu için

mobil fazın pH'sı perklorik asit ile 1,8'e ayarlanmıştır. Elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında bu yöntem V(V)-H_2O_2-(5-Br-PADAP) üçlü kompleksi için çok daha hassastır [119].

2.5.2.1. Gaz Kromatografisi ile Tayinler

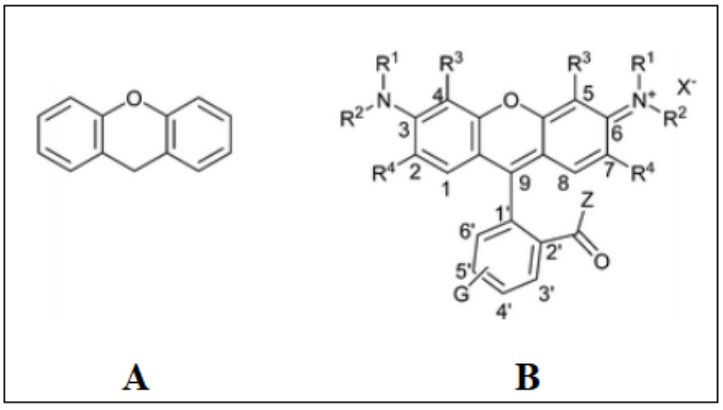
Patlama öncesi ve sonrası TATP'nin eser miktarda tayini için geliştirilen yöntemde, öncelikle önderişiklendirme işlemi için katı faz mikroekstraksiyonu (SPME) yapılmış olup GC-MS analizi yapılmıştır. TATP buharlarını tutmak için Polidimetilsiloksan fiber kullanılmıştır ve daha sonra GC-MS sistemine enjekte edilmiştir. Analiz SIM modunda m/z 43, 58, 211 iyonları seçilerek gerçekleştirilmiştir. TATP için LOD değeri 5 ng olarak bulunmuştur [120].

2.5.3. Voltametrik Yöntemler

MnO_2 katkılı karbon pasta elektrotu (CPE) ile yapılan yeni bir hidrojen peroksit çalışmasında potansiyometrik sensör olarak kullanıldı. Optimum koşullar altında, elektrot $3{,}00 \times 10^{-7} – 3{,}63 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} konsantrasyon aralığında çalışılmıştır ve LOD değeri $1{,}2 \times 10^{-7}$ M olarak bulunmuştur [121].

2.6. RODAMİNİN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

Rodamin boyaları, eosin ve floresin boyaları ile birlikte ksanten ailesine ait floroforlardır. Ksanten kromoforunun ve rodamin boyalarının genel yapıları Şekil 2.4.'de gösterilmektedir [122].



Şekil 2.4: Ksanten (A) ve rodamin boyaların (B) molekül yapıları (G= ester, bir alkil klorür, sülfonil klorür veya izosiyanat fonksiyonel grupları).

Rodaminler, mükemmel fotofiziksel özellikleri ve fotostabiliteleri sayesinde nanopartiküllerde, pigmentlerde, lazer boyalarda, polimerlerin yüzeyini karakterize etmek için floresan probları

olarak kullanılmaktadır. Ayrıca moleküler anahtarlar olarak ve Hg(II), Cu(II), Fe(III), Cr(III) gibi iyonların belirlenmesinde de kemosensör olarak kullanılmaktadırlar [123,124].

2.6.1. Rodaminlerin Fotofiziksel Özellikleri

Ksanten halkasına bağlı olan R_1, R_2, R_3, R_4, G ve karşı iyon X^- grupları olan rodamin boyalarının sulu çözeltide kuantum verimi, floresans zamanı ve maksimum absorpsiyon ve emisyon olmak üzere çok farklı fotofiziksel özellikleri mevcuttur [122]. Bu farklılıklar ışımasız deaktivasyon ve iç dönüşüm olayları ile açıklanır. İç dönüşümün hem aktif hem de aktif olmayan bileşeni vardır [125]. İç dönüşüm, uyarılmış haldeki bir atom çekirdeğinin alt atomik yörüngelerden birinde bulunan bir elektron ile etkileşerek ona enerji aktarması ve elektronun atomdan yayınlanmasına sebep olması olayıdır.

2.6.2. Literatürde Rodamin Türevlerinin Sentez Çalışmaları

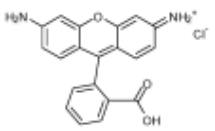
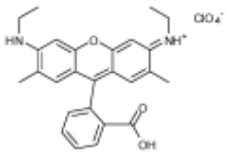
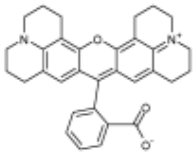
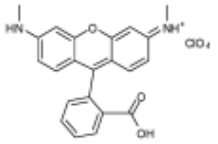
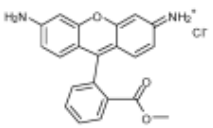
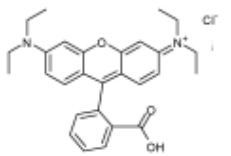
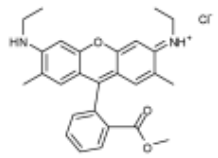
Floresans prob olarak kullanılan rodamin türevlerinin üç tip modifikasyonu bulunmaktadır:

1- Ksanten molekülünün 3 ve 6 pozisyonlarındaki amino gruplarının modifikasyonu,

2- Karboksifenil halkasının 4’ ve/veya 5’ konumlarındaki modifikasyonu,

3- 2’ Konumundaki karboksilik asit grubunun modifikasyonu (Şekil 2.4).

Bazen fonksiyonlaştırılmış reaktifler kullanılarak kondenzasyon reaksiyonuyla doğrudan rodamin türevleri hazırlanabilir. Buna rağmen bazı çalışmalarda ticari olarak temin edilebilen rodamin boyaların modifikasyonu gerekir. Şekil 2.5’de ticari olarak temin edilebilen rodamin boyaları yer almaktadır [122].

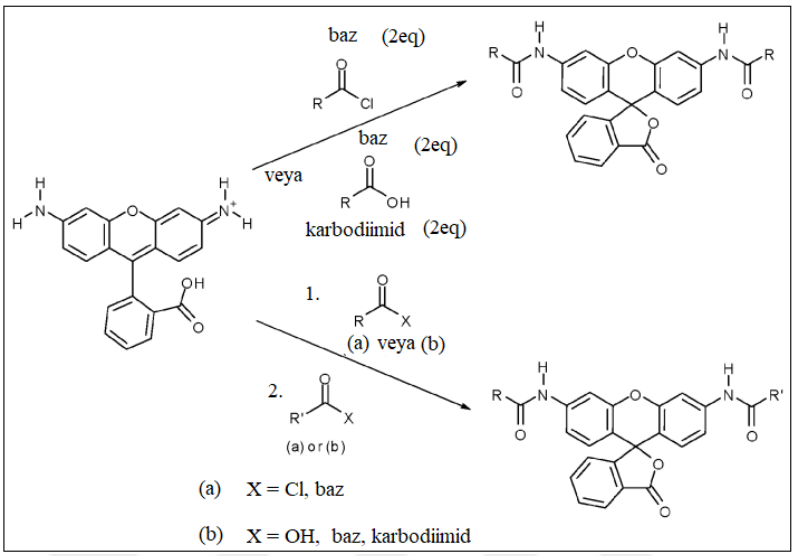
Rod 110	
Rod 19	
Rod 101	
Rod 116	
Rod 123	
Rod B	
Rod 6G	

Şekil 2.5: Ticari olarak temin edilebilen bazı rodamin boyaları.

2.6.2.1. Ksanten halkasındaki amino grubunun modifikasyonu (Rodamin 110 boyası)

Bu boyalarda fotofiziksel özellikleri değiştiren hatta bazı durumlarda floresans özelliğinin kaybına yol açan etkenlerden birisi amino grubunun fonksiyonlaştırılmasıdır. Bu özellikten yararlanılarak latent (gizli) floroforlar sentezlenmektedir [122]. Örneğin; canlı hücrelerde organometalik kataliz [126], biyomedikal görüntüleme [127] ya da küçük moleküllerin [128] canlı olarak tespit edilmesi ile enzimatik aktivite çalışmalarında latent floroforlar olarak kullanılmak üzere yeni rodamin türevleri sentezlenmiştir. Bunlar arasında alkil grubu taşımayan ve ondan dolayı amino grupları kimyasal reaksiyonlara açık olan Rodamin 110 boyası en çok kullanılanıdır.

Bunlar bir açil klorür veya karboksilik asit ile karbodiimid kullanarak yapılan reaksiyonları ile modifiye edilir. Şekil 2.6'da görüldüğü gibi Rodamin 110'un simetrik ve asimetrik modifikasyonunun her ikiside bu prosedür kullanılarak yapılabilir [122].



Şekil 2.6: Rodamin 110'un simetrik ve asimetrik modifikasyonu.

Her iki amino gruplarının modifikasyonundan kaynaklanan istenmeyen sterik etkileşimler fenolik oksijenin nükleofilliğini artırmaya ve lakton oluşuma yol açar. Bunun sonucu olarak, kromoforun konjugasyon sistemi bozulur ve rodamin türevi floresans özelliğini kaybeder [122].

Rodamin 110, sentetik substrat olarak kullanmak adına mükemmel bir aday olarak gösterilmiştir. Yüksek floresans özelliğine sahip olan boya substrat olarak kullanıldığında floresans özelliğini kaybeder ve elektromanyetik ışını spektrumun görünür bölgesinde absorplar ve yayar. Amit bağları aynı zamanda çok iyi ayrılan bir gruptur. Amit bağlarının ayrılmasıyla konjugasyon derecesinde büyük bir artış olur. Bu nedenle, Rodamin 110 boyasının birçok bissübstitüe peptit türevleri sentezlenmiş ve enzimatik aktivite çalışmalarında kullanılmıştır [129-131].

2.7. SENSÖRLER

Sensör kelimesi Türkçe'ye algılayıcı olarak geçmektedir ve istenilen analitin aktivitesini veya konsantrasyonunu ölçen sistemler olarak nitelendirilmektedir. Son yıllarda finansal yatırımlar ve bilimsel çalışmalar alanlarında sensör çalışmaları gittikçe artmıştır [132].

2.7.1. Kimyasal Sensörler

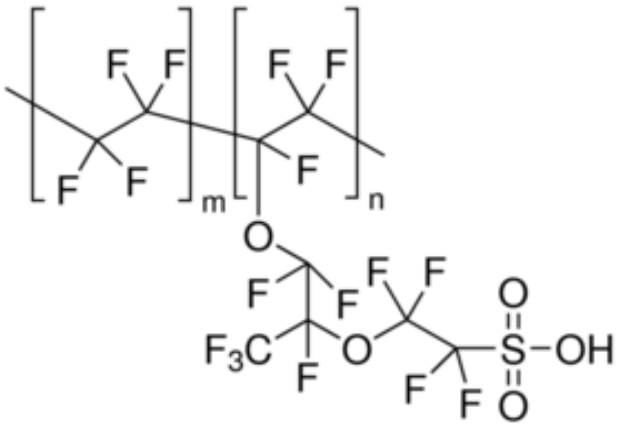
Kimyasal sensörler, seçici olarak hedef analite cevap veren, analizlerde hassasiyeti ve duyarlılığı artırmak için kullanılan cihazlardır [133]. Alıcı ve dönüştürücü olmak üzere iki fonksiyonel kısımdan oluşurlar [134]. Sensörü oluşturan film ya da membranın, bileşimi ya da formu sensörün duyarlılığı, cevap süresi, seçiciliği ve ömrü bakımından önemlidir. Film üzerindeki fonksiyonel gruplar ile analitin tayini yapılır. Bundan dolayı sensörün yapısı da çok önemlidir [132]. Dönüştürücü ise gelen sinyallere cevap vererek elde edilen analitin miktarını sinyal büyüklüğüne çevirir [133].

Kimyasal sensörlerin, alıcı kısımları fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal gibi çeşitli prensiplere bağlıdır [135]. Kimyasal sensörleri dönüştürücü kısmına göre; elektrokimyasal, optik, kütleye bağlı ve ısıya dayalı sensörler olmak üzere dört farklı şekilde sınıflandırmak mümkündür.

2.7.1.1. Optik sensörler

Bu sensörler genellikle uygun reaktiflerin çeşitli membranlara tutturulması ile oluşturulmaktadır. Son yıllarda sık kullanılan optik kimyasal sensörlerin çalışma mekanizması immobilize ligand ile metal arasındaki reaksiyon sonucu oluşan renk ile sağlanmaktadır [58]. Optik sensörlerde reaktifin membran üzerine tutturulması için nafyon filmler tarafından yakalama, kovalent olarak bağlama ve reçine ile elektrostatik etkileşme gibi yöntemler mevcuttur [59].

Tetrafloroetilenin sülfolanmasıyla oluşturulmuş bir sentetik polimer olan Nafyon ($C_7HF_{13}O_5S.C_2F_4$) (Şekil 2.7), iyonik özelliğe sahiptir. Sensörleri oluşturmada destek maddesi olarak Nafyon sıklıkla kullanılmaktadır [59].



Şekil 2.7: Nafyonun yapısı.

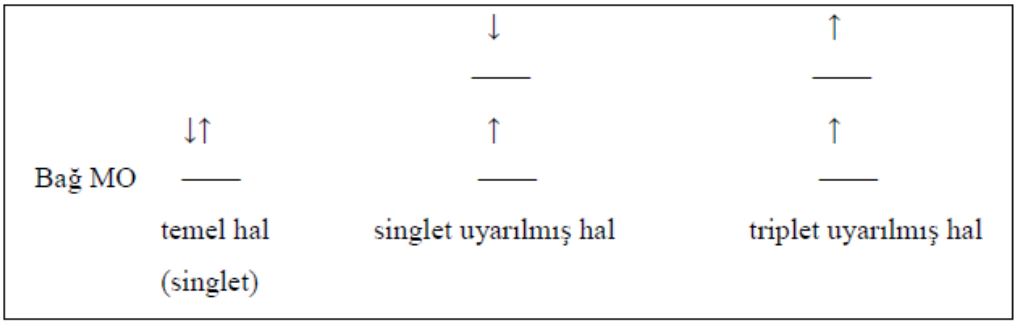
2.8. FLORESANS

2.8.1. Floresans Spektroskopisinin Temeli

Atom veya moleküllerin uyarıldıktan sonra temel hale dönerken fazla enerjisinin tamamını ya da bir kısmını ışıma enerjisi olarak geri vermesine yani sistemin emisyonuna genel olarak lüminesans denir. Uyarılmış türün seviyesine göre floresans ve fosforesans olmak üzere iki tür lüminesans vardır.

Pauli dışlama ilkesine göre, iki elektron aynı atom veya molekül içinde aynı kuantum mekanik durumuna sahip olamaz, yani dört kuantum sayısının hepsi elektron için özdeş olamaz. Zorunlu olarak zıt spinli olmak zorundadırlar. Diamanyetik moleküllerin manyetik alan gösterememe sebepleri işte bu spinlerin eşleşme durumlarındandır. Manyetik momenti olan bazı radikallerin ise eşleşmemiş elektronları vardır ve bunlar paramanyetik olarak adlandırılırlar.

Bir molekülde bulunan çift elektrondan biri uyarıldığında üst enerji seviyesine geçer ve burada singlet ve triplet hal denen spin durumları ortaya çıkar (Şekil 2.8). Uyarılan molekülün singlet halden dönerken yaptığı ışımalara floresans denirken, triplet halden yapılan ışımalara fosforesans denir.



Şekil 2.8: Bir molekülük bir çift elektronundan birinin uyarılması.

