

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI METAL VE ORGANOMETALİK BİLEŞİKLERİN  
KROMATOĞRAFİK VE SPEKTROSKOPİK TAYİNLERİ**

**DOKTORA TEZİ  
Ayşen HÖL**

**Anabilim Dalı : Kimya**

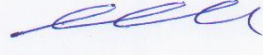
**Programı : Analitik Kimya**

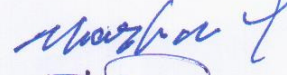
**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Latif ELÇİ**


**EYLÜL 2011**


**DOKTORA TEZ ONAY FORMU**

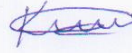
Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 051700001 nolu öğrencisi Aysen HÖL tarafından hazırlanan “BAZI METAL VE ORGANOMETALİK BİLEŞİKLERİN KROMATOĞRAFİK VE SPEKTROSKOPİK TAYİNLERİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Latif ELÇİ (Pamukkale Üniversitesi) 

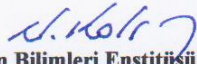
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mehmet KARTAL (Dokuz Eylül Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ümit DİVRİKLİ (Pamukkale Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Kenan DOST (Celal Bayar Üniversitesi) 

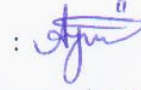
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Hamza Korkmaz ALPOĞUZ (Pamukkale Üniversitesi) 

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 07.09/2012 tarih ve 25/12 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü  
Prof. Dr. Nuri KOLSUZ

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

İmza

: 

Öğrenci Adı Soyadı : Ayşen HÖL

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada, Co(II), Fe(II) ve Ni(II) iyonlarının çevresel örneklerde tayini üzerinde durulmuştur. Bu amaçla, literatürde daha çok organik eser analizde kullanılan HPLC yöntemi, metal tayininde kullanılmış ve Co, Fe ve Ni'in önderiştirme basamağı gerektirmeden tayin edilebileceği belirlenmiştir. Ayrıca eser miktardaki nikelin atomik absorpsiyon spektrometrik tayininde, önderiştirme yöntemi olarak faktoriyel tasarımıyla optimize edilen dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon tekniği kullanılmıştır.

Doktora çalışmamın yönetimini kabul eden, çalışma konusunun seçiminde, çalışmamın tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, her zaman bilgi ve tecrübesinden yararlandığım ve öğrencisi olmaktan onur duyduğum saygıdeğer hocam Prof. Dr. Latif ELÇİ'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında ilgi ve yardımlarını gördüğüm hocam Prof. Dr. Ümit DİVRİKLİ'ye, çalışmamın gerçekleşmesi sürecinde değerli katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesinde bulunan hocalarım Doç. Dr. Kenan DOST ve Prof. Dr. Hüseyin BAĞ'a, Arş. Gör. Aslıhan ARSLAN KARTAL ve Uzman Abdullah AKDOĞAN başta olmak üzere birlikte çalıştığım Kimya Bölümündeki tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Her konuda beni destekleyen hayat arkadaşım, eşim Devrim HÖL'e ve biricik oğlum Burhan Efe HÖL'e çok teşekkür ederim.

Ayrıca 2008 FBE 015 nolu projeye verdikleri destekten dolayı Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (PAUBAP) ve çalışmaların gerçekleştirildiği Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'ne verdiği alt yapı desteğinden dolayı teşekkür ederim.

Eylül 2011

Ayşen HÖL  
Araştırma Görevlisi

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ÖZET .....</b>	<b>xxiii</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>xxiv</b>
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. KROMATOĞRAFİ .....</b>	<b>3</b>
2.1 Genel Bilgi.....	3
2.2 Kromatografide Bazı Temel Kavramlar .....	4
2.3 Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması.....	6
2.4 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) .....	6
2.4.1 HPLC cihazı.....	7
2.4.1.1 Hareketli faz seçimi .....	8
2.4.1.2 Pompa sistemleri .....	8
2.4.1.3 Numune enjeksiyon sistemi .....	8
2.4.1.4 Kolonlar .....	9
2.4.1.5 Dedektörler.....	9
2.4.2 Yüksek performanslı dağılıma kromatografi .....	10
2.5 RP-HPLC ile Tayini Gerçekleştirilen Metaller.....	12
2.5.1 Kobalt .....	12
2.5.2 Demir .....	13
2.5.3 Nikel .....	14
2.6 HPLC ile Metal Tayini Çalışmaları .....	15
<b>3. ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ .....</b>	<b>21</b>
3.1 Giriş .....	21
3.2 Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (AAS).....	21
3.3 Atomik Absorpsiyon Spektrometreleri.....	22
3.3.1 Işın kaynakları.....	22
3.3.2 Atomlaştırıcılar .....	23
3.3.2.1 Alevli atomlaştırıcılar .....	23
3.3.2.2 Elektrotermal atomlaştırıcılar.....	24
3.3.3 Monokromatör .....	24
3.3.4 Dedektör .....	24
3.4 Atomik Asorpsiyon Spektroskopide Girişimler ve Önlenmesi .....	24
3.4.1 Fiziksel girişimler.....	25
3.4.2 Kimyasal girişimler .....	25
3.4.3 İyonlaşma girişimleri.....	25
3.4.4 Spektral girişimler .....	25
3.4.5 Zemin girişimleri.....	26
3.5 Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi Uygulamaları .....	26
3.6 AAS ile Metal Tayini Çalışmaları.....	26
<b>4. SIVI FAZ MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ; METAL İYONLARININ AYRILMASI VE ÖNDERİŞTİRİLMESİ.....</b>	<b>30</b>
4.1 Genel Bilgi.....	30

4.2 Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (LPME) .....	31
4.3 Sıvı Faz Mikroekstraksiyonun Sınıflandırılması .....	31
4.3.1 Tek damla mikroekstraksiyon (SDME).....	32
4.3.2 Oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon (HF-LPME) .....	36
4.3.3 Katılaştırılmış Yüzen Organik Damla (SFO) Mikroekstraksiyon .....	36
4.3.4 Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) .....	37
4.3.4.1 DLLME ile metal tayini çalışmaları .....	39
4.3.4.2 DLLME'nin sınırlamaları ve gelecek yönelimler .....	43
<b>5. DENEYSEL BÖLÜM I: .....</b>	<b>45</b>
<b>TERS FAZ-YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ İLE</b>	
<b>KOBALT, DEMİR VE NİKEL TAYİNİ .....</b>	<b>45</b>
5.1 Ölçüm Sistemleri.....	46
5.1.1 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) .....	46
5.1.2 Diğer aletler .....	46
5.2 Materyaller.....	46
5.2.1 Kullanılan reaktifler ve çözeltilerin hazırlanması .....	46
5.2.2 Örnek toplama ve örneklerin hazırlanması .....	48
5.2.3 Kromatografik metal tayini.....	48
5.2.4 Gerçek örneklerde Co(II), Fe(II) ve Ni(II) tayini.....	48
5.3 Kromatografik Yöntemin Optimizasyonu .....	49
5.3.1 Hareketli faz pH'ının etkisi.....	54
5.3.2 Hareketli faz akış hızının etkisi.....	56
5.3.3 Hareketli fazdaki PAR derişiminin etkisi .....	57
5.3.4 Hareketli faz bileşiminin etkisi .....	59
5.3.5 Numuneye eklenen PAR derişiminin etkisi.....	60
5.3.6 Kromatografik tayine bazı metallerin etkisi .....	62
5.4. Kromatografik Metal Tayini .....	63
5.4.1 Hareketli faz akış hızının etkisi.....	63
5.4.2 Hareketli faz pH'ının etkisi.....	67
5.4.3 Hareketli faz bileşiminin etkisi .....	68
5.4.4 Numuneye ilave edilen PAR derişiminin etkisi .....	70
5.4.5 Fe(II) ve Fe(III) iyonlarının tayini .....	71
5.5 Yöntemin Analitik Değerlendirmesi .....	73
5.6 Gerçek Örnek Analizleri.....	76
5.7 Standart Referans Madde (BCR 715 Endüstriyel Atık Su) Analizi.....	76
5.8 Geliştirilen Yöntemin Diğer Yöntemlerle Karşılaştırılması.....	78
5.9 HPLC ile Bazı Önderiştirme Yöntemlerinin Birlikte Kullanımı .....	80
5.9.1 SPE ile ön deriştirme yapılan numunelerin kromatografik tayinleri.....	80
5.9.2 DLLME ile ön deriştirme yapılan numunelerin kromatografik tayinleri .....	82
<b>6. DENEYSEL BÖLÜM II: .....</b>	<b>85</b>
<b>DLLME İLE NİKEL ÖNDERİŞTİRİLMESİ VE AAS İLE TAYİNİ.....</b>	<b>85</b>
6.1 Ölçüm Sistemleri.....	86
6.1.1 Atomik absorpsiyon spektrometresi.....	86
6.1.2 Diğer aletler .....	86
6.2 Materyaller.....	86
6.2.1 Kullanılan reaktif ve çözeltilerin hazırlanması .....	86
6.2.2. Örnek toplama ve örneklerin hazırlanması .....	88
6.2.3 Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon ile nikel deriştirilmesi .....	89
6.2.4. Gerçek örneklerde DLLME ile Ni deriştirilmesi ve tayini .....	89
6.3 Yöntemin Optimizasyonu ve Bulgular.....	90

6.3.1 pH etkisi.....	101
6.3.2 Tampon türü ve reaktif ekleme sırasının etkisi.....	102
6.3.3 Ligand derişiminin ve ilave şeklinin etkisi.....	103
6.3.4 Tuz etkisi.....	104
6.3.5 DLLME’de santrifüj devrinin etkisi.....	105
6.3.6 Ekstraksiyon işleminde çalkalama şeklinin etkisi.....	106
6.3.7 DLLME yönteminde sediment fazın sulu çözeltiye alınması.....	107
6.3.8 Yabancı iyon etkisi.....	107
6.4 Yöntemin Analitik Değerlendirilmesi.....	109
6.5 Gerçek Örnek Analizleri.....	112
6.5.1 İçme suyu analizi.....	112
6.5.2 Atık su analizi.....	113
6.5.3 Tel analizi.....	113
6.5.4 Standart referans madde analizi.....	114
<b>7. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>115</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>124</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>137</b>
<b>EK-A.1: Bazı Değişkenlerin Ni(II) İyonlarının Geri Kazanımına Etkileri...</b>	<b>137</b>

## KISALTMALAR

<b>AAS</b>	: Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi
<b>CFME</b>	: Sürekli Akış Mikroekstraksiyon
<b>DAD</b>	: Diyod Array Dedektör
<b>DLLME</b>	: Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon
<b>FAAS</b>	: Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi
<b>GFAAS</b>	: Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi
<b>HF-LPME</b>	: Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
<b>HPLC</b>	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
<b>HS-SDME</b>	: Tepe Boşluğu Tek Damla Mikroekstraksiyon
<b>ICP-AES</b>	: İndüktif Eşleşmeli Plazma-Atomik Emisyon Spektrometrisi
<b>ICP-MS</b>	: İndüktif Eşleşmeli Plazma-Kütle Spektrometrisi
<b>INAA</b>	: Instrumental Nötron Aktivasyon Analizi
<b>LLME</b>	: Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon
<b>LLLME</b>	: Sıvı-Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon
<b>LPME</b>	: Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
<b>RP-HPLC</b>	: Ters Faz- Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
<b>SDME</b>	: Tek Damla Mikroekstraksiyon



## TABLO LİSTESİ

### Tablolar

<b>2.1 :</b>	Dağılma kromatografinin bazı uygulamaları.....	11
<b>5.1 :</b>	Metal-PAR şelatlarının stokiometrilere ve $\epsilon$ değerleri.....	47
<b>5.2 :</b>	Nikel derişimiyle pik alanlarındaki değişim.....	52
<b>5.3 :</b>	pH'ın ayırma kapasitesi üzerine etkisi.....	55
<b>5.4 :</b>	Analitlerin pik alanları üzerine hareketli faz pH'ının etkisi.....	55
<b>5.5 :</b>	Hareketli faz akış hızının analitlerin pik alanları, alıkonma zamanları, ayırma kapasitesi ve teorik tabaka yüksekliği (HEPT) üzerine etkisi.....	57
<b>5.6 :</b>	Hareketli faz PAR derişiminin analitlerin pik alanına etkisi.....	59
<b>5.7 :</b>	Kolon içi ve kolon öncesi şelatlama ile elde edilen metal-PAR komplekslerine ait pik verileri.....	61
<b>5.8 :</b>	Ters Faz HPLC ile Co(II), Fe(II) ve Ni(II) tayini için analitik veriler.....	75
<b>5.9 :</b>	BCR 715 endüstriyel atık su analiz sonuçları (n:8).....	76
<b>5.10 :</b>	Su örneklerinde Co(II), Fe(II) and Ni(II) iyonlarının tayini ve geri kazanımları (Örnek hacmi: 5 mL, n:4).....	77
<b>5.11 :</b>	Geliştirilen yöntemin diğer HPLC ile Co, Fe ve Ni tayinleri ile karşılaştırılması.....	79
<b>5.12 :</b>	SPE uygulanan numunelerdeki nikel miktarları.....	81
<b>5.13 :</b>	SPE uygulanan numunelerdeki demir miktarları.....	82
<b>6.1 :</b>	Aletsel değişkenler.....	86
<b>6.2 :</b>	Plackett Burman tasarım değişkenleri.....	90
<b>6.3 :</b>	Plackett Burman tasarım matrisi-I.....	91
<b>6.4 :</b>	Ni(II) iyonu için deney şartları ve geri kazanım değerleri (n:4).....	91
<b>6.5 :</b>	Plackett Burman tasarım matrisi-II.....	92
<b>6.6 :</b>	Ni(II), Fe(II) ve Co(II) için deney şartları ve geri kazanım değerleri(n:4)	93
<b>6.7 :</b>	Faktoriyel tasarım istatistik verileri.....	94
<b>6.8 :</b>	Tam (full) faktoriyel tasarım değişkenleri-I.....	97
<b>6.9 :</b>	Tam (full) faktoriyel tasarım deneyleri ve geri kazanım değerleri-I (n:4)	98
<b>6.10 :</b>	Tam (full) faktoriyel tasarım değişkenleri-II.....	98
<b>6.11 :</b>	Tam faktoriyel tasarım deneyleri ve geri kazanım değerleri-II (n:4).....	98
<b>6.12 :</b>	Ni iyonlarının geri kazanımına çalkalama şeklinin etkisi (n:4).....	106
<b>6.13 :</b>	Ni(II) iyonlarının geri kazanımına yabancı iyon etkisi (n:3).....	108
<b>6.14 :</b>	DLLME- FAAS ile sulu çözeltilerdeki 0,033 $\mu\text{g L}^{-1}$ Ni(II) iyonlarının geri kazanımında yabancı iyonların tolerans sınırları.....	109
<b>6.15 :</b>	DLLME-FAAS ile Ni tayini için analitik veriler.....	111
<b>6.16 :</b>	İçme suyu örneklerindeki Ni(II) iyonlarının geri kazanım değerleri (n:4)	112
<b>6.17 :</b>	Atık su örneklerindeki Ni(II) iyonlarının geri kazanım değerleri (n:4)....	113
<b>6.18 :</b>	Tel örneğindeki Ni(II) iyonlarının geri kazanım değerleri (n:4).....	114
<b>A.1.1:</b>	Ni iyonlarının geri kazanımına pH etkisi (n:4).....	137
<b>A.1.2:</b>	Ni iyonlarının geri kazanımına ligand derişimi etkisi.....	137
<b>A.1.3:</b>	Ni iyonlarının geri kazanımına santrifüj devrinin etkisi.....	137
<b>A.1.4:</b>	Ni iyonlarının geri kazanımına NaCl ilavesinin etkisi.....	137

## ŞEKİL LİSTESİ

### Şekiller

2.1 :	Kromatogram ve karakteristik özellikleri.....	4
2.2 :	Gaz ve sıvı kromatografi teknikleri.....	6
2.3 :	HPLC cihazının şeması (McMaster, 2007).....	7
2.4 :	Diyod array dedektörün çalışma prensibi.....	10
3.1 :	Oyuk katot lambasının şematik yan kesiti.....	22
4.1 :	Direkt tek damla mikroekstraksiyon (A), tepe boşluğu mikroekstraksiyon (B) ve sıvı-sıvı-sıvı mikroekstraksiyonun (C) şematik gösterimi.....	33
4.2 :	Sürekli akış mikroekstraksiyon (A) ve geri dönüşümlü (devirli) akış mikroekstraksiyonun (B) şematik gösterimi.....	35
4.3 :	Dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon tekniği.....	38
5.1 :	PAR (A) ve metal-PAR şelatlarının (B) kimyasal yapıları.....	47
5.2 :	1 mg L <sup>-1</sup> Cu(II) (A), 1 mg L <sup>-1</sup> Ni(II) (B) ve 0,5 mg L <sup>-1</sup> Fe(III) (C) içeren çözeltilere ait kromatogramlar.....	49
5.3 :	2 mg L <sup>-1</sup> Co(II) ve 2 mg L <sup>-1</sup> Cu(II) içeren çözeltilere ait kromatogram... ..	50
5.4 :	0,5 mg L <sup>-1</sup> Fe(III) ve 0,5 mg L <sup>-1</sup> Cu(II) (A) ve 2 mg L <sup>-1</sup> Fe(III) ve 2 mg L <sup>-1</sup> Cu(II) (B) içeren çözeltilere ait kromatogramlar.....	51
5.5 :	2 mg L <sup>-1</sup> Co(II) ve 2 mg L <sup>-1</sup> Ni(II) içeren çözeltilere ait kromatogram... ..	51
5.6 :	Cu(II) derişimi 0,2 mg L <sup>-1</sup> (A) ve 1,2 mg L <sup>-1</sup> (B) olan, metal karışımlarını içeren çözeltilere ait kromatogramlar.....	53
5.7 :	Fe(II) derişimi 1 mg L <sup>-1</sup> olan, beş metal iyonu içeren çözeltilere ait kromatogram.....	53
5.8 :	Fe(II) derişimi: 2 mg L <sup>-1</sup> olan, metal karışımlarını içeren çözeltilere ait kromatogram.....	54
5.9 :	Akış hızı 0,3 (A), 0,6 (B), 0,9 (C) ve 1,2 (D) mL dk <sup>-1</sup> olduğunda elde edilen kromatogram (Hareketli faz %60 MeOH: %5THF: %45Su).....	56
5.10 :	Hareketli fazdaki PAR derişimi 5x10 <sup>-6</sup> mol L <sup>-1</sup> (A), 5.10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> (B) ve 5.10 <sup>-5</sup> mol L <sup>-1</sup> (C) olduğunda elde edilen kromatogram.....	58
5.11 :	Hareketli faz bileşimi MeOH:THF:su (40:5:55) (A), MeOH:THF:su (60:5:35) (B) ve MeOH:THF:su (80:5:15) (C) olduğunda elde edilen kromatogramlar (Akış hızı 0.6 mL dk <sup>-1</sup> ).....	60
5.12 :	Kolon içi (A) ve kolon öncesi (B) şelatlama ile elde edilen metal-PAR komplekslerine ait kromatogramlar.....	61
5.13 :	Hareketli faz %60 MeOH: %5 THF: %35 su (A), %50 MeOH: %5 THF: %45 su (B) ve %40 MeOH: %5 THF: %55 su (C) içerdiğinde Co(II), Ni(II), Fe(II) ve V(IV) içeren çözeltilere ait kromatogram.....	63
5.14 :	Akış hızı 0,3 (A), 0,4 (B), 0-10 dakika: 0,4 mL dk <sup>-1</sup> 10,1-20 dakika: 0,6 mL dk <sup>-1</sup> (C), ve (D) 0,8 mL dk <sup>-1</sup> olduğunda elde edilen kromatogramlar (Hareketli faz %50 MeOH: %5 THF: %45 Su).....	64
5.15 :	Co(II) ve V(IV) derişimleri sırasıyla 4- 20 µg L <sup>-1</sup> (A), 40-200 µg L <sup>-1</sup>	

(B) ve 800-4000 $\mu\text{g L}^{-1}$ (C) olduğunda elde edilen kromatogramlar.....	65
<b>5.16 :</b> Analitlerin alıkonma zamanları (A) ve pik alanlarına (B) hareketli faz akış hızının etkisi ( $\blacklozenge$ :Co(II), $\blacktriangle$ :Fe(II), $\blacksquare$ :Ni(II), derişimleri sırasıyla 0.5, 1 ve 0.5 $\text{mg L}^{-1}$ , Hareketli faz: Metanol/THF/Su: 50/5/45).....	66
<b>5.17 :</b> Co-, Fe- ve Ni-PAR şelatlarının alıkonma zamanlarına hareketli faz pH'nın etkisi ( $\blacklozenge$ : Co(II), $\blacktriangle$ : Fe(II), $\blacksquare$ : Ni(II) derişimleri sırasıyla 0.5, 1 ve 0.5 $\text{mg L}^{-1}$ , Akış hızı: 0.3 $\text{mL dk}^{-1}$ ).....	67
<b>5.18 :</b> Co-,Fe- ve Ni-PAR şelatlarının pik alanlarına (A), pik yüksekliklerine (B) hareketli faz pH'nın etkisi ( $\blacklozenge$ :Co(II), $\blacktriangle$ :Fe(II), $\blacksquare$ :Ni(II) derişimleri sırasıyla 0.5, 1 and 0.5 $\text{mg L}^{-1}$ , Akış hızı: 0.3 $\text{mL dk}^{-1}$ ).....	68
<b>5.19 :</b> Analitlerin alıkonma zamanlarına hareketli fazdaki metanol yüzdesinin etkisi ( $\blacklozenge$ : Co(II), $\blacktriangle$ : Fe(II), $\blacksquare$ : Ni(II), derişimleri sırayla 0.5, 1 ve 0.5 $\text{mg L}^{-1}$ , Akış hızı: 0,3 $\text{mL dk}^{-1}$ ).....	69
<b>5.20 :</b> Co-, Fe- ve Ni-PAR şelatlarının kromatogramlarına hareketli fazdaki metanol ve THF derişimlerinin etkisi. Metanol/THF/Su: 80/5/15 (A), Metanol/THF/Su: 50/5/45 (B), Metanol/Su: 50/50 (C) (Co(II), Fe(II) ve Ni(II), derişimleri sırayla 0.5, 1 ve 0.5 $\text{mg L}^{-1}$ , Akış hızı: 0,3 $\text{mL dk}^{-1}$ ).....	70
<b>5.21 :</b> Kolon içi (A) ve kolon öncesi (B) şelatlama ile elde edilen kromatogramlar (Co(II), Fe(II) ve Ni(II) derişimleri sırasıyla 0.5, 1 ve 0.5 $\text{mg L}^{-1}$ , Akış hızı:0.3 $\text{mL dk}^{-1}$ ).....	71
<b>5.22:</b> Fe(II)-PAR (A) ve Fe(III)-PAR (B) şelatlarına ait kromatogram (Co(II), Fe(II), Fe(III) ve Ni(II), derişimleri sırayla 0.5, 1, 1 ve 0.5 $\text{mg L}^{-1}$ , Akış hızı: 0,3 $\text{mL dk}^{-1}$ ).....	72
<b>5.23 :</b> 1 $\text{mg L}^{-1}$ Fe(II) (A), 1 $\text{mg L}^{-1}$ Fe(III) (B) ve 1 $\text{mg L}^{-1}$ Fe(III) + 4 $\text{mg L}^{-1}$ Sn(II) (C) içeren çözeltilere ait kromatogram (Akış hızı:0,3 $\text{mL dk}^{-1}$ )...	73
<b>5.24 :</b> Co(II) iyonu kalibrasyon grafiği.....	74
<b>5.25 :</b> Fe(II) iyonu kalibrasyon grafiği.....	74
<b>5.26 :</b> Ni(II) iyonu kalibrasyon grafiği.....	75
<b>5.27 :</b> Standart Referans Madde (BCR 715 Endüstriyel Atık Su)'nin HPLC/DAD ile alınan kromatogramı.....	76
<b>5.28 :</b> SPE ile önderiştirme yapılan numune kromatogramı-1.....	80
<b>5.29 :</b> SPE ile önderiştirme yapılan numune kromatogramı-2.....	81
<b>5.30 :</b> SPE ile önderiştirme yapılan numune kromatogramı-3.....	81
<b>5.31 :</b> 0,5 $\text{mg L}^{-1}$ Co(II), Ni(II) ve 1 $\text{mg L}^{-1}$ Fe(II) içeren referans çözeltilere ait kromatogram.....	83
<b>5.32 :</b> 1,3-difenil guanidin içeren kör çözeltilere ait, DLLME sonrası alınan kromatogram.....	83
<b>5.33 :</b> Analit ve 1,3-difenil guanidin içeren çözeltilere ait, DLLME sonrası alınan kromatogram.....	84
<b>6.1 :</b> 8-hidroksikinolinin yapısı.....	87
<b>6.2 :</b> DLLME deneysel akış şeması (Ojeda ve Rojas, 2009).....	90
<b>6.3 :</b> Ni(II)'ye ait verilerin pareto kart ile gösterimi.....	95
<b>6.4 :</b> Fe(II)'ye ait verilerin pareto kart ile gösterimi.....	95
<b>6.5 :</b> Ni(II)'in geri kazanımında faktörlerin birbirleri ile etkileşimi.....	96
<b>6.6 :</b> Fe(II)'in geri kazanımında faktörlerin birbirleri ile etkileşimi.....	97
<b>6.7 :</b> Ni(II)'ye ait verilerin pareto kart ile gösterimi-II.....	98
<b>6.8 :</b> Fe(II)'ye ait verilerin pareto kart ile gösterimi-II.....	98
<b>6.9 :</b> Ni(II)'nin geri kazanımında ekstraksiyon ve dispersif çözücü hacmi ve ekstraksiyon süresinin birbirleri ile etkileşimleri.....	100

<b>6.10 :</b>	Fe(II)'nin geri kazanımında ekstraksiyon ve dispersif çözücü hacmi ve ekstraksiyon süresinin birbirleri ile etkileşimleri.....	100
<b>6.11 :</b>	Ni(II)'nin geri kazanımında faktörlerin etkisi.....	101
<b>6.12 :</b>	DLLME ile Ni iyonlarının geri kazanımına pH etkisi.....	102
<b>6.13 :</b>	Ni iyonlarının geri kazanımına ligand derişimi etkisi.....	103
<b>6.14 :</b>	DLLME sonrası Ni iyonlarının geri kazanımına tuz etkisi.....	105
<b>6.15 :</b>	DLLME sonrası Ni iyonlarının geri kazanımına santrifüj devrinin etkisi.....	106
<b>6.16 :</b>	Ni(II) iyonunun önderiştirmesiz kalibrasyon grafiği.....	110
<b>6.17 :</b>	Ni(II) iyonunun önderiştirmeli kalibrasyon grafiği.....	110

## SEMBOL LİSTESİ

$\alpha$	Seçicilik katsayısı
$k'$	Kapasite faktörü
$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
ng	Nanogram
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
r	Korelasyon Katsayısı

## ÖZET

### BAZI METAL VE ORGANOMETALİK BİLEŞİKLERİN KROMATOĞRAFİK VE SPEKTROSKOPİK TAYİNLERİ

Bu çalışmada çeşitli su örneklerindeki Co(II), Fe(II) ve Ni(II) iyonlarının duyarlı ve seçici tayinleri için RP-HPLC/DAD yöntemi geliştirildi. Yöntemde, şelatlayıcı reaktif olarak 4-(2-piridilazo) resorsinol (PAR) kullanıldı ve kolon içi türevleme yapıldı. Kolon Inertsil ODS-3 C18 kolon, hareketli faz olarak  $5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> 4-(2-piridilazo) resorsinol (PAR) ve asetat tamponu (pH 5.0) içeren metanol-THF-su (50:5:45, v/v) kullanıldı. HPLC/DAD ile kantitatif tayin için dalga boyları Co(II) için 525 nm, Fe(II) için 484 nm ve Ni(II) için 517 nm seçildi. Gözlenebilme sınırları (S/N=3) Co için 0,50, Fe için 9,07 ve Ni için 2,00 µg L<sup>-1</sup> olarak bulundu. Geliştirilen yöntemin uygulanabilirliği ve doğruluğu çeşitli su örneklerine analit ekleme ve sertifikalı referans madde BCR 715 atık su analizi ile test edildi.

Tezin ikinci bölümünde, eser miktardaki nikelin atomik absorpsiyon spektrometrik tayini için önderiştirme amacıyla dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi geliştirildi. Yöntemin optimizasyonunda MINITAB istatistik programının Plackett-Burman ve Tam (full) Faktoriyel tasarımları kullanıldı. Tasarım değişkenleri olarak örnek hacmi, pH, dispersif çözücü türü ve hacmi, ekstraksiyon çözücü türü ve hacmi ile ekstraksiyon süresi seçildi. Değişkenlerin optimizasyonu sağlandıktan sonra, yöntem çeşitli su örneklerine ve tel örneğine uygulandı. Yöntemin doğruluğu endüstriyel atık su standart referans madde (BCR 715) ile kontrol edildi. Ortalama geri kazanma değeri % 98,3 bağıl standart sapma ise -% 1,67 bulundu. DLLME-AAS yönteminde Ni için gözlenebilme sınırı 1,04 µg L<sup>-1</sup> bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Kobalt, Demir, Nikel, 4-(2-Piridilazo)Resorsinol, RP-HPLC/DAD, DLLME, Faktoriyel Tasarım, 8-hidroksikinolin, Su

## SUMMARY

### CHROMATOGRAPHIC AND SPECTROSCOPIC DETERMINATION OF SOME METAL AND ORGANOMETALLIC COMPOUNDS

In this study, RP-HPLC/DAD method was developed for the sensitive and selective determination of Co(II), Fe(II) and Ni(II) ions in various water samples. In the method, 4-(2-pyridilazo) resorcinol (PAR) was used as chelating agent for in column derivatization. Column Inertsil ODS-3 C18 column, mobile phase as a  $5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, 4-(2-pyridilazo) resorcinol (PAR) and acetate buffer (pH 5.0) containing methanol-THF-water (50:5:45, v/v) was used. HPLC/DAD monitoring wavelengths for quantification were chosen at 525 nm for Co(II), 484 nm for Fe(II) and 517 nm for Ni(II). Detection limits (S/N = 3) were found as 0,50 for Co, 9,07 for Fe and 2,00  $\mu\text{g L}^{-1}$  for Ni. The applicability and the accuracy of the developed method were estimated by the analysis of spiked water samples and certified reference material BCR 715 wastewater-SRM.

In the second part of the thesis, dispersive liquid-liquid microextraction method was developed for the determination of atomic absorption spectrometric of trace amounts of nickel to preconcentrated. In the optimization of the method, Plackett-Burman and Full Factorial designs of MINITAB istatistical program were used. Sample volume, pH, type and volume of dispersive solvent, type and volume of the extraction solvent, extraction time were selected as the design parameters. After the optimization of the variables was established, the method was applied to various water samples and wire samples. The accuracy of the method was controlled with industrial waste water standard reference material (BCR 715). The average recovery value and relative standard deviation were found as % 98,3 and - % 1,67, respectively. In DLLME-AAS method, detection limit was found as 1,04  $\mu\text{g L}^{-1}$  for Ni.

**Keywords:** Cobalt, Iron, Nickel, 4-(2-Pyridylazo) Resorcinol, RP-HPLC/DAD, DLLME, Factorial Design, 8-hydroxyquinoline, Water

## 1. GİRİŞ

Artan nüfus ve teknolojik ilerlemelerle birlikte metal kirliliği insan sağlığını, hayvanları, bitkileri ve tüm gezegeni tehdit eden, topraklar, nehirler ve göller için hızlı bir şekilde büyüyen bir problemdir. Çevreye metalin karıştığı en yoğun yerler arasında lağım atıkları, gübreler, trafik, maden ocakları ve nükleer santrallerde kömürün yanma ürünleridir. Ayrıca metal iyonları ve metal kompleksleri; organizmaların hayati fonksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Vücut biyomoleküllerinde yer alan bu metallerin insan vücudunda belirli miktardan fazla olması toksik etki yaratmaktadır. Çevre kirliliği ile bağlantılı olarak artan ekolojik ve sağlık problemleri nedeniyle, çevresel örneklerde eser düzeydeki metal iyonlarının tayini oldukça önemli hale gelmiştir.

Toksik metal iyonlarının eşzamanlı tayinleri için örnek matriksinden analitin önderiştirilmesini izleyen yüksek duyarlıklı birçok yöntem vardır. Bu yöntemler arasında, atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAS) (Raposo Júnior ve diğ., 2008), indüktif eşleşmeli plazma-atomik emisyon spektrometrisi (ICP-AES) (Rao ve diğ. 2002; Rahmi ve diğ., 2007) indüktif eşleşmeli plazma-kütle spektrometrisi (ICP-MS) (Rahmi ve diğ., 2007; Scheid ve diğ., 2009), X-ray floresans (XRF) (Scheid ve diğ., 2009) ve instrumental nötron aktivasyon analizi (INAA) (Cooper ve diğ., 2008) iyi bilinenlerdir, fakat bu tekniklerin bağıl olarak pahalı olması ve matriks bileşenlerinden dolayı bazı sınırlamaları vardır. Son birkaç yıllık sürede kolonlardaki hızlı gelişmeler ve çeşitli detektör tekniklerinin artması HPLC ile yüksek hızlı, etkili, verimli bir şekilde metal komplekslerinin ayrılması ve analiz edilmesinde uygun şartları oluşturmuştur. HPLC uygun dedektörlerle metallerin farklı türlerinin eser miktarlarının tayininde analitik gereksinimleri karşılayan bir teknik haline gelmiştir. Özellikle DAD dedektör kullanımıyla HPLC’de bir kromatogram sırasında her analite ait pik maksimumlarının olduğu spektrumları elde etmek ve saklamak mümkündür.

HPLC’de şelatlayıcı reaktiflerle metallerin türevlendirilmesi kolon içi veya kolon öncesi yöntemlerle yapılır. Kolon içi türevlendirmede şelatlayıcı reaktif hareketli



faza eklenir ve metal şelatları kromatografik elüsyon esnasında oluşur (Takeuchi ve diğ. 2001). Örnek çözelti direkt kolon içerisine verildiğinden kolon içi türevlendirme hızlı ve basittir (Hoffmann ve Schwedt, 1982).

Bu çalışmada çeşitli su örneklerindeki Co(II), Fe(II) ve Ni(II) iyonlarının duyarlı ve seçici tayinleri için RP-HPLC/DAD yöntemi geliştirilmesi amaçlandı. Yöntem, örnek çözeltisinin direkt olarak kolona enjeksiyonu sonrası analitlerin kolon içinde 4-(2-piridilazo) resorsinol (PAR) ile kompleks oluşturmasına dayanmaktadır. Geliştirilen yöntem çeşitli su örneklerine uygulandı.

Tayin öncesi ilgilenilen analitleri kompleks matrislerden ekstrakte etmek, ayırmak ve deriştirmek için örnek hazırlama basamağı hala önemini korumakta ve bu basamak önemli araştırma alanı olmaya devam etmektedir. İdeal olarak, örnek hazırlama teknikleri hızlı, kullanımı kolay, ucuz, çevre dostu ve birçok analitik aletle uyumlu olmalıdır. Bu nedenle son yıllarda mikro katı faz ve mikro sıvı faz yöntemleri hem deriştirme hem de örnekleme yöntemi olarak geliştirilmektedir. Bu yöntemlerden birisi de dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon tekniğidir.

Yapılan diğeri çalışmada ise, eser miktardaki nikelin deriştirilmesi ve atomik absorpsiyon spektrometrik tayini için deriştirme yöntemi olarak, dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yönteminin geliştirilmesi amaçlandı. Yöntemin optimizasyonunda faktoriyel tasarım kullanıldı. Eser miktardaki nikelin uygun ligand ile kompleksi oluşturularak, sulu fazdan organik faza ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Atık su, tel örneği ve içme suyu örneklerindeki nikel derişimleri tayin edildi.

## 2. KROMATOGRAFI

### 2.1 Genel Bilgi

Çeşitli karışımların spektroskopik ve elektrokimyasal yöntemlerle analizlerinde karşılaşılan en büyük zorluk girişim olayıdır. Karışım içindeki maddelerin her birinin ortamdaki diğer bileşenlerden etkilenmeden tayininde uygun özel reaktiflerin bulunamaması, karışımların önceden saflaştırılmasını ve maddelerin birbirlerinden ayrılmasını gerektirir. Bu amaçla buharlaştırma, kristallendirme, fraksiyonlu destilasyon, adsorpsiyon gibi fiziksel yöntemler uygulanır. Bunların yanında kromatografi yöntemi ayırma gücünün yüksekliği ile özel bir yere sahiptir. Maddelerin birbirinden ayrılmasının yanı sıra kalitatif ve kantitatif analizlerin de yapılabilmesi kromatografiye ayrı bir önem kazandırmaktadır (Özçimder ve Demirci, 2004).

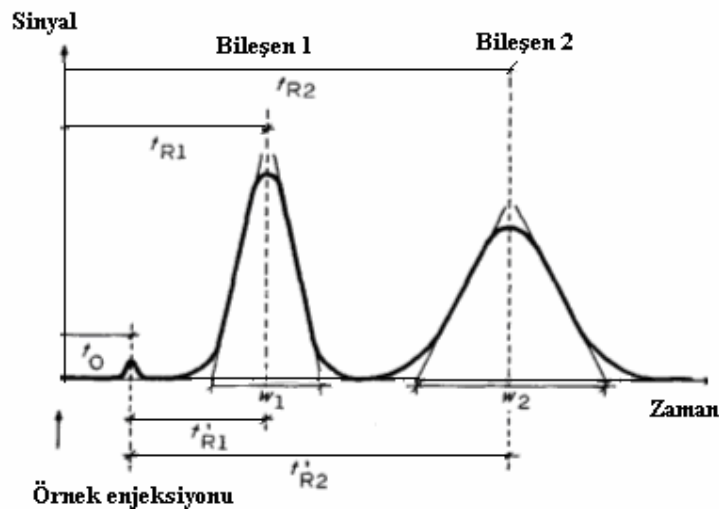
Kromatografik ayırmaların bulucusu olan Rus bilim adamı botanikçi Michael Tswett'dir. Tswett 1903'te bu tekniği, yeşil yapraklardan elde ettiği çözeltiyi, toz kalsiyum karbonatla doldurulmuş cam bir kolondan geçirerek çözültideki klorofil, ksantofil gibi renkli maddeleri (pigmentleri) kolonda ayrı tabakalar (halkalar) halinde ayırmada kullanmıştır. Bu renkli tabakalardan esinlenerek yaptığı ayırmaya kromatografi adını vermiştir (Gündüz, 2004).

