

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ**

**Çeşitli Çevre Örneklerindeki Bazı Ağır Metallerin Dispersif
Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME) Yöntemiyle
Belirlenmesi**

FHD-2017-7336

Hızlı Destek Projesi

SONUÇ RAPORU

**Proje Yürütücüsü:
Doç.Dr.Şerife SAÇMACI
Fen Fakültesi/Kimya Bölümü**

**Araştırmacının Adı Soyadı
Doç.Dr.Şerife SAÇMACI
Fen Fakültesi/Kimya Bölümü**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Doç.Dr. şerife SAÇMACI

ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR

Bu çalışmada maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: FHD-2017-7336) teşekkür ederim.

Doç.Dr.Şerife SAÇMACI

Kayseri, Ekim 2017

“Çeşitli Çevre Örneklerindeki Bazı Ağır Metallerin Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME) Yöntemiyle Belirlenmesi”

Doç.Dr.Şerife SAÇMACI

**Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü
Hızlı Destek Projesi, Ekim 2017
Doç. Dr. Şerife SAÇMACI**

ÖZET

Arsenik ve bileşikleri, böcek ve tarım ilaçları, fare zehiri, bazı kanser ilaçları, boya, duvar kağıdı, seramik gibi çeşitli ürünlerin imalatında kullanılır. Çeşitli arsenik bileşiklerinin vücut dokuları ve fonksiyonları üzerindeki zararlı etkileri olduğu bilinmektedir. Arsenik iyonunun kanserojen etkilere sahip olduğu bilindiği için, bu çalışma da çeşitli gıda örneklerindeki As(III) iyonunun ultra-eser düzeyde tespiti için ICP-MS ile direkt tayin ve florimetreden elde edilen sonuçlarla karşılaştırma yapılması amaçlanmıştır.

As(III)'ün son zamanlarda gerçek örneklerdeki analizleri biyolojik sistemlerdeki toksitesi ve gerekliliği sebebi ile önemli olduğu ortaya konmuştur. Bu nedenle öncelikle As(III) iyonunun tayininde kullanılmak üzere 3',6'-bis(dietilamino)-2-[[[(1E)-(2,4-dimetoksifenil)metilen]amino}spiro [izoindol-1,9'-ksanten]-3(2H)-on (BDA) bileşiği mikroekstraksiyon yöntemi ile ilk defa kullanılmıştır.

Geliştirilen yöntemin optimizasyonu için; örnek pH ve asitliği, BDA miktarının etkisi, As(III) miktarı, santrifüjleme hızı ve süresi vb gibi değişkenlerin optimizasyonu yapılarak, optimum şartlar altında çeşitli gıda örneklerindeki eser miktardaki As(III) ve toplam As'ün tayini gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen metodun doğruluğu standart referans maddeleri ve analit ilavesi ile test edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Arsenik, ICP-MS, direkt tayin, gıda örnekleri

“Determination of Some Heavy Metals in Various Environmental Samples by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction (DLLME) Method”

Assoc. Prof. Dr. Şerife SAÇMACI

**Erciyes University, Faculty of Sciences
Department of Chemistry**

ABSTRACT

Arsenic and its compounds are used in the manufacture of various products such as insect and pesticides, mouse poison, some cancer medicines, paint, wallpaper, ceramic. It is known that various arsenic compounds have detrimental effects on body tissues and functions. Since it is known that arsenic ion has carcinogenic effects, this study aimed to compare the results of direct determination with ICP-MS and results obtained from fluorimetry for ultra-trace level detection of As (III) ion in various food samples.

Analysis of As (III) in real time has recently been shown to be important due to its toxicity and necessity in biological systems. For this reason, 3', 6'-bis (diethylamino) -2 - {[(1E) - (2,4-dimethoxyphenyl) methylene] amino} spiro [isoindole-1,9'-xanthene] -3 (BDA) compound was first used for the determination of As (III) ion by microextraction method.

For the optimization of the developed method; (III) and total As in the various food samples under optimum conditions by optimizing the parameters such as pH and acidity of the sample, the effect of the amount of BDA, the amount of As (III), the rate of centrifugation and the duration etc. The accuracy of the developed method was tested by standard reference materials and analyte addition.

Keywords: Arsenic, ICP-MS, direct determination, food samples

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	3
ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR	i4
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	7
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
TABLolar LİSTESİ.....	xv
GİRİŞ	13

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Arsenik ve Zararları	12
1.2. Eser Elementlerin Zenginleştirilmesi	3
1.2.1. Zenginleştirme Yöntemleri	4
1.3. Zenginleştirme Yöntemleri	8
1.4. DLLME'nin Prensipleri.....	8

2. BÖLÜM

DOĞRUDAN ANALİZ YÖNTEMLERİ

2.1. Analiz teknikleri.....	12
2.1.1. X-Işını Floresans Spektroskopisi (XRF).....	12
2.1.1.1. XRF çalışma prensibi	13
2.1.1.2. Uygulama Alanları.....	13
2.1.2. Ark ve Kıvılcım Emisyon Spektroskopisi	13

2.1.2.1. Çalışma İlkesi	13
2.1.2.2. Analitik Uygulamaları.....	14
2.1.3. İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma (ICP).....	14
2.1.3.1. Çalışma Prensibi	14
2.1.3.2. Analitik Uygulamaları.....	15
2.1.4. Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (GFAAS)	15
2.1.4.1. Çalışma İlkesi	15
2.1.4.2. Analitik Uygulamaları.....	15
2.1.5. Nötron Aktivasyon Analizi	16
2.1.5.1. Çalışma İlkesi	16
2.1.5.2. Nötron Aktivasyonun Uygulaması	16
2.1.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	16
2.1.6.1. Çalışma İlkesi	16
2.1.6.2. Uygulama Alanları.....	16

3. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

3.1. Deneyde Kullanılan Aletler	18
3.1.1. Ölçüm Cihazı	18
3.1.2. Mikropipet	18
3.1.3. Santrifüj.....	18
3.1.4. pH metre.....	18
3.1.5. Tüp.....	18
3.1.6. Süzgeç Kâğıdı.....	19
3.2. Kullanılan Reaktifler ve Hazırlanışı.....	19
3.2.1. Ortam Bileşenlerinin Etkisinin İncelenmesinde Kullanılan Çözeltiler	19
3.3. Dispersif Sıvı Sıvı Mikro Ekstraksiyonu İle Nikelin Tayini İçin Çözeltilerin Hazırlanması.....	20
3.4. pH Etkisi	20
3.5. MMD Reaktifinin Miktarının Etkisi	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

3.6. Dispersif Çözücü – Organik Çözücü Türünün Taranması	22
3.7. Santrifüj Hızının Ayarlanması.....	23
3.8. Santrifüjleme Zamanı Taraması.....	24
3.9. Ortam Matriks Bileşenlerinin Etkisinin İncelenmesi	25
3.10. Yöntemin Gözlenebilme Sınırı	25
3.11. Gerçek Örnek Analizi	26
3.12. Yöntemin Doğruluğunun İncelenmesi	27
3.12.1. Standart Referans Madde (SRM) Analizi.....	27

BÖLÜM 4

TARTIŞMA VE SONUÇ

KAYNAKLAR	28
------------------------	-----------

KISALTMALAR VE SİMGELER

Sembol	Anlamı
A	: Absorbans
As(III)	: Arsenik iyonu
C	: Derişim
MPA	: 3-Mercapto propiyonik asit
GFAAS	: Grafit Fırınılı Atomik Absorpsiyon
GSA	: Gözlenebilme Sınırı Altında
ICP	: İndüktif Eşleşmiş Plazma
XRF	: X-ışını Floresans Spektroskopisi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1.	E Şekil 3.1. Lullanılan şelat ligandının açık yapısı (MPA).....	20
Şekil 3.2.	pH etkisi	21
Şekil 3.3.	Ligand Miktarının Etkisi	22
Şekil 3.4.	. Disperser Miktarının Etkisi	23
Şekil 3.5.	Solvent Miktarının Etkisi	23
Şekil 3.6.	Santrifüj Etkisi.....	24
Şekil 3.7.	Santrifüj Zamanı Etkisi	24

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Bazı yabancı iyon türlerinin geri kazanma verimi üzerine etkisi.....	25
Tablo 3.2. Gerçek örnek analizi.....	26
Tablo 3.3. CRM analizi	27