Florofor, molekülün floresans özellik göstermesi durumunda kullanılan bir tabirdir. Floresans olayının bazı kendine has özellikleri vardır. Stokes kayması örnek olarak verilebilir. Stokes kayması, floroforun en yüksek uyarma enerjisinden daha düşük bir enerji ile ışıma yayması olarak tanımlanır. Floresans; molekülün ışığı absorplamasından hemen sonra (yaklaşık 10^{-4} ile 10^{-8} saniye) olurken fosforesans daha uzun zaman alır (yaklaşık 10^{-4} saniyeden büyük). Ayrıca elektromanyetik ışıma olmaksızın, enerji transferi (energy transfer), sistemler arası geçişler (intersystem crossing: ISC), iç dönüşüm (internal conversion: IC) ve titreşimsel dinlenme (vibrational relaxation: VR) gibi bazı durumlar enerjinin kaybedilmesine neden olabilir [136,137].

2.8.1.1. Enerji Trasferi (Energy Transfer)

Uyarılmış olan bir molekül ve fazla enerjiyi alıcı durumunda olan diğer molekül arasında gerçekleşen olaydır. Burada fazla enerjisi olan molekül diğerine doğrudan ve ışıksız bir şekilde enerjisini aktarır ve temel hale döner.

2.8.1.2. Sistemler Arası Geçişler (İntersystem Crossing)

Uyarılmış moleküllerde görülen bu durumda, elektronun spini döner, singlet halden triplet hale geçer ve her iki durumda da enerjileri aynıdır (Örnek olarak brom ve iyot gibi moleküller verilebilir.).

2.8.1.3. İç Dönüşüm (İnternal Conversion)

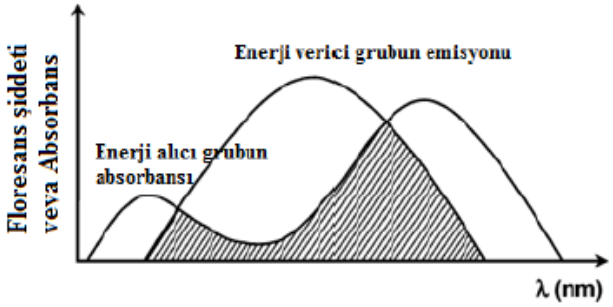
Bir molekül uyarıldığında iki elektronik durumun titreşim seviyelerinin aynı olması potansiyel enerjilerinin aynı olduğu anlamına gelir ve bu eşit potansiyele sahip iki titreşim seviyesindeki geçiş olmakla beraber burada elektron spini aynı yönde kalır.

2.8.1.4. Titreşimsel Dinlenme (Vibrational Relaxation)

Bir molekül uyarıldığında titreşim seviyelerinde meydana gelen değişiklikle beraber bu molekül çözücü molekülleriyle çarpışır ve temel hale iner. Bu durumda ışıma yerine sadece ısı açığa çıkar.

Floresans Rezonans Enerji Aktarımı (FRET):

FRET donör emisyon spektrumu ile diğer FRET akseptör absorbsiyon spektrumunun örtüşmesi sonucu donör grubun uyarılma enerjisi ışın emisyonu olmaksızın akseptör gruba transfer edilir (Şekil 2.9) [138].



Şekil 2.9: FRET mekanizması için spektral örtüşme.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN CİHAZLAR

Tez kapsamında; çözeltilerin hazırlanması aşamasında RADWAG marka Was 220X model analitik terazi, Velp marka vorteks karıştırıcı ve Sonorex marka ultrasonik banyo, inkübasyon işlemleri için Memmert marka su banyosu, bidistile su üretimi için Millipore Simpak 1 Synergy 185 bidistile su sistemi, 10-100 ve 100-1000 µL'lik Eppendorf marka mikropipet, sensörlerin hazırlanmasında BİOSAN, Bulti Bio RS-24 marka programlanabilir rotator, absorbans ölçümlerinde Varian Cary 100 Bio model UV-görünür alan spektrofotometresi ve ölçüm yapmak için HELMA marka 10 mm ışık yollu ve 2 mm ışık yollu birer çift kuartz küvet, florometrik yöntemde intensite ölçümleri için VARIAN Cary Eclipse spektroflorometresi ve ölçüm yapmak için HELLMA marka kuartz küvet, kromatografik analiz için ters faz ACE C18 kolon (4,6 x 250 mm, 5 mm), Waters 1525 Binary HPLC pompa, In-Line degazer, 2998 PDA dedektör kullanılmıştır.

3.2. KİMYASAL MADDELER

TNT, DNT, tetril, RDX, HMX, Kompozit B, oktol gibi kullanılan enerjetik materyaller Makine Kimya Endüstrisi Kurumu'ndan temin edilmiştir. Toprakta TNT tayini için kullanılmış olan RTC marka kumlu toprak (Clean Sandy Soil) Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir. Aseton, etanol, metanol, asetonitril, rodamin 110 klorür, dimetil sülfoksit, troloks, rosmarinik asit, kuersetin, gallik asit, rutin, askorbik asit, kafeik asit, glutatyon, potasyum persülfat, fetal bovin serum, neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), hidrojen peroksit, difenilamin, N-fenil-1-naftilamin, N,N-difenil-p-fenilendiamin, Nafyon® 115 perflürlenmiş membran (incelik 0.005 inç), titanil sülfat Sigma-Aldrich firmasından, ABTS ve (+)-kateşin Fluka firmasından, bakır (II) klorür dihidrat, amonyum asetat ve horseradish peroksidaz Merck firmasından temin edilmiştir.

3.3. TNT TAYİNİ İÇİN GELİŞTİRİLEN RODAMİN ESASLI FLOROMETRİK YÖNTEMİN UYGULANMASI

3.3.1.Çözeltilerin Hazırlanması

Geliştirilen yöntemde TNT'nin çalışma çözeltileri 500 mg L^{-1} olacak şekilde günlük olarak etanol ile hazırlanmıştır. Rodamin 110 klorür stok çözeltisi 5×10^{-7} M olacak şekilde günlük olarak etanol ile hazırlanmıştır.

3.3.2.TNT Tayini için Geliştirilen Rodamin Esaslı Florometrik Yöntemin Uygulanması

(500 − x) µL etanol çözeltisi ve x µL TNT çözeltisi içeren bir tüpe 20 µL baz (0,5 M NaOH) çözeltisi ve 2500 µL 5×10^{-7} M Rodamin 110 çözeltisi eklenip karıştırıldı. Floresans intensitesi süre beklemeden hemen kaydedilmiştir. Blank çözelti, TNT çözeltisinin yerini alan aynı hacimde çözücüden oluşmaktadır. Kalibrasyon grafiğini oluşturmak için sönümlenmiş floresans intensite değerleri TNT konsantrasyonuna karşı kaydedilmiştir.

Prosedür: x µL TNT + (500 − x) µL EtOH + 20 µL NaOH + 2,5 mL Rodamin 110

(λ_{ex} = 490 nm, λ_{em} = 521 nm)

3.3.3. Toprakta Yaygın Olarak Bulunan İyonların Varlığında TNT Tayini

Toprakta yaygın olarak bulunan NO_3^-, SO_4^{2-}, Cl^-, K^+, Mg^{2+}, ve Ca^{2+} iyonlarını içeren stok çözeltileri derişimleri 500 mg L^{-1} olacak şekilde etanol ile hazırlandı. Her biri TNT'nin yanında kütlece 1:1 ve 1:5 olacak şekilde TNT ile karıştırılıp etanol ile hazırlandı. Hazırlanan bu karışımlara TNT'nin analiz prosedürü uygulanarak TNT'nin % geri kazanım değerleri hesaplandı.

3.3.4. Kompleks Materyallerde TNT Tayini

Geliştirilen yöntem, başlangıç konsantrasyonu 500 mg L^{-1} olan TNT'nin, benzer yapıdaki enerjetik maddelerle (RDX, HMX, DNT ve PA) kütlece 1:1, 1:2, 1:5 ve 1:10 oranda olacak şekilde etanol ile hazırlanan ikili sentetik karışımlarına uygulandı. Ayrıca, yöntem kütlece 2:3 oranında TNT-RDX içeren Kompozit B ve kütlece 3:7 oranında TNT-HMX içeren Oktol karışımınlarına da uygulandı. Tüm sonuçların % geri kazanım değerleri hesaplandı.

Patlayıcıları taşınması sırasında kamuflaj aracı olarak kullanılan deterjan, şeker (temsili: D-(+)-glikoz) ve parasetamol-kafein bazlı ağrı kesici ilaçların yönteme girişim etkileri incelenmiştir. Başlangıç konsantrasyonu 500 mg L^{-1} olan TNT ile kütlece 1:1 oranında etanol çözücü ortamında hazırlanan her bir karışım çözeltisine geliştirilen yöntem uygulandı ve % geri kazanım değerleri hesaplandı.

3.3.5.Geliştirilen Yöntemin Yapay Olarak Kirletilmiş Toprak Örneklerine Uygulanması

Yanma sonrası TNT örneklerinin hazırlanması için 2 g toprak örneği 2,5 mL 500 mg L^{-1} TNT ile yapay olarak kontamine edilmiş ve bir gece açık havada kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan toprak örneği ultrasonik banyoda 10, 10 ve 5 mL'lik kısımlar halinde etanol ile yıkandı ve TNT'nin etanol fazına geçmesi sağlandı. Santrifüj edilerek topraktan ayrılan TNT ekstraktları kullanımdan önce 0,45 μm mikrofiltreden süzüldü. Toprak örneğinden ekstrakte edilen TNT, uygun seyreltmelerden sonra önerilen yöntem ve HPLC-DAD sistemi kullanılarak tayin edilmiştir.

3.3.6. Yöntem Validasyonu için TNT'nin HPLC ile Tayini

Geliştirilen yöntem ile HPLC yönteminin kıyaslanması için yanma sonrası toprak kalıntılarından ekstrakte edilen TNT kullanılmıştır. HPLC karşılaştırma yönteminin [3] uygulanması için, yanma sonrası toprak kalıntılarından ekstrakte edilen TNT etanol ile iki kat seyreltildi ve her iki (önerilen ve referans) yöntem kullanılarak analiz edilmiştir. Ters faz-HPLC analizi için, 254 nm saptama dalga boyunda 0,8 mL dk^{-1} akış hızında mobil faz olarak % 40 MeOH + % 60 H_2O (v/v) karışımı içeren izokratik bir elüsyon programı kullanıldı. Sonuçların istatistiksel karşılaştırması için etanol içinde günlük olarak hazırlanan 25 mg L^{-1} stok TNT çözeltisi ile HPLC kalibrasyon analizi yapıldı. Edilen sonuçlar t- ve F- testlerinin uygulanması için kullanılmıştır.

3.4.H_2O_2'NİN KOLORİMETRİK TAYİNİ İÇİN GELİŞTİRİLEN REDOKS ESASLI YÖNTEMİN UYGULANMASI

3.4.1.Çözeltilerin Hazırlanması

ABTS çözeltisi hazırlamak için; ABTS'den 0,096 g tartım alınıp su ile 25 mL'ye tamamlanarak 7 mM ABTS stok çözeltisi hazırlanmıştır. ABTS stok çözeltisi içine, son konsantrasyonu 2,45

mM olacak sekilde 0,0166 g potasyum persülfat ilave edilmiştir. Elde edilen ABTS radikal ($ABTS^{\cdot+}$) çözeltisi, 12-16 saat boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildikten sonra kullanılmıştır.

CUPRAC sensörünü hazırlamak için; Cu(II) klorür çözeltisi, 10 mM olacak sekilde bakır(II) klorür dihidrat'tan ($CuCl_2.2H_2O$) 0,4262 g tartım alınıp su ile 250 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) (Nc) çözeltisi, $7,5 \times 10^{-3}$ M olacak sekilde 0,039 g tartım alınıp etanol ile çözülüp 25 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Amonyum asetat (NH_4Ac) tamponu, 1 M (pH = 7,0) olacak sekilde NH_4Ac'dan 19,27 g tartım alınıp su ile 250 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Vidalı kapaklı deney tüpü içerisine hazırlanan bu çözeltilerden sırasıyla 2'şer mL ilave edilip toplam hacim 8 mL olacak şekilde distile su eklenmiştir. Daha önceden hazırlanmış Nafyon membranlar çözelti içerisine eklenerek 30 dakika süre ile karıştırma işlemi uygulanmıştır (CUPRAC sensörü: Nafyon membrana immobilize edilmiş Cu(II)-Nc).

Gıda örneklerini hazırlamak için; brokoli, ıspanak ve karnabahar gıda örneklerinden 0,2 g tartım alınarak mikrodalga ekstraksiyon cihazının rotorlarına yerleştirilmiş ve üzerine 20 mL % 80 MeOH-su karışımı eklenmiştir. Rotorlar mikrodalga ekstraksiyon sistemine yerleştirildikten sonra ekstraksiyon işlemi üç adımdan gerçekleştirilmiştir; 3 dakika süre ile maksimum 1500 W enerji verilerek sıcaklığın 80 °C'ye ulaşması sağlanmıştır, 5 dakika süre ile 80 °C sıcaklıkla ekstraksiyon işlemi yapılmıştır ve son olarak 5 dakika soğutma işlemi uygulanmıştır. Ele geçen örnekler 0,45 μm'lik membran filtrelerden geçirilerek analize hazır hale getirilmiştir. Diğer tüm antioksidanlar mutlak EtOH içinde hazırlanmıştır. Analizden önce brokoli örneği 10 kat, ıspanak örneği 27 kat ve karnabahar örneği 24 kat seyreltilmiştir. Ayrıca sentetik serum, analizden önce 38 kat seyreltilmiştir. H_2O_2 ve standart antioksidan içeren sentetik karışım çözeltileri, son konsantrasyonları aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

(1) 5 mM H_2O_2, 1 mM QR, 1 mM TR, 1 mM RT;
(2) 5 mM H_2O_2, 1 mM RA, 1 mM GA, 1 mM CAT;
(3) 5 mM H_2O_2, 1 mM AA, 1 mM CFA, 1 mM GSH;
(4) 5 mM H_2O_2, 1 mM DFA, 1 mM NFA, 1 mM NFD.

3.4.2.TATP'nin Sentezi ve Hidrolizi

TATP, çarpma, sürtünme ve sıcaklık değişimlerinde patlamaya neden olabilecek son derece tehlikeli bir malzeme olduğundan bu maddenin sentezi, kalifiye personel tarafından ve 100 mg'ı

geçmeyen küçük miktarlarda yapılmalıdır, çünkü yüksek miktarlar kendi kendine patlamaya neden olabilir [139]. TATP sentezi literatürde tarif edildiği gibi yapıldı [140].

TATP'yi H_2O_2'ye dönüştürmek için asidik hidroliz prosedürü literatüre göre [71] gerçekleştirilmiştir. 1 mL 250 ppm asetonda hazırlanmış olan TATP çözeltisi üzerine 2,75 mL 4 M HCl çözeltisi eklendi. H_2O_2 oluşumu için 5 dakika bekletildikten sonra 2,75 mL 4 M NaOH, 0,25 mL 0,1 M NaOH ve 2 mL 1 M NH_4Ac çözeltileri ile nötralize edilmiştir. Son olarak su ile 10 kat seyretilmiştir.

3.4.3.H_2O_2 Tayini için Uygulanan Yöntemler

3.4.3.1. Peroksidaz-ABTS yöntemi

Ön işlem olarak $ABTS^{\cdot+}$ içeren peroksidaz ABTS yöntemi literatüre [66] uygun şekilde yapılmıştır. Bu yöntemde, absorbans 0,1 − 0,3 aralığında olacak şekilde örneğe 0,2 mL sulu $ABTS^{\cdot+}$ çözeltisi (0,86 mM) eklenmiştir. Daha sonra H_2O_2 miktarını belirlemek için ön işleme tabi tutulan örneklere 100 µL HRP (100 mg mL^{-1}) ilave edilmiş ve çözelti karıştırılmıştır. Stabil bir renk elde etmek için 30 saniye bekledikten sonra absorbans metanole karşı 734 nm'de okunmuştur.