Kromatografi, bir karışımdaki iki ya da daha fazla bileşenin, hareketli (taşıyıcı) bir faz yardımıyla, sabit (durgun) bir faz arasından değişik hızlarda hareket etmeleri esasına dayanır. Kromatografik yöntemlerle, kimyasal ve fiziksel özellikleri birbirine çok yakın bileşenlerden oluşan karışımları, tümüyle, kolayca ve kısa sürede ayırmak mümkündür. Bütün kromatografik ayırmalarda numune gaz, sıvı veya bir süperkritik akışkanı olan hareketli faz (mobil faz) ile taşınır. Bu hareketli faz bir kolonda veya bir katı yüzeyde sabitleştirilmiş kendisi ile karışmayan bir durgun faz (sabit faz) içinden geçmeye zorlanır. Durgun faz tarafından kuvvetli tutulan numune bileşenleri, hareketli fazın akışıyla çok yavaş hareket ederken durgun faz tarafından zayıfça tutulan bileşenler hızlı hareket ederler. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu,

numune bileşenleri birbirlerinden kalitatif ve/veya kantitatif olarak analizlenebilen farklı bantlar veya bölgeler şeklinde ayrılırlar (Skoog ve diğ., 1998).

## 2.2 Kromatogafide Bazı Temel Kavramlar

**Kromatogram:** Çözünen maddenin derişimlerine cevap veren bir dedektör, kolon çıkışına yerleştirilirse ve dedektör sinyali zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilirse Şekil 2.1’de görüldüğü gibi bir seri pik elde edilir. Bu grafikler kromatogram olarak adlandırılır. Piklerin zaman eksenindeki konumları numunedeki bileşikleri tanımak için, pik alanları ise her türün kantitatif tayini için kullanılır (Skoog ve diğ., 1996).



Şekil 2.1: Kromatogram ve karakteristik özellikleri (Meyer, 2000)

**Alıkonma zamanı:** Numune enjeksiyonundan sonra, analit pikinin dedektöre ulaşması için geçen zamana denir ve  $t_R$  sembolü ile gösterilir.

**Ölü zaman:** Hiç tutulmayan bir türün kolondan geçişi için gereken süredir.  $t_0$  veya  $t_M$  sembolü ile gösterilir.

**Kapasite (Alıkonma) faktörü:** Kolonda çözünenin göç hızını açıklamada sık sık kullanılan önemli bir terimdir.  $k'$  ile gösterilir. Bir A çözüneni için kapasite faktörü  $k'_A$ ,

$$k'_A = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (2.1.)$$

Bir çözünen madde için kapasite faktörü birden çok küçük ise, elüsyon çok hızlı olur ve alıkonma zamanının doğru tayini zorlaşır. Kapasite faktörü 20-30'dan daha büyük

bir sayı ise elüsyon süreleri gereksiz şekilde uzar (Skoog ve diğ., 1998). İdealde, kapasite faktörlerinin 1 ile 10 arasında olduğu koşullar tercih edilir.  $k'$  kolon uzunluğu ve hareketli faz akış hızına bağlıdır.

**Seçicilik faktörü:**  $\alpha$  ile gösterilir. İki bileşenli bir numune için, bileşenler farklı kapasite faktörü değerine sahip olmadıkça birbirinden ayrılmaz. Seçicilik faktörü,

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0} = \frac{K_2}{K_1} \quad (2.2)$$

$k_2 > k_1$ , seçicilik faktörü daima 1'den büyüktür. Seçicilik faktörü, iki bileşenin birbirinden ayrılması için kromatografik sistemin potansiyelinin bir ölçüsüdür. Sabit ve hareketli fazın seçimi  $\alpha$  değerini etkileyebilir (Meyer, 2000).

**Resolüsyon (Kolonun ayırma gücü):** Kolonun iki analiti ayırma gücünün kantitatif ölçütüdür.  $R_s$  ile gösterilir.

$$R_s = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_1 + w_2} \quad (2.3)$$

$R$ 'nin 1.5 olması durumunda, iki pikin çakışması % 0,3 dolaylarındadır. Belli bir sabit faz için ayırma gücü kolon uzunluğunu arttırarak iyileştirilebilir. Ancak bu kez ayırma için gereken süre artar (Skoog ve diğ., 1996).

Kolonun ayırma gücünü etkileyen parametreler aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- ✓ Kolon ile ilgili olanlar: türü ve boyutları
- ✓ Hareketli faz ile ilgili olanlar: türü, bileşimi ve akış hızı
- ✓ Ölçüm ile ilgili olanlar: dedektör türü, dalga boyu vb
- ✓ Örnek ile ilgili olanlar: örnek derişimi ve örnek hacmi

**Kromatografik kolon etkinliği:** Kromatografik kolon verimliliğinin kantitatif olarak ifade etmek için iki terim kullanılır. Bunlar **tabaka yüksekliği, H** ve **teorik tabaka sayısı, N**'dir. Bu iki terim arasında

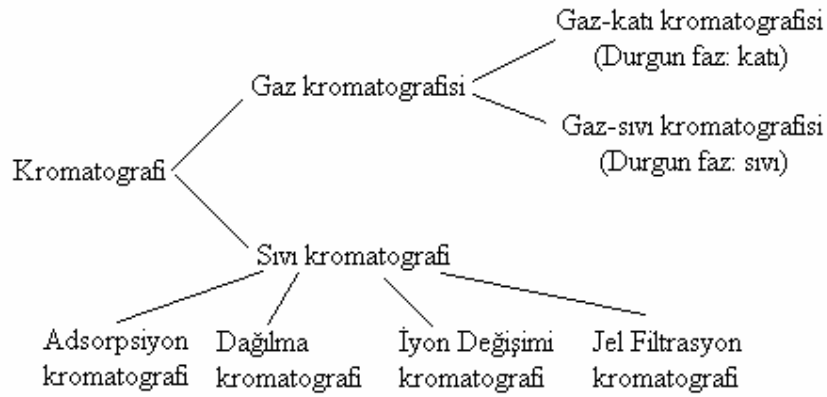
$$N = \frac{L}{H} \quad (2.4)$$

şeklinde bir bağıntı vardır. Burada L, kolon dolgu maddesinin veya sabit fazın cm olarak uzunluğu, H'da teorik tabakanın yine cm olarak yüksekliğidir. Bir kromatografi kolonunun etkinliği tabaka sayısı ile artar. Tabaka sayısının artması da, tabaka yüksekliğinin azalmasına bağlıdır.

### 2.3 Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması

Kromatografik yöntemler, ortamın fiziksel durumu dikkate alınarak kolon ve düzlemsel kromatografi olmak üzere iki şekilde sınıflandırılabilir (Özçimder ve Demirci, 2004). Kolon kromatografide, durgun faz ince bir kolonda tutulur ve hareketli faz basınç altında bu durgun faz arasından geçmeye zorlanır. Gaz ve yüksek basınçlı sıvı kromatografileri kolon kromatografeye örnektir. Düzlemsel kromatografide, durgun faz düz bir plaka üzerine veya bir kağıdın gözenekleri arasına tutturulur ve bu durumda hareketli faz durgun faz arasından kapiler etkisiyle veya yer çekimi etkisiyle hareket eder. Kağıt ve ince tabaka kromatografileri düzlemsel kromatografi çeşitleridir.

Kromatografinin en yaygın sınıflandırması önce hareketli faza göre (sıvı, gaz ve süperkritik akışkan), sonra fazlar arasında madde aktarımını sağlayan dengelerin cinslerine göre yapılır. Hareketli faz gaz ise gaz kromatografi, sıvı ise sıvı kromatografi, süper kritik akışkan ise süperkritik akışkan kromatografi adını alır. Şekil 2.2’de gaz ve sıvı kromatografileri teknikleri verilmiştir.



Şekil 2.2 Gaz ve sıvı kromatografi teknikleri

### 2.4 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) hızla birçok alandaki analizler ve ayırma için tercih edilen bir yöntemdir. Çözülebilir hemen hemen her şey farklı tipteki HPLC kolonları ile ayrılabilir. HPLC ile analiz edilecek madde miktarı pikogram ve nanogramdan mikrogram ve miligrama ve hatta multigram kadar değişebilir. Bu yöntemle uçucu bileşikler veya türevleri, basit bir filtreleme sonrasında sulu örnekler doğrudan analiz edilebilir. Geniş bir polarite aralığındaki

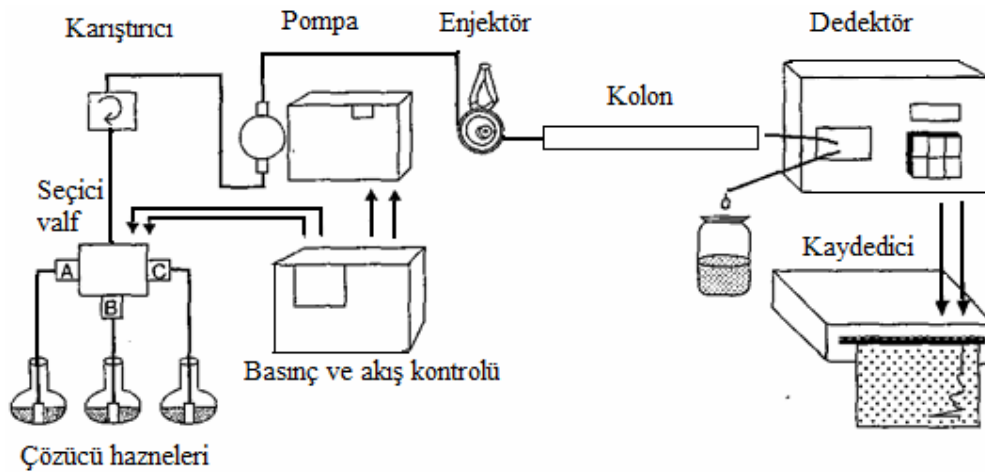
çeşitli bileşikler tek bir aşamada analiz edilebilir. Termal olarak kararsız bileşiklere uygulanmaktadır (McMaster, 2007).

HPLC metodunun genel uygulamaları, fizyolojik örneklerdeki amino asitler, nükleik asitler ve proteinlerin miktarının belirlenmesi, farmosatik dozaj şeklindeki aktif ilaçlar, sentetik yan ürün veya bozunma ürünleri düzeylerinin ölçülmesi, pestisit ve insektisitlerin kantitatif tayinleri, çevresel örneklerin izlenmesi, karışımdaki bileşenlerin saflaştırılması, polimerlerin ayrılması ve molekül ağırlıklarına göre tayinleridir (Settle, 1997).

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi genellikle birbirlerini destekleyen ve tamamlayan ayırma metotlarını içerir. Bu metotlar: (1) dağılma (sıvı-sıvı) kromatografisi, (2) adsorpsiyon (sıvı-katı) kromatografisi, (3) iyon değiştirme kromatografisi ve (4) boyut eleme (jel filtrasyon) kromatografisidir.

#### 2.4.1 HPLC cihazı

Modern sıvı kromatografisi sistemlerinde tanecik boyutu 2-10  $\mu\text{m}$  arasında olan dolgu maddeleri ile doldurulmuş kolonlarda uygun sıvı akış hızları elde edebilmek için, yüzlerce atm'lik pompa basınçlarına gerek vardır. Bu yüksek basınç uygulaması nedeniyle, yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazları diğer kromatografisi cihazlarına göre daha pahalı ve daha karmaşıktır (Skoog ve diğ. 1998). Şekil 2.3'te HPLC cihazının şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 2.3: HPLC cihazının şeması (McMaster, 2007)

#### **2.4.1.1 Hareketli faz seçimi**

Hızlı ve mümkün olduğu kadar etkin şekilde bir karışımı ayırmak için, hareketli faz uygun bir sabit faz ile etkileşime girmelidir. Hareketli faz seçimi farklı kriterlere göre yapılmaktadır. Bunlar: viskozite, UV geçirgenlik, kırılma indisi, kaynama noktası, saflık, örnek çözelti bileşenlerine karşı inertlik, korozyon direnci, toksisite ve fiyattır. Genel kural olarak hareketli faz dedektör aktif olmamalıdır. Aksi takdirde istenmeyen zemin etkileri ve ekstra pikler kromatogramda görülebilir (Meyer, 2000).

HPLC’de hareketli faz olarak sabit bileşimli tek bir çözücü kullanılarak yapılan ayırmaya izokratik elüsyon, polarlıkları birbirinden farklı iki veya bazen daha fazla çözücü sitemleri kullanılarak yapılan ayırmaya da gradiyent elüsyon denir. HPLC’de gradiyent elüsyon ayırma gücünü artırır (Skoog ve diğ., 1996).

#### **2.4.1.2 Pompa sistemleri**

Bir HPLC pompa sisteminde bulunması gereken özellikler şunlardır:

1. 400 atm’e kadar basınç üretimi
2. pulssuz basınç çıkışı
3. akış hızı 0,1’den 10 mL dk<sup>-1</sup>’ya kadar ayarlanabilmeli
4. % 0,5 veya daha iyi bir bağıl tekrarlanabilirlikle akış kontrolü
5. çok sayıda çözücünün korozyon etkisine karşı dayanıklı olmalıdır.

HPLC’de kullanılan pompalar genel olarak üçe ayrılır. Bunlar; pistonlu (silindir yollu) pompalar, şırınga veya sürgülü pompalar ve pnömatik veya sabit basınç pompalarıdır.

Ticari olarak satılan HPLC sistemlerinde, küçük iç hacimleri (35-400 µL), yüksek çıkış basıncı (700 atm’e kadar), gradiyent elüsyona uyarlanmaya hazır oluşları ve kolon geri basıncından ve çözücü viskozitesinden büyük ölçüde bağımsız olan sabit akış hızı özellikleri nedeniyle en çok pistonlu pompalar kullanılır (Skoog ve diğ., 1998).

#### **2.4.1.3 Numune enjeksiyon sistemi**

Genellikle, sıvı kromatografik ölçümlerin kesinliğini belirleyici faktör, numunenin kolon dolgu maddesine sevkinin tekrarlanabilirliğidir. Aşırı numune yüklenmiş kolonlarda görülen bant genişlemesi de kesinliği etkiler. Bu nedenle kullanılan

hacim, birkaç  $\mu\text{L}$  ile 500  $\mu\text{L}$ 'ye kadar oldukça küçük olmalıdır. Ayrıca numune sisteme verilirken sistemin basıncının düşürülmemesi gerekir.

Sıvı kromatografide numune vermek için en yaygın kullanılan yöntem, numune giriş sarımlarının kullanılması esasına dayanmaktadır. Bu giriş sarımları kolaylıkla değiştirilebildiğinden 5-500  $\mu\text{L}$  arasında istenilen hacimde numune yaklaşık 300 atm basınç altındaki kromatografi sistemine binde birkaç bağıl hatayla enjekte edilebilir. Ayrıca hacmi 0,5-5  $\mu\text{L}$  arasında olan halkaları bulunan mikro numune enjeksiyon sistemleri de vardır (Skoog ve dğ., 1998, Gündüz, 2004).

#### **2.4.1.4 Kolonlar**

Ayırma işleminin gerçekleştiği yer olduğundan kolon HPLC'nin kalbidir. Çoğu HPLC kolonu, kimyasal korozyona karşı inert ve HPLC basıncına dirençli paslanmaz çelik borulardan imal edilir. Analitik amaçlar için kullanılan kolonların iç çapı genellikle 2-5 mm, preparatif çalışmalar için kullanılan kolonların iç çapı ise 10-25,4 mm arasında değişmektedir. 10  $\mu\text{m}$  ya da daha düşük mikropartiküllü durgun faz kullanılırsa kolonlar 5, 10, 15 ya da 25 cm uzunluğunda olabilir. Küçük iç çaplı kolonlar, çözücü tüketiminin daha az olması ve daha iyi sinyal vermesi nedeniyle büyük iç çaplı kolonlara göre daha avantajlıdır (Meyer, 2000).

Sıvı kromatografisinde kullanılan en yaygın kolon dolgu maddeleri silisyum dioksittir. Mikrondan daha düşük boyutlardaki silisyum dioksit parçacıklarının aglomerasyonu, daha büyük ve yaklaşık aynı boyutlarda parçacıklar elde edilir. Hazırlanan parçacıkların yüzeyi, genellikle bu yüzeye fiziksel veya kimyasal bağlarla bağlanmış ince bir organik filmle kaplanır. Alümina parçacıkları, gözenekli polimer parçacıkları ve iyon değiştirici reçineler de dolgu maddesi olarak kullanılabilir (Skoog ve dğ., 1996).

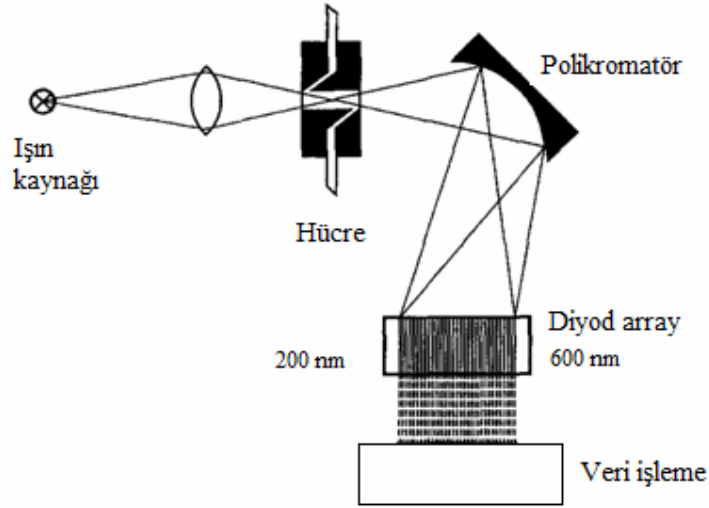
#### **2.4.1.5 Dedektörler**

HPLC'de 6 ana tip dedektör kullanılır: refraktif indeks (RI) dedektörler, ultraviyole (UV) dedektörler, floresans dedektörler (FL), elektrokimyasal dedektörler (EC), konduktimetrik dedektörler (CD) ve kütle spektrometrik dedektörler (MS). Infrared ve nükleer manyetik rezonans dedektörler de kullanılır fakat bazı çözücü sınırlamaları vardır (McMaster, 2007).

Çalışmada UV dedektör çeşitlerinden birisi olan diyot array dedektör (DAD) kullanılmıştır. **Diyot array dedektör:** Örnek akış hücresinden geçerken birçok



değişik dalga boyunda sürekli ölçüm alabilen dedektörlerdir. Şekil 2.4'te çalışma prensibi gösterilmiştir. Ayrılan bileşik hakkında hiçbir bilgi mevcut olmaması durumunda analiz için gerçek dalga boyunun seçimine olanak sağlar.



Şekil 2.4: Diyod array dedektörün çalışma prensibi (Meyer, 2000)

Diyod array dedektör ile,

- Bir kromatogram sırasında her analite ait pik maksimumlarının olduğu spektrumları elde etmek ve saklamak mümkündür. Bu işlem, veri işleme dahil olmak üzere yarım saniyeden daha az zaman alır; bu nedenle dar piklerde bile, birkaç spektrum elde etmek mümkündür.
- Tayin için uygun dalga boylarının belirlenmesinden dolayı, resolüsyon kötü olsa bile bir bileşiğin doğru kantitatif tayini çoğu zaman mümkündür. Çalışılan dalga boyu, kromatografik çalışma sırasında değiştirilebilir.
- Pik saflığı problemi çözülebilir.
- Referans dalga boyu ilgili bileşiklerin hiçbirinin absorpsiyon göstermediği bir bölgede keyfi olarak seçilebilir (Meyer, 2000).

#### 2.4.2 Yüksek performanslı dağılma kromatografi

HPLC'de geçen dört sıvı kromatografisinden en çok kullanılanı dağılma kromatografisidir. Bu teknik sıvı-sıvı kromatografi ve sıvı bağlı faz kromatografi olmak üzere iki alt sınıfa ayrılabilir. İki teknik arasındaki fark, katı parçacıklar yüzeyine durgun fazın tutturulmasındaki metot farkından kaynaklanır. Sıvı-sıvı

dağılma kromatografide durgun faz, katı yüzeyine fiziksel adsorpsiyonla; bağlı faz dağılma kromatografide ise kimyasal bağlarla tutturulur. Önceleri sıvı-sıvı dağılma kromatografisi yaygın iken, şimdi kararlı özelliğinden dolayı daha çok bağlı faz dağılma kromatografisi kullanılmaktadır (Skoog ve diğ., 1996).

Durgun faz ile hareketli fazın polaritelerine göre dağılma kromatografisi normal faz dağılma kromatografisi ve ters faz dağılma kromatografisi olmak üzere ikiye ayrılır. Bu çalışmada ters faz dağılma kromatografisi yöntemi kullanılmıştır.

**Ters faz (reversed phase: RP) dağılma kromatografide** durgun faz apolar bir hidrokarbon, hareketli faz ise nispeten polar olan bir çözücüdür. Kimyasal bağlı oktadesilsilan, 18 karbon atomlu bir n-alkan, en sık kullanılan sabit fazdır. C<sub>8</sub> ve kısa alkil zincirleri ve hatta sikloheksil ve fenil grupları da diğer alternatif sabit fazlardır. Hareketli faz ise genellikle çeşitli suda çözünen çözücüler ile tampon çözeltilerin veya suyun karışımıdır.

Bununla birlikte, yüksek apolar özelliğe sahip analitlerin ters faz kromatografisi için susuz elüentler gereklidir. RP-HPLC’de metanol-su, THF-su, asetonitril-su karışımları sık sık kullanılan hareketli fazlardır. Genel kural olarak, su içerisinde %10’dan daha az organik çözücülerin kullanıldığı hareketli fazların kullanımı önerilmez (Meyer, 2000).

Dağılma kromatografisi birçok alana uygulanabilir. Tablo 2.1’de farklı alanlarda dağılma kromatografisinin çok sayıdaki kullanımı ile ilgili birkaç tipik örnek verilmiştir.

Tablo 2.1: Dağılma kromatografisinin bazı uygulamaları

Alan	Tipik Karışımlar
Farmasötikler	Antibiyotikler, steroidler, analjezikler, amino asitler
Biyokimya	Amino asitler, proteinler, karbonhidratlar
Gıda ürünleri	Suni tatlandırıcılar, antioksidantlar, aflatoksinler
Endüstriyel kimyasallar	Yüzey aktif maddeler, boyalar
Kirleticiler	Pestisitler, herbisitler, fenoller, polikloro bifeniller
Adli tıp	İlaçlar, zehirler, kan alkolü, narkotikler
Klinik tıp	Safra asitleri, idrar ekstraktları, ilaç metabolitleri

Ayrıca **iyon çifti (veya eşleşmiş iyon) kromatografisi**, iyonik türlerin ayrılması ve tayini için kullanılan bir tür ters faz dağılma kromatografisidir. İyon çifti kromatografide hareketli faz, metanol, asetonitril gibi bir organik çözücü içeren sulu tampon ve tayin edilecek analit ile zıt yüklü karşıt iyon içeren bir iyonik bileşikten

meydana gelmiştir. Karşıt iyon, analit ile birleşerek ters faz dolgu maddesi ile alıkonulabilen nötral iyon çifti oluşturan bir iyondur (Skoog ve diğ., 1998).

Son yıllardaki metal komplekslerinin analizinde ters faz HPLC yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. Çeşitli RP-HPLC ve iyon çifti HPLC arasında RP-HPLC hızlı ve kazançlı olması bakımından çok popülerdir.

## **2.5 RP-HPLC ile Tayini Gerçekleştirilen Metaller**

Ağır metallerin canlı organizmalara geçişi gıdalarla, solunumla, sularla ve direkt temasla olmaktadır. Canlı organizmalar için gerekli olan bazı eser elementler fazla miktarda alındığında vücutta birikerek toksik etki yaparlar. Çeşitli endüstriyel faaliyetlerden kaynaklanan atık suların içerisinde bazen eser miktarlarda bazen de yüksek konsantrasyonlarda ağır metaller bulunur. Ağır metaller konsantrasyonları ile orantılı olarak canlı yaşam üzerinde, toksik etki yaratırlar.

Toksik metal iyonlarının eşzamanlı tayinleri için atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAS) indüktif eşleşmeli plazma-atomik emisyon spektrometrisi (ICP-AES), indüktif eşleşmeli plazma-kütle spektrometrisi (ICP-MS), X-ray floresans (XRF) ve instrumental nötron aktivasyon analizi (INAA) gibi yöntemler kullanılmaktadır. Fakat bu tekniklerin matriks bileşenleri ve bağıl olarak pahalı olması nedeniyle bazı sınırlamaları vardır. Sıvı kromatografisi çok sayıda metalin aynı anda analizine olanak sağlaması açısından avantajlıdır. Sıvı kromatografik analizlerde doğru kolon ve hareketli faz seçimi ile analiz daha kısa sürede gerçekleştirilebilir. Diğer taraftan metal şelatlarının yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), ultra eser metal iyolarının eş zamanlı tayinleri için umut verici bir yaklaşımdır (Takahashi ve diğ. 2008, Yang ve diğ. 2005, Yang ve diğ. 2004, Zhang ve diğ. 2005; Yasui ve diğ. 2008, Kaur ve diğ., 2007).

Bu çalışmada ters faz HPLC ile eser miktardaki kobalt, demir ve nikel metallerinin tayini gerçekleştirilmiştir. Aşağıda bu metallerin bazı özellikleri ve insan yaşamı üzerindeki etkileri belirtilmiştir.

### **2.5.1 Kobalt**

Kobalt, 1735 yılında Georg Brandt tarafından keşfedilmiş sert, parlak, kırılğan bir geçiş elementidir. Atom numarası 27, atom ağırlığı ise 58.9332 g mol<sup>-1</sup>dür.

Kobalt, 1121°C'ye kadar ferromagnetiktir, bu nedenle yüksek sıcaklıklarda magnetik özelliğe gereksinim duyulan malzemelerin yapımında kullanılır. Doğal kobalt, kararlı izotopu olan kobalt-59'dan oluşur (Tezcan, 2007). En uzun ömürlü yapay izotopu olan kobalt-60, kobalt-59'un nükleer reaktörlerde bombalanması ile üretilir. Yarı ömrü 5,271 yıldır. Radyoaktif izleyici olarak ve kanser tedavisinde kullanılmaktadır (Greenwood ve Earnshaw, 1997). Kobalt-60'ın saldığı gama ışınları saniyede metal malzemelerinin iç yapılarının, çatlaklarının ya da içerdiği yabancı maddelerin belirlenmesinde, sterilizasyon işleminde, biyolojik araştırmalarda kullanılır.

Kobalt, bazı hayvanların beslenmesinde ve insanlardaki alyuvarların olgunlaşmasında gerekli olan B<sub>12</sub> vitamininde yer alır.

Kobalt çevrede yaygın olarak dağıldığından insanlar havadan, içme suyuyla ve kobalt içeren yiyecekler yiyerek buna maruz kalabilir (Url-1). Bazı araştırmacılar kobaltın havada ortalama olarak 0,0004 µg m<sup>-3</sup> konsantrasyonda bulunduğunu fakat endüstrinin yoğun olduğu ortamlarda alınan hava örneklerinde bu değerin 0,61µg m<sup>-3</sup>'e kadar ulaştığı belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada su örneklerinde ortalama olarak 2 µg L<sup>-1</sup> konsantrasyonda bulunduğu fakat bu değerin 107 µg L<sup>-1</sup>, ye kadar çıkabileceği belirtilmiştir (Çiftçi, 2007).

Kobalt, damarları genişleterek damar spazmlarını giderir, sinir sistemini rahatlatarak migreni giderir, kansızlığın giderilerek karaciğer ve pankreasın normal çalışmasında etkindir. Marul, şalgam, incir, ıspanak, pazı ve armutta bulunur.

### **2.5.2 Demir**

Atom numarası 26, atom ağırlığı 55.845 g mol<sup>-1</sup> olan gri siyahımsı renkte, parlak bir geçiş elementidir.

Saf demirin kullanım alanı oldukça sınırlıdır. Teknikte daha çok çelik olarak kullanılır. Çelik %0,1-1,5 arasında karbon içeren demirdir. Düşük (%0,15'den daha az) karbonlu çelik yumuşaktır, demir tel çekilebilir. Az karbonlu (%0,15-0,25) çelik kablo, çivi, zincir, nal yapımında; orta karbonlu (%0,25-0,60) çelik kiriş, direk, yapı malzemeleri; yüksek karbonlu (%0,60-1,5) çelik bıçak, jilet, matkap uçları yapılmasında kullanılır (Tezcan, 2007).

Demir bitkiler ve hayvanlar için önemli olan, canlı sistemleri ile ilgili en önemli geçiş elementidir. Demir alımı ve taşınımını kontrol etmek ve gerekli konsantrasyonları sağlamak için çok etkili biyolojik mekanizmalar mevcuttur.

İnsan vücudunda vücut ağırlığının yaklaşık %0,005'i kadar demir bulunur (Greenwood ve Earnshaw, 1997). İnsan vücudundaki demirin %60-70 kadarı hemoglobinin içerisinde, %10-13 kadarı kaslarda miyoglobinin içerisinde ve enzimlerde, %15-30 kadarı karaciğer, dalak, kemik iliğinde depolanmış halde bulunur.

Yeteri kadar demir alınmaması durumunda demir eksikliği anemisi görülür. Demir eksikliği, soluk beniz, çarpıntı, nefes darlığı, yorgunluk, halsizlik gibi genel belirtiler yanında dudak köşelerinde çatlaklar, tırnak ve saç kırılması, iştahsızlık ortaya çıkar. Daha ileri düzeydeki eksikliklerde deri mukoza değişiklikleri görülebilir, bazı hastalarda normal olmayan buz, toprak, nişasta yeme isteği doğar.

Bazı hastalıklarda veya ilaç halinde gereğinden fazla demir alınması durumunda vücutta aşırı demir birikir. Tedavi edilmezse karaciğer sirozu, şeker hastalığı, kalp büyümesi gibi sorunlar ortaya çıkabilir. Vücudun dayanabileceği günlük demir üst sınırı yetişkinlerde 45 miligram, 14 yaş altı çocuklarda ise 40 miligramdır.

Demirce zengin olan besin maddeleri, hayvansal gıdalar, karaciğer, dalak, kırmızı et, yumurta, üzüm, pekmez, kuru meyveler, kuru baklagiller, fındık, fıstık sayılabilir (Tezcan, 2007).

### **2.5.3 Nikel**

Nikel, 1757'de A. F. Crosted tarafından keşfedilmiş sert, gümüş-beyaz renkli, dövülebilen bir geçiş elementidir. Atom numarası 28, atom ağırlığı ise 58.6934 g mol<sup>-1</sup>'dir.

Saf veya düşük alaşımlı nikel, kimyasal etkenlere karşı dirençlidir. Metal parlaklığını atmosfer korozyonu altında bile göstermesi nedeniyle, geniş bir kullanım alanına sahiptir. Çelik, bakır, alüminyumdan yapılmış alaşımların elektrolitik kaplanmasında kullanılır. Tel halinde metal örgülerin yapılmasında, özgün alaşımların yapılmasında kullanılan önemli bir elementtir (Tezcan, 2007).

Nikel ayrıca bozuk paraların üretiminde ve dekoratif gümüş yerine kullanılmaktadır. Nikel mineraline ve çözünebilir bileşiklerine maruz kalma miktarı, 40 saat/haftalık süre içinde 0,05 mg cm<sup>-3</sup>'ü geçmemelidir.

Hassas bireyler dermatit olarak bilinen ve derilerinin nikel ile temas etmesi sonucu ortaya çıkan bir alerji gösterebilirler. Özellikle kulaklara takılan mücevherlerde kullanılan nikel bu tür alerjilerin en önemli sebeplerinden biridir. Nikel alerjisi sonucu kulakta kaşınma, derinin kızarması gibi belirtiler görülebilir. Bu problem yüzünden, bugün birçok küpe nikelsiz olarak üretilmektedir. İnsan derisine temas edecek olan ürünlerdeki nikel miktarı Avrupa Birliği tarafından düzenlemeye tabi tutulmuştur (Url-2).

İnsanlar yiyecek, sigara, hava, içme suyu ve hava yolu ile nikel maruz kalabilir. Nikel içeren toprak veya suyla temas da nikel yayılmasına neden olabilir. Az miktarda nikel şarttır, ama alım çok yüksek olduğu zaman insan sağlığı için bir tehlike olabilir. Gıdalar az miktarda nikel içermesine karşın, çikolata ve katı yağların yüksek miktarda nikel içerdiği bilinmektedir. Ayrıca nikel deterjanlarda da bulunmaktadır. Nikel çok büyük miktarda bir alımı akciğer kanseri, burun kanseri, gırtlak kanseri ve prostat kanseri gelişme ihtimalini artırır, solunum yetmezliği, doğum kusurları, astım ve kronik bronşit ve kalp hastalıkları görülebilir (Url-3).

EPA'ya göre içme suyunda Ni için daha önceden sınır  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  iken 9 Şubat 1995 ten sonra EPA herhangi bir yasal sınır değeri (MCL:maximum contamination level) belirtmemiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Avrupa'da içme sularında Ni derişimlerinin  $2-13 \mu\text{g L}^{-1}$ , Almanya'da ise ortalama değer  $9 \mu\text{g L}^{-1}$  olduğunu belirtmiştir (Url-4).

## 2.6 HPLC ile Metal Tayini Çalışmaları

Okutani ve diğ. (1997), 2-(5-nitro-2-pyridilazo)-5- [N-propil-N-(3-sülfopropil) amino] fenol (Nitro-PAPS) şelatları şeklindeki Cu(II), Co(II), Ni(II) ve Fe(II) iyonları UV dedektörlü (570 nm) ters faz HPLC ile eş zamanlı olarak tayin edilmiştir. Hareketli faz  $2 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  nitro-PAPS,  $0.01 \text{ mol L}^{-1}$  fosfat tamponu (pH:6) içeren tetrahidrofuran-asetonitril-su (15:10:75, v/v) karışımı olup, hareketli fazın akış hızı  $1 \text{ mL dak}^{-1}$ 'dir. Gözlenebilme sınırları bakır ve demir için  $0.2 \text{ ng mL}^{-1}$ , nikel için  $0,04 \text{ ng mL}^{-1}$  ve kobalt için  $0,01 \text{ ng mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Yöntem yağmur ve nehir suyuna uygulanmıştır.

Ma ve diğ. (1997), Co(III), Ni(II), V(V) ve Fe(III) iyonlarının 2-(2-benzotiyolazo)-5-(3-sülfopropil) amino fenol (BTASPAP) şelatlarının tayini için ters faz iyon çifti HPLC yöntemini kullanmışlardır. Potasyum iyodat varlığında, BTASPAP ligandı ile

analit iyonları negatif yüklü suda çözülebilen şelatlarına dönüştürülmüştür. Bu kararlı şelatları C<sub>18</sub> siloksan bağlı kolonda, 0,2 mol L<sup>-1</sup> asetik asit-sodyum asetat tamponu (pH: 3) ve 1 mmol L<sup>-1</sup> tetrabutil amonyum bromür içeren asetonitril-asetat-su (36:1:63: v/v) hareketli fazında 7 dakikada tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Co(III), Ni(II), V(V) ve Fe(III) için 565 nm'de gözlenebilme sınırları sırasıyla 0,3, 0,8, 0,3 ve 1,0 ng olarak bulunmuştur. Yöntem dört farklı alaşım örneğine uygulanmıştır.

Mudasir ve diğ. (1998), Fe(II) ve Cu(II)'nin 4,7 difenil-1,10-fenatrolin (batofenantrolin) disülfonat (BPS) ile oluşturduğu negatif yüklü şelatlarının tayininde ters faz HPLC yöntemini kullanmışlardır. Kolon Inertsil ODS-2, hareketli faz 0,02 mol L<sup>-1</sup> tetrametil amonyum bromür (TMAB) ve 0,025 mol L<sup>-1</sup> tris (hidroksimetil) amino metan (Tris)-HCl içeren (pH: 7.5) metanol-su (60:40, v/v) karışımıdır. Şelatların ayırımını etkileyen kromatografik parametreler optimize edilmiştir. Metot doğal su örneklerine uygulanmıştır. Bu yöntemde, ortamdaki nikelin ve muhtemel organik kirliliklerin matriks etkisi gösterdiğini belirtmişlerdir.

Padaruskas ve diğ. (1998), su örneklerinde Cr(VI)'nın önderiştirilmesi ve tayininde ön kolon şelat oluşumlu HPLC'yi kullanmışlardır. Kromat, 1,5-difenil karbazit (DPC) ile kompleks oluşturmuş ve C<sub>18</sub> kolonda (50x6 mm iççap) önderiştirme yapılmıştır. Önderiştirme basamağının hemen sonrasında örneklerin analizi 6.10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve % 20 asetonitril içeren elüentle C<sub>18</sub> kolonda (100x6 mm iççap) yapılmıştır. Çalışılan dalga boyu 546 nm'dir. Belirlenen optimum şartlarda 100 mL örnek çözelti kullanıldığında Cr(VI) için gözlenebilme sınırı 0,02 ng mL<sup>-1</sup>'dir. Yöntem içme suyu, yüzey suyu ve kaynak suyu örneklerine uygulanmış ve ilave edilen Cr(VI)'nin geri kazanım değerleri % 94-104 aralığında bulunmuştur.

Vachirapatama ve diğ. (2002), V(V)'in PAR ve hidrojen peroksitle oluşturduğu üçlü kompleksinin tayininde iyon etkileşimli ters faz HPLC'yi kullanmışlardır. Kolon olarak C<sub>18</sub> kolonu kullanmışlardır. Optimum hareketli faz 3 mmol L<sup>-1</sup> tetrabutil amonyum bromür, 5 mmol L<sup>-1</sup> asetik asit ve 5 mmol L<sup>-1</sup> sitrat tampo (pH:7) içeren metanol-su (32:68, v/v) karışımıdır. Tayinler 540 nm'de gerçekleştirilmiştir. pH 6'da vanadyumun üçlü kompleksinin stokiyometrisi HPLC ile mol oranı ve Job metodu kullanımıyla V(V):PAR:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> şeklinde (mol oranı 1:1:1 olarak) belirlenmiştir. Gözlenebilme sınırı 0,09 ng mL<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Yöntem azotlu, fosfatlı ve potasyumlu gübrelerin analizinde uygulanmıştır. HPLC ile elde edilen V(V)

sonuçları, ICP-MS analizinden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmış ve değerler uyumlu bulunmuştur.