GİRİŞ

Yeni ve çevreci bir yöntem olan dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi, ultra eser miktardaki elementlerin tayini için oldukça basit ve ucuz bir yöntem olup, sentezlediğimiz floresans madde BDA ile çeşitli denemeler yapılmış ve floresans verimi en yüksek olarak As(III) belirlenmiştir. Arsenik'in hızlı zenginleştirilmesi ve ayrılması için geliştirildi. Analitin ekstraksiyonu için şelatlayıcı ligand olarak sentez edilmiş yeni bir reaktif olan ve floresans özelliği olan BDA kullanıldı ve tayinler florimetre ile yapıldı. Elde edilen sonuçlar ise ICP-MS ile tayin edilip karşılaştırıldı. Kloroform ve aseton sırasıyla ekstraksiyon ve dispersif çözücü olarak kullanıldı. Seçilen iyonların geri kazanma verimi üzerine pH, ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı, ligand derişimi ve örnek hacmi gibi ekstraksiyonu ve kompleks oluşumunu etkileyen parametreler optimize edildi. Elde edilen optimum şartlar altında As(III) iyonlarının 10 mL sulu çözeltisinden kantitatif geri kazanma gerçekleştirildi. Kalibrasyon doğrusunun lineer aralığı için 0.1-3 mg L⁻¹ gözlenebilme sınırı 1.00 µg L⁻¹ bulundu. Yöntemin yüzde bağıl standart sapması (%BSS) %1,0 veya daha iyidir. Yöntemin doğruluğu sertifikalı standart referans madde ile çalışıldı. Sonuç olarak çalışılan yöntem çevresel örneklerdeki As(III)'nin tayininde başarıyla uygulandı. Sonuçlar gösterdi ki geliştirilen yöntem As(III) ayrılması ve zenginleştirilmesi için duyarlı, hızlı, basit ve güvenli bir yöntemdir. Gerçek örneklerin çözünürleştirilmesinde mikrodalga yöntemi seçildi ve tüm örnekler en az 3 paralel olacak şekilde çözüldükten sonra ICP-MS ile de direkt tayinleri yapılarak, florimetre ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Arsenik ve zararları

Periyodik cetvelde bulunan VA grubunda yer alan yarı metal bir elementtir. Arsenik tüm evrende olduğunu düşünülmektedir. Dünya’da arsenik büyük bir bölümü bakır ve kurşun metallarında bulunur. Dünyamızda bu kadar fazla bulunan bir maddenin insan üzerinde de büyük bir etkisi vardır. Hatta arsenik maddesi yediğimiz yemek ve içeceklerin içinde de bulunduğu söylemek doğru bir karardır [1-3].

EPA arsenik miktarını, elma sularında ve içme sularında resmi tutarının üst limitinin 10 ppb üstünde arsenik bulmuştur. FDA, yaptığı açıklamalar neticesinde, organik arsenik olduğunu ve sağlık için tehdit oluşturmadığı, ancak tavukların organik arsenik maddesini zararlı bir inorganik arseniğe çevrilebileceğini ifade etmiştir [4]. ABD yapılan araştırmayı dikkate almış ve organik arsenik tavuk satışını engelleyen ilk ülke olmuştur. İnorganik arsenik kanser dışında, birçok hastalığa yol açmıştır. Sadece tavuklarda değil, diğer hayvanlarda organik arseniğin inorganik arseniğe çevirebilme ihtimali üzerinde durulmaktadır. Ülkemizde şebeke sularında bulunan arseniğin düşürülmesi için arıtma tesislerinde kurulmayı hedeflemişlerdir [5-8].

Arsenik miktarının doğada düzenli bir şekilde dağılmasına karşın, bilinçsiz kullanılması korkutucu bir durumdur.

*Mürekkep

*Tekstil boyaları

*Böcek öldürücü ilaçlar

*Sigara

*Penisilin buluşuna kadar frengi hastalıklarının tedavisinde arsenik kullanılmıştır.

Günümüzde artık arsenik boyalar içeren pestisitler yasaklanmış ancak Çin başta olmak üzere Uzak Doğu ülkeleri birçok yerde kaçak olarak kullanılmaktadır. 1800-1900 yıllarda böcek öldürücü ilaçların içinde bulunan bu zararlı madde o dönemlerde sedef hastalığına, astıma ve 1970'li yıllarda lösemi hastalığı için kullanılmıştır. Tarımda bilinçleşen çiftçiler, 1995 yılında arsenik kullanımını %4'e gerilemiştir. Ortalama bir insan 40 mikrogram arsenik bileşiklerini vücuduna alır. Arsenik maddesi, birçok üründe bulunmakla birlikte, özellikle de önemli olarak gıda ürünleri karşımıza çıkmaktadır. Bu gıda ürünleri incelendiği takdirde ise, deniz ürünleri, kümes hayvanları ve mantarda bulunduğu anlaşılmıştır. Günlük tavuk tüketilmesi durumunda 21-30 mikrogram arsenik alınmaktadır [9].

Kalitesiz ve denetimi olmayan makyaj ve boya malzemelerinden mümkün olduğunca uzak durulmalıdır. Çin'de üretilen çoğu oyuncaklarda bulunduğu bilinmektedir. Vücutta olması gereken miktardan fazla alınan arsenik; karın ağrısı, kusma, bulantı ve boğazda yanma hissi gibi hastalıklar ortaya çıkar. Yüksek miktarda alınan arsenik kalp yetmezliğine, dolaşım bozukluğuna ve sonunda ölüme neden olmaktadır. Kronik zehirlenme, ciltte kansere benzeyen oluşumlar, sinir sisteminin işlevinin bozulması, ilerleyici halsizlik ve yorgunluk, bilinçte bozulma, dışkılama ve işeme sorunları, tırnak çizgilenmeleri ve hatta ardından ölüme sonuçlanabilir. Bu yüzden yukarıda belirtilen hastalık yapan malzemeleri kullanmaktan kaçınılmalıdır [10].

1.1. Eser Elementlerin Zenginleştirilmesi

Modern teknolojinin gelişmesiyle yüksek saflıktaki maddelere olan ihtiyacın artması, öte yandan hava, su ve toprağın kirlenmesi, bu kirlenmenin canlılar üzerindeki etkisi gibi çevre sorunlarının giderek önem kazanması, eser element analizlerini analitik kimyanın en önemli dallarından biri haline getirmiştir. Bu sebeple, çevre kirliliği, elektronik sanayi gibi birçok değişik alanda eser elementlerin etkilerinin araştırılması ve bunların tayinlerinin yapılması büyük önem kazanmıştır. Yine eser düzeydeki elementlerin insan vücudu ve metabolizmasına etkileri eser element tayinlerini daha da önemli hale getirmiştir [11]. Eser elementin örnekteki dağılımı kadar, kimyasal formları hakkındaki bilgide sıkça gerekmektedir. Örneğin doğal sulardaki eser ağır metallerin kimyasal formlarının tayini çevre problemleri, jeokimya, eser elementlerin biyolojik etkileri ve sudaki davranışı hakkında bize yararlı bilgi vermektedir [11].

“Eser Derişim” olarak kabul edilen derişim aralığı; eser analiz tekniklerindeki gelişmelere paralel olarak zaman içerisinde değişim göstermiştir. 1940’lardan önce, % 10^{-1} - 10^{-2} , seyrek olarakta % 10^{-3} eser derişim olarak kabul edilirken, 1950’lerde % 10^{-3} - 10^{-5} , 1965’lerde ise % 10^{-6} - 10^{-8} eser derişim olarak belirtilmiştir. Bu planda ilk adlandırma ve sistematik yaklaşımı Kaiser nermiştir. Kaiser, ppm ve ppb tanımlarını vermiştir. Bugünkü yaygın kullanım ise % 10^{-2} - 10^{-6} derişim aralığı eser, % 10^{-6} ’nın altındaki derişimler de ultra eser olarak bilinmektedir [12]. Eser analizde, eser elementler matriks olarak adlandırılan örneğin majör bileşenlerinin bulunduğu ortam içinde tayin edilebilirler. Bu ortamlar ise metaller, madenler, mineraller, bileşikler, su, sulu çözeltiler, organik ve biyolojik maddeler olarak sıralanabilir. Matriks adı verilen ortam eser element analizlerinde olumsuz etki yapabilirler. Böyle ortamlarda yeterli duyarlılık, kesinlik ve doğrulukla sonuç alınmaz. Hatta bazı hallerde tayin yapmak imknsızdır. Çünkü eser element derişimi belirli bir düzeyin üzerinde olmalıdır. Aksi takdirde alınan sinyal aletin zemin sinyalinin altında kalır [11].

Ortam girişimlerini önlemek ve tayin kapasitesini artırmak için analiti ortamdan ayrılır ve küçük bir hacimde toplanır.

1.2. Zenginleştirme Yöntemleri

Zenginleştirme yöntemleriyle, eser elementler bozucu ortam bileşenlerinden ayrılarak, daha küçük hacim içerisine alınıp, deriştirilir. Ayırma işlemi ile her bir bileşen ayrılırken, deriştirme işlemi ile bileşenin derişimi artar. Ayırma-deriştirme işlemleriyle aşağıdaki stnlkler sağlanır [12].