3.4.3.2. ABTS ön işlemli CUPRAC Sensörü

1,9 mL örneğe absorbans 0,1 − 0,3 aralığında olacak şekilde 0,4 mL 0,86 mM ABTS çözeltisi eklenmiştir. Daha önce hazırlanmış olan CUPRAC sensörü, 0,5 mL örnek + 7,5 mL EtOH olan 8 mL'lik örnek içeren tüpe daldırılmıştır. Tüp bir rotatora yerleştirilmiş ve renk gelişimini sağlamak için 30 dakika çalkalama işlemi uygulanmıştır. Sarı-turuncu renkli membran, su içeren 2 mm'lik bir optik küvete yerleştirilmiş ve 450 nm'de absorbans bir CUPRAC sensör blankına karşı okunmuştur.

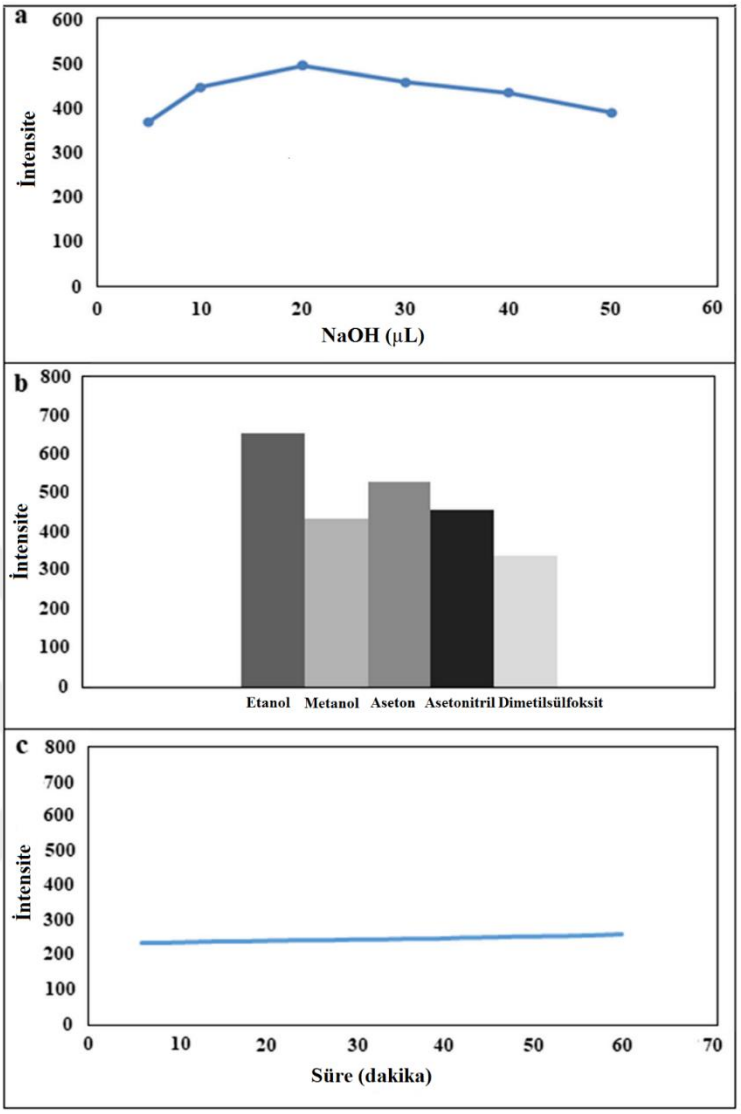
3.4.3.3. $TiOSO_4$ yöntemi

$TiOSO_4$ yöntemi [141], H_2O_2 içeren ancak antioksidan içermeyen ticari örneklerde (gıda sterilizasyon solüsyonu, saç ağartıcı ve beyazlatıcı diş macunu) H_2O_2 tayini için uygulanmış ve elde edilen sonuçlar geliştirilen sensör esaslı yöntemle karşılaştırılmıştır. $TiOSO_4$ için; x mL uygun şekilde seyreltilmiş örnek üzerine (5 − x) mL olacak şekilde su ve 2 mL derişik $TiOSO_4$ çözeltisi bir ilave edilmiş ve oluşan çözelti absorbansı 408 nm'de okunmuştur.

4. BULGULAR

4.1. TNT TAYİNİ İÇİN GELİŞTİRİLEN RODAMİN ESASLI FLOROMETRİK YÖNTEMİNİN OPTİMUM DENEY KOŞULLARININ BELİRLENMESİ

Geliştirilen florometrik TNT tayini için; baz hacmi, uygun çözücü ve inkübasyon süresi olmak üzere üç parametre optimize edilmiştir. Öncelikli olarak yöntemde Meisenheimer anyonu oluşturmak için kullanılacak baz miktarı belirlenmiştir. 0,5 M NaOH çözeltisinden 5 − 50 µL aralığında farklı hacimlerde alınıp 5×10^{-7} M Rodamin 110'a eklenerek floresans intensitesi ölçülmüştür ve optimum baz miktarının 20 µL NaOH olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1a). Optimizasyonun ikinci kısmında Rodamin 110 boyası beş farklı çözücüde hazırlanarak floresans intensiteleri ölçülmüştür. En uygun çözücünün EtOH olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1b). Burada etanolün en iyi çözücü olmasının; arttırılmış floresan kuantum veriminden [142] ve boya polimerlerinin agregasyonunun önlenmesinden, yani monomerlere ayrışma kabiliyetinden kaynaklandığı düşünülmektedir [143]. Son aşamada ise, Rodamin 110 − TNT arasındaki inkübasyon süresi için, iki çözelti karıştırılıp 60 dakika süren bir kinetik çalışma yapılmış ve iki çözelti karıştırıldıktan hemen sonra Rodamin 110'un floresansının hızla sönümlendiği ve 60 dakika boyunca stabil kaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.1c).



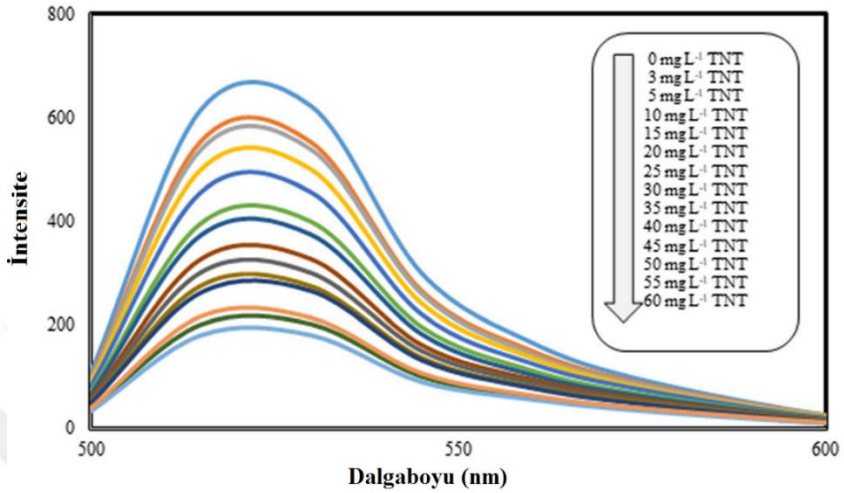
Şekil 4.1: Geliştirilen yönteme (a) NaOH hacmi (b) çözücü türü ve (c) inkübasyon süresinin etkisi.

4.2. TNT TAYİNİ İÇİN GELİŞTİRİLEN RODAMİN ESASLI YÖNTEMİN UYGULANMASI

Rodamin 110, uygun bir Stokes kaymasına ve 7,6 × 10^4 M^{-1} cm^{-1}'lik büyük bir molar (floresans) katsayısına sahip olup, 0,88'lik yüksek kuantum veriminden [144] dolayı seçilmiştir. Spektroflorometre cihazının tayin sınırları arasında 5 × 10^{-7} M Rodamin 110'un floresans özelliği incelenmiş ve eksitasyon dalga boyu 490 nm ve emisyon dalga boyu 521 nm olarak belirlenmiştir.

4.2.1. Rodamin Esaslı Florometrik Yöntem ile TNT Tayini Sonuçları

Son konsantrasyonu 0 − 60 mg L^{-1} aralığında olacak şekilde EtOH ile hazırlanmış TNT çözeltileri için çalışma doğrusu oluşturulmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: 0 mg L^{-1} (referans) - 60 mg L^{-1} TNT çalışma aralığında Rodamin 110'un floresans spektrumu.

Geliştirilen yöntemde TNT için elde edilen kalibrasyon grafiğinin lineer denklemi;

$\Delta I = 47{,}247\ C + 74{,}81\ (R^2 = 0{,}9804)$ olarak bulunmuştur (Şekil 4.3).

Burada ΔI; Rodamin 110'un TNT varlığında ve yokluğunda sönünmlenen intensite farkını, C; ppm (mg L^{-1}) cinsinden konsantrasyonu belirtmektedir. ΔI'nın hesaplanması eşitlik (4.1)'e göre yapılmıştır.

$$\Delta = I_0 - I \tag{4.1}$$

(I_0= Blank Rodamin 110 floresansı, I= Örnek içeren Rodamin 110 floresansı)

Belirtme Sınırı, LOD = 0,71 mg L^{-1}

Tayin Sınırı, LOQ = 2,38 mg L^{-1}

$$(LOQ = \frac{10}{3} LOD'dir.) \tag{4.2}$$

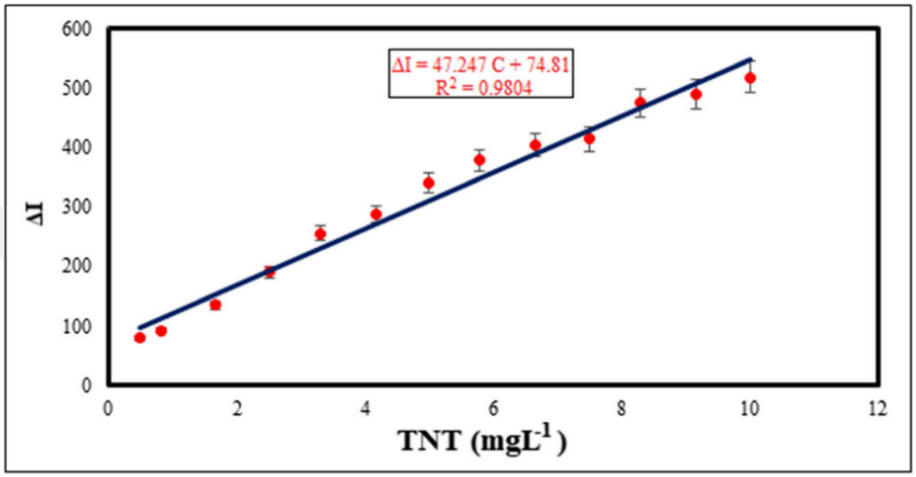
(σ_{bl} = boş çözeltinin standart sapması olmak üzere;

Belirtme Sınırı:

$$LOD = 3\ \frac{\sigma bl}{m} \tag{4.3}$$

Tayin Sınırı:

$$LOD = 10\ \frac{\sigma bl}{m} \tag{4.4}$$



Şekil 4.3: TNT'nin kalibrasyon grafiği.

4.2.2. Toprakta Yaygın Olan İyonların, Kompleks Materyallerin ve Kamuflaj Malzemelerinin TNT Tayinine Etkisinin Sonuçları

Geliştirilen florometrik yöntem ile, beraberinde bulunabilecek türlerin (ortak iyonlar, benzer patlayıcılar ve kamuflaj malzemeleri) TNT'nin belirlenmesi üzerindeki olası girişim etkileri değerlendirilmiştir.

i) Toprakta bulunabilen ortak iyonların tayine etkisi

Toprakta yaygın olarak bulunan NO_3^-, SO_4^{2-}, Cl^-, K^+, Mg^{2+}, ve Ca^{2+} iyonları TNT'nin yanında kütlece 1:1 ve 1:5 olacak şekilde hazırlanmış ve 490 nm'de uyarıldıktan sonra 521 nm'deki intensite ölçümleri yapılarak TNT geri kazanımları hesaplanmıştır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Toprakta yaygın olarak bulunan interfere edici iyonların varlığında % TNT geri kazanımları.

İnterfere edici iyonlar	Kütle oranı	% Geri kazanım
Cl^-	1:1	99,6
	1:5	99,9
Ca^{2+}	1:1	99,6
	1:5	99,9
SO_4^{2-}	1:1	102,0
	1:5	101,5
NO_3^-	1:1	100,2
	1:5	100,7
K^+	1:1	100,2
	1:5	100,7
Mg^{2+}	1:1	102,0
	1:5	101,5

ii) Benzer nitro-patlayıcıların tayine etkisi

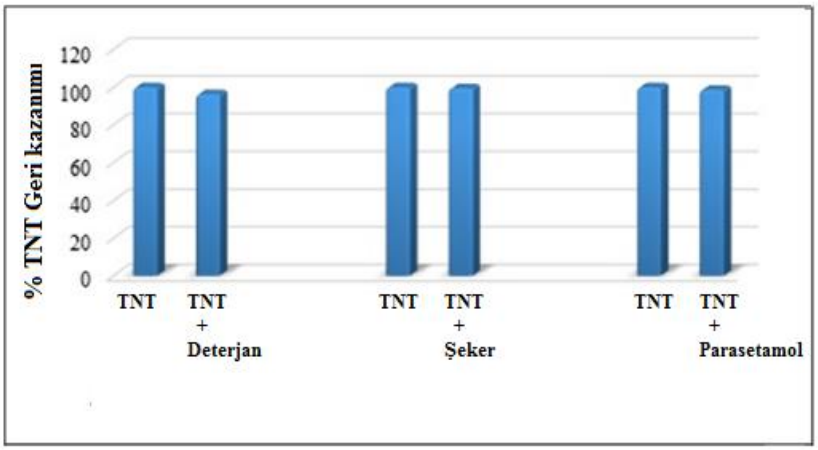
TNT'nin; RDX, HMX, DNT ve PA ile kütlece 1:1, 1:2, 1:5, 1:10 oranda ayrı ayrı olacak şekilde hazırlanan sentetik karışımların ve referans örneğin 490 nm'de uyarıldıktan sonra 521 nm'deki intensite ölçümleri yapılarak % geri kazanımları hesaplanmıştır (Tablo 4.2). Ayrıca yöntem, kütlece 2:3 oranında TNT-RDX içeren Kompozit B ve kütlece 3:7 oranında TNT-HMX içeren Oktol karışımına da uygulanmıştır.

Tablo 4.2: TNT ile enerjetik malzemelerin karışımlarının analizi sonucu elde edilen % TNT geri kazanımları.