Ali ve Aboul-Enein (2002), ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisiyle arsenik ve krom türlemesi çalışmışlardır. Kolon olarak Econosil C<sub>18</sub>, hareketli faz olarak da arsenik türlemesi için su-asetonitril (80:20, v/v), krom türlemesi için 10 mmol L<sup>-1</sup> amonyum asetat tamponu (pH:6)-asetonitril (10:90, v/v) karışımı hareketli faz olarak kullanılmıştır. Tayinleri, 410 nm'de UV-vis spektrometre ve AAS ile gerçekleştirmişlerdir.

Chung ve Chung (2003), 4-(2-Thiazolilazo) resorsinol (TAR) ya da 5-Metil-4-(2-thiazolilazo) resorsinol (5MTAR) şelatları şeklindeki Co(II) iyonlarının tayininde ters faz kapiler HPLC'yi kullanmışlardır. Kapiler-HPLC sisteminde Vydac C<sub>4</sub> kolon ve hareketli faz olarak asetonitril-su karışımı kullanılmıştır. TAR kullanıldığında optimum pH 5.60, 5MTAR kullanıldığında optimum pH 7.20, hareketli faz bileşimi %30 asetonitril olarak bulunmuştur. Co(II) iyonları için gözlenebilme sınırı ligand TAR kullanıldığında 2.0x10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> (11.8 ppb), 5MTAR kullanıldığında ise 3.0x10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> (17.7 ppb) olarak bulunmuş ve geliştirilen yöntem mineral ve atık sulara uygulanarak Co(II) tayin edilmiştir.

Tang ve diğ. (2004), şelatlayıcı reaktif olarak dietilditiyokarbamat, ekstraktant olarak Triton X-114 kullanarak bulutlanma noktası ekstraksiyonunu (cloud point extraction:CPE) yöntemiyle sulu çözeltilerde Cr(III) ve Cr(VI)'nın eş zamanlı önderiştirilmesini gerçekleştirmiştir. Tayinde HPLC'de hareketli faz olarak 1.0 mL dk<sup>-1</sup> akış hızında 0,05 mol L<sup>-1</sup> sodyum asetat-asetik asit ile pH'ı 3.6'ya tamponlanmış metanol-su-asetonitril (65:21:14, v/v) karışımı kullanılmıştır. Geliştirilen metot kar suyu, nehir suyu, deniz suyu atık su örneklerindeki Cr(III) ve Cr(VI) nın ayrımı ve tayinine uygulanmıştır.

Srijaranai ve diğ. (2006), bazı metal-PAR şelatlarının tayin için akışa enjeksiyonla birleştirilmiş iyon çifti ters faz HPLC yöntemini kullanmışlardır. Kompleks oluşumu ve iyon çifti ters faz HPLC ile analiz 16 dakika sürmüş ve Cr(VI) ve Co(II), Ni(II) ve Cu(II)'nin PAR şelatları tatin edilmiştir.

Nam ve diğ. (2006), gıda ve ek besinlerde As türlerinin tayininde HPLC-ICP-MS yöntemini kullanmışlardır. HPLC de kolon, anyon değiştirici kolon ve hareketli faz amonyum karbonat çözeltisidir. Bu yöntemle elma örneklerinde



As(III), As(V), dimetilarsonik asit (DMA) ve monometilarsonik asit (MMA), piring unu örneklerinde DMA ve As(V), bitkisel ek besin örneklerinde de As(V) ve MMA bulunmuştur.

Miravet ve diğ. (2006), kömür uçucu külünde antimonun analitik türlemesi ve liç edilebilirliğini çalışmışlardır. Türleme analizi için HPLC-ICP-MS ve HPLC-HG-AFS uygulanmıştır.

Kaur ve diğ. (2007), Co(II), Ni(II), Cu(II) ve Pd(II)'nin ayrımı ve eş zamanlı tayini için reaktif olarak 2-tiyofenaldehit-3-tiyosemikarbazon (TPTS) kullanımıyla katı faz mikroekstraksiyon-HPLC-UV yöntemi geliştirmişlerdir. Analitlerin ayrılmasında C<sub>18</sub> kolon ve hareketli fazın asetronitril:su (65:35) olduğu ters faz HPLC kullanılmıştır. Geliştirilen yöntem alaşımlara ve su örneklerine uygulanmıştır.

Çiftçi ve diğ. (2007), Türkiye'de yetişen kekik, ısırgan, tütün, turp ve ıhlamurdaki nikel konsantrasyonlarını HPLC ile tayin etmişlerdir. Hareketli faz metanol-su-asetonitril-asetat tamponu (55:40:2.5:2.5 v/v) olup kolon LUNA C<sub>18</sub> ODS kolondur. Çalışmada DAD dedektör kullanılmıştır. Kekik, ısırgan,tütün, turp ve ıhlamurdaki ortalama nikel düzeyleri sırasıyla 6,93, 3,44, 2,84, 1,58 ve 1,41 mg kg<sup>-1</sup> (kuru madde) olarak bulunmuştur.

Kaur ve Malik (2007), sulu ortamdaki Co(II), Ni(II) ve Pd(II)'un morfolin-4-karboditiat komplekslerinin eş zamanlı tayinleri için SPME- HPLC –UV sistemi geliştirmişlerdir. Metal komplekslerinin ayrımında C<sub>18</sub> kolon, hareketli faz olarak da asetonitril:su (60:40) karışımı kullanmışlardır. Gözlenebilme sınırları Co(II), Ni(II) ve Pd(II) için sırasıyla 0,17, 0,11 ve 0,06 ng mL<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem farklı alaşımlara ve içme suyu örneklerine uygulanmıştır.

Morita ve diğ. (2007), C<sub>30</sub> ters faz kolonu kullanarak HPLC-ICP-MS ile arsenik ve antimonun eşzamanlı türlemesi için metot geliştirmiştir. Sekiz arsenik bileşiği (As(III), As(V), monometil arsonik asit (MMAA), dimetil arsinik asit (DMMA), arsenobetain (AB), arsenokolin (AsC), trimetil arsinoksit (TMAO)ve tetrametil arsonyum (TeMA)), Sb(III) ve Sb(V) amonyum tartarat içeren özel hareketli faz ile eşzamanlı olarak ayrılmıştır. Özellikle organik As türleri için ayırma etkisinde C<sub>30</sub> kolonunda C<sub>18</sub> kolonuna göre ayırma daha iyidir. Bu elementler için 10 µL örnek enjekte edildiğinde gözlenebilme sınırları her bir As türü için 0,2 ng mL<sup>-1</sup>, her bir Sb

türü için  $0,5 \text{ ng mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Önerilen metot kaplıca suyu ve balık örneklerine uygulanmıştır.

Street ve diğ. (2007), çay yaprakları ve demlenmiş çayda alüminyum türlemesi ve toplam bileşimini çalışmışlardır. Çek Cumhuriyeti'nde yetişen ve farklı bölgelerden alınan toplam 29 çay örneği toplanmış ve analiz edilmiştir. Bütün örnekler için demlenmiş çayda Al'un HPLC/IC türlemesi çalışılmıştır. Demlenmiş çaya  $\text{Al}^{3+}$  ilavesi  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Al}(\text{Y})^{2+}$  ve  $\text{Al}(\text{X})^+$  türlerinin demlenmiş çayda tayin edilebileceğini doğrulamıştır. Ayrıca demlenmiş çaya limon suyu ilavesinin Al türlemesini önemli şekilde etkilediği görülmüştür .

Chen ve diğ. (2009), bulutlanma noktası ekstraksiyonundan sonra ICP-MS ile birlikte HPLC yöntemini kullanarak eser civa türlerinin tayinini gerçekleştirmişlerdir. Analitler sodyum dietil ditiyo karbamat ile kompleks oluşturmuş ve iyonik olmayan surfaktant Triton X-114 ile deriştirme yapılmıştır. Civa türleri HPLC ile 6 dakikadan daha az bir sürede ayrılmışlardır. 25 mL örnek çözelti kullanılarak  $\text{Hg}^{2+}$  ve  $\text{MeHg}^+$  için zenginleştirme faktörleri sırasıyla 42 ve 21, gözlenebilir sınırları 4 ve  $10 \text{ ng L}^{-1}$ 'dir. Geliştirilen yöntem çevresel ve biyolojik örneklerdeki civa türlerinin eser miktarlarının tayininde başarıyla uygulanmıştır.

Müler ve diğ. (2009), Çin eğrelti otunun sulu ekstraktlarında, anyon değışirici fazlı HPLC-ICP-MS ile organik ve inorganik antimon türlerini tayin etmişlerdir.

Cacho ve diğ. (2010), bazı bitki ekstraktlarında Ni türlemesi için yeni ve duyarlı normal faz HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Metotta durgun faz silika, hareketli faz hekzan:etanol (9:1, v/v) karışımıdır ve Ni komplekslerinin tayininde UV veya MS kullanılmıştır. Geliştirilen yöntem bezelye kökü nodüllerine uygulanmıştır.

Ying ve diğ. (2011), atık sularda Cr(III) ve Cr(VI) iyonlarının iyonik sıvı ile önderiştirme işleminden sonra kromatografik tayinleri için yöntem geliştirmişlerdir. Şelatlayıcı reaktif olarak APDC kullanılmıştır. Kolon RP-C<sub>18</sub> kolon olup hareketli faz metanol-asetonitril-su (53:14:33, v/v), akış oranı  $1.0 \text{ mL dak}^{-1}$  dir. Cr(VI) ve Cr(III) için geri kazanım değerleri 91,8 % ve 95,8 % aralığında bulunmuştur.

Jia ve diğ. (2011), sıvı kozmetik ürünlerindeki civanın tayini için iyonik sıvı dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon ile birlikte HPLC-ICP-MS kullanmışlardır. İlk olarak civa, metilciva ve etil civa APDC ile kompleks oluşturmuş ve oluşan kompleksler 1-heksil-3-metilimidazolyum heksaflorofosfat içerisine DLLME ile ekstrakte

edilmiştir. Ekstraksiyon sonrası elde edilen yaklaşık 8 µL sediment faz 60 µL metanol içersinde çözülmüş ve 20 µL örnek HPLC-ICP-MS sistemine verilmiştir. HPLC’de kolon C<sub>18</sub> kolon, hareketli faz 0,06 mol L<sup>-1</sup> amonyum asetat içeren % 4,4 (v/v) metanol ve 10 mM L-sistein karışımıdır. Gözlenebilme sınırları Hg<sup>2+</sup> için 1,3 ng L<sup>-1</sup>, metilciva için 7,2 ng L<sup>-1</sup> ve etilciva için 5,4 ng L<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir.

### 3. ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ

#### 3.1 Giriş

Atomik spektroskopisi, gaz halindeki atomların veya gaz halindeki tek atomlu iyonların elektromanyetik ışını absorpsiyonu, emisyonu veya floresansını esas alan yöntemleri kapsamaktadır. Atomik spektroskopisi, elektromanyetik spektrumun ultraviyole, görünür alan ve X ışınları bölgesinde spektrum oluşturur.

Atomik türlerin spektroskopik tayinleri, tek atomların (veya bazen  $Fe^+$ ,  $Mg^+$ ,  $Al^+$  gibi element iyonlarının) birbirlerinden iyice ayrılmış bulunduğu gaz ortamında yapılabilir. Dolayısıyla, tüm atomik spektroskopik işlemleri için ilk basamak atomlaştırmadır. Atomlaşma esnasında numune, atomik gaz oluşturacak şekilde buharlaştırılır ve parçalanır. Kantitatif bir tayinin duyarlılığı, doğruluk derecesi, kesinliği büyük ölçüde atomlaştırma işlemine bağlıdır. Bu nedenle atomlaştırma atomik spektroskopideki en önemli aşamadır (Skoog ve diğ., 1996).

Atomik spektroskopisi yöntemlerinden atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), analitik numunelerde tek element tayini için en yaygın yöntemdir.

#### 3.2 Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (AAS)

Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (AAS), temel düzeydeki element atomlarının kendilerine özgü dalga boylarında ışını absorplamasına dayanır. Absorpsiyonun büyüklüğü, temel düzeydeki atomların derişimi ve analit derişimine bağlıdır. Analit derişimi, absorpsiyon ölçümüyle bulunabilir (Kellner ve diğ., 1998).

AAS'de temel düzeyde bulunan atomların elektromanyetik ışını absorplamalarıyla atomlar, uyarılmış elektronik düzeye geçerler. Bu geçiş "rezonans geçişi" olarak bilinir. Rezonans hat, en şiddetli absorpsiyona sahip olan hattır. Temel enerji düzeyiyle, uyarılmış enerji düzeyleri arasındaki enerji farkı gittikçe azalır ve dolayısıyla elementin absorpsiyon şiddeti de azalır. Duyarlılığı yüksek analizler için, analitin rezonans hattı kullanılır. Bütün metallerin ilk rezonans hattının dalga boyu

200 nm'den daha büyüktür. Bu nedenle, metal tayininde AAS yaygın olarak kullanılmaktadır.

AAS'de ışın absorpsiyonunda Beer yasası geçerlidir. Bu nedenle monokromatik ışın gereklidir. Bu temele dayanarak ticari atomik absorpsiyon spektrometreleri yapılmıştır.

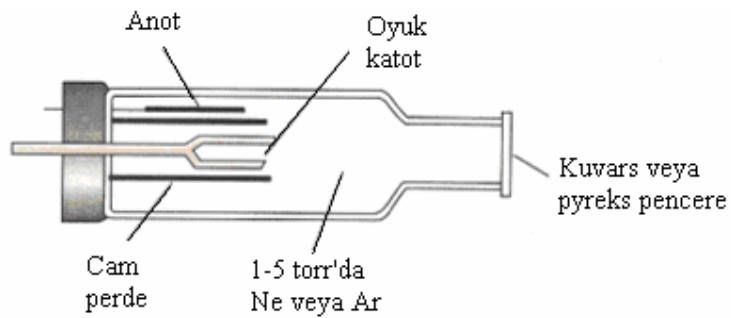
### 3.3 Atomik Absorpsiyon Spektrometreleri

Atomik absorpsiyon spektrometrelerinin kısımları, analit elementinin spektrumunu yayan bir ışın kaynağı, örneğin atomlarına ayrıştığı bir atomlaştırıcı, monokromatör, dedektör ve elektronik devrelerdir.

#### 3.3.1 Işın kaynakları

Atomik absorpsiyon hatlarının çok dar olması (0,002-0,005 nm) nedeniyle iyi bir absorpsiyon elde edebilmek için absorpsiyon piklerinden daha dar bant veren çizgi (hat) ışın kaynakları kullanılır. Atomik absorpsiyon cihazlarında oyuk katot lambaları ve elektrotsuz boşalım lambaları olmak üzere iki tür lamba kullanılır.

**Oyuk katot lambaları** atomik absorpsiyon ölçümleri için en yaygın kullanılan kaynaktır (Caroli, 1985). Şekil 3.1'de şematik olarak gösterilen bu kaynakta katot, analit metalinden yapılmıştır veya bu metalin kaplamasına destek olabilecek yapıdadır (Skoog ve diğ., 1996).



Şekil 3.1: Oyuk katot lambasının şematik yan kesiti

Elektrotlar arasına yaklaşık 300 V'luk bir gerilim uygulanır ve uygulanan bu gerilim altındaki lambada inert gaz iyonlaşır. İyonlaşma sonucu ortamda katyon ve elektronlar oluşur. Bunlar lambanın elektrotlarına doğru göç etmeye başlarlar ve bunun sonucunda 5-25 mA'lık bir akım meydana gelir. Katyonlar katot tarafından

hızla çekilir ve ivmeli bir hızla oyuk katodun yüzeyine çarparak katottan metal atomlarını fırlatırlar (Gündüz, 2004). Böylece atom bulutu oluşur, bu süreç sıçratma adını alır. Sıçratılan metal atomlarının çoğu uyarılmış haldedir ve bunlar temel hallerine dönerken karakteristik ışın yayarlar. Sonuçta metal atomları geri katot yüzeyine difüzlenir veya tüpün cam duvarlarında birikir (Skoog ve diğ., 1998).

Ticari olarak yaklaşık 40 element için oyuk katot lambası bulunabilir. Bazılarının katodu birden fazla element içerebilir; böyle kaynaklar birkaç analitin tayini için gerekli spektrum çizgilerini aynı anda verebilir (Skoog ve diğ., 1996)

**Elektrotsuz boşalım lambaları (EDL)**, atomik çizgi spektrumu için yararlı bir kaynak olup oyuk katot lambalarından onlarca hatta yüzlerce kat daha büyük ışın şiddeti oluştururlar. Performansları oyuk katot lambaları kadar iyi değildir.

### 3.3.2 Atomlaştırıcılar

Örnekteki iyon ve moleküllerden analiz edilecek element atomlarının oluşturulmasına atomlaştırma, bunun için kullanılan sistemlere atomlaştırıcı denir. Bir analizin başarılı olup olmaması, atomlaşmanın etkinliğine ve örnekteki analiz edilecek elementin atomlaşma derecesine doğrudan bağlıdır (Welz, 1895).

Numune atomlaştırma tekniklerinden en yaygın kullanılanları alevli atomlaştırma ve elektrotermal atomlaştırmadır.

#### 3.3.2.1 Alevli atomlaştırıcılar

Alevli atomlaştırıcı, numuneyi bir bulut veya aerosol şekline dönüştürdükten sonra alev başlığına yollayan bir pnömatik sisleştirciden ibarettir. Alevli atomlaştırıcıda, atomlaşmanın olduğu alev içerisine numune çözeltisi yanıcı gaz ile karışan yükseltgen gaz akışıyla taşınır ve püskürtülür. İlk olarak çözücü buharlaşır ve çok ince dağılmış bir moleküler aerosol oluşur. Sonra bu moleküllerin çoğunun ayrışması sonucu, bir atomik gaz oluşur. Bu şekilde oluşan atomların çoğu katyonlar ve elektronlar vermek üzere iyonlaşır (Skoog ve diğ., 1998).

Alevli atomlaştırıcıda en çok kullanılan alev hava/asetilen alevi (2100-2400°C), toprak alkali ve birçok geçiş metali için uygundur. Çok kararlı oksit oluşturan refrakter metaller (Al, Be, Si, Mo, V gibi) için ise yüksek sıcaklık nedeniyle asetilen/N<sub>2</sub>O (2600-2800°C) veya asetilen/O<sub>2</sub> (3050-3150°C) alevi kullanılır. Alevin

sıcaklığı ve atom buharının kalma süresi, yanıcı ve yakıcı gaz cinslerine ve akış hızlarına bağlıdır.

### **3.3.2 Elektrotermal atomlaştırıcılar**

Elektrotermal atomlaştırıcılar, genel olarak kısa sürede tüm numunenin atomlaştırılması ve optik yolda atomların ortalama kalma sürelerinin bir saniye veya daha fazla olması nedeniyle duyarlıkta artış sağlar.

Elektrotermal atomlaştırıcılarda, grafit bir kapsülde, elektriksel olarak ısıtılmış bir grafit tüpte, önce numunenin birkaç mikrolitresi kurutulur ve sonra kül edilir. Kül edildikten sonra, yaklaşık 2000-3000 °C'a yükselen sıcaklığa neden olan akım, hızla birkaç yüz ampere artırılır; numunenin atomlaşması birkaç milisaniyeden saniyelere kadar değişen periyotta oluşur. Atomlaşma, sıcaklığın değişmediği bir çevrede gerçekleştiğinden daha tekrarlanabilir pikler elde edilir (Skoog ve diğ., 1998).

### **3.3.3 Monokromatör**

Spektroskopik yöntemlerin çoğunda kullanılan aletin üstünlüğü doğrudan monokromatörün ayırma gücüne bağlı olduğu halde, AAS'de iki elementin birbirinden ayrılması, sadece oyuk katot lambasının emisyon hattının genişliği ile absorpsiyon hattının genişliğine bağlıdır ve normal bir monokromatörün ayırma gücünün üstünde değerlerdir. Monokromatörün incelenen elementin rezonans hattını diğer elementlerin rezonans hatlarından ayırması yeterlidir.

### **3.3.4 Dedektör**

AAS'de ışık sinyalinin elektrik sinyaline dönüştürülmesinde fotoçoğaltıcılar kullanılır. Foto alıcılar yardımıyla elde edilen elektrik sinyalleri dijital, analog ya da bir yazıcıdan absorbans olarak kaydedilir.

## **3.4 Atomik Asorpsiyon Spektroskopide Girişimler ve Önlenmesi**

Bir analitin sinyalinde sistematik bir sapmaya, dolayısıyla sonuçların hatalı çıkmasına neden olan etkilere girişim denir. Girişimler fiziksel, kimyasal, iyonlaşma, spektral ve zemin girişimleri olarak sınıflandırılabilir.

### **3.4.1 Fiziksel girişimler**

Alev ölçüm şartlarını değiştiren fiziksel olaylar ile çözeltinin fiziksel özelliklerini faktörlerin tümü fiziksel girişimler olarak tanımlanır. Örnek çözeltinin viskozitesi, yüzey gerilimi ve özgül ağırlık gibi fiziksel özelliklerinin örnek ve referans maddede farklı olması nedeniyle ortaya çıkar.

Fiziksel girişimler, örnek ve standart çözeltinin fiziksel özellikleri birbirine benzetilerek, standart ekleme yöntemiyle veya örneğin seyreltilmesi ile giderilebilir (Dulski, 1999).

### **3.4.2 Kimyasal girişimler**

En yaygın kimyasal girişim, analit ile uçuculuğu az bileşikler oluşturan ve böylece atomlaşmayı geciktiren anyonların girişimidir ve düşük sonuçlar elde edilir (Skoog ve diğ., 1998). Elektrotermal atomlaştırıcılarda ise iki tür kimyasal girişim görülür: analit refrakter bileşiklerini oluşturabilir veya uçucu bileşiklerine dönüşebilir (Dulski, 1999). Kimyasal girişimleri önlemenin en iyi yolu, girişime neden olan element ve iyonla kararlı bileşik oluşturacak serbestleştirici veya koruyucu reaktif ilave edilmesidir. (Skoog ve diğ., 1998).

### **3.4.3 İyonlaşma girişimleri**

Kimyasal girişim olarak da düşünülebilen bu girişimler, atomlaştırıcıda analit atomlarının önemli bir miktarının uygulanan sıcaklıkla iyonlaşması sonucu oluşur. Örnek çözelti, kör çözelti ve standartlara aynı miktarda kolaylıkla iyonlaşabilen iyonlaşma bastırıcısı eklenerek giderilebilir. Lantan, stronsiyum, sezyum, potasyum ve sodyum çözeltileri yaygın olarak iyon bastırıcısı olarak kullanılır (Dulski, 1999).

### **3.4.4 Spektral girişimler**

Spektral girişim, analitin rezonans çizgisinin ışık kaynağındaki diğer emisyon çizgileri ile çakışması, analitin rezonans çizgisinin alevde oluşan absorpsiyon çizgileri ile çakışması veya analitin absorpsiyon hattının örnekteki başka bir elementin hattı ile çakışması sonucu ortaya çıkan girişimlerdir.

Daha dar slit aralığının kullanılması ya da analitin farklı rezonans hattının seçilmesiyle giderilebilir (Dulski, 1999).



### 3.4.5 Zemin girişimleri

Analitin içinde bulunduğu matriksten ileri gelen ışık saçılmaları ve moleküler absorpsiyonlar girişime neden olur. Çoğu zaman zemin girişimlerinin kaynağı bilinmez, çünkü zemin girişimleri örnekten örneğe zamanla da değişir. Zemin girişimleri özel tekniklerle giderilir. Bu teknikler: çift hat yöntemi, sürekli ışın kaynağı yöntemi, zeeman yöntemi ve Smith-Hieftje yöntemleridir.

Zemin düzeltme tekniklerinin hepsinde de iki ölçüm yapılır; birincisi analit dalga boyunda gerçekleştirilir ve analit ve zemin absorbansları toplamı ölçülür. İkinci ölçümde analit dalga boyunun yakınında yalnız zemin ölçümü yapılır. İki ölçüm arasındaki fark, zemin girişimi düzeltilmiş analit absorbansını verir.

### 3.5 Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi Uygulamaları

Atomik absorpsiyon spektroskopisi metodu çok hassas bir metottur. Yaklaşık 60 kadar metal ve yarı metal bu metotla tayin edilebilmektedir (Gündüz, 2004). Birçok element için, alevli atomik absorpsiyon spektrometrinin gözlenebilme sınırı 1-20 ng mL<sup>-1</sup> veya 0,001-0,020 µg mL<sup>-1</sup> aralığında bulunur; elektrotermal atomlaşmada ise gözlenebilme sınırı 0,002-0,01 ng mL<sup>-1</sup> veya 2.10<sup>-6</sup>-1.10<sup>-5</sup> µg mL<sup>-1</sup>'dir.

Alevli AAS'de analizlerle ilgili bağıl hata %1-2 büyüklüğünde, elektrotermal AAS'de ise alev atomlaşmanın 5-10 katından fazladır (Skoog ve diğ., 1998).

### 3.6 AAS ile Metal Tayini Çalışmaları

Tüzen (2003), Karadeniz'deki balıklarda bazı ağır metallerin (Pb, Cd, Fe, Cu, Mn ve Zn) tayininde grafit fırınlı AAS'yi kullanmıştır. Bütün elementler için geri kazanım değerleri %95'in üzerinde ve bağıl standart sapma değerleri %7'den daha az bulunmuştur.

Karadjova ve diğ. (2005), elektrotermal AAS ile esansiyel lavanta ve gül yağlarında As tayinini gerçekleştirmişlerdir. Direkt elektrotermal AAS analizlerinde, yağ örnekleri lavanta için etanol, gül yağı için i-propanol kullanılarak çözünürleştirilmiştir. As için gözlenebilme sınırları lavantada 4,4 ve gül yağında 4,7 ng g<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur.

Senturk ve diğ. (2007), Amberlit XAD-2000 kolonda altın iyonlarını Au(III)-diethyliditiyo karbamat kompleksi şeklinde adsorplamış ve sonra asetonda 1 M HNO<sub>3</sub> ile elüe etmişlerdir. Çözelti alevli AAS'de okunarak Au tayin edilmiştir. Au(III) için geri kazanım değeri % 95 ve gözlenebilme sınırı 16,6 g L<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Yöntem çevresel örneklerle uygulanmıştır.

Bohrer ve diğ. (2007), atomik absorpsiyon spektrometrisi ile tavuk etindeki selenyumun tayini için dört farklı yöntem geliştirmişlerdir. Örneklerdeki selenyumu hidrür oluşturmali AAS veya grafit fırınlı AAS ile tayin etmişler ve her iki yöntemle elde edilen sonuçları karşılaştırmışlardır. Gözlenebilme sınırı hidrür oluşturmali AAS'de 1 µg L<sup>-1</sup>, grafit fırınlı AAS'de 0,6 µg L<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur.

Brandão ve diğ. (2007), hiçbir seyreltme ve önderiştirme işlemi olmadan katı örneklemele elektrotermal AAS kullanarak petrol örneklerindeki Cu, Fe ve V'un direkt tayini için yöntem geliştirmişlerdir. Kimyasal modifier olarak Pd + Triton X-100 çözeltisi kullanılmıştır. Gözlenebilme sınırları 0,3-1mg aralığında örnek miktarı için Cu, Fe ve V için sırasıyla 10, 200 ve 800 pg olarak bulunmuştur.

Lemos ve diğ. (2008), bulutlanma noktası ekstraksiyonu ile Cu ve Ni iyonlarının önderiştirilmesinden sonra analitleri alevli AAS ile tayin etmişlerdir. Optimum şartlar altında zenginleştirme faktörleri Cu için 29, Ni için 25 bulunmuştur. Metot çeşitli gıda örneklerine uygulanmıştır.

Farajzadeh ve diğ. (2008), dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi ile Cu-oksinat komplekslerini ekstrakte ettikten sonra çözeltideki Cu iyonlarını alevli AAS ile tayin etmişlerdir. Cu için gözlenebilme sınırı 3 µg L<sup>-1</sup> olarak bulunmuş ve yöntem çeşitli su örneklerine uygulanmıştır.

Elci ve diğ. (2008), Amberlie XAD-2000 dolgulu kolonda Fe(III), Pb(II) ve Cr(III) iyonlarını adsorplamışlar ve analitleri 0,5 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> ile elüe etmişlerdir. Analitler AAS ile tayin edilmiştir. Gözlenebilme sınırları Fe, Pb ve Cr için sırasıyla 0,32, 0,51 ve 0,81 µg L<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Yöntem içme suyu örneklerine ve kaynak sularına uygulanmıştır.

Liang ve Sang (2008), eser miktardaki kurşunun tayini için dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon önderiştirme yöntemi ile birlikte grafit fırınlı AAS'yi kullanmışlardır. Şelatlayıcı reaktif olarak 1-fenil-3-metil-4-benzoil-5-pyrazolone (PMBP) kullanılmıştır. Belirlenen optimum şartlarda Pb için zenginleştirme faktörü

78, gözlenebilme sınırı  $39 \text{ ng L}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem insan idrarı ve çeşitli su örneklerine uygulanmıştır.

Ghaedi ve diğ. (2009), Zn, Ni, Fe ve Pb'un alümina kaplı sodyum dodesil sülfat üzerine ekstraksiyonu ile önderiştirilmesinden sonra analitleri  $8 \text{ mL } 4 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$  ile elüe etmişlerdir. Bu çözeltideki analitler alevli AAS ile tayin edilmiştir. Geliştirilen bu yöntem İran'ın bazı geleneksel gıdalarındaki eser ve toksik metallerin tayinine uygulanmıştır.

Yang ve diğ. (2009), Ni, Ag, Co, Cu, Cd ve Pb tayininde, sorbent olarak MCI GEL CHP 20Y kullanıldığı katı faz ekstraksiyonu ile birlikte grafit fırınlı AAS yöntemini kullanmışlardır. Gözlenebilme sınırları Cr(III) için  $1,4 \text{ ng L}^{-1}$ , Ni(II) için  $1,0 \text{ ng L}^{-1}$ , Ag(I) için  $0,85 \text{ ng L}^{-1}$ , Co(II) için  $1,2 \text{ ng L}^{-1}$ , Cu(II) için  $1,0 \text{ ng L}^{-1}$ , Cd(II) için  $1,2 \text{ ng L}^{-1}$  ve Pb(II) için  $1,3 \text{ ng L}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem biyolojik örneklerle, su ve toprak örneklerine uygulanmıştır.

Şahin ve diğ. (2010), Ni ve Mn iyonlarının önderiştirilmesi ve tayini için bulutlanma noktası ekstraksiyonu ile birlikte alevli atomik absorpsiyon spektrometrisini kullanmışlardır. Belirlenen optimum şartlar altında  $25 \text{ mL}$ 'lik örnek çözeltisinde gözlenebilme sınırları Ni için  $2,7 \text{ ng mL}^{-1}$ , Mn için  $2,9 \text{ ng mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem su ve gıda örneklerine uygulanmıştır.

Bai ve diğ. (2010), çevresel örneklerdeki Pb'nun önderiştirilmesi için sıcaklık kontrollü iyonik sıvı-sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemini kullanmışlar, tayini için ise alevli atomik absorpsiyon spektroskopisini kullanmışlardır. Pb için gözlenebilme sınırı  $9,5 \text{ ng mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem çeşitli su örneklerine uygulanmıştır.

Sun ve Wu (2010), insan albumindeki ultra eser miktardaki Al'un tayini için bulutlanma noktası ekstraksiyonu ile birlikte grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometrisi yöntemini kullanmışlardır. Belirlenen optimum şartlarda Al(III) için gözlenebilme sınırı  $0,06 \text{ ng mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Cassella ve diğ. (2011), deterjan emülsiyonu halinde örneklerin elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresine enjeksiyonu ile jet yakıtlarındaki Fe ve Cu'ı direkt tayin etmişlerdir. Yöntem 5 farklı jet yakıtına uygulanmış ve geri kazanım değerleri % 95 ve 105 aralığında bulunmuştur.

Jamshidi ve diğ. (2011),  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonlarını katı faz ekstraksiyonu ile önderiştirerek alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin etmişlerdir. Geliştirilen seçici ve duyarlı bu yöntem elma, domates, nane örneklerine uygulanmıştır.

Moghadam ve diğ. (2011), ultra eser miktardaki kromun türlemesi ve tayini için katılaştırılmış yüzen damla mikroekstraksiyon yöntemi ile birlikte grafit fırınlı AAS yöntemini birlikte kullanmışlardır. Cr(III) için şelatlayıcı reaktif olarak 2-thenoiltrifloroaseton (TTA) içeren 1-undekanol kullanılmıştır. Toplam Cr, Cr(VI)'nın hidrosilaminle Cr(III)'e indirgenmesiyle yapılmıştır. Cr(III) için gözlenebilme sınırı  $0,006 \mu\text{g L}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem musluk suyu, kuyu suyu, mineral suyu ve idrar örneklerindeki Cr türlerinin tayinine başarıyla uygulanmıştır.

Mirzaei ve diğ. (2011), Ni(II), Co(II), Pb(II) ve Cr(III)'ün tayini ve önderiştirilmesi için katılaştırılmış yüzen organik damla esaslı dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon ile birlikte grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektroskopisi yöntemini kullanmışlardır. Belirlenen optimum şartlar altında gözlenebilme sınırları Cr için  $0,2 \text{ ng L}^{-1}$ , Co, Ni ve Pb için  $1,3 \text{ ng L}^{-1}$ , önderiştirme faktörü 800 olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem su ve atık su örneklerine uygulanmıştır.

## 4. SIVI FAZ MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ; METAL İYONLARININ AYRILMASI VE ÖNDERİŞTİRİLMESİ

### 4.1 Genel Bilgi

Son yıllarda hızlı, kesin, doğru ve hassas sonuçlar veren yöntemlerin gelişimi önemli hale gelmiştir. Farmasötik ürünler, biyolojik ve çevresel örneklerdeki analitlerin tayininde kullanılan aletlerin gelişimindeki ilerlemelere rağmen, çoğu aletsel tayin tekniği ile her matriksdeki analitlerin doğrudan tayininde problem vardır. Bu sebeple tayin öncesi ilgilenilen analitleri kompleks matrikslerden ekstrakte etmek, ayırmak ve deriştirmek için örnek hazırlama basamağı hala önemini korumakta olup, bu basamak önemli araştırma alanı olmaya devam etmektedir.

Örnek hazırlama, çok karmaşık matrikse sahip örnekler için matriks basitleştirme için de önemlidir. Bu basamak analitleri uygun konsantrasyon düzeyine getirmelidir. Eser elementlerin ve eser türlerin ayrılmasında ve deriştirilmesinde yaygın olarak birlikte çöktürme (Saraçoğlu ve diğ., 2003, Zhang ve diğ., 2004, Oymak ve diğ., 2009, Karatepe ve diğ., 2010), sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) (Lee ve diğ., 2009, El Dessouky ve diğ., 2004, Rodrigues ve diğ., 2008 ), katı faz ekstraksiyonu (SPE) (Elci ve diğ., 2008, Sayğı ve diğ., 2008, Divrikli ve diğ., 2003, Zhang ve diğ., 2007) ve bulutlanma noktası ekstraksiyonu (CPE) (Silva ve diğ., 1998, Doroschuk ve diğ., 2004, Ohashi ve diğ., 2007, Lemos ve diğ., 2008, Biparva ve Hadjmohammadi, 2007) gibi yöntemler kullanılmaktadır. Kromatografik analizlerde yaygın olarak katı faz ve sıvı-sıvı ekstraksiyonu yöntemleri kullanılmaktadır. Bazı numune hazırlama tekniklerinin karmaşık ve çok zaman alıcı olmaları, kullanılan örnek ve çözücü miktarlarının fazla olması gibi nedenlerden dolayı bazı dezavantajlara sahiptir. İdeal olarak, örnek hazırlama teknikleri hızlı, kullanımı kolay, ucuz, çevre dostu ve birçok analitik aletle uyumlu olmalıdır. Bu nedenle mevcut eğilim örnek hazırlama basamağında kullanılacak yöntemle minyatürleştirilerek, kullanılan örnek, reaktif ve organik çözücü miktarlarının azaltılması sağlanır. Bu nedenle son yıllarda mikro katı

faz ve mikro sıvı faz yöntemleri hem deriştirme hem de örnekleme yöntemi olarak geliştirilmektedir.

#### **4.2 Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (LPME)**

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) çoğu standart analitik metotta yaygın olarak kullanılan klasik örnek hazırlama tekniğidir. Ancak klasik LLE yöntemi, bağıl olarak çok toksik organik çözücü ve reaktif tüketimi, ekstraksiyon süresinin uzun olması nedeniyle, pahalı ve çevre dostu olmayan bir yöntemdir (Dadfarnia ve Shabani, 2010). LLE uygulamalarında karşılaşılan bu problemleri gidermek veya azaltmak amacıyla sıvı faz mikroekstraksiyon (Liquid Phase Microextraction: LPME) teknikleri geliştirmeye ve kullanılmaya başlanmıştır (Flanagan ve diğ., 2006). LPME ile ilgili ilk çalışmalar Liu ve Dasgupta (1996) ile Jeannot ve Cantwell (1996) tarafından yapılmıştır.

LPME organik bileşiklerin ayrılması ve tayininde yaygın olarak kullanılmasına rağmen, son zamanlarda inorganik analitlerin ekstraksiyonunda da sıklıkla kullanılmaktadır (Dadfarnia ve Shabani, 2010). LPME'nin inorganik analitlerle ilk uygulaması Chamsaz ve diğ. (2003) tarafından gerçekleştirilen, elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometrisi ile As(III) ve toplam As tayinidir. İlerleyen zamanlarda LPME'nin inorganik uygulamalarında artma olmuştur.

LPME tekniklerinin farklı uygulamaları vardır. Bu uygulamalar klasik LLE göre daha küçük örnek (2-10 mL) ve organik çözücü (3-5 µL) kullanımını amaçlar. Deriştirme faktörleri oldukça yüksektir. Bu yöntemler daha ekonomik, daha temiz ve daha az işlem basamağı gibi üstünlüklere sahiptir (Psillakis ve Kalogerakis, 2002).

#### **4.3 Sıvı Faz Mikroekstraksiyonun Sınıflandırılması**

Sıvı faz mikroekstraksiyon yönteminde ekstraksiyon, analitleri içeren sulu örnek çözeltilisinden (donör faz) su ile karışmayan çözücünün (akseptör:alıcı faz) çok küçük miktarına analitlerin geçişi ile gerçekleşir (Sarafraz-Yazdi ve Amiri, 2010).