- 1- Büyük rnek miktarıyla çalışılabildiği için örneğin homojen olmamasından kaynaklanacak hatalar önlenir.
- 2- Eser element derişimi artırılarak yöntemin tayin kapasitesi artırılır.
- 3- Ayırma işlemi ile eser elementler bilinen ortam (matriks) içine alındığından, standartlar ile örnek ortamını benzetmek kolaylaşır.
- 4- Bozucu etki gösteren ortam, uygun ortam ile yer değiştirdiği için zemin girişimi azalır.
- 5- Seçimlilik artar.

Eser element analizinde kullanılan zenginleştirme yöntemlerinin değerlendirmesinde iki önemli kriter kullanılır. Bunlardan birincisi, istenilen eser elementin bulunduğu ortamdan alınmasının ölçüsü olan geri kazanma verimi (R), ikinci kriter ise ayırma faktörüdür.

Eser element analizinde kullanılan bazı zenginleştirme yöntemleri şunlardır.

1.1.1. İyon Değişirme

1.1.2. Ekstraksiyon ile Zenginleştirme

1.1.3. Birlikte Çöktürme ile Zenginleştirme

1.1.4. Elektrolitik Zenginleştirme

1.1.5. Uçurma ile Zenginleştirme

1.1.6. Kromatografik Ayırma ile Zenginleştirme

1.2. Sıvı Sıvı Ekstraksiyonuna Karşılık Diğer Metotlar

LLE analitik kimyada geniş olarak çalışılan klasik ön işlem tekniğidir [13]. Sıvı sıvı ekstraksiyonu (LLE), analiti sulu örnekten suda miksleşemeyen çözücüye transfer etmeyi temel alır. Yüksek tekrarlılık ve yüksek örnek kapasitesi sunsa da [14] emülsiyon oluşumu, büyük örnek hacmi tüketimi ve yüksek saflıkta organik çözücüye ihtiyaç duyması, zehirli organik çözücüler ve bundan dolayı büyük miktarda kirleticiler sağlayan LLE; çalışma yoğunluğu, kantitatif ekstraksiyon için uzun ekstraksiyon zamanına ihtiyaç duyulması, pahalılık, zaman tüketimi ve çevre açısından zararlı olması gibi bazı zorlukları vardır. Bu problemlerin üstesinden gelmek için bilindik LLE'de kullanılan ekstraktanın ihmal edilebilecek hacimde ve minimum sayıda adımı içeren alternatif, farklı çeşitlerde LLE teknikleri önerilmiştir ve bu alanda yapılan araştırmaların çoğu mikro ekstraksiyon tekniklerinin üzerine yoğunlaşmıştır [15]. Mesela dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyonu (DLLME), tek damla mikro ekstraksiyonu (SDME), çözücü çubuk mikro ekstraksiyonu (SBME), oyuk fiber sıvı faz mikro ekstraksiyonu (HF-LPME), ve bulutlanma noktası ekstraksiyonu (CPE) gibi bazı yeni minyatürize metotların geliştirilmesine öncülük etmiştir [16].

Genelde dispersif çözücü ve ekstraksiyon çözücüsünün karışımı mikro şırınga kullanılarak hızlıca aktarılır ve dispersif ekstraksiyon çözücüsü içine analitin kantitatif olarak ekstrakte edilmesi için kuvvetlice çalkalanır. Dispersif çözücünün seçiminde ekstraksiyon çözücüsünün dispersif olma yatkınlığı tercih sebebidir ve analitin etkin ekstraksiyonunu başarmada önemlidir. DLLME ETAAS tayini öncesinde farklı elementlerin ayrılması ve zenginleştirilmesinde yaygın kullanıma sahiptir [17].

Küçük örnek hacimleri için yüksek seyreltme gerekir ve ölçülen elementin derişimi tayin sınırından daha düşüktür. Bu yüzden yüksek seçiciliği korurken örnek tüketimini minimize etme manasında ölçüm için gözle görülebilir öneme sahiptir [18].

1.4. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikro Ekstraksiyonu

Dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyonu (DLLME) 2006'da Assadi ve çalışma arkadaşları tarafından başlatılmıştır. Burada HLLC ve CPE gibi üçlü bileşen sistemi temel alınır. Bu sistem birkaç mikro litre klorobenzen, kloroform veya aseton gibi yüksek yoğunluklu, dispersif çözücü ile ekstraktan ve sulu fazın her ikisinde yüksek düzeyde mışleşebilen birkaç mikro litre hacimde kullanımını ve uygun ekstraktların kullanımını temel alan basit ve hızlı mikroekstraksiyon tekniğidir. Ekstraktan ve dispersif fazın karışımı hızlıca örneğe enjekte edildiği zaman yüksek türbülans oluşur. Bu türbülans durumu sulu örnekte başlı başına dispersif olmuş küçük damlalar toplamda büyük ara yüzey alanına sahiptir. Bulutlu çözeltinin oluşmasından sonra ekstraksiyon çözücüsü ve sulu örnek arasında ki yüzey alanı çok büyük hale gelir, denge durumu çabucak sağlanır ve bu yüzden ekstraksiyon zamanı çok kısadır. Aslında bu DLLME'nin temel avantajıdır. Bulutlu çözeltinin santrifüjünden sonra çöken faz konik tüpün dibine birikir ve uygun analitik tekniklerde kullanılır. DLLME'nin diğer avantajları arasında çalışma basitliği, hızlılığı, düşük maliyeti, yüksek geri kazanımı, yüksek zenginleştirme faktörü ve çevre açısından kabul edilebilirliği bulunur [19].

1.5. DLLME'nin Prensipleri

DLLME'de analitlerin ekstraksiyonu suda ekstraksiyon çözücüsünün dispersiyonunun temel alır. Dispersiyonu başarmada ikincil bir çözelti (dispersif çözelti) kullanılır [20].

DLLME iki adımdan oluşur;

(1) Analiti içeren sulu örneğin içine ekstraksiyon ve dispersif çözücülerin uygun bir karışımının enjeksiyonu. Bu adımda ekstraksiyon çözücüsü çok iyi damlacıklar halinde sulu örnekte dağılır ve analit onun içinde zenginleşir. Ekstraksiyon çözücüsü ve sulu örnek arasındaki büyük yüzey alanı elde edilir, denge durumuna çabucak ulaşılır ve ekstraksiyon zamandan bağımsızdır. Bu, metodun en önemli avantajıdır.

(2) Bulutlu çözeltilerin santrifüjü ve santrifüj sonrasında çöken fazdaki analit analitik bir aletle tayin edilmesi.

DLLME’de ekstraksiyon verimliliğini etkileyen faktörler şu şekildedir;

- (1) Uygun ekstraksiyon çözücüsü.
- (2) Uygun dispersif çözücü.
- (3) Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi ve türü.
- (4) Dispersif çözücünün hacmi ve türü [4].

Genelde DLLME kullanılarak örneğin izolasyonunu gerçekleştirmede birkaç gereklilikten bahsedilebilir. Dispersif çözücü sulu fazda tam olarak çözülebilir olmalıdır. Genellikle aseton, asetonitril ve metanol bu amaç için kullanılmaktadır. Birkaç gerekliliği karşılayan ekstraksiyon çözücüsü analitin ekstraksiyonu potansiyele sahiptir. Ekstraksiyon çözücüsü dispersif çözücüde çözülebilir olması gerekirken, ekstraksiyon çözücüsünün sudaki çözünürlüğünün çok düşük olması gerekir. Final olarak ekstraksiyon çözücüsünün yoğunluğu faz ayrımını sağlamak için suyun yoğunluğundan büyük derecede farklı olmalıdır. Ekstraksiyon ve dispersif çözücülerinin her ikisinin seçimi yüksek zenginleştirme faktörünün (ZF) elde edilmesinde önemlidir ve bu değer çöken fazdaki analitin derişiminin örnekteki analitin başlangıç derişimine oranı olarak tanımlanır. Bu çözücülerin hacimleri optimize edilebilir ve adım-adım yaklaştırma metodu doğrultusunda merkezi kompozit tasarım bu amaç için kullanılmaktadır. DLLME’yi etkileyen diğer parametrelerde optimize edilmiş olmalıdır. İki çok sık optimize edilen parametre örneğe eklenen tuzun miktarı (tuz dışlama etkisi) ve örneğin pH’sıdır. Bunlar polar analitlerin ekstraksiyonunda özellikle önemlidir. pH’nın değeri sulu fazda analitin düşük çözünürlüğü elde etmek için seçilir [21-25]. Şelat reaktifinin etkisi; şelat reaktifi ile reaksiyona giren metal iyonları hidrofobik kompleks formundadır ve disperse olmuş güzel damlalar halinde ekstrakte edilebilirler.