Enerjetik malzeme karışımı	Kütle oranı	% Geri kazanım
TNT (8,33 mg L^{-1}) + RDX (8,33 mg L^{-1})	1:1	100,7
TNT (8,33 mg L^{-1}) + RDX (16,67 mg L^{-1})	1:2	103,9
TNT (8,33 mg L^{-1}) + RDX (41,66 mg L^{-1})	1:5	102,8
TNT (8,33 mg L^{-1}) + RDX (83,33 mg L^{-1})	1:10	106,1
Kompozit B	2:3	100,2
TNT (8,33 mg L^{-1}) + HMX (8,33 mg L^{-1})	1:1	100,4
TNT (8,33 mg L^{-1}) + HMX (16,67 mg L^{-1})	1:2	100,4
TNT (8,33 mg L^{-1}) + HMX (41,66 mg L^{-1})	1:5	104,1
TNT (8,33 mg L^{-1}) + HMX (83,33 mg L^{-1})	1:10	106,3
Oktol	3:7	97,2
TNT (8,33 mg L^{-1}) + DNT (8,33 mg L^{-1})	1:1	101,3
TNT (8,33 mg L^{-1}) + DNT (16,67 mg L^{-1})	1:2	100,8
TNT (8,33 mg L^{-1}) + DNT (41,66 mg L^{-1})	1:5	103,4
TNT (8,33 mg L^{-1}) + DNT (83,33 mg L^{-1})	1:10	102,8
TNT (8,33 mg L^{-1}) + PA (8,33 mg L^{-1})	1:1	102,1
TNT (8,33 mg L^{-1}) + PA (16,67 mg L^{-1})	1:2	101,9
TNT (8,33 mg L^{-1}) + PA (41,66 mg L^{-1})	1:5	104,7
TNT (8,33 mg L^{-1}) + PA (83,33 mg L^{-1})	1:10	105,2

iii) Kamuflaj malzemelerinin tayine etkisi

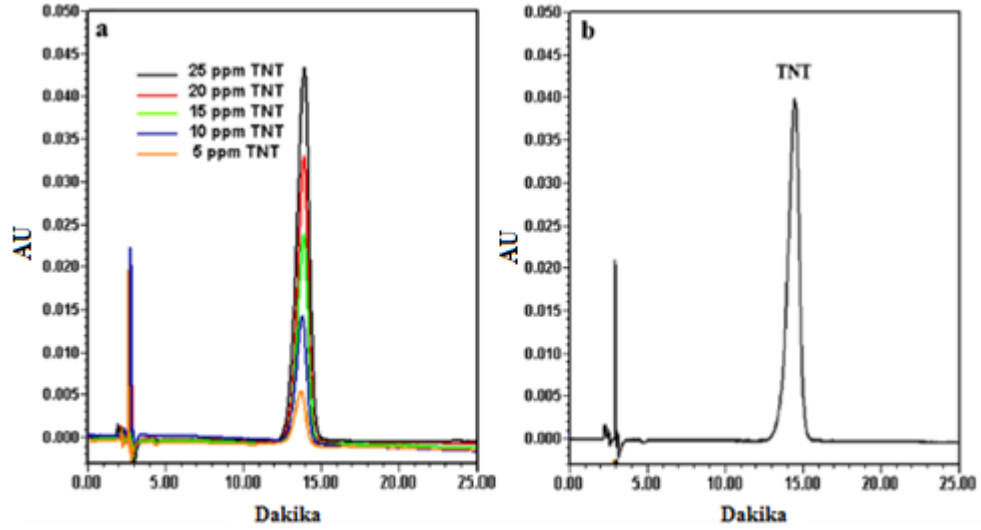
Enerjetik maddeleri kamufle etmek amacıyla kullanılan deterjan, şeker ve parasetamol-kafein bazlı analjezik ilaçlar 1:1 kütle oranında TNT ile karıştırılarak EtOH ortamında hazırlanan karışımlar 490 nm'de uyarıldıktan sonra 521 nm'deki intensite ölçümleri kullanılarak hesaplanan % TNT geri kazanımları Şekil 4.4'de gösterilmiştir.



Şekil 4.4: Kamufle edici malzemelerin varlığında % TNT geri kazanımları.

4.2.3. Toprak Örneğinden TNT'nin Geri Kazanımı ve HPLC ile Geliştirilen Yöntemin Doğrulanması

Literatürde varolan HPLC yöntemi [3] kıyaslama amacıyla kullanlmış ve 25 mg L^{-1} stok çözeltiden 5 − 25 mg L^{-1}'ye EtOH ile seyreltilen TNT örneklerine HPLC yöntemi uygulanarak çalışma doğrusu elde edilmiştir (Şekil 4.5a). HPLC–DAD sistemine göre TNT için elde edilen kalibrasyon grafiğinin lineer denklemi: $A= 81.838\ C_{TNT} - 45.115$ (R^2 = 0,9979) olarak bulunmuştur. Burada A: pik alanını ve C: analit konsantrayonunu (mg L^{-1}) temsil etmektedir. Toprak ekstraktındaki TNT'nin HPLC kromatogramları Şekil 4.5b'de gösterilmiştir.



Şekil 4.5: TNT'nin (a) 5 − 25 mg L^{-1} konsantrasyon aralığında (b) toprak ekstraktında HPLC kromatogramları.

Derişimi 50 mg L^{-1} olacak şekilde toprak örneğinden ektrakte edilen TNT örneğine *F*-testi karşılaştırması için hem geliştirilen yöntem hem de HPLC yöntemi beş tekrar olacak şekilde uygulanmıştır. İstatistiksel olarak *F*- testinin uygulanması sonucunda doğruluk ve kesinlik açısından sonuçlar arasında % 95 güvenilirlik düzeyinde anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: TNT tayininde geliştirilen yöntem ve HPLC yöntemlerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması.

Yöntem	Beklenen TNT (mg L^{-1})	Bulunan TNT (mg L^{-1})	% Geri kazanım
Geliştirilen Yöntem	50	52,24	104,5
HPLC (Referans Yöntem)	50	53,59	107,2

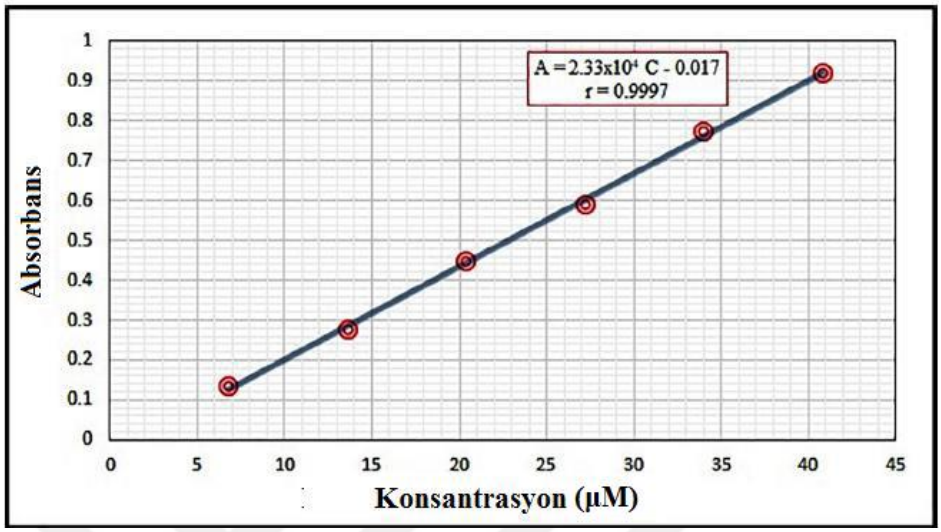
($P = 0.05$, $F_{deneysel} = 2.82$, $F_{kritik\ (tablo)} = 6.39$, dolayısıyla $F_{deneysel} < F_{kritik\ (tablo)}$).

4.3. H_2O_2'NİN KOLORİMETRİK TAYİNİ İÇİN GELİŞTİRİLEN REDOKS ESASLI YÖNTEMİN ANALİTİK SONUÇLARI

4.3.1. ABTS ön işlemli CUPRAC Sensörü ile H_2O_2 Tayini

Geliştirilen optik sensör kullanılarak trolox varlığında H_2O_2 için elde edilen kalibrasyon grafiğinin lineer denklemi; $A_{450} = 2{,}33\ x\ 10^4 C - 0{,}017\ (r = 0{,}9997)$ olarak bulunmuştur (Şekil 4.6). Denklemde A: Absorbansı ve C: Molar konsantrasyonu belirtmektedir. Belirtme Sınırı, LOD = 0,33 mM, tayin Sınırı, LOQ = 1,0 mM (LOQ = 10/3 LOD) olarak bulunmuştur.

H_2O_2 için lineer çalışma aralığı 2,9 ila 86,6 µM aralığındaki absorbans değerleri, konsantrasyonla doğrusal bir korelasyon göstermiştir.



Şekil 4.6: Geliştirilen optik sensörle oluşturulan H_2O_2'nin kalibrasyon grafiği.

Yöntemin kesinliğini ve geri kazanımını araştırmak amacıyla brokoli ekstraktlarına ve sentetik seruma bilinen miktarlarda H_2O_2 (27,2 ve 40,8 µM) eklenmiş ve geliştirilen sensör ile H_2O_2 miktarı belirlenmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: Brokoli ekstraktına ve seruma H_2O_2 katkısı ile elde edilen sonuçlar (N = 3).

Brokoli ekstraktına H_2O_2 katkısı	Eklenen kons. (µM)	27,2
	Ortalama (µM)[a]	25,4
	S.D.[b]	1,5
	R.S.D.[c]	6,1
	% Geri kazanım	93,4
Brokoli ekstraktına H_2O_2 katkısı	Eklenen kons. (µM)	40,8
	Ortalama (µM)[a]	40,9
	S.D.[b]	1,2
	R.S.D.[c]	3,1
	% Geri kazanım	100,2
Sentetik seruma H_2O_2 katkısı	Eklenen kons. (µM)	27,2
	Ortalama (µM)[a]	26,6
	S.D.[b]	0,1
	R.S.D.[c]	0,30
	% Geri kazanım	97,8
Sentetik seruma H_2O_2 katkısı	Eklenen kons. (µM)	40,8
	Ortalama (µM)[a]	41,0
	S.D.[b]	3,2
	R.S.D.[c]	7,8
	% Geri kazanım	100,5

Ortalama ve % geri kazanım eklenen H_2O_2 konsantrasyonu esas alınarak hesaplandı.
[a] Ortalama.
[b] Standart sapma.
[c] Bağıl standart sapma.
[d] Geri kazanım.

4.3.2. Sentetik Antioksidan Karışımları Varlığında H_2O_2'nin Tayini

Geliştirilen optik sensör kullanılarak, antioksidan bileşiklerin standart çözeltilerinden farklı kombinasyonlarda hazırlanan üçlü sentetik karışımların H_2O_2 içeriği mM olarak bulunmuştur (Denklem 4.5).

$$Deneysel\ Hidrojen\ Peroksit\ (mM) = \frac{Absorbans \pm Kayım}{\varepsilon_{H2O2}} \quad (4.5)$$

Bölüm 3.4.1'de belirtilmiş olan 1, 2 ve 3 numaralı sentetik karışımları hazırlanırken genellikle gıdalarda ve biyolojik sıvılarda bulunan antioksidanlar seçilmiştir. 4 numaralı sentetik karışım için seçilen antioksidanlar ise patlayıcıların bozunmasını önlemek için kullanılan amin tipi antioksidanlardır (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Geliştirilen sensör ile sentetik antioksidan karışımlarının varlığında teorik olarak beklenen ve deneysel olarak bulunan H_2O_2 konsantrasyonlarının karşılaştırılması (N = 3).

Sentetik karışımlar	**Beklenen kons. (H_2O_2 (mM))**	**Deneysel olarak bulunan kons. (H_2O_2 (mM))**
Sentetik karışım 1 (H_2O_2, QR, TR, RT)	5,00	5,38 ± 0,32
Sentetik karışım 2 (H_2O_2, RA, GA, CAT)	5,00	5,30 ± 0,37
Sentetik karışım 3 (H_2O_2, AA, CFA, GSH)	5,00	4,95 ± 0,21
Sentetik karışım 4 (H_2O_2, DFA, NFA, NFD)	5,00	5,28 ± 0,35

Beklenen ve bulunan konsantrasyon değerleri ANOVA testine gore karşılaştırılmıştır.
($P = 0.05$, $F_{deneysel} = 5.74$, $F_{kritik\ (tablo)} = 10.13$, $F_{deneysel} < F_{kritik\ (tablo)}$).

4.3.3.Girişim Yapıcı Maddeler Varlığında H_2O_2'nin Tayini

Geliştirilen sensörle H_2O_2'nin tayini sırasında örneklerde yaygın olarak bulunan türlerin olası girişim etkileri incelenmiştir. Burada son konsantrasyonu 6,8 mM olan H_2O_2 yanında Ni^{2+}, Co^{2+}, Mn^{2+}, Pb^{2+} ve Cd^{2+} iyonlarının 100 kat; üre, oksalat, tartarat, sitrat, glukoz, fruktoz, galaktoz, malik asit ve fumarik asidin 1000 kat bulunduğu çözeltilere yöntem bilindiği şekilde uygulanmıştır (Tablo 4.6). Geliştilen sensör, 100-1000 kat bulunan interferansın varlığından etkilenmemiş ve tayin başarılı şekilde yapılmıştır. Öte yandan Peroksidaz-ABTS referans yönteminde ise peroksidaz enziminin ağır metaller ve pestisitlerin varlığında inaktif olduğu

bildirilmiştir [72-74]. Ayrıca enzimlerin kullanımı, yüksek maliyetleri ve depolama güçlükleri nedeniyle tercih edilmemektedir.

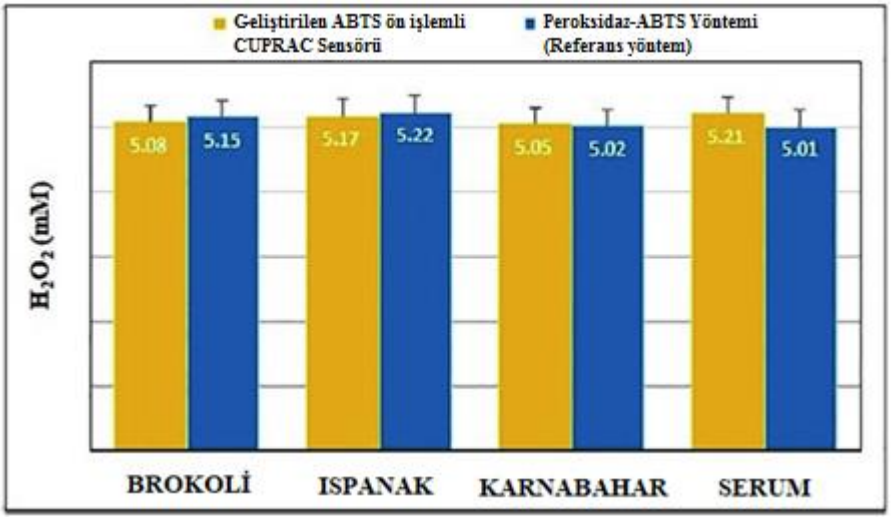
Tablo 4.6: H_2O_2 tayini sırasında girişim yapıcı maddelerin geliştirilen sensöre etkileri.

İnterferan	**İnterferan / H_2O_2 mol oranı**	**Geliştirilen sensöre girişim etkisi (varlığında (+) veya yokluğunda (-)**
Ni^{2+}	100	-
Co^{2+}	100	-
Mn^{2+}	100	-
Pb^{2+}	100	-
Cd^{2+}	100	-
Üre	1000	-
Oksalat	1000	-
Tartarat	1000	-
Sitrat	1000	-
Glukoz	1000	-
Fruktoz	1000	-
Galaktoz	1000	-
Malik asit	1000	-
Fumarik asit	1000	-

(H_2O_2 son konsantrasyonu 6,88 μM)

4.3.4.Gıda ekstraktları, sentetik serum ve ticari ürünler varlığında H_2O_2'nin Tayini

Gıda ekstraktlarına (brokoli, ıspanak, karnabahar) ve sentetik seruma 5 mM H_2O_2 eklendikten sonra, hidrojen peroksit içerikleri hem geliştirilen sensörle hem de referans yöntem olarak seçilen Peroksidaz-ABTS yöntemi ile belirlenmiştir (Şekil 4.7).