Sıvı faz mikroekstraksiyon dört ana kategoriye ayrılır:

##### **I. tek damla mikroekstraksiyon (Single Drop Microextraction: SDME)**

-direkt tek damla mikroekstraksiyon (Direct single-drop microextraction: DI-SDME)

-tepe boşluğu tek damla mikroekstraksiyon (Headspace single-drop microextraction: HS-SDME)

-sıvı-sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (Liquid-liquid-liquid microextraction: LLLME)

-sürekli akış mikroekstraksiyon (Continuous-flow microextraction: CFME)

**II.** oyuk fiber sıvı-faz mikroekstraksiyon (Hollow Fibre Liquid-Phase Micro-extraction: HF-LPME)

**III.** katılaştırılmış yüzen organik damla mikroekstraksiyon (Solidified Floating Organic Drop Microextraction: SFODME) (Dadfarnia ve Shabani, 2010)

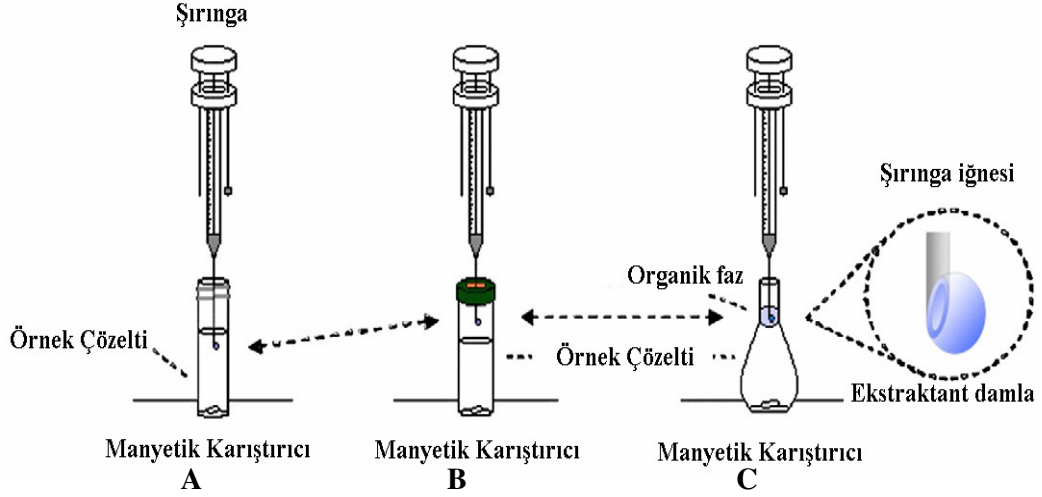
**IV.** dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction: DLLME) (Pena-Pereira ve diğ., 2009)

#### **4.3.1 Tek damla mikroekstraksiyon (SDME)**

Ekstraksiyon ortamının tek damla olduğu sıvı faz mikroekstraksiyon tekniğine tek damla mikroekstraksiyon denir (Dadfarnia ve Shabani, 2010). Büyük örnek hacminden çok küçük bir damla içine (ekstraktant faz) analitlerin geçişini esas alan hızlı, basit, düşük maliyetli ve neredeyse çözücüsüz (solvent free) örnek hazırlama tekniğidir. SDME, sadece analiz için ekstrakte edilecek yada önderiştirilecek analit veya analitlerin küçük fraksiyonudur (Pena-Pereira ve diğ., 2009).

SDME'nin analitlerin ekstrakte edilmesinde, doğrudan tek damla mikroekstraksiyon (DI- SDME), tepe boşluğu tek damla mikroekstraksiyon (HS-SDME), sıvı-sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (LLLME), sürekli akış mikroekstraksiyon (CFME) olmak üzere 4 farklı uygulaması vardır (Şekil 4.1).

**Direkt tek damla mikroekstraksiyon (SDME)** (Şekil 4.1A), sulu faz ile mikro şırınga iğnesinin ucundaki organik çözücü (birkaç mikro litre hacimdeki mikro damla) arasında analitlerin dağılması prensibine dayanmaktadır. Analitin bulunduğu sulu çözeltiden analit, mikro damla içine ekstrakte edilir. Ekstraksiyondan sonra, mikro damla, mikro şırınga ile geri alınır ve gaz kromatografisi ya da yüksek performanslı sıvı kromatografisi kolonuna enjekte edilir (Psillakis ve Kalogerakis, 2002).



Şekil 4.1: Direkt tek damla mikroekstraksiyon (A), Tepe boşluğu mikroekstraksiyon (B) ve Sıvı-sıvı-sıvı mikroekstraksiyonunun (C) şematik gösterimi. (Pena-Pereira ve diğ., 2009)

Direkt SDME'nin en büyük dezavantajı, özellikle temiz olmayan örneklerde yüksek karıştırma hızı ve sıcaklıklara bağlı olarak damlanın kararsız olmasıdır (Pena-Pereira, 2009). Özellikle 1700 rpm'den daha yüksek karıştırma hızında organik damla dayanıklı değildir (Dadfarnia ve Shabani, 2010). Ayrıca nispeten suda yüksek çözünürlük ve düşük kaynama noktasına sahip çözücüler direkt SDME için uygun değildir. Asidik parçalama sonucu elde edilen örnekler veya büyük apolar türler varlığında organik faz doygun hale gelebileceğinden bu ekstraksiyon türü sıkıntılı olabilir.

Direkt SDME, çeşitli su ve biyolojik örneklerdeki bazı metallerin tayinine başarıyla uygulanmıştır (Fan ve Zhou, 2006, Lin ve Whang, 2007, Manzoori ve diğ., 2009).

**Tepe boşluğu tek damla mikroekstraksiyon (HS-SDME)** (Şekil 4.1B), uçucu veya yarı uçucu bileşiklerin örnek çözelti üzerindeki boşlukta tutulan mikrodamlaya ekstraksiyonunu esas alan örnek hazırlama tekniğidir. İlk kez Theis ve diğ. (2001) tarafından uygulanmıştır (Pena-Pereira, 2009). Bu metotta analitlerin, belirli bir sıcaklıktaki örnek çözeltinin tepe boşluğundaki mikroşırınganın ucundan, susuz çözücünün askıdaki bir mikrolitresine ekstraksiyonu gerçekleşir. Damla ekstraksiyon süresince mikroşırınganın ucunda kalır ve sonra damla şırınganın içine çekilerek ekstrakte edilen analitin tayininde kullanılır. Bu yöntemde analitler sulu örnek çözelti, tepe boşluğu ve organik damla olmak üzere üç faz arasında dağılır (Dadfarnia ve Shabani, 2010). Gaz fazındaki büyük difüzyon katsayısına bağlı olarak tepe



boşluğundaki kütle aktarımı hızlı gerçekleşir. Örnek çözeltinin karıştırılması sulu fazdaki kütle aktarımını artırır ve tepe boşluğuna geçişin başlamasına neden olur. Böylelikle sulu faz ile buhar fazı arasında termodinamik dengeye hızlıca ulaşılır. Kütle aktarım hızı, hem sulu faz karıştırma hızı hem de ekstraksiyon fazına analitlerin difüzyonu ile sınırlıdır (Theis ve diğ., 2001). Türleyici reaktif içeren asılı damlanın gaz fazına maruz bırakılmasıyla tek bir damlada mikroekstraksiyon, önderiştirme ve türleme yapılabilir (Fiamegos ve Stalikas, 2007).

Bu metotta düşük buhar basıncına sahip çözücüler kullanılır. Bu ekstraksiyon türü metalloidlerin, organometallerin ve ametallerin tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır (Chamsaz ve diğ., 2003, Fraguero ve diğ., 2004, Gil ve diğ., 2005, Fraguero ve diğ., 2006, Gil ve diğ., 2009).

**Sıvı-sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (LLLME)** (Şekil 4.1C), 1999'da Ma ve Cantwell tarafından "eşzamanlı geri ekstraksiyonlu çözücü ekstraksiyonu" olarak tanımlanan, iyonlaşabilen analitler için uygun bir mikroekstraksiyon çeşididir. Üç fazlı tek damla mikroekstraksiyon olarak da adlandırılan bu yöntem, analitlerin karıştırılan sulu örnek çözeltiden, sudan daha düşük yoğunluklu organik tabaka veya membran içerisine ekstraksiyonunu ve eşzamanlı olarak da sulu mikrodamla içerisine geri ekstraksiyonunu esas alır (Pena Pereira ve diğ., 2009). pH ayarlanması veya sulu çözelti fazına kompleksleştirici reaktif ilavesiyle analitler organik faz içerisine ekstrakte edilebilen nötral, lipofilik formlarına dönüşürler. Son olarak sulu mikrodamların şartlarının ayarlanmasıyla analitler bu faza geri ekstrakte edilir. Son ekstrakt sulu fazda olduğundan bu mikroekstraksiyon çeşidi türü HPLC, kapiler elektroforez ve atomik spektroskopi ile gerçekleştirilecek tayinler için uygun bir yöntemdir (Dadfarnia ve Shabani, 2010).

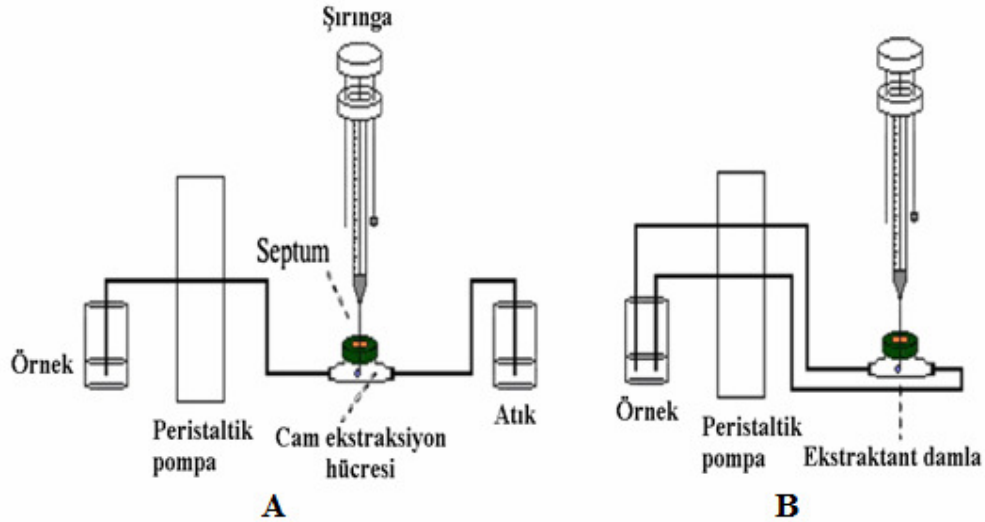
Chamsaz ve diğ. (2008), gümüşün grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometrisi ile tayini için üç fazlı tek damla mikroekstraksiyonu kullanmış ve geliştirilen yöntemi su örneklerine uygulamışlardır.

Fan ve Liu (2008), su örneklerindeki metilciva ve fenilcivanın kapiler elektroforez ile tayini için önderiştirme yöntemi olarak LLLME'yi kullanmışlardır.

**Sürekli akış mikroekstraksiyon (CFME)** (Şekil 4.2A), Liu ve Lee (2000) tarafından geliştirilen sıvı-sıvı mikroekstraksiyon çeşididir. Bu yöntemde ekstraksiyon çözücüsü damlası mikroşırınga ile cam ekstraksiyon hücresinin içerisine

enjekte edilir ve devamlı örnek çözelti akışının olduğu PEEK (polietereterketon) tübingin çıkış ucunda tutulur. Örnek çözelti, cam ekstraksiyon hücresinden atığa doğru akarken çözücü damla sürekli olarak örnekle etkileşir ve ekstraksiyon gerçekleşir.

Çözücü damlasının sürekli akmakta olan örnek çözeltisi ile tamamen ve sürekli olarak etkileşim halinde olması bakımından CFME diğer ekstraksiyon yöntemlerinden ayrılmaktadır. Mekanik kuvvetlerden kaynaklanan moleküler momentum ve difüzyon, ekstraksiyon veriminin artmasına katkıda bulunmaktadır. HPLC enjeksiyon valfi kullanılarak çözücü damla boyutunun hassas olarak kontrol edilmesiyle istenmeyen hava kabarcıkları önlenebilir. Yöntemin diğer bir avantajı da yüksek önderiştirme faktörünün elde edilebilmesidir (Sarafraz-Yazdi ve Amir, 2010). Xia ve diğ. (2005), CFME’de bazı değişiklikler yaparak, atığın olmadığı örnek çözeltiden ekstraksiyon hücresine sürekli akışın olduğu geri dönüşümlü akış sistemi (Şekil 4.2B) geliştirmişlerdir.



Şekil 4.2: Sürekli akış mikroekstraksiyon (A) ve geri dönüşümlü (devirli) akış mikroekstraksiyonunun (B) şematik gösterimi (Pena-Pereira ve diğ., 2009)

Sürekli akış mikroekstraksiyon, ICP-MS ile çevresel ve biyolojik örneklerde Cd ve Pb (Li ve diğ., 2006), ETAAS ile su örneklerinde de Pb tayininde (Cao ve diğ., 2008) önderiştirme yöntemi olarak kullanılmıştır.

Xia ve diğ. (2008), iyonik bazlı geri dönüşümlü (devirli) akış tek damla mikroekstraksiyon yöntemini ETV-ICP-MS ile birleştirerek biyolojik ve çevresel örneklerdeki eser miktardaki Co, Hg ve Pb tayini için kullanmışlardır.

#### **4.3.2 Oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon (HF-LPME)**

Pedersen-Bjergaard ve Rasmussen (1999) tarafından geliştirilen tek kullanımlık, özellikle polipropilenden yapılan oyuk fiberlerin kullanıldığı, ucuz ve basit bir sıvı faz mikroekstraksiyon tekniğidir. Bu yöntemde ekstraksiyon öncesinde organik çözücünün oyuk fiberin gözeneklerine girmesi için oyuk fiber genellikle 10-20 µL organik çözücü ile ıslatılır ve fiberin duvarında ince bir tabaka oluşturur. Oyuk fiber ilgilenilen sulu çözeltiyle doldurulmuş örnek vialinin içerisine yerleştirilir. Ekstraksiyonu hızlandırmak için örnek çalkalanır ya da karıştırılır. Analitler sulu çözeltiden oyuk fiberin gözeneklerindeki organik faza ekstrakte edilir. Oyuk fiberlerin tek kullanımlık yapısı örnek taşınmasını elimine ettiğinden yüksek tekrarlanabilirlik sağlar ve oyuk fiberlerin duvarlarındaki gözenekler yüksek molekül ağırlıklı materyallerin çıkmasına engel olarak seçicilik sağlar. HF-LPME hem iki fazlı hemde üç fazlı modunda başarıyla kullanılabilir. İki fazlı ve üç fazlı sisteminin her ikisi de mükemmel derecede, karmaşık biyolojik ve çevresel numunelerden analitin ayrılmasını sağlar. Bu yöntemle yüksek zenginleştirme faktörleri elde edilir. Tek damla mikroekstraksiyonla karşılaştırıldığında bu metotun, organik çözücünün sabit olması, ucuz olması ve otomatikleştirmeye uygun olması gibi avantajları vardır. Dezavantajları ise membranın ön şartlandırma gerektirmesi ve membranlar tekrar kullanıldığında önceki deneylerden madde kalması (hafıza etkisi) ihtimalinin olmasıdır (Dadfarnia ve Shabani, 2010).

HF-LPME yöntemi metal ve organometalik türlerin tayininde kullanılmıştır.

Li ve Hu (2007), su örneklerinde vanadyum türlerinin ETV-ICP-OES ile tayininde önderiştirme yöntemi olarak oyuk fiber LPME yöntemini kullanmışlardır.

Saleh ve diğ. (2009), üre, plazma ve su örneklerinde eser miktardaki Se(IV)'ün HPLC ile tayininde oyuk fiber LPME yöntemini kullanmışlardır.

Jiang ve diğ. (2009), kaynak suyu ve insan saçı ekstraktlarında As(III) ve As(V)'in tayini için elektrotermal AAS ile oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemini kombine etmişlerdir.

#### **4.3.3 Katılaştırılmış Yüzen Organik Damla (SFO) Mikroekstraksiyon**

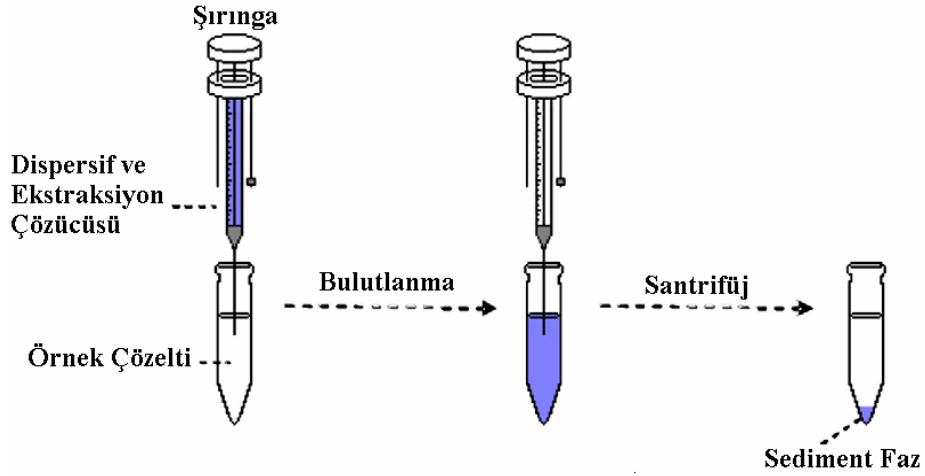
Katılaştırılmış organik damlanın yüzmesini esas alan 2007 yılında Khalili-Zanjani ve çalışma grubu tarafından geliştirilen sıvı faz mikroekstraksiyon tekniğidir. Düşük yoğunluk ve uygun erime noktasına sahip organik çözücülerin kullanılması nedeniyle

organik mikrodamlayı destekleyen milroşırınga ucu, oyuk fiber veya polikloropiren kauçuk (PCR) tüp gibi özel tutuculara gerek yoktur. Ayrıca ekstraktant damla düşük sıcaklıklarda katılaştırılarak kolaylıkla toplanabilir. Fakat ekstraksiyon zamanı uzundur. Tüm bu problemlerin üstesinden gelmek için Leong ve Huang (2008) DLLME ve sıvı faz mikroekstraksiyon (SPME)-SFO'yu esas alan yeni bir metot geliştirmişlerdir. Geliştirilen DLLME-SFO yönteminde, örnek ve ekstraktant damla arasındaki etkileşim yüzeyi büyük, DLLME kadar hızlı ve ekstraksiyon süresi SPME-SFO'dan daha kısadır. DLLME-SFO'da düşük toksisiteye sahip organik çözücüler kullanılabilir (Rezaee ve diğ., 2010).

Katılaştırılmış yüzen damla mikroekstraksiyon yöntemi elektrotermal AAS ile birlikte doğal sularda Pb tayini (Dadfarnia ve diğ., 2008) ve su örneklerinde Ni, Co tayininde (Bidabadi ve diğ., 2009), akışa enjeksiyon-alevli AAS ile birlikte su örneklerinde Cd tayininde (Dadfarnia ve diğ., 2009) kullanılmıştır.

#### **4.3.4 Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME)**

Rezaee, Assadi ve diğ. (2006) tarafından geliştirilen birkaç mililitre dispersif çözücüyle beraber ekstraksiyon çözücüsünün yaklaşık 5-100 mikrolitre hacimde kullanıldığı yeni bir sıvı-sıvı ekstraksiyon çeşididir. DLLME basamakları Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Sulu ortamdaki analit içeren örnek çözeltisi santrifüj tüpüne alınır. Ekstraksiyon ve dağıtıcı çözücülerini içeren çözelti, şırınga veya mikropipet ile örnek çözelti üzerine hızla eklenir. Karışım (su/dispersif çözücü/ekstraksiyon çözücüsü/analit) çalkalanır ve bulutumsu bir çözelti elde edilir. Bu sırada analit sulu fazdan ekstraksiyon çözücü fazına geçer. Ardından tüp santrifüjlenerek, sulu faz ve ekstraksiyon çözücüsü sediment fazı şeklinde birbirinden ayrılır. Üst kısımda kalan sulu faz dekante edilerek, tüpün dibinde toplanan sediment fazdan bilinen hacimde mikro şırıngayla alınarak analiz için ölçüm sistemine enjekte edilir. Bazı uygulamalarda da sediment faz buharlaştırılarak, belirli hacme uygun çözücü sistemi ile seyreltilerek analitler tayin edilir.



Şekil 4.3: Dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon tekniği (Pena-Pereira ve diğ., 2009)

DLLME’de ekstraksiyon verimi, ekstraksiyon ve dispersif çözücü türünden ve hacimlerinden önemli derecede etkilenir. Analitin asidik veya bazik karakterde olması halinde pH’da önemli bir değişkendir. Bunlara ilaveten sulu fazın (çoğu zaman örnek çözeltisi) iyonik şiddeti de kimi zaman etkindir.

Ekstraksiyon çözücüsünün seçimi DLLME yönteminin optimizasyonunda incelenen en önemli değişkendir. Ekstraksiyon çözücüsü olarak sudan daha yüksek yoğunluğa, yüksek ekstraksiyon kapasitesine sahip ve tayin basamağındaki yöntem için uygun olan sıvılar seçilir. Bu özelliklere sahip klorobenzen, kloroform, karbondetra klorür ve tetrakloroetilen gibi halojenli hidrokarbonlar DLLME’de ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılırlar.

Dispersif çözücü hem ekstraksiyon çözücüsü hem de sulu faz ile karışabilme özelliğinde olmalıdır. Dispersif çözücü olarak genellikle aseton, metanol ve asetonitril seçilir.

Ekstraksiyon çözücü hacmi, önderiştirme faktörü (preconcentration factor: PF) üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Ekstraksiyon çözücü hacminin artmasıyla santrifüjle elde edilen sediment fazın hacmi artar ve böylelikle deriştirme faktörü azalır. Bu nedenle optimum ekstraksiyon çözücü hacmi, santrifüjden sonraki analiz için yeterli sediment faz hacmi sağlayacak kadar büyük, fakat yüksek önderiştirme faktörü verecek kadar da küçük olmalıdır. Uygun hacimli dispersif çözücü hacmi etkin bulutumsu çözelti oluşturarak ekstraksiyon verimini doğrudan etkiler. Dispersif çözücü hacminin değişmesi sediment faz hacmini değiştirir. Bu nedenle

sabit sediment faz hacmi elde etmek için dispersif çözücü ve ekstraksiyon çözücüsünün hacimlerinin optimize edilmesi gerekir. İyi bir bulutumsu çözelti elde etmek için dispersif çözücünün hacmi, sulu faz ve ekstraksiyon çözücü hacimleri ile yakından ilgilidir.

DLLME'de sediment faz hacmini ekstraksiyon çözücüsünün sudaki çözünürlüğü kadar örnek çözeltisi, dispersif ve ekstraksiyon çözücülerinin hacimleri belirler.

DLLME'de, ekstraksiyon zamanı dispersif çözücü ve ekstraksiyon çözücüsü karışımının enjeksiyonundan santrifüjleme öncesine kadar geçen süre olarak tanımlanır. Ekstraksiyon çözücüsü ve sulu faz arasındaki yüzey alanı son derece büyüktür. Dolayısıyla analitlerin sulu fazdan ekstraksiyon fazına geçişi hızlıdır. Denge durumuna çok çabuk ulaşılır (Rezaee ve diğ., 2010).

DLLME yönteminde önderiştirme faktörü PF, sediment fazdaki analit derişiminin ( $C_{sed}$ ), örnek çözeltideki analitin başlangıç derişimine oranı olarak tanımlanır:

$$PF = \frac{C_{sed}}{C_o} \quad (4.1)$$

$C_{sed}$ , kalibrasyon grafiğinden bulunur. Ekstraksiyon geri kazanımı ER (extraction recovery), sediment faza ekstrakte edilen analit miktarının ( $n_{sed}$ ) toplam analit miktarına ( $n_o$ ) oranının 100 katı olarak tanımlanır:

$$ER = \frac{n_{sed}}{n_o} \times 100 = \frac{C_{sed} \times V_{sed}}{C_o \times V_{aq}} \times 100 \quad (4.2)$$

$$ER = \left( \frac{V_{sed}}{V_{aq}} \right) PF \times 100 \quad (4.3)$$

$V_{sed}$  ve  $V_{aq}$ , sırasıyla sediment faz ve örnek çözelti hacmidir (Rezaee ve diğ., 2010).

#### 4.3.4.1 DLLME ile metal tayini çalışmaları

Örnek hazırlama, özellikle eser analizde analitik yöntemin doğruluğu, kesinliği ve tayin sınırını etkileyen en önemli basamaktır. Aletsel tayin öncesi, analitlerin matris ortamından ayrılması, deriştirilmesi ve ölçüm sistemine uygun çözücüye alınması için örnekler ayırma ve önderiştirme işlemine tabii tutulurlar. Bunun için kolay, hızlı, ucuz ve kabul edilebilir analitik verilerin elde edildiği yöntemler kullanılır. Bu yöntemlerden minyatüre edilmiş teknikler minimum çözücü ve reaktif tüketiminden

dolayı da yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu ayırma ve önderiştirme yöntemlerinden biri olan dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi, metal iyonları, metaloid ve organometallerin tayininde diğer aletsel yöntemlerle birlikte kullanılmaktadır. Aşağıda DLLME yönteminin inorganik analizlerde kullanımıyla ilgili literatürlerden bazı örnekler verilmiştir.

Jahromi ve diğ. (2007), su örneklerinde ultra eser Cd tayininde, grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektroskopisi için örnek hazırlamada DLLME tekniğini kullanmışlardır. Ekstraksiyon çözücüsü olarak 34 µL CCl<sub>4</sub>, dispersif çözücü olarak 500 µL metanol ve şelatlayıcı reaktif olarak amonyum pirolidin ditiyokarbamat (APDC) kullanılmıştır. Ekstraksiyon sonrası 25±1 µL olan sediment fazın, 20 µL'si GFAAS'ye enjekte edilmiştir. Gözlenebilme sınırı 0,6 ng L<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur.

Naseri ve diğ. (2008), su örneklerindeki Pb'nun hızlı tayini için DLLME yöntemini elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometrisi (ETAAS) ile birlikte kullanmışlardır. DLLME yönteminde, 35 µL CCl<sub>4</sub> ve 5 µL dietilditiyo fosforik asit (şelatlayıcı) içeren 0,5 mL aseton karışımı 5 mL'lik su örneğine hızlıca enjekte edilmiştir. Santrifüjleme işleminden sonra ayrılan sediment fazdan (25±1 µL) 20 µL alınarak ETAAS'ye enjekte edilmiştir. Optimum şartlarda zenginleştirme faktörü 150 ve gözlenebilme sınırı 0,02 µg L<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur.

Mallah ve diğerleri (2008), bazı lantanitlerin (samarium, europium, gadolinium ve dysprosium) eş zamanlı önderiştirilmesi için DLLME yöntemini kullanmışlardır. Kompleksleştirici reaktif olarak 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) seçilmiştir. Analitler ICP-OES ile tayin edilmiştir. Optimum şartlar altında önderiştirme faktörleri Sm, Eu, Gd ve Dy için sırasıyla 80, 100, 103 ve 78 olarak bulunmuştur.

Jiang ve diğ. (2008), çevresel su ve pirinç örneklerindeki eser miktarda Co ve Ni iyonlarını, GFAAS ile tayinleri öncesinde şelatlayıcı reaktif olarak 1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN)'nın kullanıldığı DLLME tekniği ile deriştirmişlerdir. Çalışmada örnek çözelti pH'ı 9.2, örnek hacmi 5 mL, ekstraksiyon çözücüsü 15 µL CCl<sub>4</sub> ve dispersif çözücü olarak 1 mL aseton kullanılmıştır. 6,5 µL sediment faz GFAAS'ye enjekte edilmiştir.

Kokya ve diğ. (2009), nehir suyu örneklerindeki eser miktardaki Pd tayini için alevli AAS ile DLLME yöntemini birlikte kullanmışlardır. Kompleksleştirici reaktif olarak thioridazin hidroklorür (TRH) kullanılmıştır. Ekstraksiyon verimine etki eden

değişkenlerin optimizasyonunda faktoriyel tasarım kullanmışlardır. Belirlenen optimum şartlarda yöntemin gözlenebilme sınırı  $90 \mu\text{g L}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Mohammadi ve diğ. (2009a), eser miktardaki Cu iyonlarının alevli AAS ile tayininde, Cu iyonlarının önderiştirilmesi için ligandsız DLLME yöntemi (Ligandless-dispersive liquid-liquid microextraction: LL-DLLME) geliştirmişlerdir. 1,2 diklorobenzen ve etanol sırasıyla ekstraksiyon çözücüsü ve dispersif çözücü olarak kullanılmıştır. Gözlenebilme sınırı  $0,5 \text{ ng mL}^{-1}$  dir ve geliştirilen bu yöntem ile standart ekleme yapılarak farklı su örneklerindeki Cu tayininde kullanılmıştır.

Mohammadi ve diğ. (2009b), alevli AAS ile Ag iyonlarının tayini için önderiştirme yöntemi olarak yine LL-DLME yöntemini uygulamışlardır. Yöntemde 8 mL örnek çözeltilisine 1 mL  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  fosfat tamponu (pH:5) ve 1 mL 1% NaCl çözeltisi eklenmiştir. Dispersif çözücü olarak 0,5 mL etanol, ekstraksiyon çözücüsü olarak 15  $\mu\text{L}$   $\text{CCl}_4$  kullanılmıştır. Sediment faz ayrıldıktan sonra 0,5 mL dimetil formamid (DMF) eklenerek alevli AAS'de Ag iyonları tayin edilmiştir. Geliştirilen bu yöntem atık su, musluk suyu ve kaynak suyuna uygulanmıştır.

Liang ve diğ. (2009), su örneklerinde As(III) ve As(V) türlemesi için GFAAS ile tayinden önce önderiştirme yönteminde, pH 3'te As(III), APDC ile kompleks oluşturmuş ve  $\text{CCl}_4$  içerisine ekstrakte edilmiştir. Çalışılan bu pH aralığında As(V) ekstrakte edilememiş ve sulu fazda kalmıştır. Toplam inorganik As, As(V)'in sodyum tiyosülfat ve potasyum iyodür ile As(III)'e indirgenmesiyle tayin edilmiş ve toplam arsenik ile As(III) arasındaki farktan As(V) derişimi hesaplanmıştır. Çalışılan şartlarda As(III) için gözlenebilme sınırı  $36 \text{ ng L}^{-1}$ , zenginleştirme faktörü 45 olarak bulunmuştur. Yöntem çeşitli su örneklerine başarıyla uygulanmıştır.

Hemmatkhah ve diğ. (2009), su örneklerinde Cr türlemesi için DLLME tekniğinde ekstraksiyon ve dispersif çözücü olarak sırasıyla 60  $\mu\text{L}$   $\text{CCl}_4$  ve 2 mL etanol kullanılmıştır. Ekstraksiyon sonrası  $35 \pm 1 \mu\text{L}$  olan sediment fazın 30  $\mu\text{L}$ 'si mikro örnek girişiyle alevli AAS'ye enjekte edilmiştir. Zenginleştirme faktörü Cr(VI) için 275, toplam Cr için 265 olarak bulunmuştur. Geliştirilen bu yöntem İran'ın kuzeyinden alınan deniz suyu, nehir suyu ve musluk suyu örneklerine uygulanmıştır.

Baliza ve diğ. (2009), şelatlayıcı reaktif olarak Br-TAO kullanımıyla Co iyonlarının önderiştirilmesi için DLLME tekniği geliştirmişlerdir. Yöntemde örnek çözelti pH'ı borat tamponu ile 7.5 yapılmıştır. Ekstraksiyon çözücüsü olarak 50  $\mu\text{L}$   $\text{CCl}_4$ ,



dispersif çözücü olarak 2 mL metanol kullanılmıştır. Ekstraksiyon sonrası Co iyonları alevli AAS ile tayin edilmiştir. Gözlenebilme sınırı  $0,9 \mu\text{g L}^{-1}$  ve zenginleştirme faktörü 16 olarak bulunmuştur. Yöntem su örneklerine uygulanmıştır.

Shamsipur ve diğ. (2009), ultra eser miktardaki Pd iyonlarının tayininde GFAAS ile birlikte DLLME yöntemini kullanmışlardır. Şelatlayıcı reaktif olarak 2-amino-1-sikloheksen-1-ditiyo karboksilikasit kullanılmıştır. Ekstraksiyon çözücüsü olarak  $\text{CCl}_4$ , dispersif çözücü olarak aseton kullanılmış ve zenginleştirme faktörü 350 olarak bulunmuştur. Gözlenebilme sınırı  $0,007 \mu\text{g L}^{-1}$  olup geliştirilen metot İran Arak'ta yol kenarından alınan toprak örnekleri ve çeşitli su örneklerine uygulanmıştır.

Rivas ve diğ. (2009), sulara inorganik As ve Sb türlemesi için DLLME yöntemini kullanmışlardır. pH 1'de As(III) ve Sb(III) APDC ile kompleks oluşturmuştur. Ekstraksiyondan sonra, organik fazdaki As(III) ve Sb(III) GFAAS ile tayin edilmiştir. As(V) ve Sb(V) sulu çözeltide kalmıştır. Toplam inorganik As ve Sb, +5 formlarının sodyum tiyosülfatla indirgenmesinden sonra tayin edilmiştir. As(V) ve Sb(V) arasındaki farktan belirlenmiştir. Gözlenebilme sınırı As(III) için  $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$  ve Sb(III) için  $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ , zenginleştirme faktörü 115 olarak bulunmuştur.

Kagaya ve diğ. (2010), Au(III) tayini için ETAAS ile birlikte DLLME yönteminde yeni bir ekstraktant olarak sikloheksilamin kullanmışlardır. 8 mL örnek çözeltisinden pH 1'de Fe(III), Ni(II), Co(II), Cu(II), Pd(II), Pt(IV) iyonları varlığında Au(III)'ün seçici ekstraksiyonu için  $50 \text{ mmol L}^{-1}$  sikloheksilamin içeren  $100 \mu\text{L}$  kloroform ve 1 mL aseton karışımı kullanılmıştır. Gözlenebilme sınırı  $0,002 \mu\text{g L}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Yöntem Pt metali ve alaşımlarındaki Au(III) tayini için uygulanmıştır.

Jia ve diğ. (2010), su örneklerinde Hg türlemesi için yüksek performanslı sıvı kromatografisi-indüktif eşlemeli plazma kütle spektrometrisiyle (HPLC-ICP-MS) birleştirilmiş DLLME yöntemi geliştirmişlerdir. Metil civa ( $\text{MeHg}^+$ ) ve  $\text{Hg}^{2+}$  sodyum dietil ditiyokarbamat ile kompleks oluşturmuş ve bu kompleksler DLLME yöntemiyle  $\text{CCl}_4$  fazına ekstrakte edilmiştir. Optimum şartlarda  $\text{MeHg}^+$  ve  $\text{Hg}^{2+}$  için zenginleştirme faktörleri sırasıyla 138 ve 350 olarak bulunmuştur. Gözlenebilme sınırı  $\text{MeHg}^+$  ve  $\text{Hg}^{2+}$  için sırasıyla  $0,0076 \text{ ng L}^{-1}$  ve  $0,0014 \text{ ng L}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Yöntem üç çevresel su örneğine başarıyla uygulanmıştır.

Tabrizi (2010), çeşitli su örneklerinde Fe tayini ve türlemesi için DLLME-UV vis spektrofotometrik yöntem geliştirmiştir. Yöntem Fe(II)'nin O-phenanthroline ile

kompleks oluşturması, sonra pikrat anyonları ile iyon birleşmesinin gerçekleşerek DLLME yöntemi ile kompleksin kloroform fazına ekstraksiyonunu esas almaktadır. Santrifüjleme işleminden sonra organik faz etanol ile 700  $\mu\text{L}$ 'ye seyreltilmiş ve  $510\pm 3$  nm'de absorbansı ölçülmüştür. Fe(III)' indirgenmek için reaktif olarak  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  kullanılmıştır. Gözlenebilme sınırı  $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Yöntem su örneklerine ve parenteral çözeltilere uygulanmıştır.

Liang ve Peng (2010), Ag(I) iyonlarının tayini için GFAAS ile DLLME yöntemini birlikte kullanmışlardır. şelatlayıcı reaktif olarak dietilditiyo karbamat, ekstraksiyon ve dispersif çözücü olarak  $\text{CCl}_4$  ve metanol seçilmiştir. Gözlenebilme sınırı  $12 \text{ ng L}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem su örneklerindeki eser miktardaki Ag tayinine başarıyla uygulanmıştır.

Seresthi ve diğ. (2011), doğal sulardaki Cu, Ni, Cr ve Zn'nun eş zamanlı tayinleri için deneysel tasarımı yaparak indüktif eşlemeli plazma-optik emisyon spektrometri ile DLLME'nin optimizasyonunu çalışmışlardır. Çalışmada şelatlayıcı reaktif olarak sodyum dietil ditiyokarbamat, ekstraksiyon çözücüsü olarak  $\text{CCl}_4$ , dispersif çözücü olarak metanol kullanılmıştır. DLLME değişkenleri ve bu değişkenlerin birbirleriyle etkileşimleri ( $2^{f-1}$ ) fractional faktoriyel tasarımıyla, ekstraksiyon verimini etkileyen değişkenlerin optimum miktarları central composite tasarımıyla belirlenmiştir. Gözlenebilme sınırları  $0,23-0,55 \mu\text{g L}^{-1}$ , bağlı standart sapma değerleri 2,1-3,8 % ( $C=200 \mu\text{g L}^{-1}$ ) olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem gerçek su örneklerine uygulanmış ve %90-99 geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Wen ve diğ. (2011), su ve gıda örneklerindeki Cu ve Cd tayini için ekstraksiyon çözücüsü olarak  $\text{CCl}_4$  kullanarak DLLME yöntemini uygulamışlardır. şelatlayıcı reaktif olarak Cd için ditizon, Cu için dietilditiyo karbamat; dispersif çözücü olarak Cd için metanol, Cu için etanol kullanılmıştır. Cu tayininde maskeleyici olarak amonyum sitrat-EDTA zeltisi kullanılmıştır. DLLME sonrası elde edilen sediment faz seyreltilerek UV-vis spektrofotometrede okunmuştur. Geliştirilen yöntemin özellikle Cd tayini için hızlı, basit ve etkili olduğu belirtilmiştir.