Dispersif çözücünün hacminin ve tipinin etkisi; DLLME’de dispersif çözücünün seçimi kritiktir. Bu ekstraksiyonun verimliliğini ve zenginleştirme faktörünü etkiler. Dispersif çözücü ekstraksiyon prosedürü sırasında ekstraksiyon çözücüsünün içinde çözünmüş durumdadır ve ekstraksiyon reaktifini güzel damlalar halinde disperse etmede köprü görevini görür. Sonuç olarak çözelti üçlü hale gelir, ekstraktan ile hedef analitin arasındaki temas alanını en yüksek derecede artırmıştır, böylece ekstraksiyon verimliliği artmıştır. Ekstraksiyon zamanının etkisi; Ekstraksiyon zamanı ekstraksiyon prosedürünün çoğunda anahtar bir faktördür. DLLME’de ekstraksiyon zamanı dispersif çözücü ve ekstraktan karışımının enjeksiyonu ve santrifüjün başlaması arasındaki zaman olarak tanımlanır [16]. Santrifüj hızı ve zamanının etkisi; Santrifüj hızı ve zamanının incelenmesi deneyin kısa zamanda tamamlanması ve kantitatif geri kazanım değerlerinin elde edilmesi açısından önemlidir. Şelat reaktifinin derişimi; şelat yapıcının miktarı optimize edilmelidir, çünkü aşırı reaktif eklenmesinde kompleks yapmış ve yapmamış reaktifin organik faza geçen kısımları arasında yarış başlar ve analitin geri kazanımında düşme gözlenir. pH’nın etkisi; Metal iyonlarının ekstraksiyonunda metal kompleksinin ekstraksiyon verimliliği sistemin pH’sına karşı incelenir. Olasılık durumları göz önüne alındığında tam şelat oluşumu için gereken asitlik sağlanırken yüksek pH’lar metal iyonları hidroksitleri şeklinde çökmelere yol açacaktır.

Tuz etkisi; Bilindik sıvı-sıvı ekstraksiyonunda analitin ekstraksiyonunu artırmada çoğunlukla tuz dışlama etkisi nedeniyle tuz eklenir. Tuz dışlama etkisini geliştirmede % 0 ila % 10 (w/v) aralığında NaCl derişimi ile çalışılarak ekstraksiyon verimliliği incelenir [16].

Uygun ekstraksiyon çözücüsünün seçimi DLLME prosesinde ana parametredir. Organik çözücüler sudan daha yüksek yoğunluklu olmaları ilgilenilen bileşiklerin ekstraksiyon kapasiteleri ve iyi kromatografik davranış sergilemeleri temelinde seçilmiştir. Klorobenzen, kloroform, karbon tetraklorür ve tetrakloroetilen gibi halojenli hidrokarbonlar çoğunlukla ekstraksiyon çözücüsü olarak seçilir çünkü onların yoğunlukları sudan yüksektir.

Ekstraksiyon çözücüsü ve sulu fazın her ikisinde dispersif çözücünün miksleşebilirliği onun seçiminde bir zorunluluktur. Aseton, metanol ve aseto nitril genellikle dispersif çözücü olarak seçilir. Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi zenginleştirme faktöründe önemli bir etkiye sahiptir (ZF). Ekstraksiyon çözücüsünün hacminin artırılması ile

santrifüj sonrasında ele geçen çökmüş fazın hacmi artırır. Sonuç olarak ZF düşer. Bu yüzden optimum ekstraksiyon çözücüsünün hacmi yüksek ZF ve santrifüj sonrasında analize yeterli olacak şekilde çöken fazın yeterli hacminin her ikisinin de karşılmalıdır. Dispersif çözücünün hacmi bulutlu çözeltinin oluşması (su-dispersif çözücü-ekstraksiyon çözücüsü) sulu fazda ekstraksiyon çözücüsü dispersiyon çözücüsünden direkt olarak etkilenir ve bu daha sonra ekstraksiyon verimliliği etkiler. Dispersif çözücünün hacminin değişimi çöken fazın hacmini değiştirir bundan dolayı çöken fazın sabit hacimlerini elde etmede dispersif çözücünün hacmi ve ekstraksiyon çözücüsünün hacmini aynı anda değiştirmek zordur. İyi bir bulutlu çözelti elde etmede dispersif çözücünün uygun olan hacmi sulu faz ve ekstraksiyon çözücüsünün her ikisinin hacmine bağlıdır. DLLME’de çöken fazın hacmini etkileyen önemli faktörler;

(1) suda ekstraksiyon çözücüsünün çözünürlüğü, (2) örnek çözeltinin hacmi, (3) dispersif çözücünün hacmi ve (4) ekstraksiyon çözücüsünün hacmi.

Deneysel bakış açısından elde edilmek istenen çöken fazın hacmi bazı deneysel testlerde, ana deneyin oluşturulmasından önce yapılmalıdır. İlk olarak sulu fazda ekstraksiyon çözücüsünün çözünürlüğü hesaplanır. Sonra dispersif çözücünün varlığında ekstraksiyon çözücüsünün çözünürlüğünü artırmada bazı denklemler ve çabalar çöken fazın tam hacmini hesaplama doğrultusunda yapılır, bu ekstraksiyon ve dispersif çözücülerinin istenen hacimlerini elde etmede kullanılır. DLLME’de ekstraksiyon zamanı santrifüjden önce dispersif çözücü ve ekstraksiyon çözücüsünün karışımının enjeksiyonu arasındaki süre olarak tarif edilir. Sulu faz ve ekstraksiyon çözücüsü arasındaki yüzey alanı son derece geniştir. Bu yüzden sulu fazdan ekstraksiyon fazına analitin transferi hızlıdır. Sonrasında denge hali çabucak sağlanır.

DLLME’de ZF (zenginleştirme faktörü) çöken fazdaki analit derişiminin (Csed) ve örnekteki analitin Co) nihai derişimi arasındaki

2. BÖLÜM

DOĞRUDAN ANALİZ YÖNTEMLERİ

Geleneksel olarak eser elementlerin tayini, analizi yapılacak olan örneklerin, asitler (veya asit karışımları) ile işlem gördükten sonra uygun bir analitik metod kullanılarak yapılmaktadır. Örneğin çözülmesi işlemi esnasında, analit kayıpları ve/veya numunenin kirlenmesi yönünden risk taşımakta ve ayrıca tehlikeli kimyasalların kullanımını arttırmaktadır. Bu sebep ile doğrudan analiz teknikleri geliştirilmeye çalışılmış ve bu tekniklerin geleneksel prosedürlere göre, daha çok avantaja sahip olduğu belirlenmiştir. Bu avantajlar;

- (i) Gerçek örneklere uygulanan ön muamele işlemlerinin azaltılması,
- (ii) Örneklerde kirlenmenin azaltılması ve daha kısa sürede analizin gerçekleştirilmesi,
- (iii) Çözme işlemiyle meydana gelen analit kayıplarının en düşük seviyeye getirilmesi,
- (iv) Tehlikeli ve aşındırıcı reaktiflerin kullanımının azalması,
- (v) Örnekler uygulananabilirlik yönünden (hem organik hem de inorganik örnekler) geniş bir perspektife sahip olmasıdır [13].

Doğrudan analiz için kullanılan analitik teknikler; X-ışını floresans spektroskopisi (XRF), nötron aktivasyon analizi, taramalı elektron spektroskopisi (SEM) [20].

2.1. Analiz teknikleri

2.1.1. X-Işını Floresans Spektroskopisi (XRF)

XRF; moleküller de elementlerin bileşimlerinin belirlenmesi için yararlanılan en önemli tekniklerden biridir.

2.1.1.1. XRF çalışma prensibi

Atom veya molekül, X ışınları gibi yüksek bir enerji ile uyarılırsa; bu yüksek enerji dış yörüngelerdeki elektronları daha yüksek enerji düzeylerine çıkarır. Uyarılan elektronlar

temel enerji seviyelerine geri döndüklerinde kazanmış oldukları fazla enerjiyi X ışınları şeklinde etrafa yayarlar. X ışınları yayımına floresans ışınması adı verilir. Elementlerin verdiği bu ışınların dalga boyu her element için farklı ve ayırt edicidir. (Elementin parmak izidir.) Işımanın dalga boyunun belirlenmesi ile elementin türü (nitel), belirlenen bu ışının şiddetinin ölçülmesi ile de element derişimi (nicel) belirlenebilmektedir [24].

XRF enstrümental aletleri sayesinde çözme işlemine gerek duyulmaz. Bu durum XRF aletlerinin önemini oldukça arttırmaktadır.

Enerji dağılımlı X-ışını floresans (EDXRF) analizörleri (taşınabilir XRF analiz cihazları), hava izleme filtreleri ile toplanan toz numuneleri, kayalar, topraklar veya metal örnekleri dahil olmak üzere çevresel örneklerde, hızlı ve tahribatsız analiz yapmak mümkün ve 25'e kadar elementlerin eşzamanlı analizinin sağlanması bu tekniğin avantajlarından [18].