Beklenen ve bulunan konsantrayon değerleri ANOVA testine gore karşılaştırılmıştır.
($P = 0,05$, $F_{deneysel} = 0,20$, $F_{kritik\ (tablo)} = 10,13$, $F_{deneysel} < F_{kritik\ (tablo)}$).

Şekil 4.7: 5 mM H_2O_2 katkılı gıda ekstraktlarının ve sentetik serumun geliştirilen ABTS ön işlemli CUPRAC sensörü ve Peroksidaz-ABTS yöntemi ile bulunan H_2O_2 içerikleri (mM) (N = 3).

Geliştirilen sensör ile bulunan mM H_2O_2 değerleri ile peroksidaz-ABTS yöntemiyle bulunan sonuçlar uyumlu bulunmuştur. İstatistiksel olarak her iki yöntemle elde edilen sonuçlar % 95 güven düzeyinde birbiriyle uyumlu bulunmuştur ($P = 0,05$, $F_{deneysel} = 0,20$, $F_{kritik(tablo)} = 10,13$, $F_{deneysel} < F_{kritik(tablo)}$).

Ticari ürünlerin (gıda sterilizasyon çözeltisi, beyazlatıcı diş macunu ve saç ağartıcı çözelti) % H_2O_2 içerikleri geliştirilen sensör ve $TiOSO_4$ yöntemi ile belirlenmiştir. Üretici tarafından beyan edilen hidrojen peroksit içerikleri ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.7). Ticari ürünlerde Peroksidaz-ABTS yöntemi yerine referans yöntem olarak $TiOSO_4$ yönteminin seçilmesinin nedeni; bu ürünlerin çoğunun antioksidan içermemesidir. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar % 95 güven düzeyinde birbiriyle uyumlu bulunmuştur ($P = 0,05$, $F_{deneysel} = 1,32$, $F_{kritik(tablo)} = 18,51$, $F_{deneysel} < F_{kritik(tablo)}$).

Tablo 4.7: Geliştirilen ABTS ön işlemli CUPRAC sensörü ve $TiOSO_4$ yöntemi ile ticari ürünlerin % H_2O_2 içeriği (N = 3).

Ticari ürünler	**ABTS ön işlemli CUPRAC Sensörü ile bulunan % H_2O_2**	**$TiOSO_4$ Yöntemi ile bulunan % H_2O_2**	**Üretici firma tarafından beyan edilen % H_2O_2**
Gıda sterilizasyon çözeltisi	1,09 ± 0,06	1,08 ± 0,04	1,00
Beyazlatıcı diş macunu	0,108 ± 0,005	0,102 ± 0,003	0,10
Saç ağartıcı çözelti	6,13 ± 0,31	6,05 ± 0,27	6,00

($P = 0.05$, $F_{deneysel} = 1.32$, $F_{kritik\ (tablo)} = 18.51$, $F_{deneysel} < F_{kritik\ (tablo)}$).

4.3.5.Amin Tipi Antioksidanlar Varlığında H_2O_2'nin Tayini

TATP hidrolizat çözeltisinden farklı hacimlerde alınan örnekler, TATP'nin kalibrasyon grafiğini oluşturmak için geliştirilen sensör ile tayin edilmiştir. TATP için elde edilen kalibrasyon grafiğinin absorbans ve konsantrasyon (ppm) arasındaki lineer denklemi:

$A_{450} = 0{,}159\ C + 0{,}003$ (r = 0,9955) olarak bulunmuştur.

Denklemde A ve C sırasıyla absorbansı ve konsantrasyonu göstermektedir. 12,5 mg TATP'ye 5 mg DFA eklenip homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Katı örnek karışımı 50 mL aseton ile çözülüp çözeltinin 1 mL'si asidik koşullarda hidroliz edilmiştir.

Geliştirilen sensör esaslı yöntem hidrolizata üç kez uygulanmış ve 450 nm'de absorbans değerleri 0,2014, 0,2085 ve 0,2172 olarak kaydedilmiştir. Örneğin TATP içeriği, TATP kalibrasyon denklemi kullanılarak 12,43 ± 0,31 ppm olarak hesaplanmıştır.

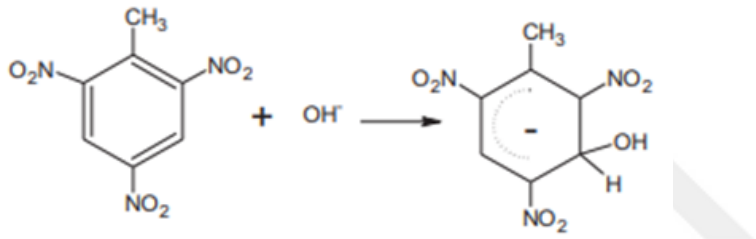
5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Nitroaromatik enerjetik malzemelerin ve peroksit tipi patlayıcıların çevre ve insan üzerine olumsuz mutajenik ve toksik etkileri mevcuttur. Bu yüzden günümüzde bu tür enerjetik malzemelerin hızlı, kolay, seçici ve hassas tayinleri giderek önem kazanmaktadır. TNT, özellikle I. Dünya Savaşı'ndan beri sivil ve askeri amaçlı olarak çok sık kullanılan bir patlayıcıdır. H_2O_2 ise güçlü yükseltgen özelliğinden kumaş ağartmada, diş beyazlatmada, saç boyamada ve gıda, mineral ve petrokimyasal ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca peroksit bazlı enerjik malzemeler olarak sınıflandırılan triaseton triperoksit (TATP) ve heksametilen triperoksit diamin (HMTD) gibi tehlikeli ev yapımı patlayıcıların sentezine de öncülük etmektedir. Bu sebeplerden dolayı tez kapsamı, TNT ve H_2O_2 gibi iki enerjetik malzemenin tayini ile sınırlandırılmıştır.

Tez çalışması kapsamında geliştirilen yöntemlerin ilkinde TNT tayini için hassas ve seçici bir florometrik yöntem geliştirilmiştir. Öncelikle tez çalışmasında, mükemmel floresans özelliklerinin bulunmasının yanı sıra 450-700 nm arasında geniş bir emisyon bandı ve TNT ile etkileşime girebilecek amin grubu bulundurması sebebiyle florofor prob olarak Rodamin 110 boyası seçildi [18,19]. Bir elektron çekici olarak, TNT, güçlü donör (amin) − akseptör (TNT) etkileşimi [28,145,146] yoluyla primer aminler gibi yüklü donörler ile seçici olarak etkileşime girebilir ve böylece Meisenheimer tipi kompleksler oluşturabilir. Rodamin 110'un floresansı, Rodamin 110'daki amin grupları ve TNT'nin elektron eksikliği olan nitro grupları arasındaki donör-akseptör etkileşiminin bir sonucu olarak FRET mekanizması aracılığı ile sönümlenmiştir. Ticari olarak çok çeşitli rodamin boyaları bulunmasına rağmen çeşitli ihtiyaçları karşılayabilmek için halen farklı rodamin boyaları üretilmektedir [20,21]. Burada seçilen Rodamin 110, elektron donörleri olarak iki primer amin grubuna sahip olduğundan oldukça floresandır. Tam anlaşılamamakla beraber rodamin boyalarının suda ve organik çözücülerde farklı floresan özellik sergileyebildikleri gözlemlenmiştir [22,23]. Bundan dolayı geliştirilen yöntemin optimizasyon çalışmalarına çözücü seçimi ile başlandı. TNT'nin çözünürlüğü için de en uygun olan etanol, metanol, aseton, asetonitril ve dimetilsülfoksit olmak üzere beş farklı çözücüde Rodamin 110 boyasının floresan özelliği incelenmiş ve sonuç olarak etanol çözücü olarak seçilmiştir. Etanolün en iyi çözücü olarak uygunluğunun, arttırılmış floresans kuantum veriminden [142] ve boya polimerlerinin agregasyonunun önlenmesinden, yani monomerlere ayrışma kabiliyetinden [143] kaynaklandığı düşünülmektedir.

Spektroflorometre cihazının tayin sınırları arasında 5×10^{-7} M Rodamin 110'un floresans özelliği incelenmiş ve eksitasyon dalga boyu 490 nm ve emisyon dalga boyu 521 nm olarak belirlenmiştir.

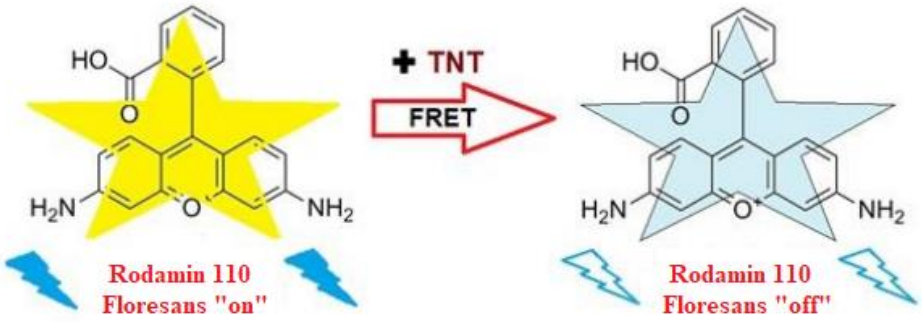
TNT'den alkali ortamda oluşan Meisenheimer anyonunun (Şekil 5.1) absorpsiyon bandı, Rodamin 110 boyasının emisyon bandı ile örtüşebileceği için, donör ve akseptör karşıtlar arasındaki uzaysal yakınlıkta dipol-dipol etkileşimleri tarafından rezonans enerji transferi, Rodamin 110 boyasının floresansın sönümlenmesi ile sonuçlanmıştır. Böylece FRET mekanizması, TNT'nin hassas ve seçici olarak tayinine olanak sağlamıştır. Bunun için önce TNT'den Meisenheimer anyonu oluşturmak için ortamın alkali olması gerekmektedir. Optimizasyon aşamasının ikinci kısmında ise deney ortamındaki baz (NaOH) miktarının hacmi çalışılıp sonucunda 0,5 M sodyum hidroksitin miktarı 20 µL olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.1: Bazik ortamda TNT'den oluşan Meisenheimer anyonu.

Optimizasyonun son kısmında inkübasyon süresi incelenmiştir. Rodamin 110 ve TNT'den oluşturulan Meisenheimer anyonunun karıştırılması ile kinetik çalışma yapılmış ve intensite değerleri kaydedilmiştir. Rodamin 110 boyasının floresansı, TNT çözeltisi ile karıştırıldıktan sonra hızla sönümlenmiş ve 60 dakika boyunca sabit kalmıştır. Sonuç olarak, Rodamin 110 boyası ve TNT arasındaki reaksiyonun, muhtemelen sönümleme merkezlerine [147] hızlı enerji aktarımı nedeniyle son derece hızlı olduğu ve reaksiyon ürününün iyi bir stabiliteye sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Bu nedenle, yöntem için inkübasyon süresine gerek olmadığı, TNT ve rodamin 110 çözeltilerinin karıştırılmasından hemen sonra ölçüm yapılabileceği tespit edilmiştir.

Optimizasyon işlemlerinden sonra elde edilen verilere dayanarak geliştirilen yöntem Şekil 5.2'deki gibi şematize edilmiştir:



Şekil 5.2: Rodamin donör – TNT akseptör etkileşimine dayalı Floresans Rezonans Enerji Transferi (FRET) mekanizması.

Nitroaromatik enerjetik maddelerden TNT için düşünülen prob yalnızca TNT'ye yanıt vermiştir. TNT dışında tayin edilebilecek enerjetik maddelerin probun floresansını sönümleyip sönümleyemeyeceğini araştırmak üzere yöntem, molekülünde $–NO_2$ grubu bulunan DNT ve PA'ya uygulandığında herhangi bir sönümleme olmadığı gözlemlenmiştir.

Toprakta yaygın olarak bulunan NO_3^-, SO_4^{2-}, Cl^-, K^+, Mg^{2+}, ve Ca^{2+} iyonlarının yönteme olan girişim etkileri incelenmiş ve geri kazanımlar % 99,6 − 102,0 aralığında elde edilmiştir (Tablo 4.1).

Enerjetik malzemelerin karışım halinde de etkin bir şekilde kullanıldığı bilinmektedir. Diğer enerjetik maddelerden olan RDX, HMX, DNT ve PA gibi enerjetik malzemelerin TNT ile yanyana bulunması durumunda yöntemin ne kadar başarılı olduğunu gösterebilmek için karışımlar hazırlanıp yöntem uygulanmıştır. Geri kazanımlar (%) hesaplanarak TNT-RDX karışımlarında TNT geri kazanımları % 100,2 − 106,1; TNT-HMX karışımlarında TNT geri kazanımları % 97,2 − 106,3; TNT-DNT karışımlarında TNT geri kazanımları %100,8 − 103,4; TNT-PA karışımlarında TNT geri kazanımları % 101,9 − 105,2 aralığında bulunmuştur. Gerçek patlayıcı karışımları olan Kompozit B ve Oktol'de TNT geri kazanımları sırasıyla % 100,2 ve % 97,2 olarak bulunmuştur (Tablo 4.2).

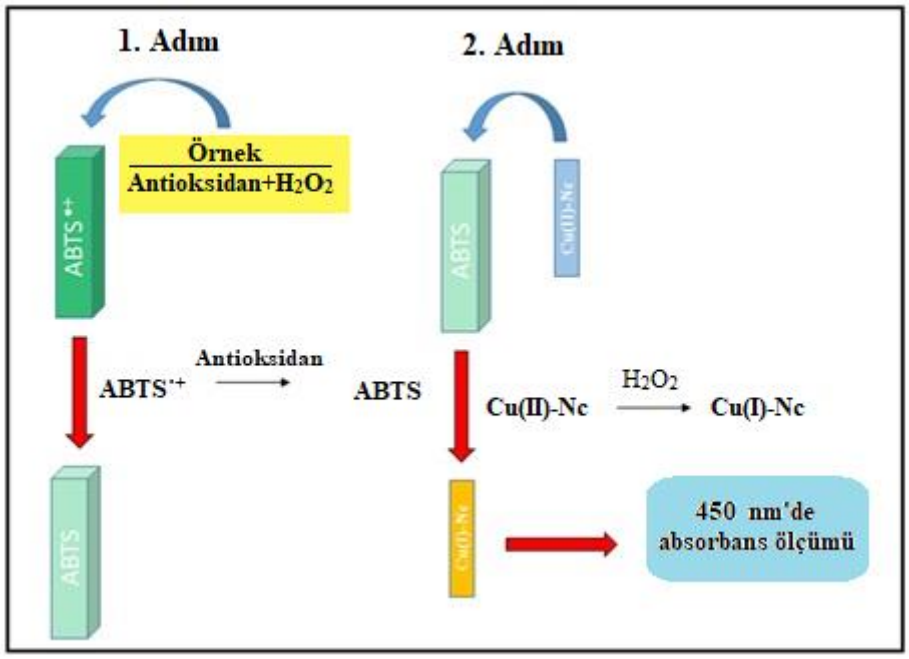
Ayrıca patlayıcıları kamufle etmek amacıyla kullanılan benzer görünüme sahip deterjan, şeker ve parasetamol-kafein bazlı aneljezik ilaçların da yönteme olası girişim etkileri incelenip geliştirilen yöntem için olumsuz etkisi gözlenmemiştir (Şekil 4.4).