#### **4.3.4.2 DLLME'nin sınırlamaları ve gelecek yönelimler**

Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi basit bir yöntem olması, düşük maliyeti, hızlı olması, yüksek geri kazanım, yüksek önderiştirme faktörü ve evre dostu olması gibi önemli üstünlüklere sahiptir. DLLME genellikle kabul edilebilir

analitik verilerin elde edildiği geçerli bir örnek hazırlama tekniğidir. Basitliği, uygulanmasının kolay olması ve başlangıç maliyetinin düşük olması nedeniyle birçok laboratuarda kullanılmaktadır. DLLME'nin temel teorisinin daha da geliştirilmesi gerekir. Sediment faz hacminin belirlenmesi, deney yapılmasını gerektirir. Sediment faz hacminin hesaplanması için, DLLME'de herhangi bir eşitlik yoktur. DLLME'deki dört önemli faktör (ekstraksiyon ve dispersif zclerin türü ve hacimleri) arasındaki ilişkiyi gösteren eşitliklerin geliştirilmesi bazı yönelimler gerektirir.

Sulu rneklerde DLLME ile mükemmel sonuçlar alınırken biyolojik örnekler gibi kompleks matrikslerde DLLME henüz uygulanabilir değildir. Bu da yeni yönelimler gerektirir. DLLME'nin ana dezavantajı, fazla miktarda (mL) dispersif üzücü tkettimidir. Bazı yönelimler ekstraksiyon zcsnn dağılımı için dispersif üzücü yerine ultrasonik enerji kullanmaktadır. Dispersif zcnn kullanımı DLLME'nin süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) ile kombinasyonuna yardımcı olmasına rağmen, SFE-DLLME yöntemi araştırmaları hala devam etmektedir. Yakın gelecekte farklı katı örnekler için bu yöntemin uygulaması geliştirilecektir.

DLLME henüz rutin uygulanabilen bir on-line önderiştirme tekniği değildir. Bazı yönelimler DLLME'yi otomatikleştirse de bu alandaki çalışmalar devam etmektedir.

DLLME'de ekstraksiyon zcleri sudan daha yüksek yoğunluğa sahip olmalıdır. Bu durum, ICP-OES ve ters faz HPLC gibi bazı cihazlarla ekstraksiyon zcsnn uygulanabilirliği gibi bazı problemler yaratmaktadır. Bazen DLLME'de genel organik zclerle çok düşük ekstraksiyon geri kazanımları elde edilmektedir. Bu problemlerin bazıları DLLME ile katılaştırılmış yüzen organik damla (SFO) nın kombinasyonu ile üzülebilir. Ancak bu yöntem, sudan daha hafif organik zcler gerektirir. Gelecekte DLLME kapiler elektroforez ile kombine edilerek kullanılabilir. Hatta, genel ekstraksiyon zcleri normal faz HPLC sistemine uygulanabilir ve yakın gelecekte uygulamaları yapılacaktır. Son olarak, farklı matrikslerden polar ve iyonlaşabilen bileşiklerin ekstraksiyonu için DLLME'nin uygulamaları geliştirilmeye çalışılacaktır (Rezaee ve diğ., 2010).

## 5. DENEYSEL BÖLÜM I:

### TERS FAZ-YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ İLE KOBALT, DEMİR VE NİKEL TAYİNİ

Artan nüfus ve teknolojik ilerlemelerle birlikte metal kirliliği insan sağlığını, hayvanları, bitkileri ve tüm gezegeni tehdit eden, topraklar, nehirler ve göller için hızlı bir şekilde büyüyen bir problemdir. Çevreye metalin karıştığı en yoğun yerler arasında lağım atıkları, gübreler, trafik, maden ocakları ve nükleer santrallerde kömürün yanma ürünleridir. Toksik metal iyonlarının eşzamanlı tayinleri için örnek matriksinden analitin önderiştirilmesini izleyen yüksek duyarlıklı birçok yöntem vardır. Bu yöntemler arasında, atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAS), indüktif eşleşmeli plazma-atomik emisyon spektrometrisi (ICP-AES), indüktif eşleşmeli plazma-kütle spektrometrisi (ICP-MS), X-ray floresans (XRF) ve instrumental nötron aktivasyon analizi (INAA) belirtilebilir. Ancak bağıl olarak pahalı olan bu tekniklerin örnek matriksinin neden olduğu bazı sınırlamaları vardır. Diğer taraftan metal şelatlarının yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), eser metal iyonlarının eş zamanlı tayinleri için uygun bir tekniktir.

Şelatlayıcı reaktiflerle metallerin türevlendirilmesi, kolon içi hareketli faz içinde veya kolon öncesi örnek çözeltisinde gerçekleştirilir. Metal iyonlarının kolon öncesi türevlendirilmesinde, metal şelatları, kolona enjeksiyon öncesinde örnek çözelti içerisinde gerçekleştirilir. Kolon içi türevlendirme ise şelatlayıcı reaktif hareketli faza eklenir ve metal şelatları kromatografik elüsyon esnasında oluşur. Örnek çözeltisi doğrudan kolon içerisine verildiğinden kolon içi türevlendirme hızlı ve basittir ve kolon öncesi türevlendirmeye göre daha iyi sonuçlar elde edilir.

Bu çalışmada çeşitli su örneklerindeki Co(II), Fe(II) ve Ni(II) iyonlarının duyarlı ve seçici tayinleri için RP-HPLC/DAD yöntemi geliştirilmesi amaçlandı. Yöntem, örnek çözeltisinin direkt olarak kolona enjeksiyonu sonrası analitlerin kolon içinde 4-(2-piridilazo) resorsinol (PAR) ile kompleks oluşturmasına dayanmaktadır.

## 5.1 Ölçüm Sistemleri

### 5.1.1 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

Bu çalışmada Ni, Fe ve Co tayini Shimadzu LC-20AD pompa, SPD-M20A model foto diyot array dedektörü (DAD), SIL-20A model otomatik örnekleyici, CTO-20A model kolon fırını, DGU-20A5 model degazör içeren HPLC sistemi (Shimadzu, Kyoto, Japan) ile gerçekleştirildi. Analitik kolon olarak 4,6 mm iç çap x 250 mm uzunluk x 5-µm partikül boyutuna sahip Inertsil ODS-3 kolonu (GL Sciences, Japan) kullanıldı.

HPLC/DAD dedektörü ile spektrum taraması sonucu, dalga boyları Co(II) için 525 nm, Fe(II) için 484 nm ve Ni(II) için 517 nm olarak belirlendi. Kromatogramların anlaşılır olması için çalışmada tek bir dalga boyunda, 525 nm'de alınan kromatogramlar gösterildi.

### 5.1.2 Diğer aletler

Çözeltilerin pH ölçümü için WTW 720 marka pH metre kullanılmıştır. Tartımlar PRECISA XB 220A marka  $\pm 0.0001$  g duyarlıktaki analitik terazi ile yapılmıştır. Hareketli fazdaki çözülmüş oksijenin uzaklaştırılması için Bandelin Sonarex marka ultrasonik banyo kullanılmıştır. Analizi yapılacak çözeltinin HPLC'ye enjeksiyonundan önce yapılan santrifüj işlemleri için Hettich EBA 20 marka santrifüj cihazı kullanılmıştır.

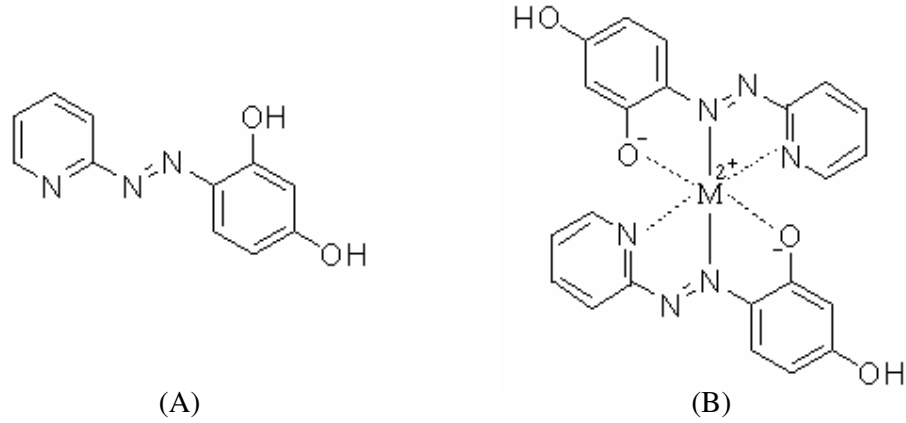
## 5.2 Materyaller

### 5.2.1 Kullanılan reaktifler ve çözeltilerin hazırlanması

Bu çalışma boyunca çözeltilerin hazırlanması ve seyreltilmesi aşamalarında ters ozmosla elde edilen, direnci en az 18 M $\Omega$  olan ultra saf su kullanılmıştır.

Tüm plastik ve cam kaplar seyreltik (1+9) HNO<sub>3</sub> ile temizlendi ve kullanılmadan önce UP su ile çalkalandı.

4-(2-piridilazo) rezorsinol (PAR) Fluka, İsviçre'den satın alındı. Çalışmada gerekli miktarın etanolde çözülmesiyle hazırlandı.



Şekil 5.1: PAR (A) ve metal-PAR şelatlarının (B) kimyasal yapıları

Azo bileşiklerinin çoğu metal iyonlarıyla büyük molar absorptiviteye sahip şelat oluşturdukları bilinmektedir. Bu bileşikler arasında PAR, bazı metal iyonlarının ayrımı ve tayininde RP-HPLC’de yaygın olarak kullanılan ligandlardan birisidir. Şekil 5.1’den de anlaşılacağı gibi PAR metal iyonları ile şelat oluşumunda üç dişli ligand olarak davranır. 500 nm üzerinde PAR, geçiş metalleri ile metal ligand oranı 1:2 olan suda çözünür anyonik şelatlar oluşturur (Tablo 5.1).

Tablo 5.1: Metal-PAR şelatlarının stokiyometrilere ve  $\epsilon$  değerleri

Metal	Mol oranları	$\epsilon$
Co	1:2	$4.2 \times 10^4$
Fe	1:2	$4.2 \times 10^4$
Ni	1:2	$2.2 \times 10^4$

Fe(II) stok çözeltisi derişimi  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  olacak şekilde Merck’ten satın alınan  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ’dan gerekli miktarın tartılıp hidroklorik asit çözeltisi yaklaşık  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl içinde çözülmesiyle hazırlandı. Co(II) standart stok çözeltisi (CGCO1-1, Custom Grade Standart) ve Ni(II) (CGNI1-1, Custom Grade Standart, Christiansburg, ABD) (her biri  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişimde) İnorganik Ventures satın alındı. Kullanılan etanol kromatografik saflıkta (Merck, Almanya), metanol (Sigma Aldrich, Almanya) ACS saflıktadır. Tetrahidrofuran (THF) Riedel de Haën’den satın alınmış olup kromatografik saflıktadır.

Hareketli faz olarak  $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  4-(2-piridilazo) resorsinol (PAR) and asetat tamponu (pH 5.0) içeren metanol-THF-su (50:5:45, v/v) kullanıldı. Hazırlanan hareketli faz çözeltisi  $0,45 \mu\text{m}$  selüloz nitrat membran filtreden süzülüp Bandelin

Sonarex (Berlin, Germany) marka ultrasonik banyoda degazing (gaz giderme) işlemi yapıldıktan sonra kullanıldı. Hareketli faz akış hızı 0,3 mL dak<sup>-1</sup>'dir.

### **5.2.2 Örnek toplama ve örneklerin hazırlanması**

Bu tez kapsamındaki optimizasyon çalışmaları laboratuarda hazırlanan model çözeltilerle yapıldı. Sonra elde edilen bulguların ışığında çeşitli gerçek örneklerin kobalt, demir ve nikel içerikleri tayin edildi.

Musluk suyu örnekleri, Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Analitik Kimya araştırma laboratuvarı musluğundan yaklaşık 5 dakika musluk açık bırakıldıktan sonra alındı ve herhangi bir ön işlemten geçirilmeden analiz edildi.

Atık su örneği, Denizli Belediyesi Atık Su Arıtma Tesisi'nden alındı. Karahayıt sıcak kaynak suyu, kırmızı su olarak bilinen Karahayıt-Denizli'deki kaynağından ve Pamukkale suyu ise Pamukkale travertenlerinden alındı.

Su örneklerinin tümü 1 saat içinde laboratuara getirildi ve vakum altında 0,45 µm selüloz nitrat membrandan süzüldü. Süzülen örnekler bekletilmeden analiz edildi.

Sertifikalı referans madde BCR-715 (endüstriyel atık su) European Commission, Joint Research Centre, IRMM, Belçika'dan satın alındı. Analizden önce ultra saf su ile 1/5 oranında seyreltildi.

### **5.2.3 Kromatografik metal tayini**

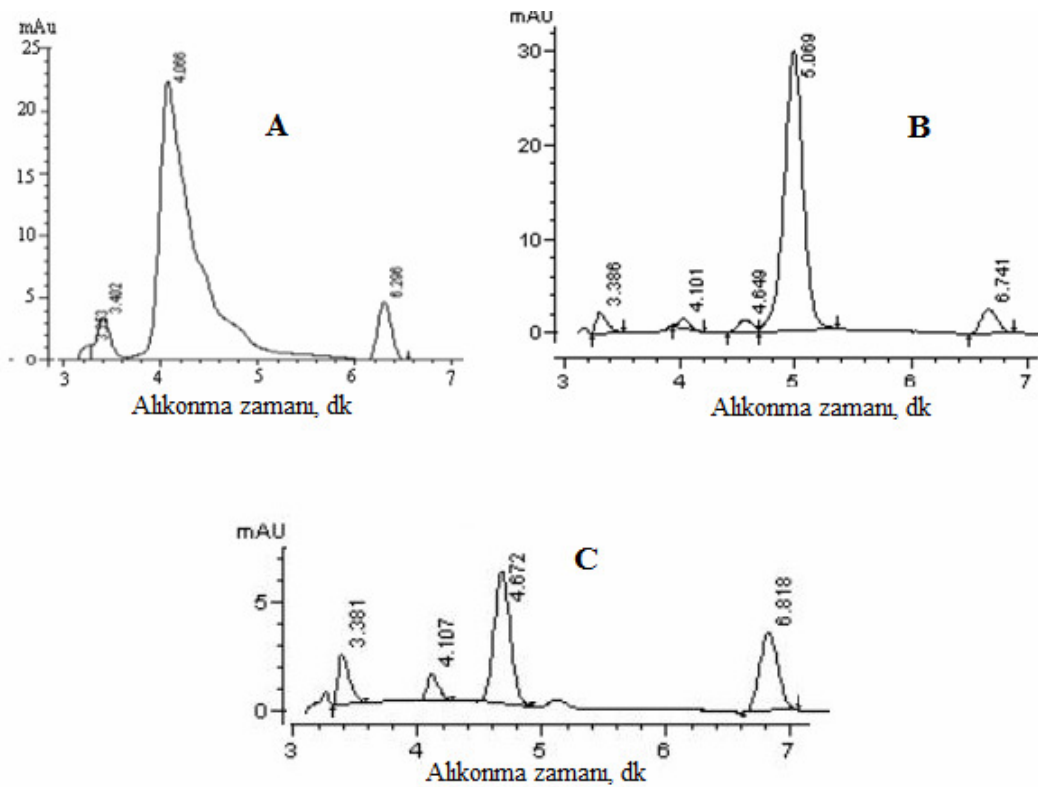
Co, Fe ve Ni iyonlarının HPLC ile tayinlerinde optimum şartların belirlenmesi için 2.5-5 µg aralığında analit içeren, pH'ı asetat tamponu ile 5'e ayarlanan 5 mL'lik model çözeltilerle çalışıldı. Model çözeltilerden alınan 10 µL çözelti otomatik örnekleyici ile HPLC'ye enjekte edildi. Elüe edilen metal iyonları pik alanları ile oluşturulan kalibrasyon grafikleri ile belirlendi.

### **5.2.4 Gerçek örneklerde Co(II), Fe(II) ve Ni(II) tayini**

Su örneklerinde Fe, Ni ve Co tayinleri standart ekleme yöntemi uygulanarak yöntemin doğruluğu test edilmiştir. Bunun için 0,45 µm'lik selüloz nitrat membrandan süzülen örneklerden 5 mL alınarak pH:5 e 400 µL Ac/NH<sub>4</sub>Ac ile tamponu ilavesiyle tamponlandı. Bu çözeltileriye 0.5-1.0 µg aralığında analitler (Co, Fe, Ni) eklendi. Her bir çözeltilerden 10 µL alınarak HPLC'ye enjekte edildi.

### 5.3 Kromatografik Yöntemin Optimizasyonu

Kromatografik metal tayini için öncelikle PAR ile kompleks oluşturan metal iyonlarının ve alıkonma zamanlarının belirlenmesine çalışıldı. Öncelikle 0,9 mL dk<sup>-1</sup> akış hızında ve % 60 Metanol: % 5 THF: %35 Su (v/v) içeren hareketli fazda Cu(II)-PAR, Ni(II)-PAR, Co(II)-PAR, Fe(III)-PAR komplekslerinin Inertsil ODS-3 kolonda alıkonma zamanları belirlendi. Bunun için farklı derişimlerde analit veya analitler içeren çözeltiler HPLC'ye enjekte edildi ve artan derişimle birlikte pik alanlarının artmasından faydalanılarak piklerin hangi analite ait olduğu belirlendi.



Şekil 5.2: 1 mg L<sup>-1</sup> Cu(II) (A), 1 mg L<sup>-1</sup> Ni(II) (B) ve 0,5 mg L<sup>-1</sup> Fe(III) (C) içeren çözeltilere ait kromatogramlar

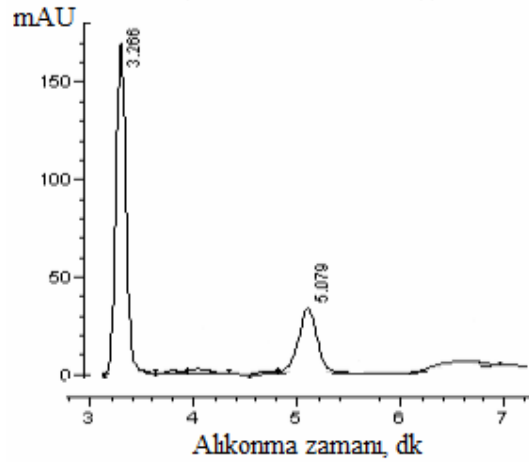
Şekil 5.2.A'da alıkonma zamanı 4.066 dakika olan pik Cu(II)-PAR piki, Şekil 5.2.B'de alıkonma zamanı 5.080 dakika olan pik Ni(II)-PAR kompleksine ait olan piktir. Fe(III)-PAR kompleksinin alıkonma zamanı ise 4,672 dakikadır (Şekil 5.3.C) Artan derişimle pik alanı arttığından çözeltideki analitlerin (Cu, Ni ve Fe'in) alıkonma zamanları belirlendi.



Metal-PAR şelatlarının eş zamanlı tayinleri için aynı derişimlerde metal iyonları içeren çözeltiler HPLC'ye enjekte edildi. Hareketli faz bileşimi %60 MeOH: %5 THF: %35 Su ve hareketli fazın akış hızı 0,9 mL dk<sup>-1</sup> dir.

#### **Cu(II)-PAR ve Co(II)-PAR**

Cu(II) ve Co(II) derişimleri 0,1-2 mg L<sup>-1</sup> aralığında değişen çözeltiler hazırlanarak tampon çözelti ve şelatlayıcı reaktif ilavesinden sonra bu çözeltilerden alınan 10 µL örnek HPLC'ye enjekte edildi. Şekil 5.3'te 2 mg L<sup>-1</sup> Co(II) ve 2 mg L<sup>-1</sup> Cu(II) içeren çözeltilere ait kromatogram görölmektedir. Kromatogramda alıkonma zamanı 3.266 dakika olan pikin Co(II)-PAR kompleksine ait olduğu belirlenmiştir. Tek başına alıkonma zamanı 4.066 dak olan Cu(II)-PAR kompleksinin, Co(II) iyonu varlığında 5.075-5.084 dakikada alıkonduğu göröldü.

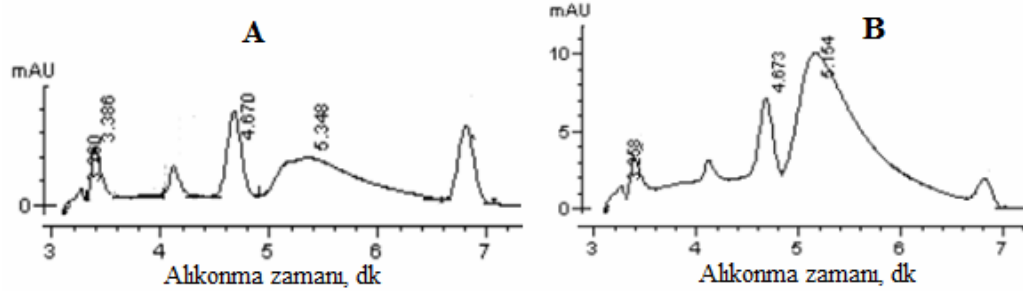


Şekil 5.3: 2 mg L<sup>-1</sup> Co(II) ve 2 mg L<sup>-1</sup> Cu(II) içeren çözeltilere ait kromatogram

#### **Cu(II)-PAR ve Fe(III)-PAR**

Fe(III) ve Cu(II) derişimleri 0,5; 1 ve 2 mg L<sup>-1</sup> olacak şekilde çözeltiler hazırlandıktan sonra HPLC'ye enjekte edildi.

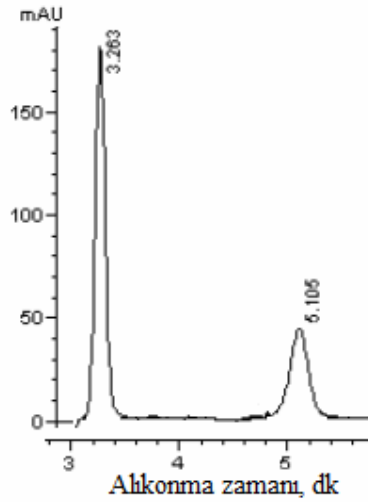
Fe(III)-PAR kompleksine ait pikin alıkonma zamanı 4.670-4.676 dakika iken Cu(II)-PAR kompleksine ait pikin alıkonma zamanı 5.154-5.348 dakikadır (Şekil 5.4). Fe(III) iyonu varlığında Cu(II)-PAR kompleksine ait pikin yayvanlaştığı ve zeminin yükseldiği göröldü.



Şekil 5.4:  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  Fe(III) ve  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  Cu(II) (A) ve  $2 \text{ mg L}^{-1}$  Fe(III) ve  $2 \text{ mg L}^{-1}$  Cu(II) (B) içeren çözeltilere ait kromatogramlar

### Co(II)-PAR ve Ni(II)-PAR

Aynı şekilde pH:5'te aynı derişimlerde Co(II) ve Ni(II) içeren çözeltiler hazırlandı ve santrifüjlendikten sonra HPLC'ye enjekte edildi. Ni(II) varlığında Co(II)-PAR kompleksine ait pikin alıkonma zamanında önemli değişiklik olmamaktadır (3,28-3,26 dakika). Tek başına alıkonma zamanı 5.070 olan Ni-PAR kompleksine ait pik, Co(II) iyonu varlığında 5.105-5.116 dakikalarda alıkonmaktadır (Şekil 5.5).



Şekil 5.5:  $2 \text{ mg L}^{-1}$  Co(II) ve  $2 \text{ mg L}^{-1}$  Ni(II) içeren çözeltilere ait kromatogram

### Ni(II)-PAR, Co(II)-PAR, Cu(II)-PAR ve Fe(III)-PAR (Ni(II) derişimi değişken)

pH:5'te Ni, Co, Cu ve Fe(III) iyonlarının PAR ile şelat oluşturmaları ve çalışılan şartlarda kromatogramda alıkonma zamanlarının farklı olmasından yararlanılarak bu dört metal iyonunu da içeren çözeltiler hazırlandı. Karışım şeklinde analitlerin

alikonma zamanları değişeceğinden Co, Cu ve Fe(III) iyonlarının derişimleri sabit tutulup Ni iyonlarının derişimleri değiştirildi. Çözeltideki Cu(II) derişimi: 1 mg L<sup>-1</sup>, Co(II) derişimi 0,5 mg L<sup>-1</sup> ve Fe(III) derişimi 2 mg L<sup>-1</sup>'dir. Hareketli fazın akış hızı 0,9 mL dak<sup>-1</sup>'dir.

Ni-PAR kompleksinin karışımdaki alikonma zamanı belirlenmesinde ilk gelen şiddetli pikin Co(II)-PAR kompleksine ait olduğu biliniyordu. İki metal iyonu içeren çözeltilerin analizinden de en son gelen yayvan pikin Cu(II)-PAR kompleksine ait olduğu düşünöldü. Alikonma zamanları yaklaşık 4.7 ve 5.1 dakika olan piklerden hangisinin Ni-PAR kompleksine ait olduğunu anlamak için derişimle pik alanlarının değişimi incelendi.

Tablo 5.2: Nikel derişimiyle pik alanlarındaki değişim

Derişim, mg L <sup>-1</sup>	Pik Alanları	
	RT: 4.692-4.704	RT: 5.134-5.147
0,1	153077	27600
0,2	162063	60690
0,5	157203	145304
0,8	163071	230672

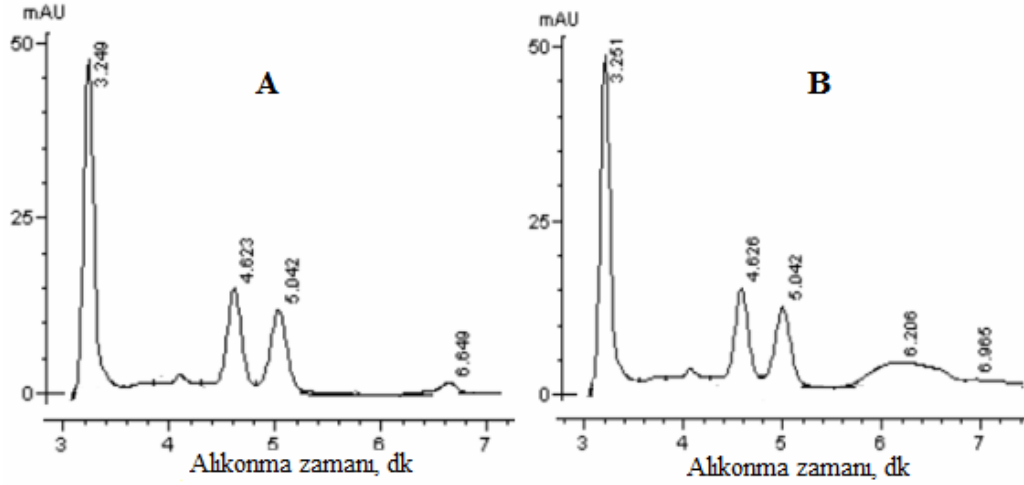
RT: Alikonma zamanı, dakika (retention time)

Tablo 5.2'den anlaşılacağı gibi alikonma zamanı 5.134-5.147 dakika olan pikin alanının, artan Ni derişimi ile orantılı olarak arttığı göröldü. Bu durumda kromatogramda alikonma zamanı 5.134-5.147 dakika olan pikin Ni(II)-PAR kompleksine ait olduğu belirlendi.

#### **Cu(II)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR ve Fe(III)-PAR (Cu derişimi değişken)**

PAR kompleksleri halinde bulunan metal karışımlarının ayrılmasında Ni(II)-PAR pikinin yeri belirlendikten sonra, karışımdaki Cu(II)-PAR kompleksinin yerini belirleyebilmek için Co(II), Ni(II) ve Fe(III) derişimleri sabit tutuldu ve Cu(II) iyonunun derişimi değiştirildi. Çözeltideki Ni(II) ve Co(II) derişimi: 0,5 mg L<sup>-1</sup> ve Fe(III) derişimi 2 mg L<sup>-1</sup>'dir. Hareketli faz akış hızı 0,9 mL dk<sup>-1</sup> dir.

Elde edilen kromatogramlar incelendiğinde metal-PAR şelatlarını içeren çözeltilerde, düşük derişimlerde Cu(II)-PAR kompleksine ait pik gözlenmedi (şekil 5.6.A). Artan derişimle 6.2-6.3. dakikalarda gelen yayvan pik Cu(II)-PAR kompleksine aittir (şekil 5.6.B).

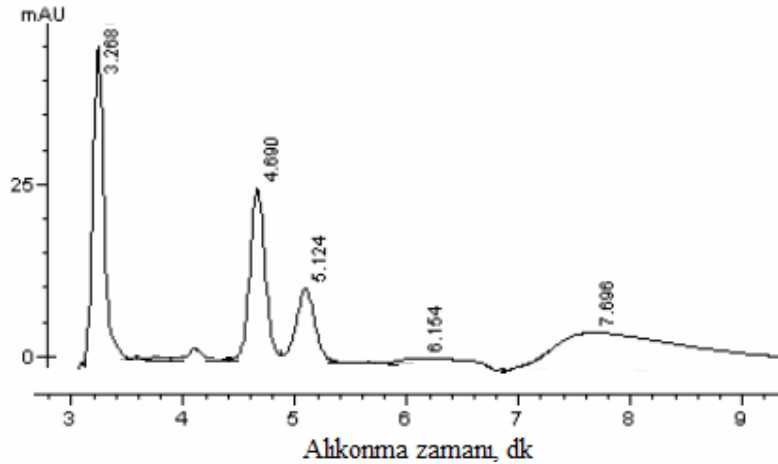


Şekil 5.6: Cu(II) derişimi  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$  (A) ve  $1,2 \text{ mg L}^{-1}$  (B) olan, metal karışımlarını içeren çözeltilere ait kromatogramlar

Dört metal iyonunu içeren karışımda Cu(II)'nin ayrımının iyi olmadığı görüldü.

#### **Fe(II)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR, Cu(II)-PAR ve Fe(III)-PAR (Fe(II) derişimi değişken)**

Çalışmada dört metal iyonu içeren çözeltiliye farklı derişimlerde Fe(II) iyonu da eklenerek Fe(III) ile birlikte Fe(II) iyonlarının da tayin edilemeyeceği araştırıldı. Çalışmada Co(II) derişimi:  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , Cu(II) derişimi:  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , Ni(II) derişimi:  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , Fe(III) derişimi:  $1 \text{ mg L}^{-1}$  olarak sabit tutuldu ve Fe(II) iyonu derişimi değiştirildi. Hareketli fazın akış hızı  $0,9 \text{ mL dk}^{-1}$  dir.

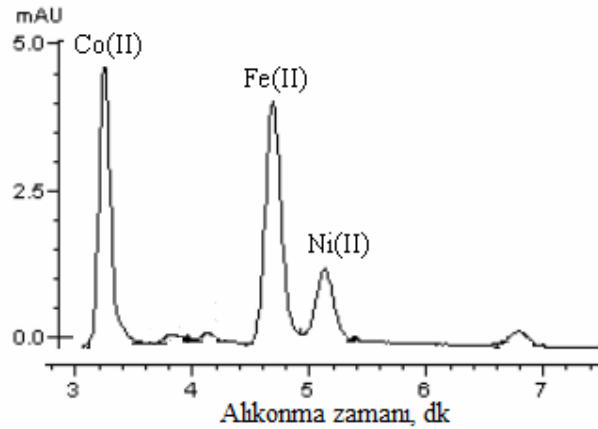


Şekil 5.7: Fe(II) derişimi  $1 \text{ mg L}^{-1}$  olan, beş metal iyonu içeren çözeltiliye ait kromatogram

Şekil 5.7'deki kromatogram incelendiğinde, önce çalışılan 4 metal iyonunun alıkonma zamanlarından farklı yerde, Fe(II) iyonuna ait herhangi bir pik gözlenmedi. Bu nedenle farklı derişimlerde sadece Fe(II) iyonu içeren çözeltiler hazırlandı. Elde edilen kromatogramlar incelendiğinde Fe(II) için alıkonma zamanının Fe(III) ile aynı olduğu (4.665 dakika) bulundu. Sonraki çalışmada ortama Fe(III) eklenmedi ve diğer metal iyonları derişimleri sabit tutulurken Fe(II) iyonu derişimi değıştirildi.

#### **Fe(II)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR ve Cu(II)-PAR (Fe(II) derişimi değışken)**

Karışım halinde Fe(II) iyonlarının alıkonma zamanlarının belirlenmesi için Co(II) ve Ni(II) derişimi  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  ve Cu(II) derişimi  $2 \text{ mg L}^{-1}$  olarak sabit tutuldu ve Fe(II) derişimi değıştirildi.



Şekil 5.8: Fe(II) derişimi:  $2 \text{ mg L}^{-1}$  olan, metal karışımını içeren çözeltiye ait kromatogram

Çalışılan şartlarda aynı derişimlerde, Fe(II)'ye ait pik alanının Fe(III)'e ait pik alanından daha büyük olması nedeniyle ve Fe(III)'de görülen zemin yükselmesinin Fe(II)'de olmamasından dolayı, çalışmanın devamında Fe(II) iyonları ile çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan, karışım halinde Fe(II) iyonlarının alıkonma zamanı 4.670 dakika olarak bulundu (Şekil 5.8).

#### **5.3.1 Hareketli faz pH'nın etkisi**

Metal-ligand arasında kompleks oluşumu çözelti pH'ına bağlı olduğundan, hareketli faz pH'ı en önemli değışkenlerden birisidir.

Ters faz kromatografinin birçok uygulamalarında, değışik oranlarda metanol, asetonitril veya tetrahidrofuran gibi organik çözücüler içeren sulu çözeltiler gibi oldukça polar hareketli fazlarla elüsyon yapılır. Bu durumda kolon dolgusunun

bozulması ve parçalanmasına sebep olan siloksanın hidrolizinden dolayı, pH değerinin yaklaşık 7,5'den daha büyük değerlere çıkmamasına dikkat edilmelidir. Kullanılan C<sub>18</sub> kolunu ile pH 2-7 aralığında çalışılabildiğinden sadece asidik bölgede pH taraması yapıldı. Çalışmada Co(II) ve Ni(II) derişimleri: 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Fe(II) derişimi: 1 mg L<sup>-1</sup>'dir. Hareketli faz Metanol: THF: Su (60:5:35, v/v) ve akış hızı 0,9 mL dk<sup>-1</sup>'dir.

Tablo 5.3: pH'ın ayırma kapasitesi üzerine etkisi

pH	Ayırma kapasiteleri (resolüsyon)		
	Co	Fe	Ni
3.0	-	5,383	1,601
4.0	-	5,773	1,529
4.5	-	7,255	1,766
5.0	-	6,407	1,534
6.0	-	6,529	1,409

Tablo 5.3'te verilen ayırıcılık değerleri, her bir pikin sol tarafında bulunan pik ile arasındaki ayırıcılığı belirtmektedir. Kromatogramda ilk gözlenen pik Co-PAR kompleksine ait olduğundan bu bileşik için ayırıcılık değeri hesaplanmamıştır. Ayırıcılıklar pH ile çok fazla değişmemiştir (Tablo 5.3).

Tablo 5.4: Analitlerin pik alanları üzerine hareketli faz pH'ının etkisi

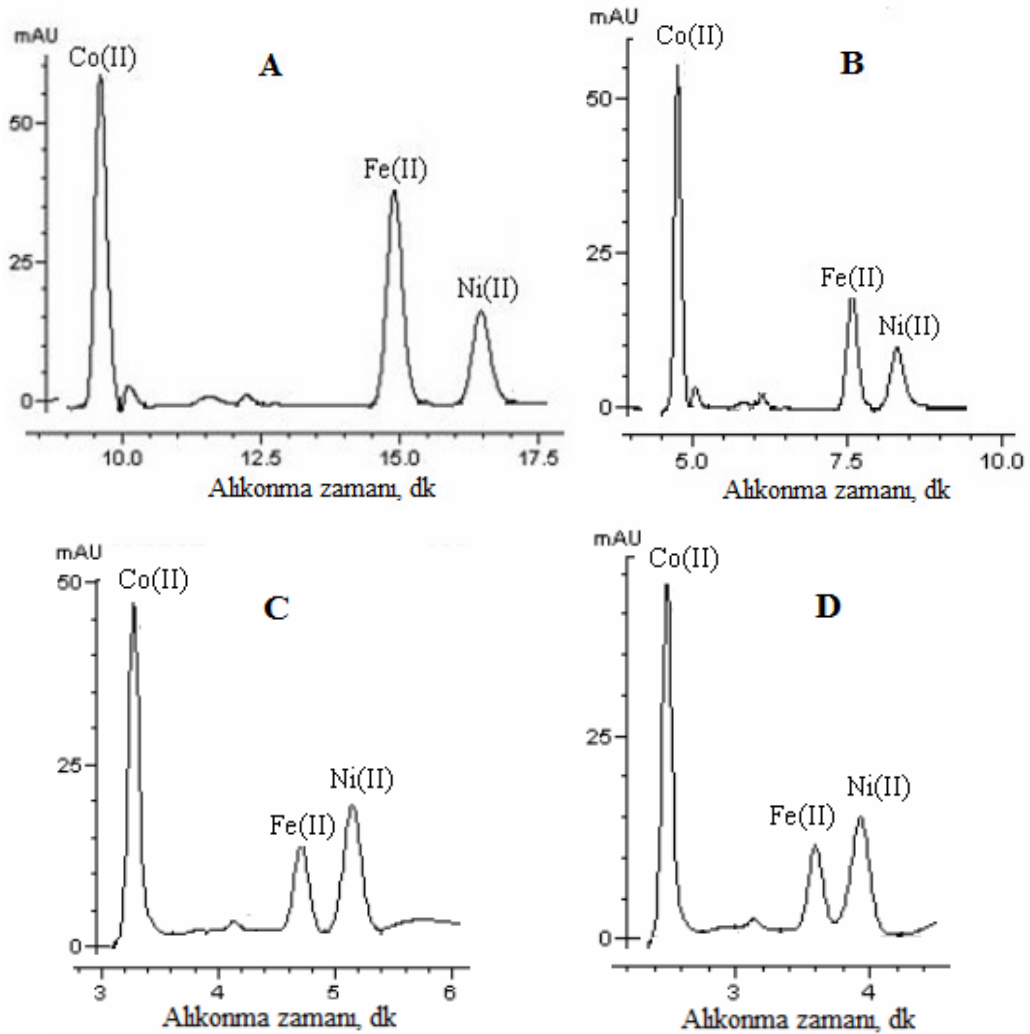
pH	Pik alanları		
	Co	Fe	Ni
3.0	226106	215840	92073
4.0	282076	204623	102631
4.5	304191	199600	125782
5.0	313175	189847	145304
6.0	277077	214093	30006
Alıkonma zamanı, dakika	3.212-3.412	4.522-4.848	4.959-5.364

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde değişen pH'la analitlerin alıkonma zamanlarında önemli bir değişiklik olmamaktadır. Fakat hareketli faz pH'ının artmasıyla pH 5'e kadar Co ve Ni iyonlarının PAR komplekslerinin pik alanları önce artmış ve sonra azalmıştır (Tablo 5.4). Fe-PAR şelatının pik alanında ise önemli bir değişiklik olmamıştır. PAR şelatlarının çalışılan pH aralığında pik alan ve yüksekliklerinin artması PAR'ın pKa değerleri ile açıklanabilir (pK<sub>a1</sub>(NH<sup>+</sup>)=3.09, pK<sub>a2</sub>(p-OH)=5.46 ve K<sub>a3</sub>(o-OH)=12.3) (Ghasemi ve diğ. 2003). PAR genellikle pK<sub>a2</sub> değerine yakın pH'ta mono anyonik formdadır. Monoanyonik PAR, pH 3-6 arasında metal iyonları

ile dayanıklı şelatlar oluşturmaktadır (Marczenko and Balcerzak 2000). pH 6'dan sonra, PAR'ın mono anyonik formunun azalmasıyla metal-PAR şelatlarının miktarı azalmaktadır. Sonuç olarak hareketli faz için en uygun pH 5.0 olarak belirlendi.