2.1.1.2. Uygulama Alanları

- ✓ Standart metotlar ile bilinmeyen inorganik materyaller, katı, sıvılar ve tozların nitel ve nicel analizleri,
- ✓ Kayaç ve minerallerin uluslararası standartlara uygun olarak kimyasal analizleri,
- ✓ Maden ve endüstriyel hammaddelerin komple kimyasal analizleri,
- ✓ Çimento, çimento hammaddeleri ve mineralojik katkı malzemeleri analizleri,
- ✓ Katı atıkların kimyasal analizleri yapılmaktadır [22].

2.1.2. Ark ve Kıvılcım Emisyon Spektroskopisi

2.1.2.1. Çalışma İlkesi

Atom, iyon veya moleküller için, analizi yapılacak numunenin atomlaştırılması ve bir üst enerji düzeyine çıkarılmasında genellikle kullanılan metod, iki elektrot arasına uygulanan elektrik boşalımıdır. Bu metodta; numune elektrotlardan birisinin içine yerleştirilir ve numune olmayan karşıt elektrotla bu elektrotun arasına elektrik boşalımı uygulanır. Elektriksel atomlaşma iyonlaşma ve uyarma proseslerinde ark veya kıvılcım boşalımları kullanılır ve en çok uygulama alanı bulan “doğru akım (dc) arki”dır [22].

Analiz edilecek numunenin atomlaştırılması ve meydana gelen atomların uyarılarak bir üst enerji seviyesine çıkması amacıyla yararlanılan elektriksel boşalım türlerinden bir diğeri ise; kıvılcım'dır. Yüksek akım yoğunluğu ile 50 Hz'lik frekansa sahip kondansatör boşalımı kıvılcım kaynağı elde edilir. Uygulanan gerilimin ve akım şiddetinin çok yüksek olması sebebi ile 30000 – 40000 °C arasında yüksek sıcaklıklara ulaşılabilir. Bu sıcaklıkta numunedeki elementlerin pek çoğu iyonlaştığı için kıvılcım kaynağının kullanıldığı aletler ile elde edilen spektrumların neredeyse tamamı iyonik hatlardan oluşmaktadır. Sonuçların tekrarlanabilirliği çok yüksek olsa da; kıvılcım kaynağının duyarlığı, “ark”a oranla daha düşüktür [22].

2.1.2.2. Analitik Uygulamaları

Emisyon spektroskopisinde nitel analiz, elde edilen spektrumdaki şiddetli hatların dalgaboyu değerlerinin, elementlerin bilinen ve karakteristik emisyon dalgaboyu değerleri ile karşılaştırılmasıyla yapılır. Bu amaç doğrultusunda, korelasyon tablolarından yararlanılır veya varlığından şüphelenilen elementlerin spektrumları kaydedilir ve örnekten elde edilen spektrumla karşılaştırılır. Hatların en az üçünün dalgaboyu değerlerinin uyuşması ile şüphelenilen elementin varlığı kanıtlanır. Emisyon spektroskopisi daha çok elementlerin nicel analizinde kullanılır. Emisyon spektroskopisinde duyarlık, absorpsiyon spektroskopisinde olduğu gibi temel enerji düzeyinde oluşturulan atom sayısına bağlıdır [20-30].

2.1.3. İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma (ICP)

2.1.3.1. Çalışma Prensibi

Emisyon spektroskopisinde elektrik boşalımına dayanan atomlaştırma ve uyarma kaynakları son yıllarda yerini plazmalara bırakmıştır. En çok kullanılan plazma türü ICP, İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma (Inductively Coupled Plasma) dır. Plazma katyon ve elektron (bu ikisinin net toplam elektrik yükü 0 olmalıdır) içeren elektriksel olarak iletken olan gaz halindeki iyon akımı olarak tanımlanabilir. Kolay iyonlaştırılabilmesi ve inert olması nedeniyle ICP tekniğindeki plazma argon gazı ile oluşturulur. Çok çeşitli yöntemlerle plazma oluşturmak mümkün olmakla beraber bu yöntemde elektromanyetik olarak argon gazının indüksiyon sarımlarında bir radyo frekans (rf) jeneratörü ile

etkileştirilmesiyle elde edilir. ICP cihazları hibrit cihazlar (ICP-OES, ICP-MS) olarak kullanılır [21].

2.1.3.2. Analitik Uygulamaları

ICP-emisyon spektroskopisi birçok üstünlüğü olan bir yöntemdir. Elde edilebilen yüksek sıcaklık nedeniyle, çok kararlı bileşikler bile plazma sıcaklığında atomlarına ayrışırlar. Ayrıca alevin kullanıldığı absorpsiyon ve emisyon spektroskopisi yöntemlerinde, oksijenin yüksek kısmi basıncı nedeniyle toprak alkali elementleri nadir toprak elementleri ve bor, silisyum gibi bozunmayan oksit ve hidroksit radikaller oluşturan elementlerin analizinde duyarlılık düşüktür. Fakat argon gazı ile oluşturulan plazmada bu elementlerin atomlaştırılmasında böyle bir sorun yoktur. ICP-emisyon spektroskopisi yönteminin diğer bir üstünlüğü plazmadaki yüksek elektron yoğunluğudur. Plazmadaki yüksek elektron yoğunluğu analit atomlarının iyonlaşmasını büyük ölçüde engeller. Ayrıca ark, kıvılcım, ve alevli kaynakların aksine plazmada sıcaklığın atomlaşma bölgesinin her yerinde aynıdır [20].

2.1.4. Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (GFAAS)

2.1.4.1. Çalışma İlkesi

Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS); yüksek sıcaklıkta gaz halinde olan element atomlarının elektromanyetik ışınları soğurması üzerine kurulmuştur. Atomlaştırıcı olarak alev yerine grafit fırın kullanılıyor ise, grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrofotometresi (GFAAS) elde edilir. Alevsiz atomlaştırıcılara elektrotermal atomlaştırıcılar da denir. Elektrotermal atomlaştırıcılar içinde en tanınmış olanı grafit fırınıdır [5].

2.1.4.2. Analitik Uygulamaları

GFAAS ile genellikle metalik özellikteki elementlerin tayini yapılır. Bütün element atomları kendilerine ait dalga boyundaki ışını soğurup uyarıldıklarında elektronların bulunduğu daha yüksek enerji düzeylerine bağlı olarak farklı şiddetlerde ve dalga boylarında soğurma hatları meydana gelir. Spektroskopik analizlerde çalışılacak dalga boyu belirlenirken en güçlü soğurulmanın olduğu dalga boyu seçilir. Böylece seçilen dalga boyunda düşük konsantrasyonlar da bile absorpsiyon değerleri elde edilebilir.

GFAAS'de elementlerin kantitatif tayini için kalibrasyon grafiği ve standart ekleme yöntemleri kullanılır [3,4].

2.1.5. Nötron Aktivasyon Analizi

2.1.5.1. Çalışma İlkesi

Aktivasyon analizlerinin temelini, bir örneğin nükleer bir reaktörden gelen ısıl nötronlar ile bombardıman edilmesi sonucunda meydana gelen radyoaktivitenin ölçülmesi, oluşturur. Aktivasyon analiz metodlarının hassasiyetinin diğer metodlara göre, 100 misli yüksek olması nedeniyle büyük önem arz etmekte ve bu metod ile ppm seviyelerindeki derişimlerde tayinler yapılabilmektedir [3].

Nötronların madde ile etkileşimi birkaç şekilde gerçekleşebilir. Bombardıman sonucu oluşan ürün (veya ürünler) bombardımanı yapan nötronların enerjisine bağlıdır. Kararlı bir izotopun ısıl nötronlarla bombardımanı neticesinde, atom numarası hedef elementten bir birim daha yüksek olan çok fazla uyarılmış bir izotop oluşur. Bu izotop hızla (~10-12 saniye içinde) bir gamma ışını (γ) yayarak kararlı hale gelir [8].

2.1.5.2. Nötron Aktivasyonunun Uygulaması

Nötron aktivasyon analizi, pek çok sayıda elemente uygulanabilir. Ek olarak, inert gazlardan dört tanesi ısıl nötronlarla aktif izotoplar haline getirilerek tayini gerçekleştirilir. Ayrıca oksijen, azot, ve itriyum elementleri hızlı nötronlarla aktif edilebilir. Nötron aktivasyonu metodu ile analizi yapılabilen türler ise; metaller, alaşımlar, arkeolojik kalıntılar, yarı iletkenler, biyolojik kaynaklı maddeler, kayalar, mineraller ve su. Aktivasyon analizi uygulamaları, çoğunlukla, eser miktarlardaki elementlerin tayininde kullanılır [9].

2.1.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

2.1.6.1. Çalışma İlkesi

Taramalı elektron mikroskobu(SEM)çalışma şekli yüksek enerjili elektronların çok küçük bir alana odaklanması ile yüzeyin taranması prensibine dayanır. Numunenin yüksek çözünürlüğe sahip topografik görüntüsünün elde edilmesinde kullanılır [4,5].