Son olarak geliştirilen yöntemin sonuçları, literatürde var olan bir HPLC referans yöntemi ile istatistiksel olarak kıyaslanmıştır. Kıyaslama çalışmalarında toprakta yanma sonrası kalıntıdan ekstrakte edilen TNT kullanılmıştır. TNT tayini için önerilen yöntem ile referans yöntem arasında *t*- testi ve *F*- testinin uygulanması sonucunda doğruluk ve kesinlik açısından % 95 güvenilirlik düzeyinde anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir (Tablo 4.3).

Sonuç olarak, Rodamin 110 boyasının rezonans enerji transferini kuvvetlendiren floresans sönümleme yoluyla TNT'nin belirlenmesi için duyarlı ve seçici bir florometrik analiz tasarlanmıştır. Rodamin 110'un amin grupları, güçlü donör-akseptör etkileşimi oluşturarak TNT türleri ile spesifik olarak ilişkilendirebilir. Geliştirilen yöntem, hassas ve seçici TNT tespitini mümkün kılmış, benzer nitro-patlayıcılardan, yaygın toprak iyonlarından ve kamuflaj malzemelerinden olumsuz etkilenmemiştir. Yöntemin LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,71 ve 2,38 mg L^{-1}'dir. Ayrıca geliştirilen yöntem, florofor rodamin boyalarının oksit tipi nanopartiküller üzerinde adsorptif işlevselleştirilmesiyle nanopartikül bazlı sensörlerle entegre olma potansiyeline sahip olabilir ve bu da TNT tayini için yeni nano sensörlerin üretilmesine izin verebilir.

Tez çalışmasının ikinci aşamasında ise normalde diğer redoks bazlı reaktiflerle etkileşime giren antioksidanların varlığında H_2O_2'nin tayini için hassas ve seçici bir optik sensör bazlı yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntem, antioksidanların elimine edilmesi ve H_2O_2'nin tayini olmak üzere iki farklı yöntemin birleştirilmesiyle oluşmaktadır. Geliştirilen yöntemde, H_2O_2 esas olarak CUPRAC sensörü kullanılarak tayin edilirken, $ABTS^{\cdot+}$ reaktifi deney ortamında bulunan antioksidanlar gibi olası indirgeyici ajanları oksidatif olarak uzaklaştırmak için kullanılmıştır. Ön oksidasyon olmadan, gıda ve biyolojik örneklerde yaygın olarak bulunan polifenoller, askorbik asit, E vitamini, tiyoller ve ayrıca enerjik malzemeleri korumak için kullanılan amin tipi antioksidanlar normalde H_2O_2'in CUPRAC ile tayinine pozitif olarak girişim yapar. Fakat, yöntemin ilk aşamasında ABTS'den persülfat oksidasyonu ile üretilen $ABTS^{\cdot+}$ reaktifi, bu tür girişimleri ortadan kaldırmak için kullanılmıştır. Buradaki olası fazla persülfat, H_2O_2 tayinine kinetik nedenlerden ötürü herhangi bir etki göstermemiştir. Deney sırasında ortamdaki tüm antioksidanların uzaklaşması için; renkli $ABTS^{\cdot+}$, indirgeyici olarak antioksidanlarla renksiz ABTS'ye dönüştürülürken kalan $ABTS^{\cdot+}$'nin tamamen tükenmemesi sağlanmıştır. Ayrıca H_2O_2, enzimlerin yokluğunda $ABTS^{\cdot+}$ ile reaksiyona girememekte olup deney ortamında kalan az miktarda $ABTS^{\cdot+}$, tayine herhangi bir olumsuz etki göstermemiştir. Yöntemin ikinci

kısmında, antioksidanların giderildiği örnekteki H_2O_2, CUPRAC sensörü ile belirlenmiştir. Açık mavi renkli CUPRAC sensörü aslında bir Cu(II)-Nc reaktifi ile sabitlenmiş Nafyon kopolimeridir. CUPRAC sensörü örnek çözeltiye daldırılır ve elektrostatik olarak bağlanan Cu(II)-Nc reaktifi, sarı-turuncu Cu(I)-Nc kelatına indirgenirken (H_2O_2 konsantrasyonuna bağlı olarak) H_2O_2'yi moleküler O_2'ye yükseltger ve sonuç olarak absorbans 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür (Şekil 5.3).



Şekil 5.3: Geliştirilen yöntemin şematik gösterimi.

Ne fazla persülfat ne de çözeltide kalan az miktarda $ABTS^{\cdot+}$, Nafyon membranda renk oluşumunu engellememiştir. Bu sensör, standart H_2O_2 çözeltisine, yaygın antioksidanları ve H_2O_2 içeren sentetik karışımlara, ticari ürünlerde bulunan H_2O_2 katkılı gerçek örneklere (gıda ekstrakları ve sentetik serum) ve H_2O_2 içeren ticari ürünlere başarıyla uygulanmıştır ve iki farklı referans yönteme göre doğrulanmıştır.

Brokoli ve serum örneklerine 27,2 ve 40,8 mM H_2O_2 olmak üzere iki farklı katkı yapılmış ve % geri kazanım sonuçları % 93,4 – 100,5 arasında bulınmuştur. Yöntemin kesinliğinin bir göstergesi olan bağıl standart sapma (% R.S.D.), en yüksek değer olarak seruma eklenen 40,8 mM H_2O_2 konsantrasyonunda % 7,85 olarak bulunmuştur (Tablo 4.4).

(1): 5 mM H_2O_2, 1 mM QR, 1 mM TR, 1 mM RT; (2): 5 mM H_2O_2, 1 mM RA, 1 mM GA, 1 mM CAT; (3): 5 mM H_2O_2,1 mM AA, 1 mM CFA, 1 mM GSH; (4): 5 mM H_2O_2, 1 mM DFA,

1 mM NFA, 1 mM NFD şeklinde sentetik antioksidan karışımlarının varlığında uygulanan yöntem sonucunda deneysel H_2O_2 konsantrasyonları, teorik olarak hesaplananlardan % 1,0 − 7,6 aralığında sapmıştır (Tablo 4.5).

Ni^{2+}, Co^{2+}, Mn^{2+}, Pb^{2+} ve Cd^{2+} iyonlarının hidrojen peroksite göre kütlece 100 kat; üre, oksalat, tartarat, sitrat, glukoz, fruktoz, galaktoz, malik asit ve fumarik asidin hidrojen peroksite göre kütlece 1000 kat bulunduğu çözeltilerde son konsantrasyonu 6,8 mM H_2O_2 için yöntem başarıyla uygulanmış ve yöntemin bu tür olası interferanlardan etkilenmediği ortaya konulmuştur (Tablo 4.6).

Hidrojen peroksit tayininde 5 mM H_2O_2'nin, gıda ekstraktlarına (brokoli, ıspanak, karnabahar) ve sentetik seruma eklenmesinden sonra hem geliştirilen yöntem hem de Peroksidaz-ABTS yöntemi uygulanmıştır. Geliştirilen yöntem ile Peroksidaz-ABTS yöntemi sonuçları her bir örnek için sırasıyla; brokolide 5,08 ve 5,15, ıspanakta 5,17 ve 5,22, karnabaharda 5,05 ve 5,02, serumda 5,21 ve 5,01 olarak bulunmuştur (Şekil 4.7).

Gıda sterilizasyon çözeltisi, beyazlatıcı diş macunu ve saç ağartıcı çözeltilerinin üretici firmalar tarafından belirtilen H_2O_2 içerikleri hem geliştirilen yöntem ile hem de referans yöntem olarak seçilen $TiOSO_4$ yöntemi ile kıyaslandığında; her iki yöntemde de sonuçlar ticari ürünler için beyan edilen içeriklerle uyumlu olmakla birlikte yaklaşık % 2 − 9 daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4.7).

Ek olarak, bir peroksit tipi patlayıcı olarak TATP, hidrolitik dönüşüm ürünü: H_2O_2'nin ölçümü yoluyla, patlayıcıların bozunmasına karşı koruyucu ajanlar olarak kullanılan DFA'nın (amin tipi antioksidanlar) varlığında geliştirilen sensör ile belirlenmiştir. TATP, ana siklik iskelet yapısı parçalanmadıkça geleneksel H_2O_2 saptama reaksiyonlarına yanıt vermez [148]. TATP'nin kolorimetrik tayini, asitle H_2O_2'ye hidroliz edildiğinde büyük ölçüde kolaylaştırılır. TATP'nin asidik hidrolizinden sonra hidrolizattaki DFA, geliştirilen yöntemin ilk adımında $ABTS^{\cdot+}$ ile elimine edilmiştir. İkinci aşamada, hidrolizattaki H_2O_2, aşağıdaki reaksiyona göre sensör membranı üzerinde Cu(II)-Nc ile belirlenmiştir. Reaksiyonun kromojenik bir ürünü olarak Cu(I)-Nc kelatı 450 nm'de kaydedilmiştir. Sonuç olarak DFA içeren karışımdaki TATP miktarı % 3,58 hata ile belirlenmiştir.

$$2Cu(Nc)_2^{2+} + H_2O_2 \rightarrow 2Cu(Nc)_2^{+} + O_2 + 2H^+$$

Geliştirilen sensör, örneklerin ön işleme tabi tutulmadan renkli ve bulanık çözeltilerde çalışma yeteneği gibi mevcut yöntemlere göre önemli avantajlar sağlamaktadır. Ek olarak, geliştirilen sensör, ağır metaller, pestisitler ve sülfhidril ajanlar tarafından devre dışı bırakılabilen enzimlere (yani, H_2O_2'nin ROS'a katalitik oksidasyonu için) ihtiyaç duymamaktadır. Ayrıca enzimlerin maliyet ve depolama sorunları vardır. Yaygın olarak kullanılan peroksidaz bazlı yöntemlerde, H_2O_2, diğer peroksidaz substratlarını renkli ürünlere daha da oksitleyen ROS'a ayrışır, ancak kesin reaksiyon stokiyometrisi bilinmemektedir, öyle ki reaksiyon kapsamı, reaksiyon koşullarına bağlı olarak değişebilir ve böylece sonuçların tekrarlanabilirliği etkilenebilir.

Öte yandan, mevcut sensör, H_2O_2'nin 2 e^- donör olduğu ve kendisinin net bir reaksiyonla moleküler O_2'ye dönüştürüldüğü kesin bir stokiyometriye bağlıdır. Reaksiyonun sonunda Beer yasasına mükemmel uyum sağlayan yegane renkli bir ürün olarak bakır (I) neokuproin kompleksi oluşur. H_2O_2 için CUPRAC yönteminin yüksek molar absorptivitesi sayesinde (duyarlılık renkli katyonik kelatın bir katyon değiştirici membran üzerinde tercihli adsorpsiyonu ile daha da arttırılır), H_2O_2 için LOD değeri 0,33 μM olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda, önerilen optik sensör endüstriyel atık sularda, gıda ekstraktlarında ve biyolojik sıvılarda yerinde hidrojen peroksit tayini için bir kit formatına dönüştürülme potansiyeline sahiptir.

KAYNAKLAR

[1]. Moore, D.S., 2007, Recent advances in trace explosives detection instrumentation, *Sensing Imaging*, 8, 9–38.

[2]. Akhgari, F., Fattahi, H., Oskoei, Y.M., 2015, Recent advances in nanomaterial-based sensors for detection of trace nitroaromatic explosives, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 221, 867–878.

[3]. Erçağ, E., Üzer, A., Apak, R., 2009, Selective spectrophotometric determination of TNT using a dicyclohexylamine-based colorimetric sensor, *Talanta*, 78, 772–780.

[4]. Aparna, R.S., Devi, J.A., Sachidanandan, P., George, S., 2018, Polyethylene imine capped copper nanoclusters-fluorescent and colorimetric onsite sensor for the trace level detection of TNT. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 254, 811–819.

[5]. Özcan, Ç., Üzer, A., Durmazel, S., Apak, R., 2019, Colorimetric sensing of nitroaromatic energetic materials using surfactant-stabilized and dithiocarbamate-functionalized gold nanoparticles, *Analytical Letters*, 52, 2794–2808.

[6]. Yang, X., Wang, J., Su, D., Xia, Q., Chai, F., Wang, C., Qu, F., 2014, Fluorescent detection of TNT and 4-nitrophenol by BSA Au nanoclusters, *Dalton Transactions*, 43, 10057–10063.

[7]. Ban, R., Zheng, F., Zhang, J., 2015, A highly sensitive fluorescence assay for 2, 4, 6-trinitrotoluene using amine-capped silicon quantum dots as a probe, *Anaytical Methods*, 7, 1732–1737.

[8]. Hu, T., Sang, W., Chen, K., Gu, H., Ni, Z., Liu, S., 2019, Simple and sensitive colorimetric detection of a trace amount of 2, 4, 6-trinitrotoluene (TNT) with QD multilayer-modified microchannel assays, *Materials Chemistry Frontiers*, 3, 93–198.

[9]. Sağlam, Ş., Üzer, A., Tekdemir, Y., Erçağ, E., Apak, R., 2015, Electrochemical sensor for nitroaromatic type energetic materials using gold nanoparticles/poly (o-phenylenediamine–aniline) film modified glassy carbon electrode, *Talanta*, 139, 181–188.

[10]. Caygill, J.S., Collyer, S.D., Holmes, J.L., Davis, F., Higson, S.P., 2013, Electrochemical detection of TNT at cobalt phthalocyanine mediated screen-printed electrodes and application to detection of airborne vapours, *Electroanalysis*, 25, 2445–2452.

[11]. Jamil, A.K., Izake, E.L., Sivanesan, A., Fredericks, P.M., 2015, Rapid detection of TNT in aqueous media by selective label free surface enhanced Raman spectroscopy, *Talanta*, 134, 732–738.

[12]. Liu, M., Chen, W., 2013, Graphene nanosheets-supported Ag nanoparticles for ultrasensitive detection of TNT by surface-enhanced Raman spectroscopy, *Biosensors and Bioelectronics*, 46, 68–73.

[13]. Vourvopoulos, G., Womble, P.C, 2001, Pulsed fast/thermal neutron analysis: a technique for explosives detection, *Talanta* 54, 459–468.

[14]. Lopez-Lopez M., Garcia-Ruiz, C., 2014, Infrared and Raman spectroscopy techniques applied to identification of explosives, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 54, 36–44.

[15]. Sun, B., Li, M., Zhang, F., Zhong, Y., Kang, N., Lu, W., Liu, J., 2010, The performance of a fast testing system for illicit materials detection based on energy-dispersive X-ray diffraction technique, *Microchemical Journal*, 95, 293–297.

[16]. Najarro, M., Morris, M.E.D., Staymates, M.E., Fletcher, R., Gillen, G., 2012, Optimized thermal desorption for improved sensitivity in trace explosives detection by ion mobility spectrometry, *Analyst*, 137, 2614–2622.

[17]. Ghasemi, F., Hormozi-Nezhad, M.R., 2019, Determination and identification of nitroaromatic explosives by a double-emitter sensor array, Talanta, 201, 230–236.

[18]. Berezin, M.Y,, Achilefu, S., 2010, Fluorescence lifetime measurements and biological imaging, *Chemical Reviews*, 110, 2641–2684.

[19]. Shibata, A., Furukawa, K., Abe, H., Tsuneda, S., Ito, Y., 2008, Rhodamine-based fluorogenic probe for imaging biological thiol, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18, 2246–2249.

[20]. Kolmakov, K., Belov, V.N., Bierwagen, J., Ringemann, C., Müller, V., Eggeling, C., Hell S.W., 2010, Red-emitting rhodamine dyes for fluorescence microscopy and nanoscopy, *Chemistry - A European Journal*, 16, 158–166.

[21]. Sun, Y.Q., Liu, J., Lv, X., Liu, Y., Zhao, Y., Guo, W.,(2012, Rhodamineinspired far-red to near-infrared dyes and their application as fluorescence probes, *Angewandte Chemie International Edition*, 51, 7634–7636.