### 5.3.2 Hareketli faz akış hızının etkisi

Kromatografik çalışmalarda optimize edilmesi gereken diğer bir değişken, hareketli fazın akış hızıdır. Çözeltinin akış hızının optimum hale getirilmesi, kromatografide kolonun ayırma gücünü arttıran faktörlerden birisidir. Bunun için hareketli fazın akış hızı 0,3; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 1; 1,1 ve 1,2 mL dak<sup>-1</sup> olarak değiştirilmiştir. Aşağıda bu akış hızlarından bazılarında elde edilen kromatogramlar verilmiştir.



Şekil 5.9: Akış hızı 0,3 (A), 0,6 (B), 0,9 (C) ve 1,2 mL dk<sup>-1</sup> (D) olduğunda elde edilen kromatogram (Hareketli faz % 60 MeOH: % 5 THF: % 35 Su)

Şekil 5.9'dan da anlaşılacağı üzere hareketli faz akış hızı 0,3 mL dak<sup>-1</sup> olduğunda analiz yaklaşık 17,5 dakika sürerken, akış hızı 1,2 mL dak<sup>-1</sup> ya artırıldığında analiz yaklaşık 4,5 dakika sürdü. Hareketli fazın akış hızının artmasıyla analiz süresinin kısaldığı görüldü.

Tablo 5.5: Hareketli faz akış hızının analitlerin pik alanları, alıkonma zamanları, ayırma kapasitesi ve teorik tabaka yüksekliği (HEPT) üzerine etkisi

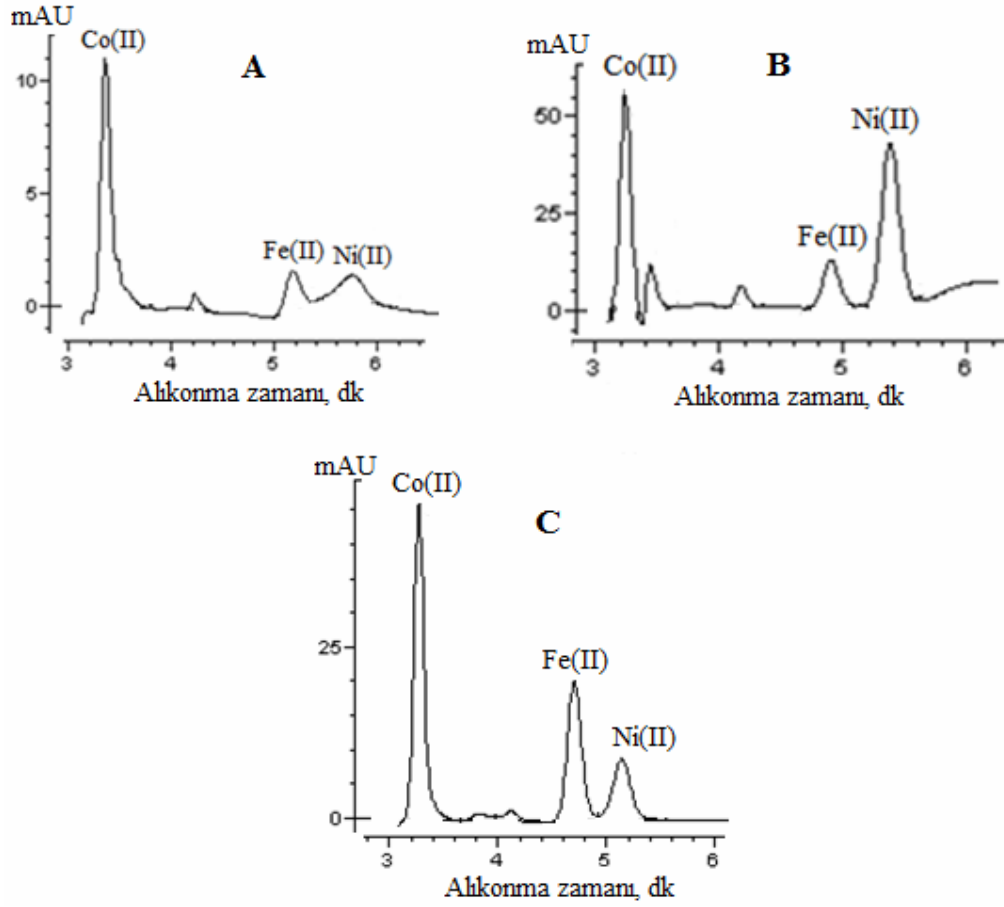
Analit	Artan akış hızı (0.3→0.6→0.9 →1.2 mL dk <sup>-1</sup> )			
	Rt	Pik alanı	HEPT	Ayırıcılık
Co	9.591	895384	28.137	-
	4.800	444088	34.704	-
	3.272	344061	55.425	-
	2.475	245860	67.859	-
Fe	14.890	763015	19.942	11.286
	7.622	232253	31.461	9.933
	4.704	103205	56.049	6.010
	3.909	156366	82.495	1.273
Ni	16.447	372737	20.962	2.745
	8.349	181150	40.361	1.896
	5.143	156366	60.718	1.462
	4.679	99884	1487.667	0.891

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde yüksek akış hızlarında teorik tabaka yüksekliği artmaktadır. HPLC'de teorik tabaka yüksekliği ne kadar düşüğe verim o kadar iyi olmaktadır. Düşük akış hızında pik alanı değerlerinin arttığı görüldü, fakat analiz süresinin de kısa olması istenildiğinden akış hızı 0,6 mL dk<sup>-1</sup> olarak belirlendi. Daha sonraki çalışmalarda akış hızı 0,6 mL dk<sup>-1</sup>'dir.

### 5.3.3 Hareketli fazdaki PAR derişiminin etkisi

Çalışmada ligand olarak kullanılan 4-(2-piridilazo) rezorsinol kolay çözünme ve çok düşük konsantrasyonlarda metallerin tayinini mümkün kıldığından eser haldeki bir çok metalin belirlenmesinde ve analiz edilmesinde kullanılmaktadır. Ön çalışmalarda hareketli fazdaki PAR derişimi 5.10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>'dir. Hareketli fazdaki ligand derişiminin, analitlerin pik alanlarına etkisi incelenirken PAR derişimi 10 kat artırılmış (5.10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>) ve azaltılmıştır (5.10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup>) . Hareketli faz % 60 MeOH: % 5 THF: % 35 Su, Akış hızı: 0,6 mL dk<sup>-1</sup>'dir.





Şekil 5.10: Hareketli fazdaki PAR derişimi  $5 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> (A),  $5 \cdot 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> (B) ve  $5 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> (C) olduğunda elde edilen kromatogram

Şekil 5.10.A ve B’de Co ve Fe derişimleri  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , Ni derişimi ise  $1 \text{ mg L}^{-1}$ ’dir. Şekil 5.10.C’deki kromatogramda ise Co ve Ni derişimleri  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , Fe derişimi  $1 \text{ mg L}^{-1}$ ’dir.

Hareketli fazdaki PAR derişimi  $5 \cdot 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> olduğunda Co pikinin, bitişğinde gelen PAR’a ait küçük pikle birleşerek kuyruklandığı (Şekil 5.10.A) görüldü. Co, Fe ve Ni piklerinin her üçünün de pik alanlarında azalma oldu. PAR derişimi  $5 \cdot 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> Co’daki PAR kuyruklanması azaldı (Şekil 5.10.B).  $5 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> PAR ile daha iyi bir kromatogram elde edildi (Şekil 5.10.C).

PAR derişimi ile pik alanlarındaki değişim Tablo 5.6’da gösterilmiştir.

Tablo 5.6: Hareketli faz PAR derişiminin analitlerin pik alanına etkisi

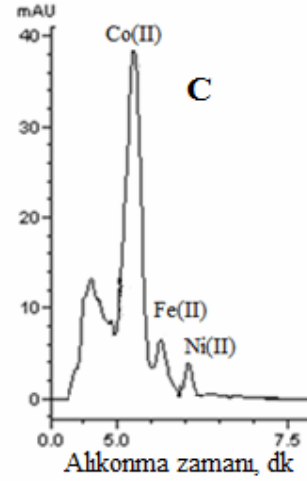
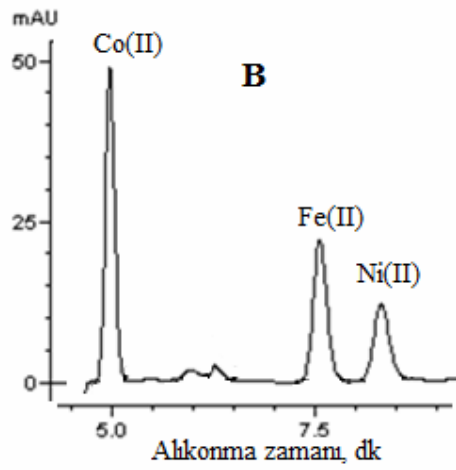
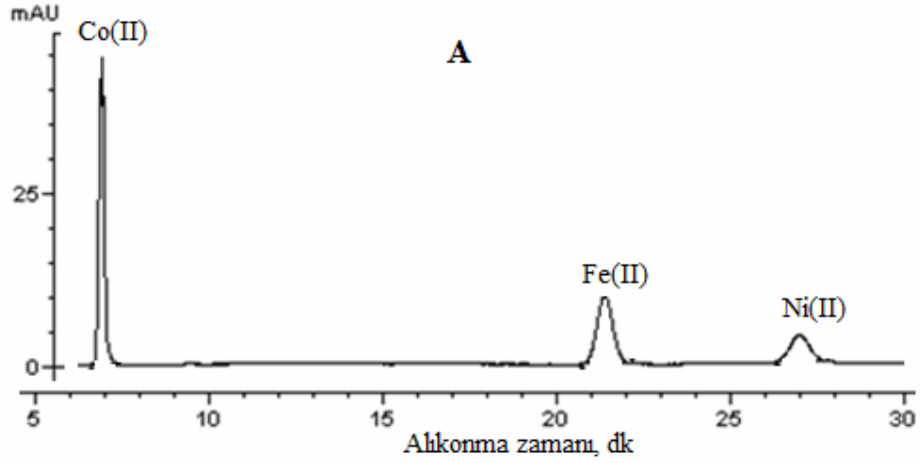
Analit	PAR Derişimi (mol L <sup>-1</sup> )		
	5x10 <sup>-6</sup>	5x10 <sup>-5</sup>	5x10 <sup>-4</sup>
Co (0.5 mg L <sup>-1</sup> )	88558	313179	342835
Fe (0.5 mg L <sup>-1</sup> )	16617	-	110678
Fe (1 mg L <sup>-1</sup> )	-	189847	259533
Ni (0.5 mg L <sup>-1</sup> )	-	106406	214053
Ni (1 mg L <sup>-1</sup> )	18444	-	416671

-: çalışılmadı

PAR derişimi arttıkça Co(II)-PAR pik alan artışı yaklaşık %9 civarındadır ve Fe(II)-PAR kompleksinin alanında önemli artış vardır. En büyük artış Ni(II)-PAR pikinde gözlemlendi. Hareketli fazda analitlerin pik alanları artmasına karşın piklerin ayırcılıklarının daha iyi olduğu 5.10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>, hareketli fazdaki optimum PAR derişimi olarak belirlendi.

#### 5.3.4 Hareketli faz bileşiminin etkisi

Kromatografik kolonda ayırmayı iyileştirmek için yapılan bir diğer işlem, hareketli faz bileşimini değiştirmektir. Çünkü bir kolonun ayırma gücünü arttırmak için yararlanılan parametrelerden biri olan kapasite faktörü, k', hareketli fazın bileşimine bağlıdır. Bunun için çalışmada analitlerin alıkonmasına hareketli fazdaki metanol yüzdesinin etkisi incelendi. Metanol yüzdesi değiştirilerek elde edilen kromatogramlar incelendi. Hareketli fazdaki metanol yüzdesi 40, 60 ve 80 olacak şekilde çalışıldı. Hareketli fazın akış hızı 0,6 mL dk<sup>-1</sup>'dir.



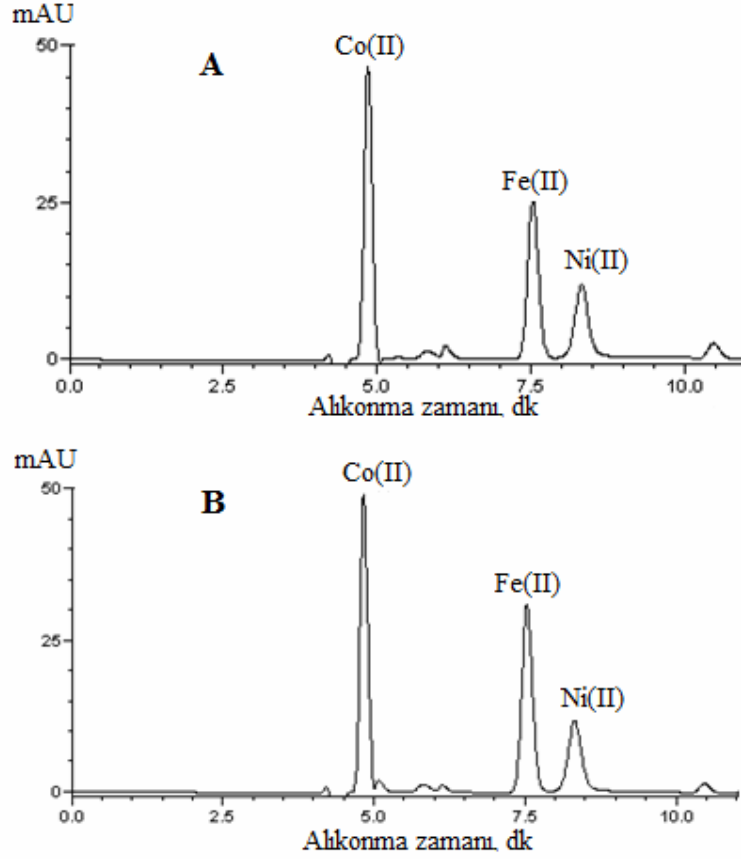
Şekil 5.11: Hareketli faz bileşimi (A) MeOH:THF:su (40:5:55) (B) MeOH:THF:su (60:5:35) ve (C) MeOH:THF:su (80:5:15) olduğunda elde edilen kromatogramlar (Akış hızı  $0.6 \text{ mL dk}^{-1}$ )

MeOH yüzdesi 40 olduğunda analiz yaklaşık 28 dakika sürmüştür (Şekil 5.11.A). MeOH miktarı %80 olduğunda ise pikler üst üste çakışmıştır (Şekil 5.11.C). Bu nedenle optimum metanol miktarı %60 olarak belirlendi.

### 5.3.5 Numuneye eklenen PAR derişiminin etkisi

Hareketli faza ilave edilen PAR derişiminin etkisinden sonra numuneye ilave edilen PAR derişiminin etkisi araştırıldı. Metal-PAR kompleks, hareketli faza eklenen PAR nedeniyle kolonda oluşması halinde bu işlem kolon içi (in-column) türevleme ya da şelatlanma; numuneye PAR eklenerek kompleks oluşumu sağlanırsa bu işleme ön kolon (pre-column) türevleme veya şelatlama denir. Kolon içi ve ön kolon türevleme

işlemlerini karşılaştırmak için  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  Co ve Ni ile  $1 \text{ mg L}^{-1}$  Fe içeren sulu çözeltinin pH'ı asetat tamponu ile 5'e ayarlandı. Numuneye ligand eklenmeden ve ligand eklenerek hazırlanan çözeltilerden  $10 \mu\text{L}$  alınarak HPLC'ye enjekte edildi (Şekil 5.12). Çalışmada hareketli faz Metanol:THF:su (60:5:35, v/v), akış hızı  $0,6 \text{ mL dk.}^{-1}$  dir.



Şekil 5.12: Kolon içi (A) ve kolon öncesi (B) şelatlama ile elde edilen metal-PAR komplekslerine ait kromatogramlar

Tablo 5.7: Kolon içi ve kolon öncesi şelatlama ile elde edilen metal-PAR komplekslerine ait pik verileri

Analit	Ligand	Alınma zamanı, dk.	Pik alanı	HEPT
Co	Var	4.828	435484	43.126
	Yok	4.846	436107	45.898
Fe	Var	7.529	384383	31.709
	Yok	7.532	309021	31.064
Ni	Var	8.319	176552	37.413
	Yok	8.323	169946	36.603

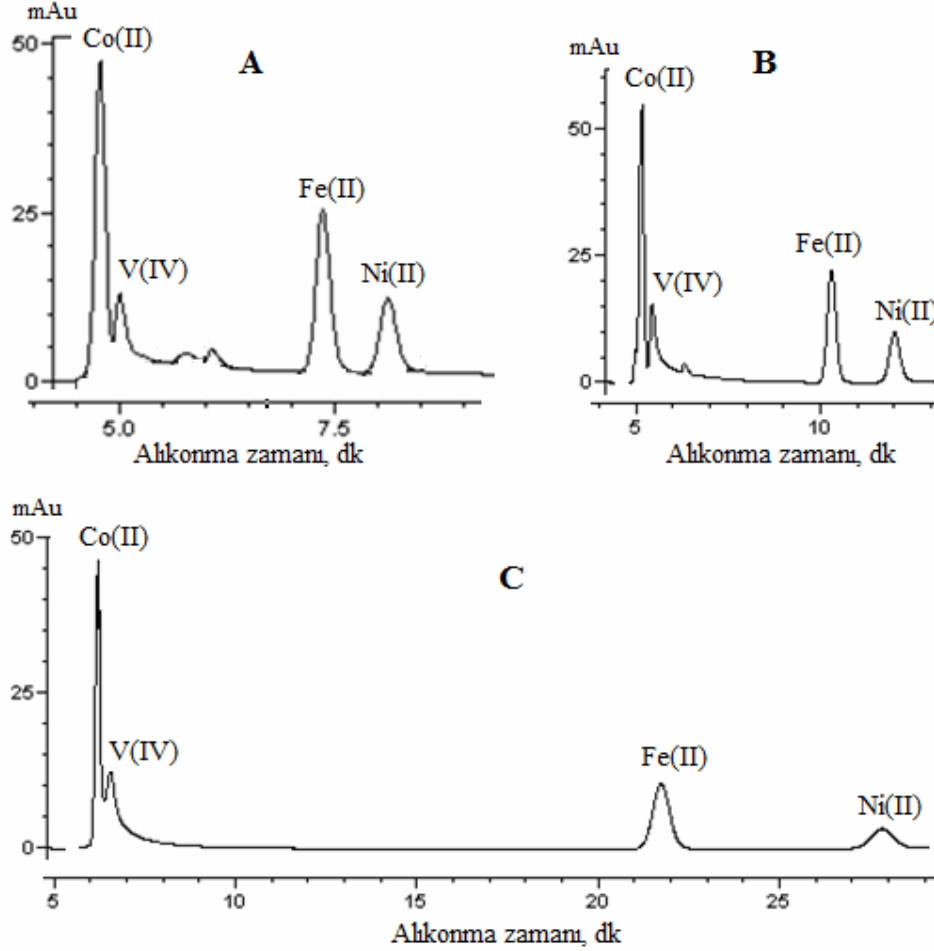
PAR eklenmeyen çözelti ile PAR eklenen çözelti kromatogramları incelendiğinde Co(II) ve Ni(II)'e ait piklerin alanlarında önemli bir değişiklik olmamıştır. PAR ile Fe(II)'e ait pikin alanında yaklaşık % 23 oranında artış olmaktadır. Muhtemelen PAR'da safsızlık olarak bulunabilecek demirden dolayı PAR içermeyen çözeltide Fe(II)'ye ait pik alanında azalma olmuştur. Hareketli fazdaki ve numunedeki PAR derişimi değişmediği sürece PAR sinyalleri tekrarlanabilir (ort.sinyal 9103,75 için bağıl standart sapma %7,29'dur).

### 5.3.6 Kromatografik tayine bazı metallerin etkisi

Co(II), Fe(II) ve Ni(II) iyonlarının eş zamanlı tayinlerinde, çeşitli metal iyonlarının etkileri araştırılmıőtır. Bunun için V(IV), V(V), Ti(II), Pb(II), Mn(II), Mo(II), Cd(II), As(III), As(V), Cu(II), Au(III), Hg(II), Cr(III), Cr(VI) metal iyonlarının etkileri incelenmiştir. Bu iyonlardan Mn(II), Mo(II), Hg(II), Pb(II), Zn(II), As(III), As(V), Cu(II), Cr(III), Cr(VI) iyonları 1-5 µg aralığında, çalışılan Şartlarda PAR ile kompleks oluşturmamaları yada oluşan komplekslerinin çalışılan dalga boyunda absorpsiyon yapmamalarından dolayı kromatogramda pik vermemiőtir. Ayrıca bu metal iyonlarının Co(II), Ni(II) ve Fe(II) iyonlarının PAR ile oluşturdukları komplekslerinin pik alanları üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

V(IV) ve V(V) iyonları varlığında ise Fe(II)-PAR ve Ni(II)-PAR komplekslerine ait piklerin alan ve yüksekliklerinde herhangi bir değişiklik olmazken Co(II)-PAR kompleksine ait pikin çatallandığı görüldü (Şekil 5.13.A). Bu nedenle hareketli fazdaki metanol yüzdesi azaltılarak Co(II), Fe(II) ve Ni(II) iyonlarının yanında vanadyum iyonunun da ayrımı yapılmaya çalışıldı. Böylelikle kromatografik tayinde eş zamanlı olarak tayin edilebilen analit sayısı arttırılmaya çalışıldı.

Hareketli fazdaki metanol yüzdesi 50 ve 40 olarak değiştirildi ve Co, Fe, Ni ve V iyonlarını içeren çözelti pH'ı 5'e tamponlanarak HPLC'ye enjekte edildi. V(V) ve V(IV) iyonlarının alıkonma zamanları aynı olduğundan kromatogramlar sadece V(IV) için verilmiştir. Çalışmada Co(II) ve Ni(II) derişimleri 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Fe(II), V(IV) ve V(V) derişimleri 1 mg L<sup>-1</sup>'dir. Akış hızı:0,6 mL dk.<sup>-1</sup> dır.



Şekil 5.13: Hareketli faz % 60 MeOH: % 5 THF: % 35 su (A), % 50 MeOH: % 5 THF: % 45 su (B) ve % 40 MeOH: % 5 THF: % 55 (C) su içerdiğinde Co(II), Ni(II), Fe(II) ve V(IV) içeren çözeltiye ait kromatogram

Hareketli fazdaki MeOH yüzdesi 40 olduğunda Co(II) ve vanadyum pikleri birbirinden tam olarak ayrılamamıştır. Analiz süresi de yaklaşık 30 dakika olmuştur.

Elde edilen bu verilerden hareketli faz bileşimi % 50 MeOH: % 5 THF: % 45 Su içerdiğinde vanadyumun ayrılabilceği öngörülmüştür. Bu nedenle daha önce %60 MeOH: %5 THF: %35 hareketli faz, 0,6 mL dk.<sup>-1</sup> akış hızı olarak belirlenen şartlar yeni hareketli faz bileşiminde tekrar optimize edilmiştir. Yeni belirlenen şartlarda su örnekleri analiz edilmiştir. Bu hareketli fazda ilk olarak akış hızı değiştirilmiştir.

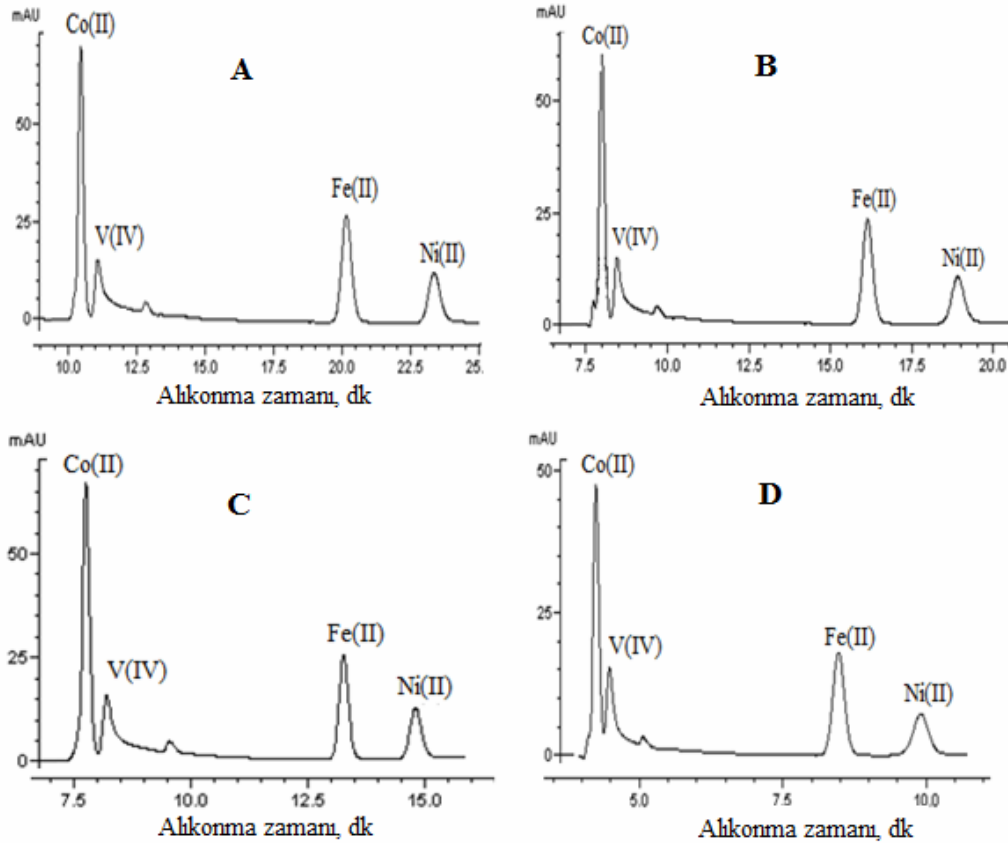
#### 5.4. Kromatografik Metal Tayini

##### 5.4.1 Hareketli faz akış hızının etkisi

Co, Fe ve Ni ile birlikte vanadyum tayini için hareketli faz bileşimi % 50 MeOH: % 5 THF: % 45 Su yapılarak hareketli fazın akış hızı değiştirildi. 0,6 mL dk.<sup>-1</sup> akış

hızında Co ve V pikleri birbirinden tam olarak ayrılmadığından akış hızı 0,3, 0,4 ve 0,8 mL dk.<sup>-1</sup> yapılarak kromatogramlar elde edildi.

0,3 mL dk.<sup>-1</sup> akış hızında tüm piklerin alanlarında artma olmuştur. Co(II), V(IV) ve V(V) iyonlarının 0,3 mL dk.<sup>-1</sup> akış hızında ayrı ayrı kromatogramları da alınmıştır. Co(II), V(IV) ve V(V) iyonlarının 0,3 mL dk.<sup>-1</sup> akış hızında alıkonma zamanları sırasıyla 7.813, 8.265 ve 8.251 dakikadır. Fe(II) ve Ni(II) iyonlarıyla birlikte karışım halinde enjeksiyon yapıldığında bu alıkonma zamanları uzamıştır. V(IV) varlığında Co(II) iyonunun pik alanında artma, V(IV) iyonunun da pik alanında azalma gözlenmiştir. V(V) varlığında ise Co(II) ve V(V) iyonlarının pik alanlarında önemli bir değişiklik olmamıştır.

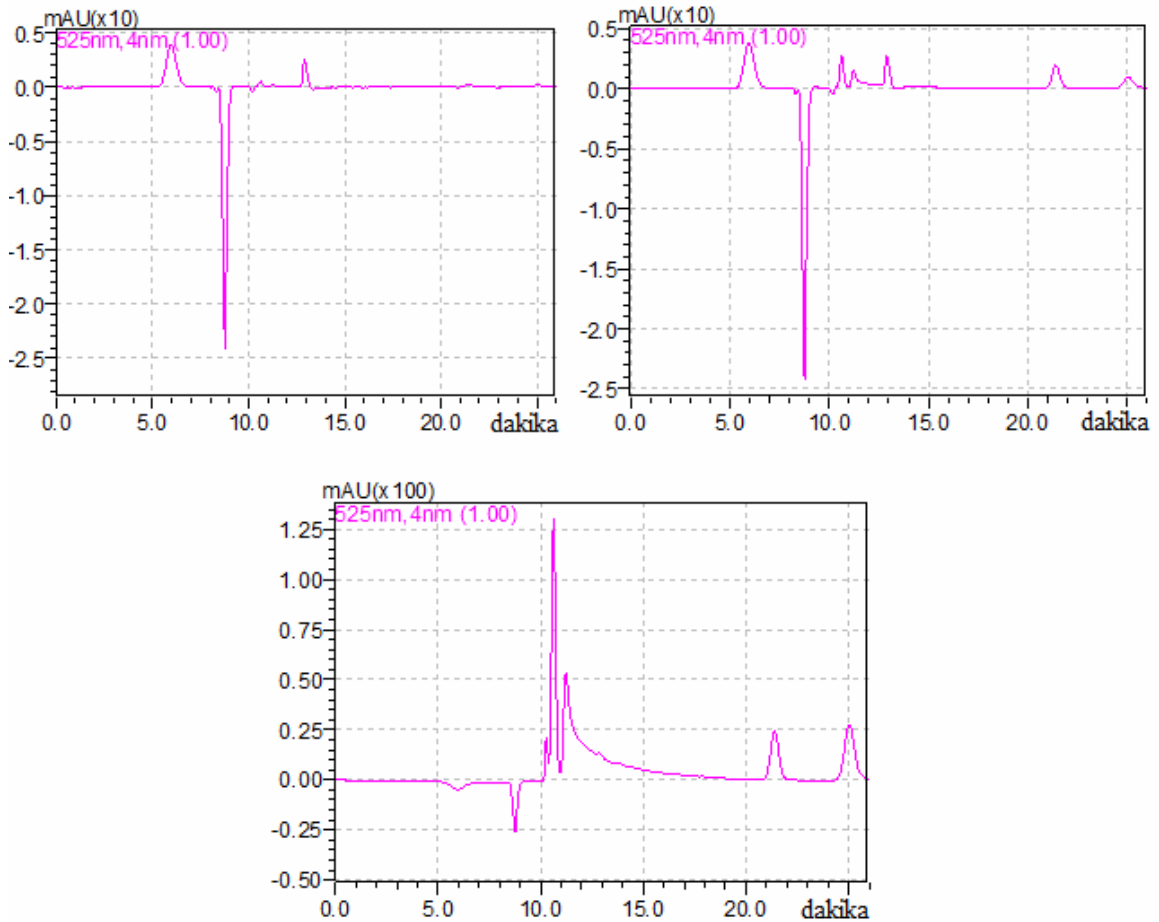


Şekil 5.14: Akış hızı 0,3 (A), 0,4 (B), 0-10 dakika: 0,4 mL dk.<sup>-1</sup>, 10,1-20 dakika: 0,6 mL dk.<sup>-1</sup> (C) ve 0,8 mL dk.<sup>-1</sup> (D) olduğunda elde edilen kromatogramlar (Hareketli faz % 50 MeOH: % 5 THF: % 45 Su)

Hareketli faz akış hızı 0,4 mL dk.<sup>-1</sup> olduğunda Co(II) iyonuna ait pikte sol tarafta küçük bir omuz gelmektedir. Ayrıca ilk 10 dakikada Co(II) ve V(IV) pikleri gelmiştir (Şekil 5.14.B). Analiz süresini kısaltmak için hareketli fazın akış hızı ilk 10 dakikada

0,4 mL dk<sup>-1</sup> ikinci 10 dakikada 0,6 mL dk<sup>-1</sup> olacak şekilde değiştirildi (Şekil 5.14.C). Akış hızı 0,4 mL dk<sup>-1</sup> olduğunda Co(II) piki tamamlanmadan vanadyum piklerinin geldiği ve bu piklerin sağ tarafa doğru kuyruklandığı gözlemlendi. Ayrıca 0,4 mL dk<sup>-1</sup> akış hızında analitlerin pik alanlarında azalma olmuştur. 0,3 mL dk<sup>-1</sup> akış hızında ise analitlerin pik alanı daha büyüktür. 0,8 mL dk<sup>-1</sup> akış hızında Co(II) piki bitmeden V(IV) pikinin geldiği görüldü (Şekil 5.14.D).

Hareketli fazın akış hızının azalmasıyla analitlerin alıkonma süreleri artmış ve analiz süresi uzamıştır, fakat çözünürlük ve duyarlılık artmıştır. Analitlerin HPLC ile tayini için en uygun akış hızı 0,3 mL dk<sup>-1</sup> olarak seçilmiştir ve bu akış hızında vanadyum iyonu varlığında kalibrasyon eğrileri çizilmeye çalışılmıştır. Kalibrasyon için hazırlanan farklı derişimlerde Co, Fe, Ni ve V iyonlarını içeren çözeltiler %50 MeOH: %5 THF: %45 Su içeren hareketli faz ile HPLC’de analiz edilmiştir.

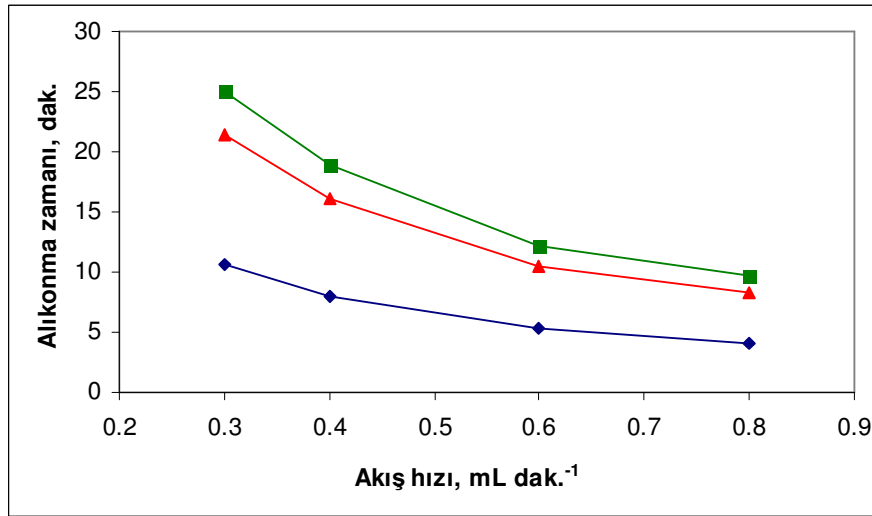


Şekil 5.15: Co(II) ve V(IV) derişimleri sırasıyla 4- 20 µg L<sup>-1</sup> (A), 40-200 µg L<sup>-1</sup>(B) ve 800-4000 µg L<sup>-1</sup> (C) olduğunda elde edilen kromatogramlar

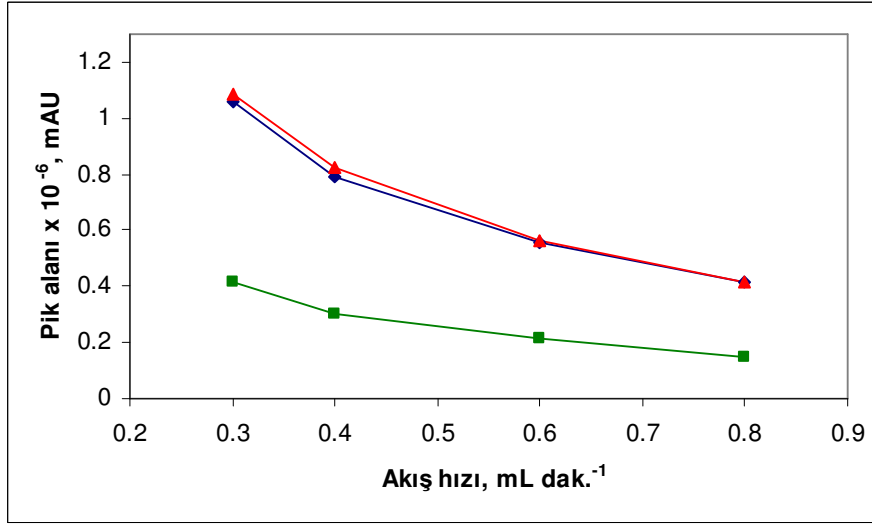


Düşük derişimde V(IV) içeren çözeltide Co(II) iyonuna ait pikin yanında V piki gözlenmemiştir (Şekil 5.15.A). Vanadyum iyonunun derişimi arttığında pik gözlenmekte fakat pik kuyruklanmaktadır (Şekil 5.15.B). Yüksek derişimde V(IV) içeren çözeltide ise vanadyum piki Co(II) iyonuna ait pik ile kesişmekte ve Co pikinde omuz gözlenmektedir (Şekil 5.15.C). V(IV) iyonuna ait pikteki kuyruklanma giderilemediğinden vanadyum iyonuna ait pik alanı tam olarak hesaplanamamaktadır. Bu nedenle kantitatif V(IV) tayini yapılamamaktadır. Ayrıca V(IV) iyonu derişimi arttıkça Co(II) piki de etkilendiğinden kromatografik vanadyum tayininden vazgeçilmiştir.