2.1.6.2. Uygulama Alanları

- ✓ Tıp ve adli uygulamalarda
- ✓ Sanayinin değişik kollarında hata analizlerinde
- ✓ Biyolojik bilimlerde
- ✓ Kaplama yüzeylerinin karakterizasyonunda
- ✓ Tüm katı malzemelerin mikro ve nano ölçekte yapılarını tayin etmek ve bu yapıların elementel analizinde
- ✓ Lif kesitlerinin ve iç yapısının incelenmesinde kullanılır.
- ✓ Tekstil sektöründe kullanılan sentetik ve doğal hammaddelerin karakterizasyonu
- ✓ Üretilen kumaşların amaca uygun olup olmadığı
- ✓ Sektöre hizmet eden yan sanayi ürünlerinin (deterjan, boya, yumuşatıcı) ürün üzerindeki etkileri tespit edilebilir.
- ✓ Boya sektöründe pigmentlerin yapısal tayini ve uygulanan yüzeylerin karşılaştırmasında kullanılır [4].

3. BÖLÜM

DENEYSEL KISIM

Bu çalışmada çeşitli gıda örneklerde dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyonu ile arsenik tayini yapılmıştır. Bu yöntemin geliştirilmesinde başlangıç aşaması ayırma ve zenginleştirme adımı olarak dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyonu kullanılmış sonrasında zenginleştirilen örnekler florimetre ile analiz edilmiştir. Kullanılan yöntemde analitin bulunduğu örnek çözeltiye ligant (MPA) madde eklendi ve uygun pH'ya getirildi, sonra organik çözücü ve dispersif çözücünün bulunduğu faz şırıngayla hızlıca enjekte edildi. Oluşan bulutlu çözelti santrifüj edildi ve içinde analitin şelatının organik fazı dibe çöktürüldü. Dipteki organik faz şırıngayla alındı ve florimetre ile okundu.

3.1. Deneyde Kullanılan Aletler

3.1.1. Cihazlar

Kendi bölümümüzde geliştirilen ev yapımı bir home made florimetre cihazı kullanıldı. Elde edilen sonuçlar ICP-MS'den elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak doğruluk çalışması yapıldı.

3.1.2. Mikropipet

Nichipet marka 20-200, 100-1000, 1000-10000 µL'lik mikro pipet örnek alımları ve çözelti hazırlama adımlarında kullanıldı.

3.1.3. Santrifüj

Rotafix 32 Zentrifugen marka santrifüj, santrifüj işlemlerinde kullanıldı.

3.1.4. pH metre

Çözeltilerin pH ölçümleri için Consort C533 marka dijital pH metre kullanıldı.

3.1.5. Tüp

Deneyde İsolab marka 50 mL'lik plastik tüpler kullanıldı.

3.1.6. Süzgeç Kâğıdı

Katı örneklerin hazırlanmasında süzme işlemlerinde İsolab marka White-medium 110 mm süzgeç kâğıdı kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Reaktifler ve Hazırlanışı

Kullanılan tüm çözeltilerin hazırlanmasında analitik saflıktaki kimyasal maddeler ve deiyonize su kullanılmış olup reaktifler aşağıdaki şekilde ve derişimlerde hazırlanmıştır.

3.2.1. Bozucu Etki Taramasında Kullanılan Çözeltiler:

Na^+ : NaCl 'den 50-20000 mg L^{-1} aralığını içerecek şekilde stok NaCl çözeltisi hazırlanmıştır.

Cl^- : KCl 'den 50-2500 mg L^{-1} aralığını içerecek şekilde stok Cl çözeltisi hazırlanmıştır.

Fe^{3+} : $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 'tan 50-2500 mg L^{-1} aralığını içerecek şekilde stok Fe çözeltisi hazırlanmıştır.

Cu^{2+} : $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 'dan 50-2500 mg L^{-1} aralığını içerecek şekilde stok Cu çözeltisi hazırlanmıştır.

Mn^{2+} : $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'dan 50-2500 mg L^{-1} içerecek şekilde stok Mn çözeltisi hazırlanmıştır.

K^+ : KNO_3 'den 50-5,000 mg L^{-1} içerecek şekilde stok potasyum çözeltisi hazırlanmıştır.

Ca^{2+} : $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'den 50-5000 mg L^{-1} içerecek şekilde stok Ca çözeltisi hazırlanmıştır.

Mg^{2+} : $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'den 50-5000 mg L^{-1} içerecek şekilde stok Mg çözeltisi hazırlanmıştır.

Zn^{2+} : $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 'den 10-50 mg L^{-1} içerecek şekilde stok Zn çözeltisi hazırlanmıştır.

Fe^{3+} : $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'den 10-50 mg L^{-1} içerecek şekilde stok Fe çözeltisi hazırlanmıştır.

Cu^{2+} : $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'den 10-50 mg L^{-1} olacak şekilde stok Cu çözeltisi hazırlanmıştır.

SO_4^{2-} : Na_2SO_4 'den 2500-5000 mg L^{-1} olacak şekilde stok sülfat çözeltisi hazırlanmıştır.

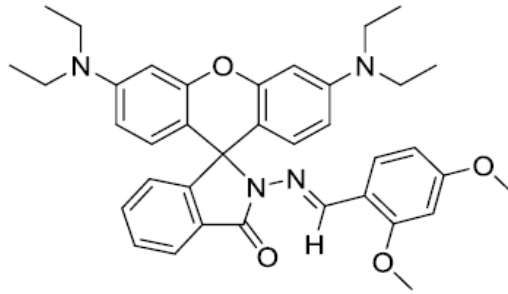
PO_4^{3-} : $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'den $2500\text{-}5000 \text{ mg L}^{-1}$ olacak şekilde stok fosfat çözeltisi hazırlanmıştır.

Deneyleerde kullanılan tüm reaktifler Merck markadır.

3.3. Dispersif Sıvı Sıvı Mikro Ekstraksiyonu İle Nikelin Tayini İçin Çözeltilerin Hazırlanması

Kullanılanlar reaktifler: Şelat yapıcı %1 (m/v) 3',6'-bis(diethylamino)-2-[[1E)-(2,4-dimetoksifenil)metilen]amino}spiro [izoindol-1,9'-ksanten]-3(2H)-on çözeltisi etil alkolde hazırlandı. Kullanılan ligandın açık yapısı aşağıda görülmektedir. 100 mg L^{-1} Ni(II) ara stok çözeltisi 1000 mg L^{-1} stok çözeltilerden seyreltilerek günlük hazırlandı.

Organik faz % 80 etil alkol + % 20 kloroform karışımı 25 mL hazırlandı ve bundan 750 μL şırıngayla enjekte edildi.



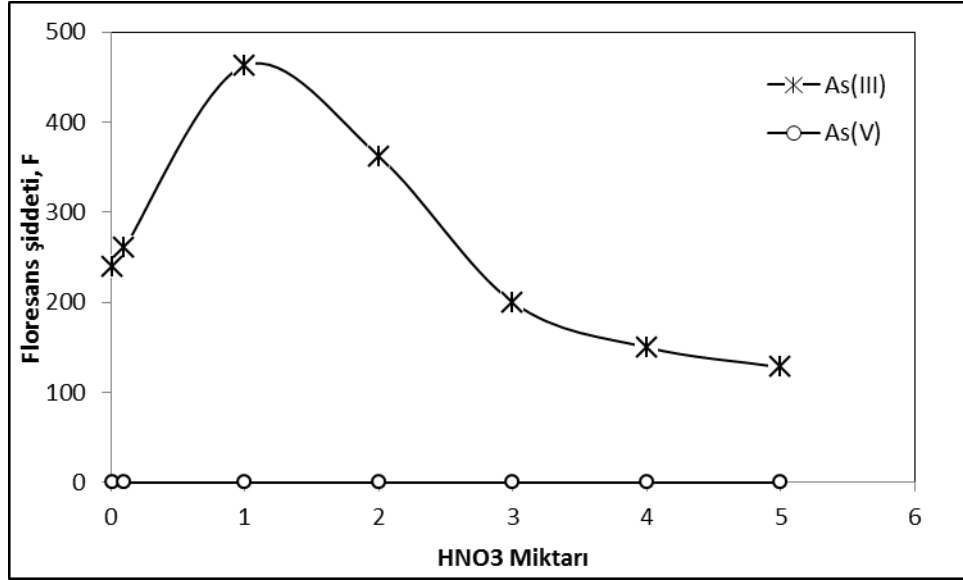
Şekil 3.1. Kullanılan şelat ligandının açık yapısı (BDA).