[22]. Savarese, M., Aliberti, A., De Santo, I., Battista, E., Causa, F., Netti, PA., Rega, N., 2012, Fluorescence lifetimes and quantum yields of rhodamine derivatives: new insights from theory and experiment., *The Journal of Physical Chemistry A*, 116, 7491–7497.

[23]. Zhang, X.F., Zhang, Y., Liu, L., 2014, Fluorescence lifetimes and quantum yields of ten rhodamine derivatives: Structural effect on emission mechanism in different solvents, *Journal of Luminescence*, 145, 448–453.

[24]. Zhang, X.F,, Zhang, T., Shen, S.L., Miao, J.Y., Zhao, B.X., 2015, A ratiometric lysosomal pH probe based on the coumarin–rhodamine FRET system, *RSC Advances*, 5, 49115–49121.

[25]. Li, Y., Qi, S., Xia, C., Xu, Y., Duan, G., Ge, Y., 2019, A FRET ratiometric fluorescent probe for detection of Hg^{2+} based on an imidazo [1, 2-a] pyridine-rhodamine system, *Analytica Chimica Acta*, 1077, 243–248.

[26]. Cai, H.H., Wang, H., Wang, J., Wei, W., Yang, P.H., Cai, J., 2012, Naked eye detection of glutathione in living cells using rhodamine Bfunctionalized gold nanoparticles coupled with FRET, *Dyes and Pigments*, 92, 778–782.

[27]. Li, Q., Guo, R., Lin, W., 2016, A fluorescence turn-on probe for thiols with a tunable dynamic range, *Journal of Fluorescence*, 26, 1077–1081.

[28]. Gao, D., Wang, Z., Liu, B., Ni, L., Wu, M., Zhang, Z., 2008, Resonance energy transfer-amplifying fluorescence quenching at the surface of silica nanoparticles toward ultrasensitive detection of TNT, *Analytical Chemistry*, 80, 8545–8553.

[29]. Föster, T., 1948, Intermolecular energy migration and fluorescence, *Annals of Physics*, 2, 55–75.

[30]. Vural, T., Çelen, E., 2005, Sıvı Dezenfektan Olarak Hidrojen Peroksit, Perasetik Asit ve Türevi Alet Dezenfektanlarının Kullanım İlkeleri, Kombinasyonlarının Kıyaslanması, *4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi*, 20-24 Nisan 2005 Samsun, Ankara, Bilimsel Tıp, 200–206.

[31]. McDonnell, G.E., 2007, Antisepsis disinfection and sterilization: types, action and resistance, *ASM Press*, Washington D.C., ISBN : 978-1-55581-392-5.

[32]. Woo, Y.A., LIM, H.-R., Kim, H.J., Chung, H., 2003, Determination of hydrogen peroxide concentration in antiseptic solutions using portable near-infrared system, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 33, 1049–1057.

[33]. Reth, M., 2002, Hydrogen peroxide as second messenger in lymphocyte activation, *Nature immunology*, 3, 1129–1134.

[34]. Vasileva, P., Donkova, B., Karadjova, I., Dushkin, C., 2011, Synthesis of starchstabilized silver nanoparticles and their application as a surface plasmon resonancebased sensor of hydrogen peroxide, *Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects*, 382 (1-3), 203–210.

[35]. Chen, W., Cai, S., Ren, Q.Q., Wen, Q., Zhao, Y.D., 2012, Recent advances in electrochemical sensing for hydrogen peroxide: a review, *Analyst*, 137, 49–58.

[36]. Jiang, L.C., Zhang, W.D., 2009, Electrodeposition of TiO_2 nanoparticles on multiwalled carbon nanotube arrays for hydrogen peroxide sensing, *Electroanalysis*, 21, 988–993.

[37]. Toyoda, M., Ito, Y., Iwaida, M., Fujii, M., 1982, Rapid procedure for the determination of minute quantities of residual hydrogen peroxide in food by using a sensitive oxygen electrode, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 30, 346–349.

[38]. Özkan, M., Kırca, A., Cemeroğlu, B., 2004, Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices, *Food Chemistry*, 88, 591–597.

[39]. Jiang, D., Peng, L., Wen, M., Zhou, Q., Chen, C., Wang, X., Chen, W., Li, H., 2016, Dopant-assisted positive photoionization ıon mobility spectrometry coupled with time-resolved thermal desorption for on-site detection of triacetone triperoxide and hexamethylene trioxide diamine in complex matrices, *Analytical Chemistry*, 88, 4391−4399.

[40]. Zitrin, S., Kraus, S., Glattstein, B., 1983, Proc. Int. Symp. Anal. Det. Explosives, FBI Academy, Quantico, Washington, DC, 137.

[41]. Schulte-Ladbeck, R., Vogel, M., Karst, U., 2006, Recent methods for the determination of peroxide-based explosives, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386, 559–565.

[42]. Oxley, J., Smith, J., 2006, Detection and disposal of improvised explosives, NATO Security Through Science Series, *Springer*, Netherlands, ISBN: 978-1-40204885-2, 113–121.

[43]. Marshall, M., Oxley, J., 2009, Aspects of explosives detection, 1st ed., *Elsevier*, UK, ISBN: 978-0-12-374533-0, 12–50.

[44]. Schubert, H., Kuznetsov, A., 2008, Detection of Liquid Explosives and Flammable Agents in Connection with Terrorism, *Springer*, Netherlands, ISBN: 978-1-40208466-9.

[45]. Nogueira, R., Oliveira, M., Paterlini, W., 2005, Simple and fast spectrophotometric determination of H_2O_2 in photo-Fenton reactions using metavanadate, *Talanta*, 66, 86–91.

[46]. Tanner, P.A., Wong, A.Y.S., 1998, Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide in rainwater, *Analytica Chimica Acta*, 370, 279–287.

[47]. Wei, H., Wang, E., 2008, Fe_3O_4 magnetic nanoparticles as peroxidase mimetics and their applications in H_2O_2 and glucose detection, *Anaytical Chemistry*, 80, 2250–2254.

[48]. Chen, H., Yu, H., Zhou, Y., Wang, L., 2007, Fluorescent quenching method for determination of trace hydrogen peroxide in rain water, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 67, 683–686.

[49]. Sakuragawa, A., Taniai, T., Okutani, T., 1998, Fluorometric determination of microamounts of hydrogen peroxide with an immobilized enzyme prepared by coupling horseradish peroxidase to chitosan beads, *Analytica Chimica Acta*, 374, 191–200.

[50]. Zheng, X., Guo, Z., 2000, Potentiometric determination of hydrogen peroxide at MnO_2-doped carbon paste electrode, *Talanta*, 50, 1157–1162.

[51]. Hu, Y., Zhang, Z., Yang, C., 2007, The determination of hydrogen peroxide generated from cigarette smoke with an ultrasensitive and highly selective chemiluminescence method, *Analytica Chimica Acta*, 601, 95–100.

[52]. Oxley, J.C., Smith, J.L., Huang, J., Luo, W., 2009, Destruction of peroxide explosives, *Journal of Forensic Scicence*, 4, 1029–1033.

[53]. Oxley, J.C., Smith, J.L., Brady, J.E., Steinkamp, L., 2014, Factors influencing destruction of triacetone triperoxide (TATP), *Propellants, Explosives, Pyrotechnics*, 39, 289–298.

[54]. Tokui, H., Yamazaki, K., 1966, The effects of some antioxidants on the elastomers derived from carboxy-terminated polybutadiene, *Bulletin of the Chemistry Society of Japan*, 39, 2290–2294.

[55]. Désilets, S., Côté, S., 2000, Chemical bond between stabilizers and HTPB binders in propellants, *Propellants, Explosives, Pyrotechnics*, 25,186–190.

[56]. Diamond, D., 1998, Principles of chemical and biological sensors, first ed., *Wiley*, New York.

[57]. Xu, Z., Chen, X., Kim, H.N., Yoon, Y., 2010, Sensors for the optical detection ofcyanide ion, *Chemical Society Reviews*, 39, 127–137.

[58]. Newcombe, D.T., Cardwell, T.J., Cattrall, R.W., Kolev, S.D., 1999, An optical redox chemical sensor based on ferroin immobilised in a Nafion® membrane, *Analytica Chimica Acta*, 401, 137–144.

[59]. Kawalec, A., Jasek, K., Pasternak, M., 2008, Measurements results of SAW humidity sensor with nafion layer, *The European Physical Journal Special Topics*, 154, 123–126.

[69]. Rhee, S.G., Chang, T.S., Jeong, W., Kang, D., 2010, Methods for detection and measurement of hydrogen peroxide inside and outside of cells, *Molecules and Cells*, 29, 539–549.

[61]. Winterbourn, C.C., 2014, The challenges of using fluorescent probes to detect and quantify specific reactive oxygen species in living cells, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1840, 730–738.

[62]. Marquette, C.A., Blum, L.J., 2006, Applications of the luminol chemiluminescent reaction in analytical chemistry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385, 546–554.

[63]. Wardman, P., 2007, Fluorescent and luminescent probes for measurement of oxidative and nitrosative species in cells and tissues: Progress, pitfalls, and prospects, *Free Radical Biology and Medicine*, 43, 995–1022.

[64]. Wang, N., Miller, C.J., Wang, P., Waite, T.D., 2017, Quantitative determination of trace hydrogen peroxide in the presence of sulfide using the Amplex Red/ horseradish peroxidase assay, *Analytica Chimica Acta*, 963, 61–67.

[65]. Tarvin, M., McCord, B., Mount, K., Sherlach, K., Miller, M.L., 2010, Optimization of two methods for the analysis of hydrogen peroxide: High performance liquid chromatography with fluorescence detection and high performance liquid chromatography with electrochemical detection in direct current mode, *Journal of Chromatography A*, 1217, 7564–7572.

[66]. Jiang, S., Penner, M.H., 2017, Overcoming reductant interference in peroxidase-based assays for hydrogen peroxide quantification, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 8213–8219.

[67]. Tarpey, M.M., Wink, D.A., Grisham, M.B., 2004, Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations, *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative Comparative Physiology*, 286, R431–R444.

[68]. Kalili, K.M., De Smet, S., Hoeylandt, T., Lynen, F., Villiers A., 2014, Comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled to the ABTS radical scavenging assay: a powerful method for the analysis of phenolic antioxidants, *Analytical and Bioanaytical Chemistry*, 406, 4233–424.

[69]. Bener, M., Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R., 2010, Development of a low-cost optical sensor for cupric reducing antioxidant capacity measurement of food extracts, *Analytical Chemistry*, 82, 4252–4258.

[70]. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970–7981.

[71]. Eren, Ş., Üzer, A., Can, Z., Kapudan, T., Erçağ, E., Apak, R., 2010, Determination of peroxide-based explosives with copper(II)–neocuproine assay combined with a molecular spectroscopic sensor, *Analyst*, 135, 2085.

[72]. Zhao, J., Henkens, R.W., Crumbliss, A.L., 1996, Mediator-free amperometric determination of toxic substances based on their inhibition of immobilized horseradish peroxidase, *Biotechnology Progress*, 12,703–708.

[73]. Krawczynski, T., 1998, Analytical applications of inhibition of enzymatic reactions, *Chemia Analityczna-Warsaw*, 43,135–158.

[74]. Haugaard, N., Cutler, J., Ruggieri, M.R., 1981, Use of N-ethylmaleimide to prevent interference by sulfhydryl reagents with the glucose oxidase assay for glucose, *Analytical Biochemistry*, 116, 341–343.

[75]. Trache, D., Tarchoun, A.F., 2018, Stabilizers for nitrate ester-based energetic materials and their mechanism of action: a state-of-the-art review, *Journal of Materials Scicence*, 53, 100–123.

[76]. Singh, S., 2007, Sensors an effective approach for the detection of explosives, *Journal of Hazardous Materials*, 144, 15–28.

[77]. Agrawal J., 2010, High Energy Materials: Propellants, Explosives and Pyrotechnics ISBN: 978-3-527-32610-5, 1–13.

[78]. Özcan, Ç., 2017, *Nitroaromatik Enerjetik Maddelerin Yüzey Aktif İle Stabilize Edilmiş Altın Nanoparçacıklar Kullanılarak Tayini*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

[79]. Cook, J.R., 2001, The chemistry and characteristics of explosive materials, *Vantage press*, Inc., New York ISBN: 0-533-13533-8, 1–71.

[80]. Urbanski, T., 1964, Chemistry and Tecnology of Explosives – Volume I, *PWN Polish Scientific Publishers*, Warszawa.

[81]. Zapata, F., Garcıa-Ruiz, C., 2021, Chemical Classification of Explosives, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 51, 656–673.

[82]. Becker, N.M., 1995, Fate Of Selected High Explosives in The Environment: A Literature Review.

[83]. Akhavan, J., 2004, The chemistry of explosives, 2nd ed., *The Royal Society of Chemistry*, ISBN: 0-85404-640-2, 23.

[84]. Meyer, R., Köhler, J., Homburg, A., 2002, *Explosives*, Fifth Ed., Wiley, Weinheim, ISBN: 3-527-30267-0.

[85]. Agrawal, J. P., Hodgson, R. D., 2007, Organic Chemistry of Explosives, *Wiley*, İngiltere, ISBN: 978-0-470-02967-1.

[86]. Burks, R. M., Hage, D. S., 2009, Current trends in the detection of peroxide-based explosives, *Anaytical and. Bioanalytical. Chemistry*, 395, 301–313.

[87]. Thenard, L. J., 1818, Observations sur des nouvelles combinaisons entre l'oxigène et divers acides, *Annales de chimie et de physique*, 2nd series 8: 306–312.

[88]. Carrara, G., 1892, "Sul peso molecolare e sul potere rifrangente dell' acqua ossigenata" (On the molecular weight and on the refractive power of oxygenated water i.e., hydrogen peroxide), Atti della Reale Accademia dei Lincei, series 5, 1, 19–24.

[89]. Othmers, K., 1963, Encyclopedia of Chemical technology, *Satterfield*, 391-407, 820-821.

[90]. Hill, C.N., 2001, A Vertical Empire: The History of the UK Rocket and Space Programme, *Imperial College Press*, 1950–1971.

[91]. Petri, B.G., Watts, R.J., Teel, A.L., Huling, S.G., Brown, R.A., 2011, Fundamentals of ISCO using hydrogen peroxide, In situ chemical oxidation for groundwater remediation, In: Siegrist, .L. (ed.), Chapter 2, *Springer Science Media+Business Media LLC*, New York, ISBN: 978-1-4419-7825-7, 33–88.

[92]. Woo, Y.A., LIM, H.-R., Kim, H.J., Chung, H., 2003, Determination of hydrogen peroxide concentration in antiseptic solutions using portable near-infrared system, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 33, 1049–1057.

[93]. Guwy, A.S., Hawkes, F.R., Martin, S.R., Hawkes, D.L., Cunnah, P., 1999, A technique for monitoring hydrogen peroxide concentration off- line and on-line, *Water Research*, 34, 2191–2198.

[94]. Wolffenstein, R., 1895, Uber die einwirkung von wasserstoffsuperoxyd auf aceton und mesityloxyd, *Chemische Berichte*, 28, 2265.

[95]. Üzer, A., Erçağ, E., Apak, R., 2004, Selective spectrophotometric determination of trinitrotoluene, trinitrophenol, dinitrophenol and mononitrophenol, *Analytica Chimica Acta*, 505, 83–93.

[96]. Üzer, A., Erçağ, E., Apak, R., 2008, Selective colorimetric determination of TNT partitioned between an alkaline solution and a strongly basic Dowex 1-X_8 anion exchanger, *Forensic Science International*, 174, 239–243.