Co, Fe ve Ni tayini için en uygun hareketli faz akış hızı, resolüsyon ve duyarlığın iyi olmasından dolayı  $0,3 \text{ mL dk}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Çalışılan akış hızlarının analitlerin alıkonma zamanı ve pik alanlarına etkileri Şekil 5.16'da özetlenmiştir.



A

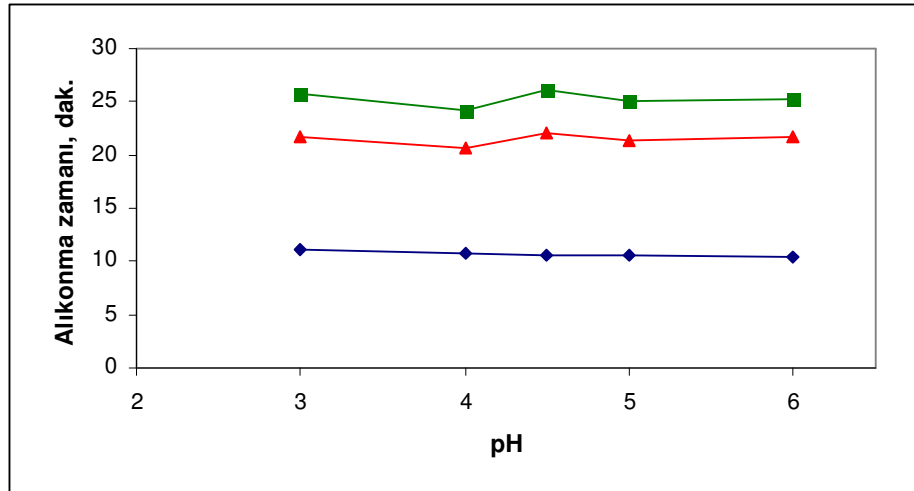


**B**

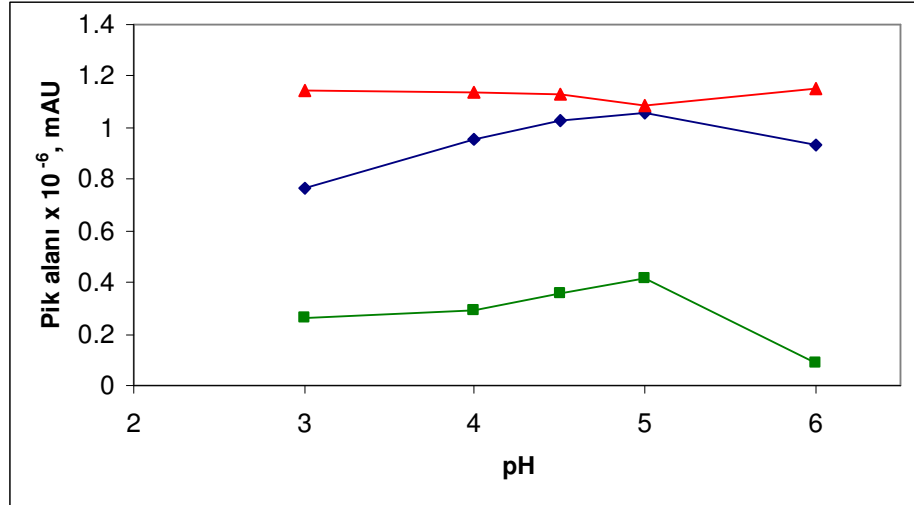
Şekil 5.16: Analitlerin alıkonma zamanları (A) ve pik alanlarına (B) hareketli faz akış hızının etkisi (◆:Co(II), ▲:Fe(II), ■:Ni(II), derişimleri sırasıyla 0.5, 1 ve 0.5 mg L<sup>-1</sup>, Hareketli faz: Metanol/THF/Su: 50/5/45)

#### 5.4.2 Hareketli faz pH'nın etkisi

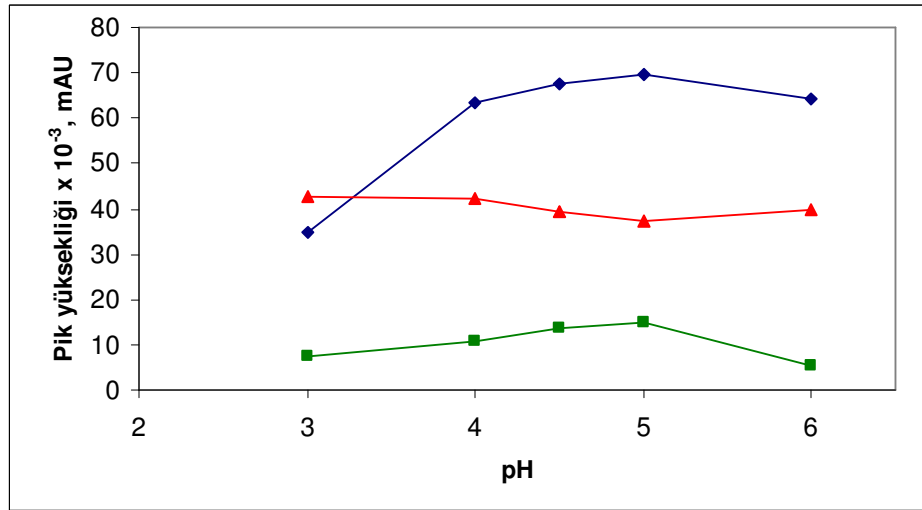
Co, Fe ve Ni iyonlarının eşzamanlı tayinleri için belirlenen optimum hareketli faz bileşimi (%50 MeOH: %5 THF: %45 Su) ve akış hızında (0,3 mL dk.<sup>-1</sup>) hareketli faz pH'nın etkisi incelendi. Şekil 5.17'den görüldüğü gibi pH değişimi ile analitlerin alıkonma zamanlarında çok önemli bir değişiklik olmamıştır.



Şekil 5.17: Co-, Fe- ve Ni-PAR şelatlarının alıkonma zamanlarına hareketli faz pH'nın etkisi (◆: Co(II), ▲: Fe(II), ■: Ni(II) derişimleri sırasıyla 0.5, 1 ve 0.5 mg L<sup>-1</sup>, Akış hızı: 0.3 mL dk.<sup>-1</sup>)



A



B

Şekil 5.18: Co-, Fe- ve Ni-PAR şelatlarının pik alanlarına (A) ve pik yüksekliklerine (B) hareketli faz pH'nın etkisi (◆:Co(II), ▲:Fe(II), ■:Ni(II) derişimleri sırasıyla 0.5, 1 ve 0.5 mg L<sup>-1</sup>, Akış hızı: 0.3 mL dk<sup>-1</sup>)

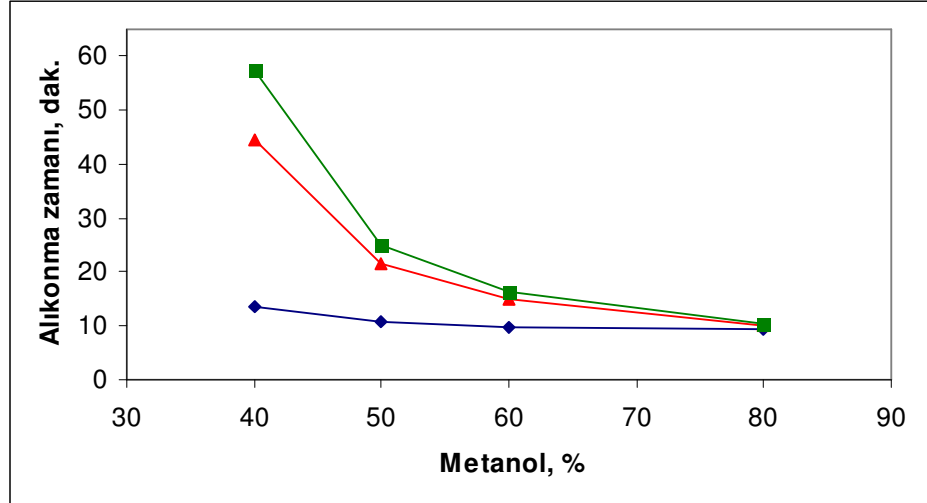
Hareketli faz pH'nın artmasıyla pH 5'e kadar Co ve Ni iyonlarının PAR komplekslerinin pik alanları artmış ve sonra azalmıştır (Şekil 5.18.A). Fe-PAR şelatının pik alanında ise önemli bir değişiklik olmamıştır. Co, Fe ve Ni iyonlarının ayrılmasında hareketli faz optimum pH'ı 5 olarak bulundu.

#### 5.4.3 Hareketli faz bileşiminin etkisi

Daha önce yapılan çalışmalarda hareketli faz bileşiminde metanol yüzdesi 60 olduğunda akış hızı 0,6 mL dk<sup>-1</sup> olarak belirlenmişti. Akış hızı 0,3 mL dk<sup>-1</sup> olduğunda Co, Fe ve Ni iyonlarının ayrılmasında MeOH yüzdesinin etkisi

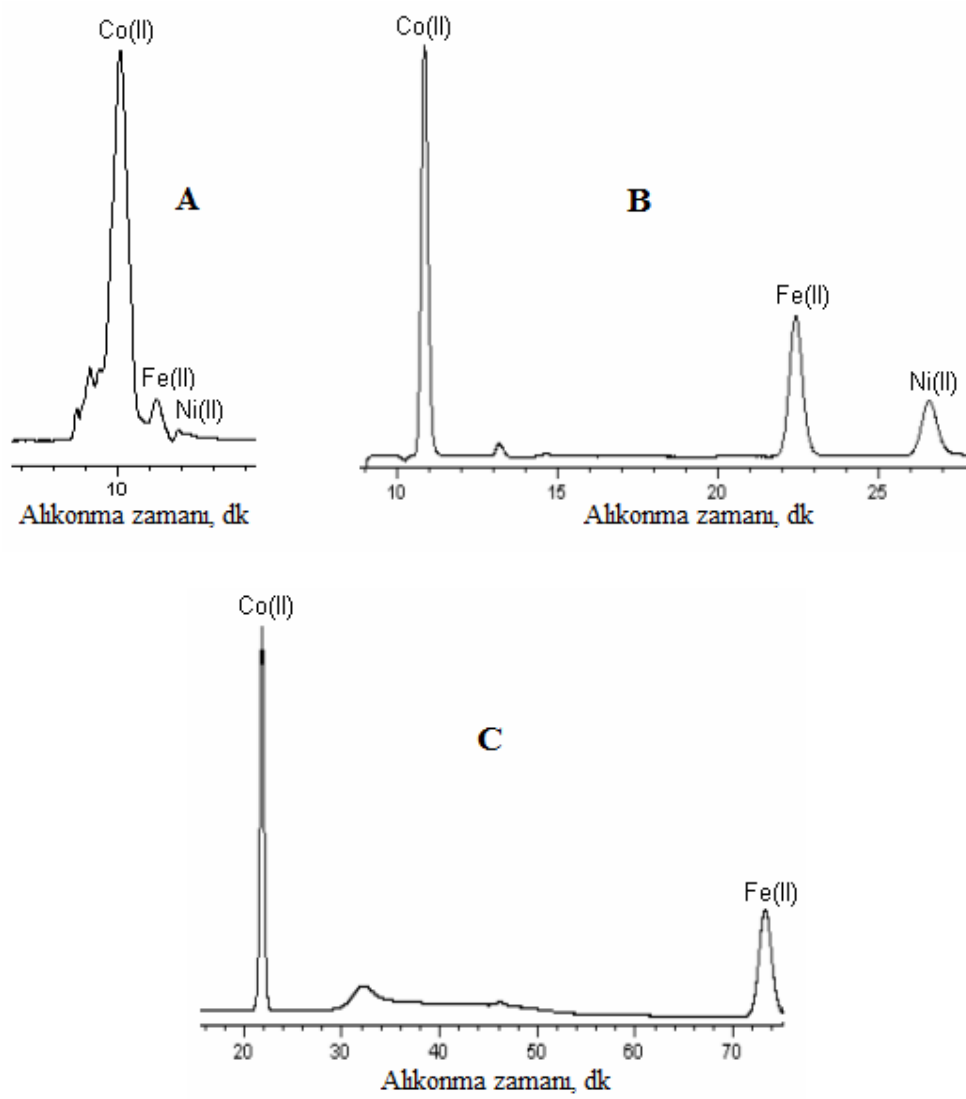
incelenmiştir. Bunun için MeOH yüzdesi 40,50, 60 ve 80 olarak değiştirilmiştir (Şekil 5.19).

Hareketli fazdaki MeOH yüzdesi azaldıkça analitlerin alıkonma zamanları uzamakta (Şekil 5.20) ve MeOH yüzdesi 50'nin altında olduğunda duyarlılık azalmaktadır. MeOH derişimi %80 olduğunda Co, Fe ve Ni pikleri üst üste çakışmaktadır (Şekil 5.20.A)



Şekil 5.19: Analitlerin alıkonma zamanlarına hareketli fazdaki metanol yüzdesinin etkisi (♦: Co(II), ▲: Fe(II), ■: Ni(II), derişimleri sırayla 0,5, 1 ve 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Akış hızı: 0,3 mL dk<sup>-1</sup>)

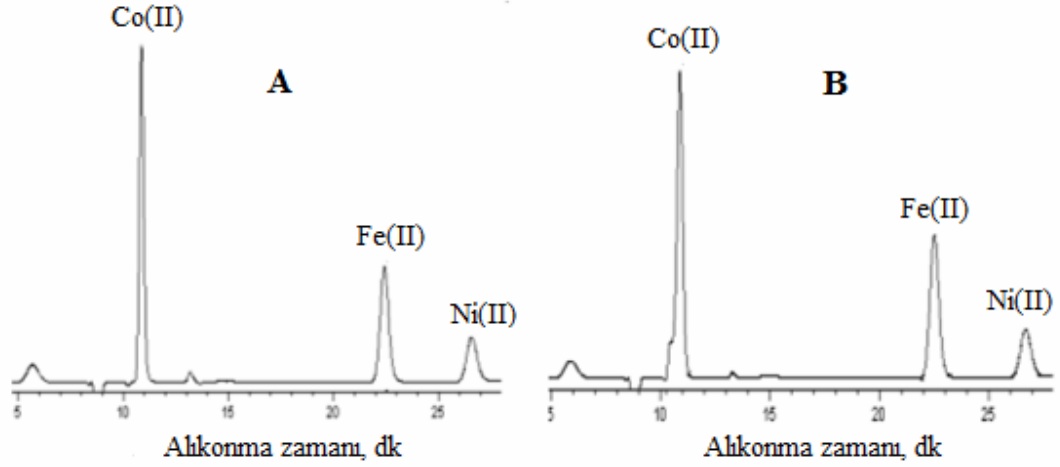
Ayrıca ters faz HPLC'de yaygın olarak kullanılan hareketli faz MeOH:su karışımı olduğundan THF içermeyen hareketli fazda denenmiş ve piklerin alıkonma zamanlarının uzadığı görülmüştür. Ni(II) iyonuna ait pik kromatogramda skalanın dışında kalmıştır (Şekil 5.20.C). THF içeren ve içermeyen hareketli faz kullanıldığında Co(II) ve Fe(II) iyonlarının pik alanlarında herhangi bir değişiklik olmamıştır. Elde edilen bu verilerden en uygun hareketli faz bileşimi % 50 MeOH: % 5 THF: % 45 su(v/v) olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.20: Co-, Fe- ve Ni-PAR şelatlarının kromatogramlarına hareketli fazdaki metanol ve THF derişimlerinin etkisi. Metanol/THF/Su: 80/5/15 (A), Metanol/THF/Su: 50/5/45 (B), Metanol/Su: 50/50 (C). (Co(II), Fe(II) ve Ni(II), derişimleri sırayla 0.5, 1 ve 0.5 mg L<sup>-1</sup>, Akış hızı: 0,3 mL dk<sup>-1</sup>)

#### 5.4.4 Numuneye ilave edilen PAR derişiminin etkisi

Belirlenen diğer optimum kromatografik şartlarda numuneye ligand eklenerek ve eklenmeden çözeltiler hazırlanarak HPLC'ye enjekte edildi.



Şekil 5.21: Kolon içi (A) ve kolon öncesi (B) şelatlama ile elde edilen kromatogramlar (Co(II), Fe(II) ve Ni(II) derişimleri sırasıyla 0.5, 1 ve 0.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , Akış hızı:0.3 mL dk.<sup>-1</sup>)

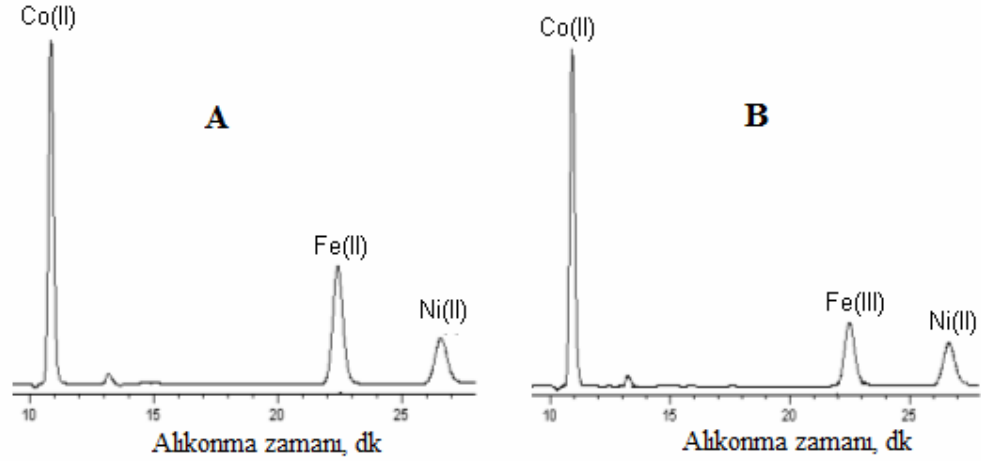
Elde edilen kromatogramlar incelendiğinde Co(II) ve Ni(II) iyonlarına ait piklerin alanlarında herhangi bir değişiklik olmamıştır. Ayrıca PAR içeren çözeltide Co(II) piki omuz verirken (Şekil 5.21.B) PAR içermeyen numunede bu omuz görülmemektedir (Şekil 5.21.A). Bu verilerden numuneye PAR eklenmesine gerek olmadığına karar verilmiştir.

Böylelikle çalışmada şelatlama işlemi kromatografik elüsyon esnasında gerçekleştiğinden kolon içi türevleme yapılmıştır. Kolon öncesi türevlemeye göre daha hızlı ve kolay olan kolon içi türevlemeyle örnek pH'ı ayarlanarak direkt HPLC'ye enjekte edilmiştir.

#### 5.4.5 Fe(II) ve Fe(III) iyonlarının tayini

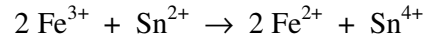
Elementlerin farklı kimyasal formlarına tür (species), belirli bir örnek veya ortamdaki türlerin dağılımlarının belirlenmesine türleme (speciation) denir. Her bir türün kalitatif ve kantitatif olarak tayini işlemlerine türleme analizi denir (Templeton ve diğ., 2000). Türleme analizlerinde elementin toplam derişimi yanında türün gerek düşük derişimi, gerekse tayin basamağına kadar yapılan işlemlerde yapısının korunması zorunluluğu türleme çalışmalarını önemli bir analitik problem haline getirmektedir. Ayrıca türleme analizi, eser elementin toplam derişiminin tayiniyle elde edilemeyen, elementin aktif türlerinin etkilerini açıklamak için gerekli bilgiyi sağlamaktadır.

Çalışmada Fe türlemesi yapılmaya çalışılmıştır. Öncelikle belirlenen optimum şartlarda Fe(II) ve Fe(III) iyonları içeren çözeltilerin kromatogramları alınmış ve her iki iyonun alıkonma zamanlarının aynı olduğu görülmüştür.



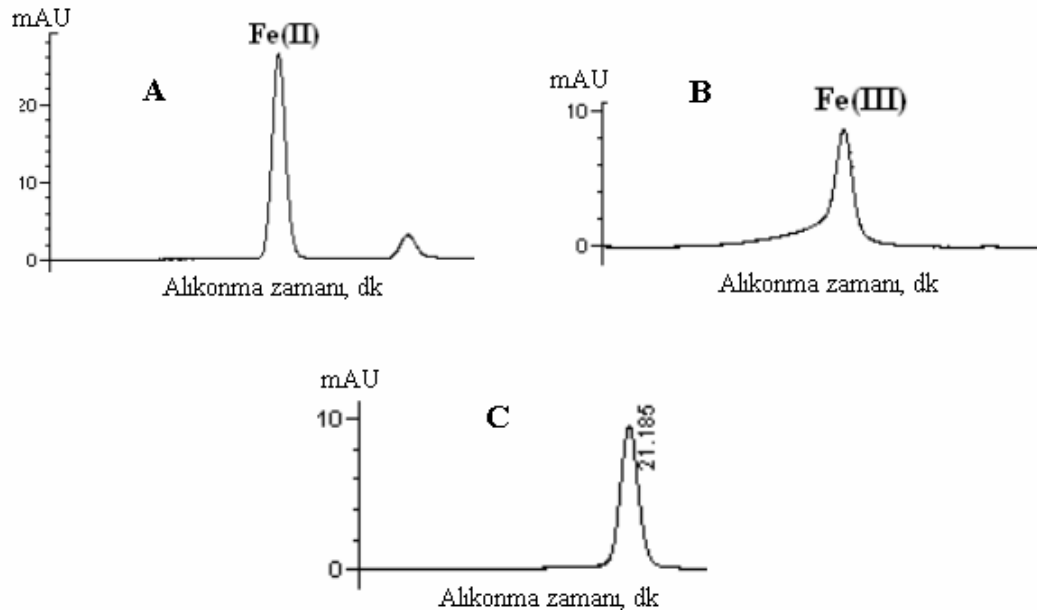
Şekil 5.22: Fe(II)-PAR (A) ve Fe(III)-PAR (B) şelatlarına ait kromatogram (Co(II), Fe(II), Fe(III) ve Ni(II), derişimleri sırayla 0.5, 1, 1 ve 0.5 mg L<sup>-1</sup>, Akış hızı: 0,3 mL dk<sup>-1</sup>)

Çalışmada Fe(III), Fe(II)'ye indirgenerek türleme yapılmak istenmiş ve indirgeme için SnCl<sub>2</sub> kullanılmıştır.



Yukarıdaki reaksiyon gereğince Fe(III) iyonları içeren çözeltilere Fe(III) derişiminin 1,2 ve 4 katı (1 mg L<sup>-1</sup>, 2 mg L<sup>-1</sup>, 4 mg L<sup>-1</sup>) olacak şekilde ayrı ayrı Sn<sup>2+</sup> eklenmiştir. 484 nm'de Fe(II) iyonunun pik alanı 1089701'dir. Fe(III) iyonunun pik alanı ise 577980'dir. Her ikisinin de alıkonma zamanı 21.165 dakikadır. Sn<sup>2+</sup> ilavesiyle Fe(III) iyonunun alıkonma zamanında herhangi bir değişiklik olmazken Sn miktarının artmasıyla pik alanı azalmaktadır. 2 mg L<sup>-1</sup> Sn eklendiğinde pik alanı 534443 olurken 4 mg L<sup>-1</sup> Sn ilavesinde ise Fe(III) pik alanı 456475 olmaktadır. Ayrıca Sn iyonunun da PAR ile açık pembe renkli kompleks oluşturduğu görülmüştür. Bu durumda PAR varlığında bu yöntemle Fe(II) ve Fe(III) iyonlarının birbirinden ayrılmasının mümkün olmadığı görülmüştür.

Ayrıca Fe(III) pikinin sol tarafında görülen kuyruklanma Sn(II) varlığında kromatogramda görülmemiştir. (Şekil 5.23)



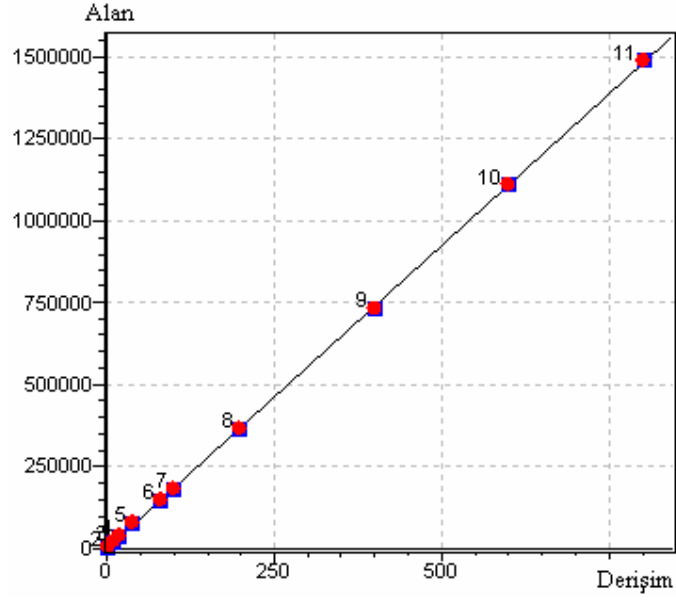
Şekil 5.23:  $1 \text{ mg L}^{-1}$  Fe(II) (A),  $1 \text{ mg L}^{-1}$  Fe(III) (B) ve  $1 \text{ mg L}^{-1}$  Fe(III) +  $4 \text{ mg L}^{-1}$  Sn(II) (C) içeren çözeltilere ait kromatogramlar (Akış hızı:  $0,3 \text{ mL dk}^{-1}$ )

### 5.5 Yöntemin Analitik Değerlendirmesi

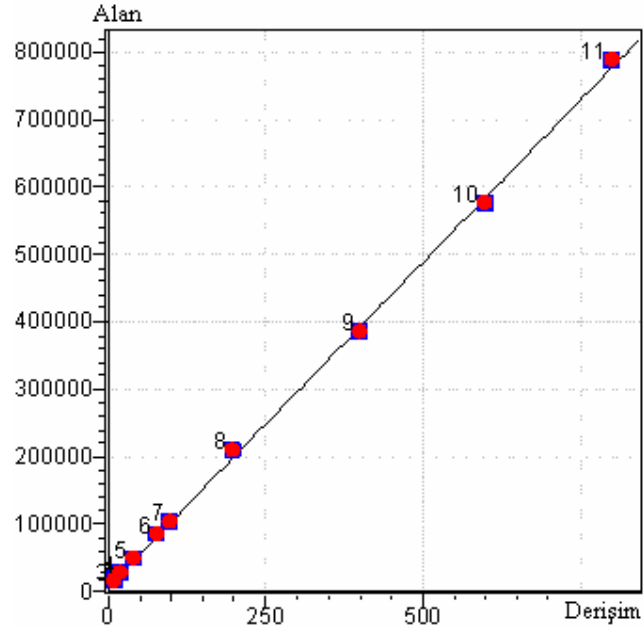
Belirlenen optimum hareketli faz bileşimi ve akış hızında Co(II), Fe(II) ve Ni(II) iyonları için kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve geliştirilen yöntemde bu analitler için LOQ (S/N:3) ve LOD değerleri hesaplanmıştır. Bu çalışmalarda hareketli faz bileşimi HF: Metanol/THF/Su: 50/5/45 ve akış hızı  $0,3 \text{ mL dk}^{-1}$ 'dir.

Kalibrasyon eğrileri her bir metalin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunda derişime karşı pik alanları grafiklerinin çizilmesiyle oluşturulmuştur. 200-900 nm aralığında dalga boyu taraması yapan DAD dedektör ile belirlenen dalga boyları Co(II) için 525 nm, Fe(II) için 484 nm ve Ni için 517 nm'dir.

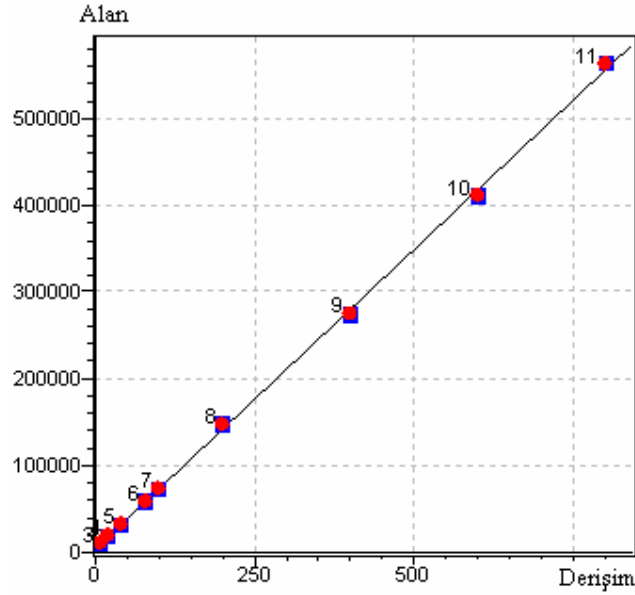




Şekil 5.24: Co(II) iyonu kalibrasyon grafiği



Şekil 5.25: Fe(II) iyonu kalibrasyon grafiği



Şekil 5.26: Ni(II) iyonu kalibrasyon grafiği

Co(II), Fe(II) ve Ni(II) iyonlarına ait kalibrasyon verileri, LOD ve LOQ değerleri Tablo 5.8'de verilmiştir. Bağlı standart sapma değerleri,  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  derişimde analit içeren çözeltilerin farklı zamanlarda enjeksiyonu sonrası belirlenen analitlerin pik alanları ile hesaplanmıştır. Tablo 5.8'deki geri kazanım değerleri Tablo 5.10'da verilen su örneklerinin geri kazanım değerleri ile hesaplandı.

Tablo 5.8: Ters Faz HPLC ile Co(II), Fe(II) ve Ni(II) tayini için analitik veriler

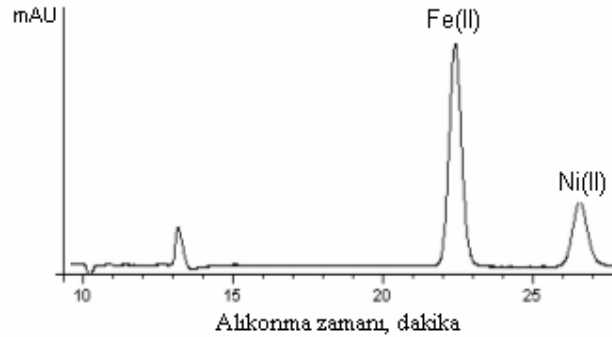
Değişkenler	Co(II)	Fe(II)	Ni(II)
Linear aralık, $\mu\text{g L}^{-1}$	4-800	20-800	10-800
Kalibrasyon denklemi	$A=2.00 \times 10^6 C + 3.60 \times 10^2$	$A= 9.70 \times 10^5 C + 7.60 \times 10^3$	$A=6.94 \times 10^5 C + 4.30 \times 10^3$
Korelasyon katsayısı, $r^2$	0,9999	0,9991	0,9991
Gözlenebilme sınırı	0.50	9.07	2.00
LOD, $\mu\text{g L}^{-1}$			
Tayin sınırı	0.92	15.96	7.43
LOQ, $\mu\text{g L}^{-1}$			
Geri kazanım, %, $\bar{x}_{\text{ort}} \pm s, n=12$	$100.1 \pm 4.0$	$98.1 \pm 4.9$	$100.4 \pm 4.3$
Bağlı standart sapma, %	0.97	1.6	1.7

## 5.6 Gerçek Örnek Analizleri

Optimize edilen RP-HPLC/DAD yöntemi çeşitli su örneklerinin analizine uygulandı. Musluk suyu, Belediye atık suyu, Pamukkale ve Karahayıt suları Bölüm 5.2.4'te belirtildiği şekilde hazırlanarak 10 µL HPLC'ye enjekte edildi. Ayrıca yöntemin doğruluğu bu örneklere standart ekleme ile test edildi. Su örneklerine ilave edilen analitler kantitatif olarak tayin edilebilmişlerdir. Tablo 5.10'dan da görüleceği gibi su örneklerinde analitlerin geri kazanım değerleri % 92,0 ile % 106,1 arasında değişmektedir.

## 5.7 Standart Referans Madde (BCR 715 Endüstriyel Atık Su) Analizi

Yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla, geliştirilen yöntemin diğer bir uygulaması sertifikalı BCR-715 Endüstriyel Atık Su örneğinde gerçekleştirildi. Atık su örneği ultra saf su ile 5 kat seyreltikten sonra asetat tamponu ile çözelti pH'ı 5 yapıldı. Bu çözeltilerden 10 µL örnek, 0,3 mL dk.<sup>-1</sup> akış hızında % 50 MeOH: %5 THF: % 45 su içeren hareketli fazda HPLC sistemine otomatik örnekleyici ile enjekte edildi (Şekil 5.27).



Şekil 5.27: Standart referans madde (BCR 715 endüstriyel atık su)'nin HPLC/DAD ile alınan kromatogramı

Bulunan değerler sertifikalı değerler ile karşılaştırıldığında Fe ve Ni için sırasıyla % bağıl hata değerleri -5,3 ve -5,8 olarak bulundu (Tablo 5.9)

Tablo 5.9: BCR 715 endüstriyel atık su analiz sonuçları (n:8)

Analit	Sertifikalı Değer, mg L <sup>-1</sup>	Bulunan Değer, mg L <sup>-1</sup> , (xort ± ts/√n)	% Bağıl Hata
Fe	Fe: 3,0	2,84±0.03	-5,3
Ni	Ni: 1,2	1,13±0.01	-5,8

Tablo 5.10: Su örneklerinde Co(II), Fe(II) and Ni(II) iyonlarının tayini ve geri kazanımları (Örnek hacmi: 5 mL, n:4)

Örnek	Co, Fe, Ni			Co			Fe			Ni		
	Eklenen, µg	Bulunan, µg	Geri Kazanım, %	Bulunan, µg	Geri Kazanım, %	Bulunan, µg	Geri Kazanım, %	Bulunan, µg	Geri Kazanım, %	Bulunan, µg	Geri Kazanım, %	
Musluk suyu	0	BLR*	-	BLR	-	BLR	-	BLR	-	BLR	-	
	0.50	0.47	94.0	0.51	102.0	0.47	94.0	0.69	92.0	1.03	103.0	
	0.75	0.75	100.0	0.71	94.7	0.69	92.0	0.69	92.0	1.03	103.0	
	1.00	1.04	104.0	1.03	103.0	1.03	103.0	1.03	103.0	1.03	103.0	
Atık su	0	BLR	-	BLR	-	BLR	-	BLR	-	BLR	-	
	0.50	0.48	96.4	0.46	92.0	0.53	106.1	0.77	102.7	1.01	101.3	
	0.75	0.77	102.6	0.76	101.3	0.77	102.7	0.77	102.7	1.01	101.3	
	1.00	1.03	103.3	0.98	98.0	1.01	101.3	1.01	101.3	1.01	101.3	
Karahayıt suyu	0	BLR	-	BLR	-	BLR	-	BLR	-	BLR	-	
	0.50	0.51	102.2	0.45	90.0	0.52	104.2	0.76	102.6	0.97	97.2	
	0.75	0.74	98.9	0.73	104.3	0.76	102.6	0.76	102.6	0.97	97.2	
	1.00	1.01	101.3	0.96	96.0	0.97	97.2	0.97	97.2	0.97	97.2	
Pamukkale suyu	0	BLR	-	BLR	-	BLR	-	BLR	-	BLR	-	
	0.50	0.46	92.0	0.47	94.0	0.51	102.0	0.73	97.3	1.02	102.0	
	0.75	0.77	102.7	0.77	102.7	0.73	97.3	0.73	97.3	1.02	102.0	
	1.00	1.04	104.0	0.94	94.0	1.02	102.0	1.02	102.0	1.02	102.0	

\*BLR: Lineer aralığın altında (Below of linear range)

## 5.8 Geliştirilen Yöntemin Diğer Yöntemlerle Karşılaştırılması

Metal-PAR şelatlarının tayini için geliştirilen kromatografik yöntem literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılmıştır (Tablo 5.11). Bu çalışmada Co için hesaplanan gözlenebilme sınırı, doğrudan HPLC ile yapılan benzer çalışmalardan (Zhang ve diğ., 2005, Chung ve Chung, 2003, Chanpaka ve diğ., 2006, Arain ve diğ., 2009) ve hatta önderiştirme yöntemi ile kombine edilen HPLC çalışmalarından (Farajzadeh ve diğ., 2010) daha düşük bulunmuştur. Fe(II) ve Ni(II) için hesaplanan gözlenebilme sınırı değerleri ise diğer HPLC çalışmalarında belirlenen değerlerden daha düşük değildir. Fakat bağıl standart sapma değerleri ve Tablo 5.8'de verilen geri kazanım değerleri, Tablo 5.11'de belirtilen diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında bulunan sonuçlar tatmin edicidir. Ayrıca literatür bilgilerinden yararlanılarak, geliştirilen yöntemde Co, Fe ve Ni için bulunan gözlenebilme sınırı değerlerinin, AAS ve ICP-OES ile bulunan gözlenebilme sınırı değerlerinden daha iyi olabileceği sonucuna varılabilir.

Eş zamanlı olarak kobalt, demir ve nikel tayinlerini gerçekleştirdiğimiz bu yöntem seçici ve duyarlıdır. Bu yöntemle Co, Fe ve Ni'in önderiştirme basamağı gerektirmeden tayin edilebileceği belirlenmiştir. Ayrıca bu yöntemin metal tayinleri için pahalı olan ICP-AES ve ICP-OES aletlerine göre daha ekonomik bir yöntem olduğu söylenebilir.

Geliştirilen yöntemde kolon içi türevlendirme yapılmıştır. Kolon içi türevlendirmede, örnek çözültisi doğrudan kolon içerisine verildiğinden kompleks oluşumu hızlı ve basittir. Kolon öncesi türevlendirmeye dayalı kromatografik analizlere göre bu yöntemle daha iyi sonuçlar elde edilmektedir.