3.4. pH Taraması

Deneyin yapılışı; 50 mL'lik plastik tüp dibine 750 μL BDA, %1'lik çözeltisinden eklendi. Sonra 100 mg L^{-1} As(III) ve As(V) stok çözeltisinden sırasıyla 150 ve 250 μL eklendi. Hazırlanan tampon çözeltiler pH 1 ve 2 için 1 mol L^{-1} KCl üzerine istenilen pH'ya gelinceye kadar damla damla 1 mol L^{-1} HCl eklenerek hazırlandı. pH 3, 4, 5 ve 6 tampon çözeltileri, 1 mol L^{-1} CH_3COOH ve 1 mol L^{-1} NaOH'den hazırlandı. pH 7, 1 mol L^{-1} $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 'den hazırlandı. pH 8, 9 ve 10 ise 1 mol L^{-1} NH_4Cl üzerine istenen pH'ya gelinceye kadar 1 mol L^{-1} NH_3 'ten damla damla eklenerek tampon çözelti hazırlandı. Asit bazla yapılan ayarlama yerine tampon eklenerek pH 1-10 arasında tarama yapıldı. Son hacim 10 mL'ye saf suyla getirildi. Sonra şırıngayla 2 mL etil alkol

kloroform karışımından eklendi. Arkasından oluşan bulutlu çözelti santrifüj ile 3000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve dibe çöken organik faz şırınga ile alındı. Florimetre ve ICP-MS ile 0.1 M HNO₃ de çözme sonrası okuma yapıldı.

Elde edilen sonuçlar;



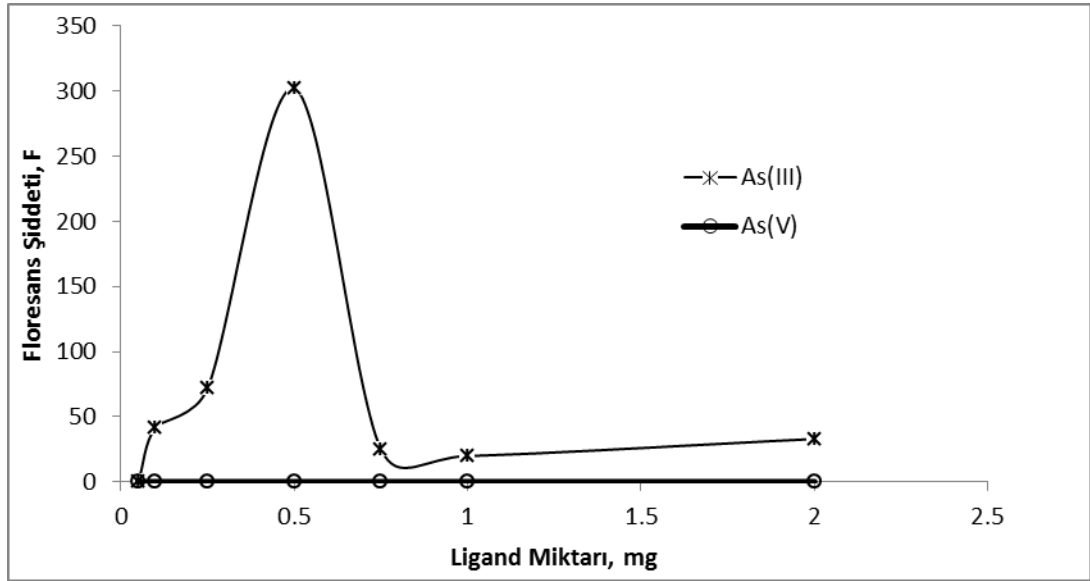
Şekil 3.2. pH Etkisi

Sonuçlardan anlaşılacağı üzere kantitatif geri kazanma değeri 1 M HNO₃ ortamı optimum olarak çıkarken, diğer pH değerlerinde çökelme meydana geldi.

3.5. Ligant Miktarının Taranması

Ligant miktarının geri kazanmaya olan etkisini incelemek için ligant miktarı taraması işleminde 100, 200, 400, 600, 800, 1000 µL % 1 (m/v) BDA eklenerek deneysel işlemler tekrarlanmıştır.

Deney sonucunda elde edilen veriler;



Şekil 3.3. Ligand Miktarının Etkisi

Bu sonuca göre ligant miktarının kantitatif geri kazanma sağlanan 500 μ L değeri sonraki deneyler için kullanılmıştır.

3.6. Dispersif Çözücü – Organik Çözücü Türünün Taranması

Dispersif çözücü ve ekstraksiyon çözücüsü türünün geri kazanmaya olan etkisinin taranması işleminde dispersif çözücü olarak aseton, metanol, etanol ve ekstraksiyon çözücüsü olarak kloroform, karbon tetra klorür (% 20-80, sırasıyla ekstraksiyon çözücüsü-dispersif çözücü) deney işlemlerinde kullanılmıştır. Daha önce bahsedildiği gibi model çözeltiler hazırlanmış ve bunların pH'ları ayarlanarak organik faz karışımları şırıngayla enjekte edilmiştir. Deney sonucunda elde edilen değerler; Deney sonucunda en iyi ekstraksiyon çözücüsü olarak kloroform ve dispersif çözücü olarak aseton seçilmiştir.

3.7. Santrifüj Hızının Ayarlanması

Optimize edilen şartlar çerçevesinde santrifüj hızının optimizasyonu için tarama yapılmış ve 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500 ve 4000 rpm hızları ve 10 dakikalık süre için % geri kazanmalar belirlenmiştir. Daha önce optimize edilen şartlar bu

sonuçların elde edilmesinde sabit tutulmuştur. Deney sonucunda elde edilen veriler; aşağıdaki gibidir: 3500 rpm 10 dakika.

3.8. Santrifüjleme Zamanı Taraması

Santrifüj süresinin geri kazanmaya olan etkisinin incelenmesi işleminde önceden elde edilmiş optimum santrifüj hızı olarak 3500 rpm için 1, 3, 5, 8 ve 10 dakika zaman aralıklarında ölçüm yapılmıştır. Diğer parametreler sabit tutulmuştur. Deney sonucunda elde edilen veriler; 3 dakikanın optimum olduğu bulunmuştur.

3.9. Matriks Taraması

Matriks taraması işleminde NaCl (tuz olarak), K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Fe^{3+} , Zn^{2+} türleri ara stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır. Diğer tüm deneysel parametreler optimum elde edilen değerlerdir.

Tablo 3.1. Bazı yabancı iyon türlerinin geri kazanma verimi üzerine etkisi (n=3)

İyon	Eklene	Derişim ($mg L^{-1}$)	Geri Kazanma (%)
Na^+	$NaNO_3$	10.000	95 ± 2^a
K^+	KNO_3	5.000	96 ± 4
Ca^{2+}	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	5.000	101 ± 3
Mg^{2+}	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	5.000	95 ± 2
Zn^{2+}	$Zn(NO_3)_2$	10	101 ± 3
Fe^{3+}	$Fe(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$	10	96 ± 2
SO_4^{2-}	Na_2SO_4	5.000	95 ± 1
PO_4^{3-}	$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	5.000	96 ± 2
Cl^-	$NaCl$	10.000	98 ± 3

^aOrtalama \pm standart sapma.

3.10. Yöntemin Gözlenebilme Sınırı

Yöntemin tayin sınırının ve gözlene bilme sınırının belirlenmesinde 21 tane kör çözelti hazırlanmış ve bu değerlerden gözlene bilme sınırı ve tayin sınırı belirlenmiştir. Diğer deneysel parametreler optimum değerlerinde sabit tutulmuştur. Kör çözeltilerin As(III) için gözlenebilme sınırı olarak $1.00 \mu\text{g L}^{-1}$ bulunmuştur.

3.11. Gerçek Örnek Analizi

Gerçek örneklerin analizi için; marketlerde satılan çeşitli gıda örnekleri kullanıldı. Herbir gerçek örnekten 3 paralel olacak şekilde tartıldıktan sonra mikrodalga ile çözünürleştirme yapıldı. Daha sonra anı örnekler ICP-MS ile direkt okuma ve daha sonra yöntem uygulanarak okumalar gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar aşağıda görülmektedir.

Tablo 3.2. Gerçek örnek analizi ($n = 3$, mg kg^{-1}).

Örnek	As(III) (mg/kg)	ICP-MS sonucu
Siyah çay	$0,02 \pm 0,01^a$	$0,021 \pm 0,01$
Kahve	$0,018 \pm 0,010$	$0,02 \pm 0,01$
Kekik	$0,03 \pm 0,01$	$0,032 \pm 0,010$
Kara lahana	$0,027 \pm 0,011$	$0,028 \pm 0,013$
Sinameki	$0,018 \pm 0,008$	$0,020 \pm 0,009$
Mate yaprağı	$0,041 \pm 0,006$	$0,052 \pm 0,008$
Aslan pençesi	$0,044 \pm 0,008$	$0,054 \pm 0,007$
Sallama papatya	$0,484 \pm 0,013$	$0,48 \pm 0,01$
Doğal papatya	$0,324 \pm 0,005$	$0,324 \pm 0,008$
Doğal kuşburnu	$0,42 \pm 0,02$	$0,40 \pm 0,01$
Sallama rezene	$0,52 \pm 0,03$	$0,62 \pm 0,01$
Küpe 1	$8,2 \pm 0,2$	$10,1 \pm 1,8$
Yüzük	$21,4 \pm 2,1$	$20,2 \pm 2,3$

Kolye	11,2 ± 1,4	13,2 ± 0,8
Dudak parlaticı	1,52 ± 0,11	1,48 ± 0,04
Ruj	- ^b	-
Ek kremi	-	-
Tıraş köpüğü	-	-

^aOrtalama ± standart sapma.