[97]. Üzer, A., Erçağ, E., Apak, R., 2005, Selective spectrophotometric determination of TNT in soil and water with dicyclohexylamine extraction, *Analytica Chimica Acta*, 534, 307–317.

[98]. Erçağ, E., Üzer, A., Apak, R., 2009, Selective spectrophotometric determination of using a dicyclohexylamine-based colorimetric sensor, *Talanta*, 78, 772–780.

[99]. Özcan, Ç., Üzer, A., Durmazel, S., Apak, R., 2019, Colorimetric Sensing of Nitroaromatic Energetic Materials Using Surfactant-Stabilized and Dithiocarbamate-Functionalized Gold Nanoparticles, *Analytical Letters*, 52, 2794–2808.

[100]. Jiang, Y., Zhao, H., Zhu, N., Lin, Y., Yu, P., Mao, L., 2008, A Simple Assay for Direct Colorimetric Visualization of Trinitrotoluene at Picomolar Levels Using Gold Nanoparticles, *Angewandte Chemie International Editions*, 120, 8729–8732.

[101]. Lin, D., Liu, H., Qian, K., Zhou, X., Yang, L., Liu, J., 2012, Ultrasensitive optical detection of trinitrotoluene by ethylenediamine-capped gold nanoparticles, *Analytica Chimica Acta*, 744, 92–98.

[102]. Yang, X., Wang, J., Su, D., Xia, Q., Chai, F., Wang, C., Qu, F., 2014, Fluorescent detection of TNT and 4-nitrophenol by BSA Au nanoclusters, *The Royal Society of Chemistry*, 43, 10057–10063.

[103]. Ban R., Zheng F., Zhang, J., 2015, A highly sensitive fluorescence assay for 2,4,6-trinitrotoluene using amine-capped silicon quantum dots as a probe, *Analytical Methods*, 7, 1732.

[104]. Holmgren, E., Carlsson, H., Goede, P., Crescenzi, C., 2005, Determination and characterization of organic explosives using porous graphitic carbon and liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1099, 127–135

[105]. Babaee, S., Beiraghi, A., 2009, Micellar extraction and high performance liquid chromatography-ultra violet determination of some explosives in water samples, *Analytica Chimica Acta*, 662, 9–13.

[106]. Waddell, R., Dale, D. E., Monagle M., Smith, S. A., 2005, Determination of nitroaromatic and nitramine explosives from a PTFE wipe using thermal desorption-gas chromatography with electron-capture detection, *Journal of Chromatograpy A*, 1062, 125–131.

[107]. Fayazi, M., Motlagh, M.G., Taher, M.A., 2013, Combination of carbon nanotube reinforced hollow fiber membrane microextraction with gas chromatography-mass

spectrometry for extraction and determination of some nitroaromatic explosives in environmental water, *Analytical Methods*, 5, 1474–1480.

[108]. Üzer, A., Sağlam, Ş., Tekdemir, Y., Ustamehmetoğlu, B., Sezer, E., Ercağ, E., Apak R., 2013, Determination of nitroaromatic and nitramine type energetic materials in synthetic and real mixtures by cyclic voltammetry, *Talanta*, 115, 768–778.

[109]. Sağlam, Ş., Üzer, A., Tekdemir, Y., Erçağ, E., Apak, R., 2015, Electrochemical sensor for nitroaromatic type energetic materials using gold nanoparticles/poly(o-phenylenediamine-aniline) film modified glassy carbon electrode, *Talanta*, 139, 181–188.

[110]. Guo, Z. Z., Florea, A., Cristea, C., Bessueille, F., Vocanson, F., Goutaland, F., Zhang, A., Sandulescu, R., Lagarde, F., Renault, N. J., 2015, 1,3,5-Trinitrotoluene detection by a molecularly imprinted polymer sensor based on electropolymerization of a microporous-metal-organic framework, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 207, 960–966.

[111]. Chai, X.S., Hou, Q.X., Luo,Q., Zhu, J.Y., 2004, Rapid Determination of Hydrogen Peroxide in The Wood Pulp Bleaching Streams by a Dual Wavelength Spectroscopic Method, *Analytica Chimica Acta*, 507, 281–284.

[112]. Tütem, E., Apak, R., Baykut, F., 1991, Spectrophotometric Determination of Trace Amounts of Copper(I) and Reducing Agents with Neocuproine in the Presence of Copper(II), *Analyst*, 116, 89–94.

[113]. Guo, Z.-X., Li, L., Shen, H.-X., 1999, Study and Analytical Application of Bromopyrogallol Red as a Hydrogen Donor Substrate for Peroxidase, *Analytica Chimica Acta*, 379, 63–68.

[114]. Qiu, Z., He, Y., Liu, X., Yu, S., 2005, Catalytic Oxidation of the Dye Wastewater with Hydrogen Peroxide, *Chemical Engineering and Processing*, 44, 1013–1017.

[115]. Zhang, K., Mao, L., Cai, R., 2000, Stopped-Flow Spectrophotometric Determination of Hydrogen Peroxide with Hemoglobin as Catalyst, *Talanta*, 51, 179–186.

[116]. Can, Z., Üzer, A., Türkekul, K., Erçağ, E., Apak, R., 2015, Determination of Triacetone Triperoxide with a N,N-Dimethyl-p-phenylenediamine Sensor on Nafion Using Fe3O4 Magnetic Nanoparticles, *Analytical Chemistry*, 87, 9589–9594.

[117]. Chen, H., Yu, H., Zhou, Y., Wang, L., 2007, Fluorescent quenching method for determination of trace hydrogen peroxide in rain water, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 67, 683–686 .

[118]. Lo, L.C., Chu, C.Y., 2003, Development of highly selective and sensitive probes for hydrogen peroxide, *Chemical Communications*, 2728–2729.

[119]. Oswaldowski, S., Lipka, R., Jarosz, M., 2000, Sensitive reversed phase liquid chromatographic determination of hydrogen peroxide and glucose based on ternary vanadium(V)-hydrogen peroxide-2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol system, *Analytica Chimica Acta*, 421, 35–43.

[120]. Kende, A., Lebics, F., Eke, Z., Torkos, K., 2008, Trace level triacetonetriperoxide identification with SPME–GC-MS in model systems, *Microchimica Acta*, 163, 335–338.

[121]. Zheng, X., Guo, Z., 2000, Potentiometric determination of hydrogen peroxide at MnO_2-doped carbon paste electrode, *Talanta*, 50,1157–1162.

[122]. Beija, M., Afonso, C. A. M., Martinho, J. M. G., 2009, Synthesis and Applications of Rhodamine Derivatives as Fluorescent Probes, *Chemical Society Reviews*, 38, 2410–2433.

[123]. Bossi, M., Belov, V., Polyakova, S., Hell, S.W., 2006, Reversible Red Fluorescent Molecular Switches, *Angewandte Chemie International Editions*, 45, 7462–7465.

[124]. Shiraishi, Y., Miyamoto, R., Zhang, X., Hirai T., 2007, Rhodamine-Based Fluorescent Thermometer Exhibiting Selective Emission Enhancement at a Specific Temperature Range, *Organic Letters*, 9, 3921–3924.

[125]. Arbeloa, T.L., Arbeloa, F.L., Bartolome, P.H., Arbeloa, I.L., 1992, On the Mechanism of Radiationless Deactivation of Rhodamines, *Chemical Physics*, 160, 123–130.

[126]. Streu, C., Meggers, E., 2006, Ruthenium-Induced Allylcarbamate Cleavage in Living Cells, *Angewandte Chemie International Editions*, 45, 5645–5648.

[127]. Lavis, L.D., Chao, T.Y., Raines, R.T., 2006, Fluorogenic Label for Biomolecular İmaging, *ACS Chemical Biology*, 1, 252–260.

[128]. Pires, M.M., Chmielewski, J., 2008, Fluorescence Imaging of Cellular Glutathione Using a Latent Rhodamine, *Organic Letters*, 10, 837–840.

[129]. Leytus, S.P., Melhado, L.L, Mangel, W.F., 1983, Rhodamine-Based Compounds as Fluorogenic Substrates for Serine Proteinases, *Biochemical Journal*, 209, 299–307.

[130]. Liu, J.X., Bhalgat, M., Zhang, C., Diwu, Z., Hoyland, B., Klaubert, D.H., 1999, Fluorescent Molecular Probes V: ASensitive Caspase-3 Substrate for Fluorometric Assays, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9, 3231–3236.

[131]. Li, J., Petrassi, H.M., Tumanut, C., Masick, B.T., Trussell, C., Harris, J.L., 2009, Substrate Optimization for Monitoring Cathepsin C Activity in Live Cells, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17, 1064–1070.

[132]. Diamond, D., 1998, Principles of Chemical and Biological Sensors, *Wiley Interscience*, New York, 0-471-54619-4.

[133]. Cattrall, W. R., 1997, Chemical Sensors, *Oxford Universıty Press*, Oxford, 71.

[134]. Amini, M.K., Momeni-Isfahani, T., Khorosani, J.H., Pourhossein, M., 2004, Development of an Optical Chemical Sensor Based on 2-(5-Bromo-2-Pyridylazo)-5-(Diethylamino) Phenol in Nafion for Determination of Nickel Ion, *Talanta*, 63, 713–20.

[135]. Hulanicki, A., Glab, S., Ingman, F., 1991, Chemical Sensors Definitions and Classification, *Pure and Aplied Chemistry*, 63, 1247–1250.

[136]. Yüksekoğul, M., 2017, *Rodamin Bazlı Yeni Schiff Bazı Türevlerinin Sentezi Ve Metal İyonlarına Karşı Florometrik Ve Kolorimetrik Özelliklerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

[137]. Baki, S., 2009, *Spektroflorimetrik Analiz Yöntemlerinin Toplam Antioksidan Kapasite Tayinlerine Uygulanması*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

[138]. Kim, JS., Quang, D.T., 2007, Calixarene-derived fluorescent probes, *Chemical Reviews*, 107, 9, 3780–99.

[139]. Schulte-Ladbeck, R., Kolla, P., Karst, U., 2003, Trace analysis of peroxide-based explosives, *Analytical Chemistry*, 75, 731–735.

[140]. Dubnikova, F., Kosloff, R., Almog, J., Zeiri, Y., Boese, R., Itzhaky, H., Alt, A., Keinan, E., 2005, Decomposition of triacetone triperoxide is an entropic explosion, *Journal of The American Chemical Society*, 127, 1146–1159.

[141]. Amin, V.M., Olson, N.F., 1967, Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide in milk, *Journal of Dairy Science*, 50, 461–464.

[142]. Magde, D., Wong, R., Seybold, P.G., 2002, Fluorescence quantum yields and their relation to lifetimes of rhodamine 6G and fluorescein in nine solvents: Improved absolute standards for quantum yields, *Photochemistry and Photobiology*, 75, 327–334.

[143]. Fischer, M., Georges, J., 1996, Fluorescence quantum yield of rhodamine 6G in ethanol as a function of concentration using thermal lens spectrometry, *Chemical Physics Letters*, 260, 115–118.

[144]. Wang, L., Du, W., Hu, Z., Uvdal, K., Li, L., Huang, W., 2019, Hybrid rhodamine fluorophores in the visible/NIR region for biological imaging, *Angewandte Chemie International Editions*, 58, 14026–14043.

[145]. Tu, R., Liu, B., Wang, Z., Gao, D., Wang, F., Fang, Q., Zhang, Z., 2008, Amine-capped ZnS-Mn^{2+} nanocrystals for fluorescence detection of trace TNT explosive, *Analytical Chemistry*, 80, 3458–3465.

[146]. Qi, W., Xu, M., Pang, L., Liu, Z., Zhang, W., Majeed, S., Xu, G., 2014, Electrochemiluminescence detection of TNT by resonance energy transfer through the formation of a TNT–amine complex, *Chemistry-A European Journal*, 20, 4829–4835.

[147]. Penzkofer, A., Lu, Y., 1986, Fluorescence quenching of rhodamine 6G in methanol at high concentration, *Chemical Physics*, 103, 399–405.

[148]. Armitt, D., Zimmermann, P., Ellis-Steinborner, S., 2008, Gas chromatography/mass spectrometry analysis of triacetone triperoxide (TATP) degradation products, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 22, 950–958.

Şen, F.B., Bener, M., Bekdeşer, B., Apak, R., 2021, Redox-based colorimetric sensing of H_2O_2 after removal of antioxidants with ABTS radical oxidation, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 248, 119266.

Bener, M., Şen, F.B., Apak, R., 2020, Novel pararosaniline based optical sensor for the determination of sulfite in food extracts, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 226, 117643.

Akyüz, E., Şen, F.B., Bener, M., Başkan, K.S., Apak, R., 2020, A novel gold nanocluster–based fluorometric biosensor for measuring prooxidant activity with a large Stokes shift, *Talanta*, 208, 120425.

Şen, F.B., Aşçı, Y.S., Bekdeşer, B., Bener, M., Apak, R., 2019, Optimization of Microwave-Assisted Extraction (MAE) for the Isolation of Antioxidants from Basil (Ocimum basilicum L.) by Response Surface Methodology (RSM), *Analytical Letters*, 52(17), 2751-2763.

Akyüz, E., Şen, F.B., Bener, M., Başkan, K.S., Tütem, E., Apak, R., 2019, Protein-protected gold nanocluster-based biosensor for determining the prooxidant activity of natural antioxidant compounds, *ACS Omega*, 4(1), 2455-2462.

Bener, M., Şen, F.B., Kaşgöz, A., Apak, R., 2018, Carrageenan-based colorimetric sensor for total antioxidant capacity measurement, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 273, 439-447.

Bener, M., Şen, F.B., Apak, R., 2018, Heparin-stabilized gold nanoparticles-based CUPRAC colorimetric sensor for antioxidant capacity measurement, *Talanta*, 187, 148-155.

Bener, M., Akyüz, E., Şen, F.B., Başkan, K.S., Tütem, E., Apak, R., 2018, A simple automated microplate method for determining reducing sugars in food extracts and synthetic serum using cupric-neocuproine as reductant, *Turkish Journal of Chemistry*, 42(3), 794-807.

Bildiriler

Bener, M., Şen, F.B., Apak, R., 2019, A simple determination of sulfite in food extracts using a solid sensor, Poster Sunumu, *XX. Euroanalysis*, 01 Eylül 2019, 05 Eylül 2019.

Akyüz, E., Şen, F.B., Bener, M., Başkan, K.S., Apak, R., 2019, Determining the Prooxidant Activity of Food and Biological Samples Using Spectrophotometric Gold Nanocluster-Based Biosensor, Poster Sunumu, *XX. Euroanalysis*, 01 Eylül 2019, 05 Eylül 2019.

Akyüz, E., Şen, F.B., Bener, M., Başkan, K.S., Tütem, E., Apak, R., 2019, Preparation of A Novel Gold Nanocluster-Based Biosensor Using Egg White Protein and Its Application for Measuring Prooxidant Activity, Özet Bildiri, *5th International Conference on New Trends in Chemistry*, 22 Nisan 2019, 24 Nisan 2019.

Şen, F.B., Bener, M., Apak, R., 2018, A Novel Gold Nanoparticles-based Colorimetric Sensor For Antioxidant Capacity Measurement, Poster Sunumu, *8th Black Sea Basin Conference On Analytical Chemistry (8th Bbcac)*, 09 Mayıs 2018, 11 Mayıs 2018.

Bener, M., Şen, F.B., Kaşgöz, A., Apak, R., 2016, Natural Polymer Film-based Optical Sensor For Food Antoxdants, Poster Sunumu, *19th Isanh International Conference On Oxidative Stress Reduction, Redox Homeostasis & Antioxidants,* 26 Haziran 2016, 27 Haziran 2016.