^bGözlenebilme sınırı altında.

Görüldüğü üzere gerçek örneklerde bulunan matriks ortamının ICP-MS ile direkt tayininde girişim nedeni ile farklı sonuçlar bulunmuştur. Bu nedenle bu tür örneklerde direkt tayin yerine bir ayırma ve zenginleştirme uygulaması yapılması önemi görülmüştür.

3.12. Yöntemin Doğruluğunun İncelenmesi

3.12.1. Standart Referans Madde (SRM) Analizi

Tablo 3.3. CRM analizi

Örnek	Sertifikalı Değer	Bulunan	Geri Kazanım (%)
INCT-TL-1 (G,%)	0,106 ± 0,021	0,104 ± 0,020 ^a	98 ± 1

^aOrtalama ± standart sapma

BÖLÜM 4

TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyolojik süreçlerde; metal iyonlarının varlığı önemli bir rol oynamaktadır. Sistem/organizmalarda temel olarak bulunan eser düzeydeki metal iyonlarının; konsantrasyon eşikliğini aşması, metal iyonunun kansorejen ve mutajen doğası nedeni ile, insan ve çevre sağlığı açısından tehlike oluşturabilecek öldürücü toksik etkileri meydana getirebilir. Bu nedenle; biyolojik, çevre kirliliği ve klinik tanı yönlerinden bu metal iyonlarının seçici olarak saptanması gereklidir.

ICP-MS iyi bilinen ultra-iz analitik bir tekniktir. Yüksek hassasiyet ve seçicilik, kısa cevap süresi ve gerçek zamanlı analiz avantajları nedeniyle kullanılan metodlardandır.

Bu çalışma da; ilk olarak yeni bir ligand olan MBD geliştirilmiştir. Sentezlenen MBD'nin çeşitli metal iyonları ile kompleks yapılmaya çalışılmış ve MBD'ın As(III) için oldukça verimi yüksek floresans özelliği verdiği bulunmuştur.

As(III)-MBD kompleksinin oluşumu ve absorbands şiddetinin en iyi ölçülebildiği optimum deney koşulları belirlenmiştir.

pH, MBD derişimi, sıcaklık, bekleme süresi, ortak iyon etkisi gibi farklı parametreler optimize edilmiştir. Daha sonra, kullanılan metodta ve cihazda ölçülebilecek minimum analit derişimini belirlemek amacı ile gözlenebilme sınırı çalışmaları yapılmıştır.

Kayseri'deki marketlerden temin edilen gıda ve çeşitli takı ve kozmetik örnekleri çözülerek direkt olarak As(III) tayini yapılmıştır.

Standart referans madde analizlerinden kantitatif geri kazanımlar elde edilerek yöntemin doğruluğu ispatlanmıştır.

KAYNAKÇA

- [1] J.E. Fergusson, *The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects*. Oxford: Pergamon Press; 1990.
- [2] J.H. Duffus, Heavy metals-a meaningless term? *Pure Appl Chem.*, 74(5) (2002) 793–807.
- [3] H. Bradl, *Heavy metals in the environment: origin, interaction and remediation volume 6*, London Academic Press, 2002.
- [4] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). *Toxicological profile for arsenic TP-92/09*. Georgia: Center for Disease Control, Atlanta, 2000.
- [5] S. Nielsen, E.H. Hansen, Determination of As(III) and As(V) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry via on-line reduction of As(V) by KI, *Analy. Chim. Acta* 343 (1997) 5-17.
- [6] P.B. Tchounwou, B. Wilson, A. Ishaque, Important considerations in the development of public health advisories for arsenic and arsenic-containing compounds in drinking water, *Rev. Environ. Health*, 14(4) (1999) 211–229.
- [7] J.A. Centeno, P.B. Tchounwou, A.K. Patlolla, F.G. Mullick, L. Murakat, E. Meza, H. Gibb, D. Longfellow, C.G. Yedjou, Environmental pathology and health effects of arsenic poisoning: a critical review. In: R. Naidu, E. Smith, J. Smith, P. Bhattacharya, editors. *Managing arsenic in the environment: From Soil to Human Health*. Adelaide, Australia: CSIRO Publishing Corp., 2005.
- [8] J.A. Centeno, M.A. Gray, F.G. Mullick, P.B. Tchounwou, C. Tseng, Arsenic in drinking water and health issues. In: T.A. Moore, A. Black, J.A. Centeno, J.S. Harding, D.A. Trumm, editors. *Metal contaminants in new zealand*. new zealand: Resolutionz Press, 2005. 195-219.
- [9] C.O. Abernathy, Y.P. Liu, D. Longfellow, H.V. Aposhian, B. Beck, B. Fowler, R. Goyer, R. Menzer, T. Rossman, C. Thompson, R. Waalkes, *Arsenic: health effects*,

mechanisms of actions and research issues. *Environ Health Perspect*, 107 (1999) 593–597.

[10] S.M. Macedo, R.M. de Jesus, K.S. Garcia, V. Hatge, A.F.S. Queiroz, S.L.C. Ferreira, Determination of total arsenic and arsenic (III) in phosphate fertilizers and phosphate rocks by HG AAS after multivariate optimization based on Box–Behnken design, *Talanta*, 80(2) (2009) 974-979.11. Kılınç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., 2001. *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, pp. 157- 158, 215-217, Bilim Yayıncılık, Ankara.

11. Zygmunt, M., Balcerzak, M., 2000. Nickel pp. 284-292. In: *Separation, Analytical Spectroscopy Library 10, Preconcentration and Spectrophotometry in Inorganic Analysis*, 10, Netherlands.

12. Abulhassani, J., Manzoori, J. M., Amjadi, M., 2010. Hollow fiber based-liquid phase micro extraction using ionic liquid solvent for preconcentration of lead and nickel from environmental and biological samples prior to determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Journal of Hazardous Materials*, 176, 481–486.

13. Rivas, R. E., García, I. L., Córdoba, M. H., 2009. Determination of traces of lead and cadmium using dispersive liquid-liquid microextraction followed by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Microchimica Acta*, 166, 355-361.

14. Jiang, H., Qin, Y., Hu, B., 2008. Dispersive liquid phase microextraction (DLPME) combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) for determination of trace Co and Ni in environmental water and rice samples. *Talanta*, 74, 1160-1165.

15. Bidabadi, M. S., Dadfarnia, S., Shabani, A. M. H., 2009. Solidified floating organic drop microextraction (SFODME) for simultaneous separation/ preconcentration and determination of cobalt and nickel by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS). *Journal of Hazardous Materials*, 166, 291–296. 47

16. Ma, J., Zhang, J., Du, X., Lei, X., Li, J., 2010. Solidified floating organic drop microextraction for determination of trace amounts of zinc in water samples by flame atomic absorption spectrometry. *Microchimica Acta*, 168, 153-159.

17. Saçmacı, Ş., Kartal, Ş., Dural, S., 2012. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Procedure for the Determination of Palladium by Flame Atomic Absorption Spectroscopy. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23, 1033-1040.
18. Wen, X. Yang, Q., Yan, Z., Deng, Q., 2011. Determination of cadmium and copper in water and food samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with UV-vis spectrophotometry. *Microchemical Journal*, 97, 249-254.
19. Rezaee, M., Yamini, Y., Faraji, M., 2010. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. *Journal of Chromatography A*, 1217, 2342-2357.
20. Kagaya, S., Takata, D., Yoshimori, T., Kanbara, T., Tohda, K., 2010. A sensitive and selective method for determination of gold (III) based on electrothermal atomic absorption spectrometry in combination with dispersive liquid-liquid microextraction using dicyclohexylamine. *Talanta*, 80, 1364-1370.
21. Zgoła, A. et al., 2011. Dispersive liquid-liquid microextraction, *Trends in Analytical Chemistry*, 9, 30.
23. Jahromi, E.Z., et al., 2007. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry: Ultra trace determination of cadmium in water samples. *Analytica Chimica Acta*, 585, 305-309.
23. Frank, A. Settle, 1997. Atomic Absorption Spectrometry, pp. 373-389. In: *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, Upper Saddle River New Jersey, U.S.
24. Rouessac, F., Rouessac, A., 2007. Atomic absorption and flame emission spectroscopy, pp 285-305. In: *Chemical Analysis Modern Instrumentation Methods and Techniques Second Edition*. University of Le Mans, France.
25. Gündüz, T., *Çınstrümental Analiz*, Gazi Kitabevi, 6. Baskı, Ankara, 2002.