Tablo 5.11: Geliştirilen yöntemin diğer HPLC ile Co, Fe ve Ni tayinleri ile karşılaştırılması

Reaktifler	Co			Fe			Ni			Referanslar
	LOD $\mu\text{gL}^{-1}$	B.S.S, %	Geri Kazanım, %	LOD $\mu\text{gL}^{-1}$	B.S.S, %	Geri Kazanım, %	LOD $\mu\text{gL}^{-1}$	B.S.S, %	Geri Kazanım,%	
2-(8-kinolilazo)-4,5-(difenilimidazol)(QAI)	0.72	6.3	-	-	-	-	0.24	6.0	-	Zhang ve diğ., 2005
Calk(Kromazol KS)+PAR	-	-	-	10.4	0.35	-	8.7	3.5	-	Peng ve diğ., 2005
4-(2-Tiazolilazo)resorsinol (TAR)	11.8	< 5.0	-	-	-	-	-	-	-	Chung, Y. ve Chung, W., 2003
PAR-TBABr	30	0.7	96	-	-	-	20	0.91	94	Chanpaka ve diğ., 2006
3-(2-Piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin	-	-	-	0.35	2.87	98.7-102.3	-	-	-	Zhu ve diğ., 2007
Pentametilen ditiyokarbamat	-	<3.9	92.9	-	<3.9	99.2	-	<3.9	98.1	Arain ve diğ., 2009
2-tiyofenaldehit-3-tiyosemikarbazon/SPME	0.009	4.1	>90	-	-	-	0.006	3.0	>92	Kaur ve diğ., 2007
8-hidroksi kinolin/Ekstraksiyon	-	-	-	4.0	0.4	94	2.2	0.4	85	Amoli ve diğ., 2006
8-hidroksikinolin/DLLME	3	3.3	77	3	4.1	65	-	-	-	Farajzadeh ve diğ., 2010
morfolin-4-karboditiyoat/SPME	0.17	5.0	87.5-103.5	-	-	-	0.11	2.3	79.0-105	Kaur ve Malik,2007
MD-nano-Au/TiO <sub>2</sub>	50	3.8-6.2	92.8±5.2	-	-	-	180	3.5-6.8	102.9±2.0	Cheng ve diğ., 2008
PAR	0.50	0.97	-	9.07	1.6	-	2.00	1.7	-	Bu çalışma

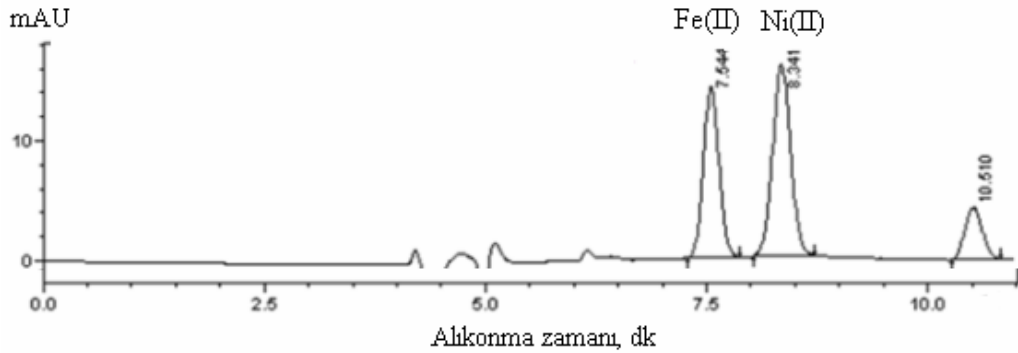
## 5.9 HPLC ile Bazı Önderiştirme Yöntemlerinin Birlikte Kullanımı

Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında bu yöntemle, elde edilen düşük gözlenebilme sınırları nedeniyle örnekler önderiştirilmeden Co,Fe ve Ni tayin edilebilecektir. Fakat daha düşük gözlenebilme sınırı elde edilebilmesi için geliştirilen yöntem bir önderiştirme yöntemi ile de kullanılabilir. Çalışmalarda hareketli faz bileşimi % 60 MeOH: % 5 THF :% 35 Su, akış hızı 0,6 mL dk<sup>-1</sup>'dir.

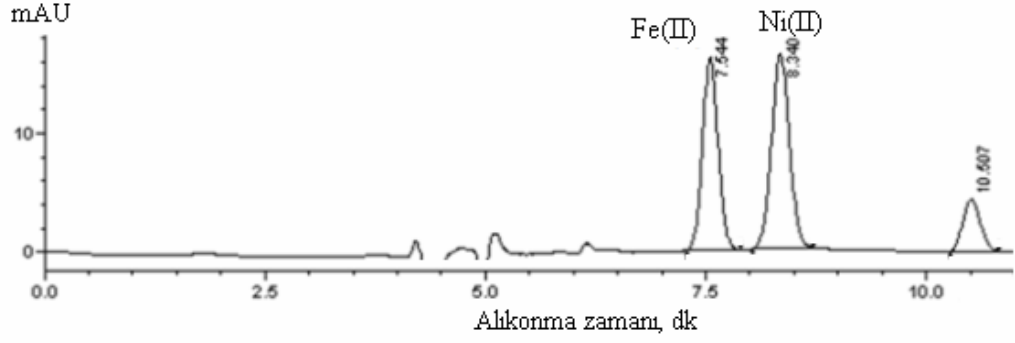
### 5.9.1 SPE ile ön deriştirme yapılan numunelerin kromatografik tayinleri

Geliştirilen kromatografik yöntemin bir önderiştirme yöntemi ile de kullanılabilirliğini görmek için XAD-7 kolonu ile önderiştirme işlemi uygulanan numuneler geliştirilen yöntemle analiz edildi. Analitleri (Fe(II) ve Ni(II)) içeren sulu çözeltinin pH'ı 5'e tamponlandıktan sonra PAR ilavesiyle metal şelatları oluşturulmuş XAD-7 reçinesi dolgulı kolondan geçirilmiştir. Kolonda tutunan analitler 10 mL 0,5 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> ile elüe edilmiştir. SPE ile önderiştirme işlemi sonrasında, çözeltideki Fe(II) derişimi 4 mg L<sup>-1</sup>, Ni(II) derişimi 2 mg L<sup>-1</sup>'dir.

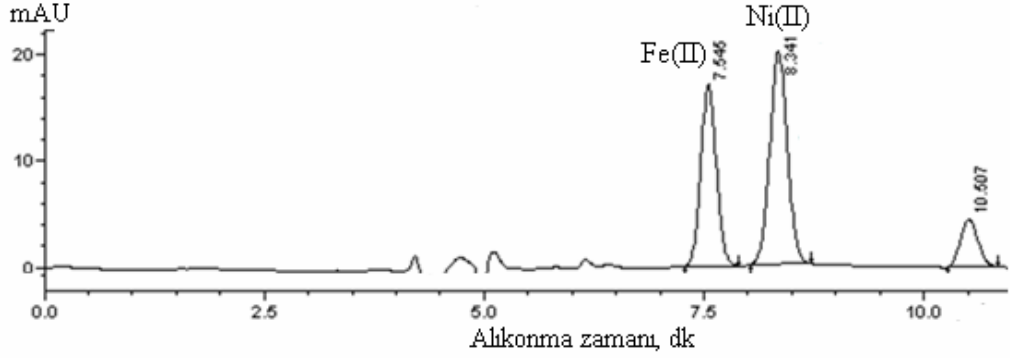
SPE ile önderiştirme yapılan numuneler ultra saf su ile 2,5 defa seyreltildi ve numuneye tekrar pH:5 tamponu ve PAR eklendi. HPLC'de beklenen Ni derişimi 0,8 mg L<sup>-1</sup>; Fe derişimi 1,6 mg L<sup>-1</sup>'dir.



Şekil 5.28: SPE ile önderiştirme yapılan numune kromatogramı-1



Şekil 5.29: SPE ile önderiştirme yapılan numune kromatogramı-2



Şekil 5.30: SPE ile önderiştirme yapılan numune kromatogramı-3

Elde edilen kromatogramlardaki pik alanları kalibrasyon denkleminde yerine konarak çözeltideki analit derişimleri hesaplandı.

Tablo 5.12: SPE uygulanan numunelerdeki nikel miktarları

	Gerçek değer ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Bulunan miktar ( $\text{mg L}^{-1}$ )	% Geri Kazanım
1.Paralel	0,8	0,58	72,5
2. Paralel	0,8	0,59	73,8
3.Paralel	0,8	0,71	88,8

SPE sonrası elüe edilen numunenin AAS ile analizi ile Ni için geri kazanım değeri % 90 olarak bulunmuştur.



Tablo 5.13: SPE uygulanan numunelerdeki demir miktarları

	Gerçek değer (mg L <sup>-1</sup> )	Bulunan miktar (mg L <sup>-1</sup> )	% Geri Kazanım
1.Paralel	1,6	0,47	29,4
2. Paralel	1,6	0,55	34,4
3.Paralel	1,6	0,58	36,2

SPE sonrası elüe edilen numunenin AAS ile analizi ile Fe için geri kazanım değeri % 40 olarak bulunmuştur. AAS sonuçları ile kromatografik sonuçlar uyumlu çıkmıştır.

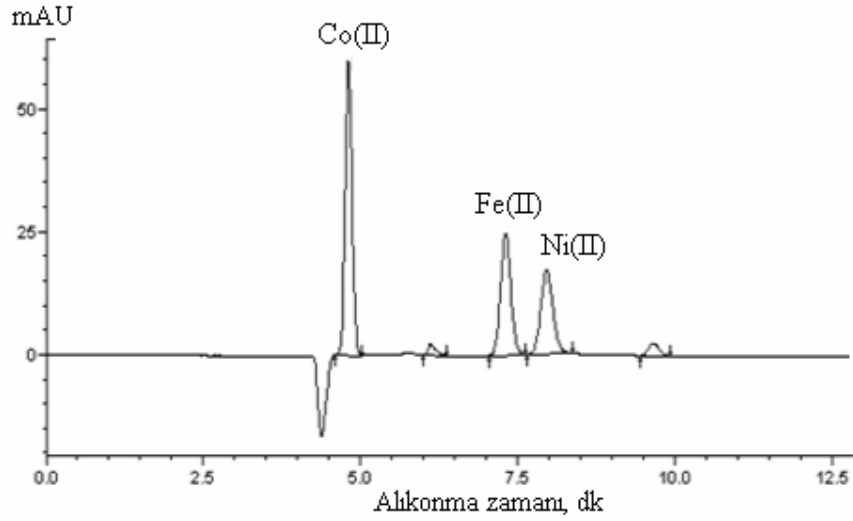
Elde edilen bu sonuçlardan görülmektedir ki, geliştirilen yöntem uygun şartlarda SPE ile birlikte eser metal iyonlarının deriştirilmesi ve tayininde kullanılabilir.

### 5.9.2 DLLME ile ön deriştirme yapılan numunelerin kromatografik tayinleri

#### 1,3-Difenil guanidin varlığında metal-PAR kompleksleri için DLLME ile önderiştirme ve HPLC ile tayin

Literatürde, metal-PAR komplekslerinin 1,3-difenil guanidin varlığında kloroform içersine ekstrakte edildiği belirtilmektedir. Bu nedenle yine kromatografik tayinde kullandığımız miktarlarda pH:5 tamponu ve PAR kullanılmak suretiyle kompleks oluşturuldu. Metal-PAR şelatlarını içeren sulu çözeltiye dispersif ve ekstraksiyon çözücüsü eklenmeden önce 1,3-difenil guanidin çözeltisi ilave edildi.

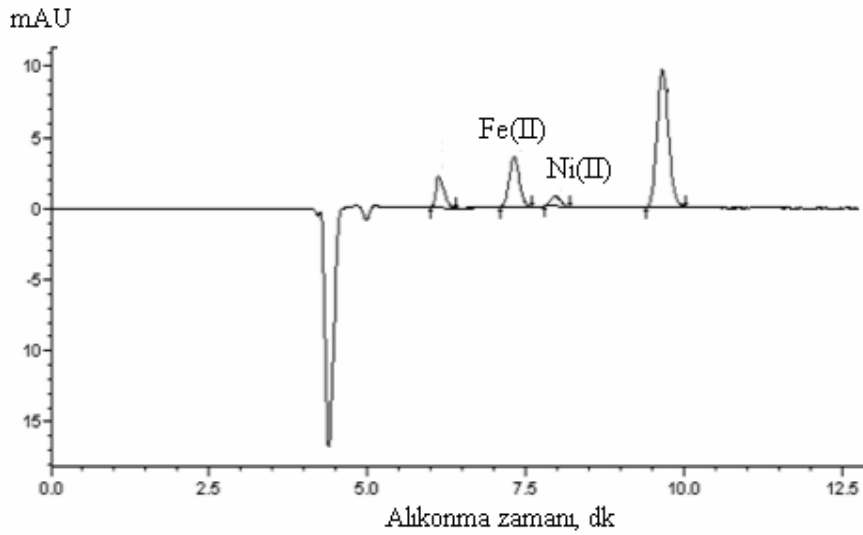
1,3-difenil guanidin çözeltisi derişimi  $5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> olacak şekilde gerekli miktarın etanolde çözümlenmesiyle hazırlandı ve numuneye bu çözeltiden 400 µL ilave edildi. Dispersif çözücü olarak 500 µL etanol, ekstraksiyon çözücüsü olarak 100 µL kloroform kullanıldı. DLLME sonrası analitleri içeren sediment faz buharlaştırıldıktan sonra, kalıntıdaki analitler saf su içersine alındı ve bu çözeltiden 10 µL HPLC'ye enjekte edildi. Analitlerin geri kazanım değerleri, 0,5 mg L<sup>-1</sup> Co(II) ve Ni(II), 1 mg L<sup>-1</sup> Fe(II) içeren referans çözeltideki pik alanları ile karşılaştırılarak hesaplandı.



Şekil 5.31:  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  Co(II), Ni(II) ve  $1 \text{ mg L}^{-1}$  Fe(II) içeren referans çözeltiye ait kromatogram

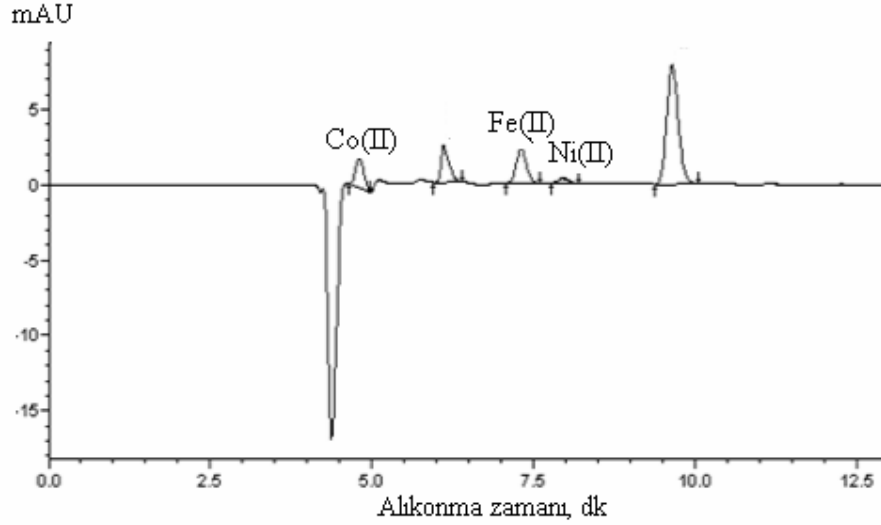
Referans çözeltiye ait kromatogramda (Şekil 5.31) Co, Fe ve Ni için pik alanları sırasıyla 462867; 286304 ve 229444 olarak bulundu.

Ayrıca örnek çözelti enjeksiyonundan önce, analit içermeyen fakat 1,3 difenil guanidin içeren kör çözeltiye de DLLME uygulandı. Alınan kromatogramda Co dışındaki analitlerin (Fe ve Ni) alıkonma zamanlarında pikler gözlemlendi (Şekil 5.32). Kör çözeltiye ait kromatogramda Fe ve Ni için pik alanları sırasıyla 40560 ve 7722 olarak bulundu.



Şekil 5.32: 1,3-difenil guanidin içeren kör çözeltiye ait, DLLME sonrası alınan kromatogram

Analit ve 1,3-difenil guanidin içeren çözeltiye DLLME uygulandıktan sonra elde edilen kromatogramda (Şekil 5.33) ise Co, Fe ve Ni için sırasıyla pik alanları sırasıyla 17745, 25856 ve 3982 olarak bulundu.



Şekil 5.33: Analit ve 1,3-difenil guanidin içeren çözeltiye ait, DLLME sonrası alınan kromatogram

Kromatogramlar incelendiğinde numunedeki (Şekil 5.33) Fe(II)-PAR ve Ni(II)-PAR komplekslerinin alıkonma zamanlarında (7.3 ve 7.9 dk) gelen piklerin kör çözeltide de olduğu, bu nedenle Fe(II) ve Ni(II)'nin geri alınmadığı anlaşılmıştır. Numunede görülen Co(II)-PAR kompleksine ait pikin (alıkonma zamanı 4.798) alanı referans çözeltideki Co(II)-PAR kompleksinin pik alanına oranlandığında oldukça düşük geri kazanım (%3,83) elde edildiği gözlenmiştir.

DLLME yönteminde 1,3-difenil guanidin varlığında Co(II)-, Fe(II)- ve Ni(II)-PAR komplekslerinin kloroform içerisine ekstraksiyonunun gerçekleşmediği görülmüştür.

## 6. DENEYSEL BÖLÜM II:

### DLLME İLE NİKEL ÖNDERİŞTİRİLMESİ VE AAS İLE TAYİNİ

Çevresel kirliliği ile bağlantılı olarak artan ekolojik ve sağlık problemleri nedeniyle, çevresel örneklerde eser düzeydeki metal iyonlarının tayini oldukça önemli hale gelmiştir.

Nikel, orta derecede toksik elementtir ve sağlık üzerine bilinen en yaygın etkisi alerjik reaksiyonlardır. Kobalt, düşük toksisiteye sahip olup B12 vitamini formunda insan sağlığı için gerekli bir metaldir. Fazla miktarda alındığında ise zararlı etki göstermektedir. Demir ise çoğu enzimin kofaktörü olması ve oksijen taşınmasında rol almasından dolayı yaşam için gerekli metallere birisidir (Tokaloğlu ve diğ., 2009). Oksidant aktivitesi nedeniyle, fazla miktarda alınması durumunda toksik etki göstermektedir. Bu nedenle su örnekleri ve çevresel örneklerde bu metal iyonlarının tayini oldukça önemlidir.

Bu metallerin buldukları çevresel örneklerdeki düşük derişimleri ve karmaşık matriks nedeniyle atomik spektroskopik tayinleri bir önderiştirme yöntemini gerektirir. Bu nedenle, eser miktardaki nikel, demir ve kobaltın deriştirilmesi ve atomik absorpsiyon spektrometrik tayini için deriştirme yöntemi olarak, sıvı faz mikroekstraksiyonun yöntemlerinden dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi seçildi. Eser miktardaki analitlerin uygun ligand ile kompleksi oluşturularak, sulu fazdan organik faza ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Bunun için metal-ligand kompleksi, seçilen dispersif çözücü yardımıyla, uygun bir ekstraksiyon çözücüsü (organik faz) içerisine alındı. Sulu ve organik faz santrifüjleme işlemiyle ayrıldıktan sonra tüpün dibinde biriken sediment-organik faz alındı ve bu faz buharlaştırıldı. Kalıntı üzerine seyreltik asit çözeltisi eklenerek analit çözelti fazına alındı ve alevli AAS'de tayin edildi. Amaçlanan bu yöntemdeki deneysel değişkenler, faktoriyel tasarım ile belirlendi.  $Co^{2+}$  ve  $Fe^{2+}$  iyonları kantitatif geri kazanılamadığından

çalışmaya sadece Ni<sup>2+</sup> iyonları ile devam edildi. Değişkenlerin optimizasyonu sağlandıktan sonra, yöntem gerçek numunelere uygulandı.

## 6.1 Ölçüm Sistemleri

### 6.1.1 Atomik absorpsiyon spektrometresi

Bu çalışmada Ni, Fe ve Co tayini Perkin Elmer Model AAS 200 atomik absorpsiyon spektrometresi ile gerçekleştirildi. Alev olarak hava/asetilen alevi kullanıldı. Çalışma değişkenleri Tablo 6.1’de verilmiştir.

Ölçümler mikroenjeksiyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bunun için sisleştiriciye bağlı kapiler ucuna yerleştirilen bir mikropipet ucunun içine 100 µL örnek çözeltisi hızlı ve kesiksiz olarak mikropipet yardımıyla enjekte edilir. Belirtilen hacimdeki enjeksiyonlarla elde edilen geçişli sinyal yükseklikleri, sürekli örnekleme ile elde edilen sinyallerle aynı yüksekliktedir (Berndt ve diğ., 1978, Elçi ve diğ., 1990).

Tablo 6.1: Aletsel değişkenler

Element	Dalga Boyu, nm	Slit, mm	Lamba mA	Akımı,	Alev Akış Hızı, L/min	
					Hava	Asetilen
Ni	232,00	1,8/1,35	30		10	2,5
Fe	248,33	1,8/1,35	30		10	2,5
Co	240,73	1,8/1,35	30		10	2,5

### 6.1.2 Diğer aletler

Çözeltilerin pH ölçümü için WTW 720 marka pHmetre kullanılmıştır. Tartımlar PRECISA XB 220A marka ± 0.0001 g duyarlıktaki analitik terazi ile yapılmıştır.

Sulu faz ve organik fazın birbirinden ayrılmasında Hettich EBA 20 marka santrifüj cihazı kullanılmıştır. Santrifüj tüpündeki numunelerin santrifüjleme öncesi karıştırılmasında VWR marka mini shaker kullanılmıştır.

## 6.2 Materyaller

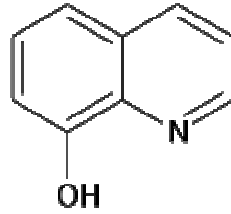
### 6.2.1 Kullanılan reaktif ve çözeltilerin hazırlanması

Bu çalışma boyunca çözeltilerin hazırlanması ve seyreltilmesi aşamalarında ters ozmozla elde edilen, direnci en az 18 MΩ olan deiyonize-saf su kullanılmıştır. Yüksek saflıktaki su Human Power I<sup>plus</sup> marka saf su cihazından alınmıştır. Çalışma

boyunca kullanılan gerekli metal tuzları, nitrik asit, asetik asit, amonyum asetat, amonyak ve amonyum klorür analitik saflıktadır.

Nikel(II) stok çözeltisi  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  olarak hazırlanmıştır. Bunun için Merck'ten satın alınan  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'dan  $0,0495 \text{ g}$  tartılıp hacim saf su ile  $10 \text{ mL}$ 'ye tamamlanmıştır. Daha seyreltik nikel çözeltileri, bu stok çözeltilerden saf su ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Demir(II) stok çözeltisi  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  olacak şekilde Merck'ten satın alınan  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'dan  $0,0356 \text{ g}$  tartılıp hacmin  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  HCl ile  $10 \text{ mL}$ 'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. Daha seyreltik demir çözeltileri, bu stok çözeltilerden saf su ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Kobalt(II) stok çözeltisi  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  olacak şekilde Merck'ten satın alınan  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'dan  $0,04938 \text{ g}$  tartılıp hacmin saf su ile  $10 \text{ mL}$ 'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.

Ligand olarak kullanılan 8-hidroksikinolin çözeltisi, Merck'ten satın alınmıştır. Ligand çözeltisi derişimi  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  olacak şekilde gerekli miktarın metanolde çözülmesiyle günlük olarak hazırlanmıştır.



Şekil 6.1: 8-hidroksikinolinin yapısı

Tampon çözeltilerin hazırlanması:

pH 4 Tamponu :  $15,4 \text{ g}$   $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  az miktar suda çözüldü. Üzerine  $57,6 \text{ mL}$  derişik  $\text{CH}_3\text{COOH}$  eklenip hacim saf su ile  $100 \text{ mL}$ 'ye tamamlandı.

pH 5 Tamponu:  $13,4 \text{ g}$   $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  az miktar suda çözüldü. Üzerine  $5,7 \text{ mL}$  derişik  $\text{CH}_3\text{COOH}$  eklenip hacim saf su ile  $100 \text{ mL}$ 'ye tamamlandı.

pH 6 Tamponu:  $11,7 \text{ g}$   $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  az miktar suda çözüldü. Üzerine  $0,5 \text{ mL}$  derişik  $\text{CH}_3\text{COOH}$  eklenip hacim saf su ile  $100 \text{ mL}$ 'ye tamamlandı.

pH 7 Tamponu:  $1,24 \text{ g}$   $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ve  $0,71 \text{ g}$   $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  tartılıp az miktar suda çözüldü ve hacim saf su ile  $100 \text{ mL}$ 'ye tamamlandı.

pH 8 Tamponu:  $10,7 \text{ gr}$   $\text{NH}_4\text{Cl}$  az miktar saf suda çözüldü. Üzerine  $0,8 \text{ mL}$  derişik  $\text{NH}_3$  eklenip hacim saf su ile  $100 \text{ mL}$ 'ye tamamlandı.

pH 9 Tamponu: 0,1 mol L<sup>-1</sup> 500 mL NH<sub>4</sub>Cl ve 0,1 mol L<sup>-1</sup> 250 mL NH<sub>3</sub> çözeltilerinin karıştırılması ile hazırlandı.

pH 10 Tamponu: 7,4 gr NH<sub>4</sub>Cl tartılıp az miktar suda çözüldü. Üzerine 57 mL derişik NH<sub>3</sub> eklendi, damıtık su ile 100 mL' ye tamamlandı.

### 6.2.2. Örnek toplama ve örneklerin hazırlanması

Bu tez kapsamındaki optimizasyon çalışmaları laboratuarda hazırlanan model çözeltilerle yapıldı. Sonra elde edilen bulguların ışığında çeşitli gerçek örneklerin nikel içerikleri tayin edildi.

Musluk suyu örnekleri, Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Analitik Kimya araştırma laboratuvarı musluğundan yaklaşık 5 dakika musluk açık bırakıldıktan sonra alındı ve herhangi bir ön işlemden geçirilmeden analiz edildi.

Marketlerden alınan, plastik şişelerdeki beş ayrı şişe suyu örnekleri herhangi bir ön işlemden geçirilmeden analiz edildi.

Atık su örnekleri, Denizli Belediyesi Atık Su Arıtma Tesisi'nden giriş ve çıkış suyu olarak alındı. Alınan atık su tesis giriş suyu çok kirli olduğundan alınan örnek önce adi süzgeç kağıdından, sonra siyah ve mavi bant süzgeç kağıdından süzöldükten sonra süzöntü 0,45 µm gözenekli selüloz nitrat membran filtreden (Sartorius GmbH, Germany) süzöldü. Atık suyun tesiste arıtılmasından sonra tesis çıkışından alınan arıtılmış atık su örneği sadece 0,45 µm gözenekli selüloz nitrat membran filtreden (Sartorius GmbH, Germany) süzöldü. Örnekler HNO<sub>3</sub> ile asitlendirildi (pH:4) ve 4°C'de buzdolabında muhafaza edildi.

Nikel kaplı tel örneği, Erbakır fimasından temin edildi. Analiz öncesi 0,0020 g tel örneği tartılarak 3-4 damla derişik HNO<sub>3</sub>'te çözüldü ve sonra saf su ile 1 L'ye seyrelti. Bu çözeltilde nikel tayin edildi.

Sertifikalı referans madde BCR-715(endüstriyel atık su) ve BCR-403(deniz suyu) European Commission, Joint Research Centre, IRMM, Belçika'dan satın alındı. Asidik olan BCR-403 deniz suyundan 2,5 mL alındı ve nötralleştirildikten sonra 50 mL'ye tamamlandı.

Sertifikalı referans madde SRM 1515 Apple Leaves, National Institute of Standards & Technology'den satın alındı. 1 g madde üzerine 8 mL HNO<sub>3</sub>:HClO<sub>4</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

(2:1:1) karışımı eklendi. 160-170 °C’de ısıtıldı, soğutulup 2mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve 8 mL HNO<sub>3</sub>:HClO<sub>4</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> asit karışımı eklenip tekrar ısıtıldı. Dipte kalan çözelti 2500 rpm de 5 dakika santrifüjlendi ve üstteki berrak çözelti alındı. Bir miktar saf su ekleyip, NaOH kullanarak çözelti nötrleştirildi ve son hacim saf su ile 100 mL ye tamamlandı (Wieteska ve diğ., 1996).

### **6.2.3 Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon ile nikel deriştirilmesi**

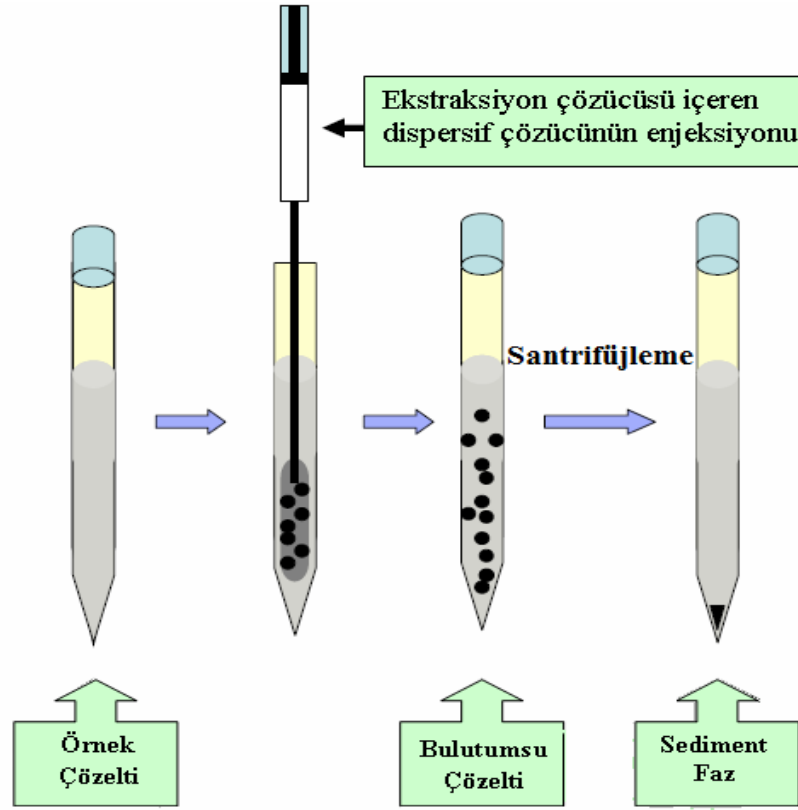
Geliştirilmesi düşünölen dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) yönteminin optimizasyonu için, model çözeltiler kullanıldı. Deneyde santrifüj tüpüne 7,5 mL içersinde derişimi 0,033 mg L<sup>-1</sup> olacak şekilde Ni(II) metal iyonları içeren çözeltilye 1 mL pH:6 asetat tamponu, 500 µL 0,01 mol L<sup>-1</sup> 8-hidroksikinolin çözeltilisinden eklenmiştir. Üzerine hızlıca 300 µL CHCl<sub>3</sub> içeren 1 mL metanol ilave edilmiştir. Örnek 725 rpm’de 3 dakika shaker ile çalkalanmış, daha sonra 1000 rpm’de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Daha sonra üstteki sulu faz damlalıkla alınarak, tüpün dibinde kalan organik faz, su banyosunda buharlaştırılmıştır. Kalıntı 30 µL derişik HNO<sub>3</sub> içeren 150 µL’lik saf suda çözülerak alevli AAS de okunmuştur. DLLME yönteminin deney basamakları Şekil 6.2’de gösterilmiştir.

Çalışmanın başlangıcında sulu örnek çözeltilisine Fe(II) ve Co(II) iyonları da eklenmişti. Faktoriyel tasarım ile pH optimizasyonunda Fe ve Co iyonları, Ni iyonlarıyla birlikte tayin edilemediğinden çalışmalara sadece Ni için devam edilmiştir.

### **6.2.4. Gerçek örneklerde DLLME ile Ni deriştirilmesi ve tayini**

15 mL’lik plastik santrifüj tüplerine alınan 7,5 mL örnek çözeltilisine 1 mL pH:6 asetat tamponu, 500 µL 0,01 mol L<sup>-1</sup> 8-hidroksikinolin çözeltilisinden eklendi. 300 µL CHCl<sub>3</sub> ve 1 mL metanol içeren karışım 2 mL’lik enjektörle çekilerek hızlıca bu tüpteki çözeltilye eklendi. Örnek 725 rpm’de 3 dakika shaker ile çalkalandıktan sonra 1000 rpm’de 5 dakika santrifüjlendi. Daha sonra üstteki sulu faz damlalıkla alındı ve tüpün dibinde kalan organik faz, su banyosunda buharlaştırıldı. Kalıntı 30 µL derişik HNO<sub>3</sub> içeren 150 µL’lik saf suya alınarak çözeltildeki nikel, alevli AAS ile tayin edildi.





Şekil 6.2: DLLME deneysel akış şeması (Ojeda ve Rojas, 2009)

### 6.3 Yöntemin Optimizasyonu ve Bulgular

DLLME yönteminin optimizasyonunda MINITAB 13.1 istatistik programı ile faktoriyel tasarım yapılarak değişkenlerin rastgele kombinasyonu ile oluşturulan deneysel şartlarda deneyler gerçekleştirildi. Deneylerde ligand derişimi  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  dir. Plackett Burman tasarım değişkenleri Tablo 6.2’de verilmiştir.

Tablo 6.2: Plackett Burman tasarım değişkenleri

Faktörler	Adı	Düşük (-)	Yüksek (+)
A	Örnek Hacmi	5	10
B	pH	6	10
C	Ekstraksiyon Çözücüsü	$\text{CCl}_4$	$\text{CHCl}_3$
D	Ekstraksiyon Çöz. Hacmi	100	500
E	Dispersif Çözücü	Aseton	Metanol
F	Dispersif Çözücü Hacmi	500	1500
G	Ekstraksiyon Süresi	1	5

Tablo 6.3: Plackett Burman tasarım matrisi-I

Deney	A	B	C	D	E	F	G
1	-	+	+	+	-	+	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	+	-	-	+	+	+
4	+	+	+	-	-	-	+
5	+	+	-	+	+	-	-
6	+	-	-	+	-	+	+
7	0	0	+	0	-	0	0
8	0	0	-	0	+	0	0
9	+	-	+	-	+	+	-
10	-	-	+	+	+	-	+
11	0	0	+	0	+	0	0
12	0	0	-	0	-	0	0

Bu deneysel tasarıma göre analitin kantitatif geri kazanımını sağlayan en iyi değişken değerlerini bulmak için DLLME deneyi uygulandı. Değişkenlerin optimizasyonunda, karşılaştırma ölçütü olarak analitlerin geri kazanma verimi kullanıldı. Ni(II) iyonu için Plackett Burman deney şartları ve geri kazanım değerleri Tablo 6.4'te verilmiştir.

Tablo 6.4: Ni(II) iyonu için deney şartları ve geri kazanım değerleri (n:4)

Deney No	Örnek Hacmi, mL	pH	Eks traksiyon Çözücüsü Türü	Eks.Çöz. Hacmi, µL	Dis. Çözücü Türü	Dis.Çöz. Hacmi, µL	Eks. Süresi, dk.	Nikel için % R
1	5	10	Kloroform	500	Aseton	1500	1	30,8
2	5	6	Karbon tetraklorür	100	Aseton	500	1	94,0
3	5	10	Karbon tetraklorür	100	Metanol	1500	5	78,2
4	10	10	Kloroform	100	Aseton	500	5	76,9
5	10	10	Karbon tetraklorür	500	Metanol	500	1	68,0
6	10	6	Karbon tetraklorür	500	Aseton	1500	5	97,8
7	7,5	8	Kloroform	300	Aseton	1000	3	80,1
8	7,5	8	Karbon tetraklorür	300	Metanol	1000	3	63,0
9*	10	6	Kloroform	100	Metanol	1500	1	0,00
10	5	6	Kloroform	500	Metanol	500	5	103,8
11	7,5	8	Kloroform	300	Metanol	1000	3	75,3
12	7,5	8	Karbon tetraklorür	300	Aseton	1000	3	57,7

\*Bu deneyde ekstraksiyon fazı oluşmadığından geri kazanım için sıfır yazıldı.

Değişkenlerin etki değerlerinin boyutu Pareto kart diyagramından belirlenmiştir. Buna göre ekstraksiyon çözücüsü, dispersif çözücü hacmi ve örnek hacminin Ni iyonlarının geri kazanımında etkili olduğu belirlenmiştir.

Analitler için elde edilen geri kazanım değerlerinin %95 güven seviyesinde faktoriyel tasarımda varyans analizleri yapıldı ve her bir faktör için etki değerleri hesaplandı. Tablo 6.4’de verilen tasarımda pH faktörünün etki değeri -10,45 olarak bulundu. Etki değerinin negatif olması, pH’ın düşük seviyelerde çalışılması gerektiğini göstermektedir. Bu nedenle pH’ı tekrar değerlendirmek ve daha düşük pH’da, asidik bölgede de çalışmak için pH faktörü için düşük seviye 4, yüksek seviye 8 olacak şekilde yeni bir Plackett-Burman tasarım yapıldı. Diğer faktörler ve seviyeleri değiştirilmedi (Tablo 6.5). Aynı tasarım koşullarında demir ve kobaltın geri kazanma değerleri de değerlendirildi.

Tablo 6.5: Plackett Burman tasarım matrisi-II

Deney	A	B	C	D	E	F	G
1	+	+	+	-	-	+	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	+	-	+	+	+	-
4	+	-	+	+	+	-	-
5	+	+	-	-	+	-	+
6	+	-	-	+	-	+	+
7	0	0	+	0	-	0	0
8	0	0	-	0	+	0	0
9	-	-	+	-	+	+	+
10	-	+	+	+	-	-	+
11	0	0	+	0	+	0	0
12	0	0	-	0	-	0	0

Tablo 6.3 ve Tablo 6.5’teki tasarım matrislerinde 2, 6, 7, 8, 11 ve 12 numaralı deneylerde pH dışındaki değişkenlerin tüm seviyeleri aynıdır. Fakat faktoriyel tasarımda tasarım matrisi yapılırken seviyeler rastgele dağıtıldığından 2. tasarımdaki diğer deneyler ilk tasarımdaki deneylerden farklıdır.

Yapılan ikinci tasarım şartları ve analitlerin geri kazanım değerleri Tablo 6.6’da verilmiştir.

Tablo 6.6: Ni(II), Fe(II) ve Co(II) için deney şartları ve geri kazanım değerleri (n:4)

D deney No	Örnek		Eks. Çöz.	Eks.Çöz.		Dis.Çöz. Hacmi, µL	Eks. Süresi, dk.	Nikel %R	Demir %R	Kobalt %R
	Hacmi, mL	pH		Hacmi, µL	Dispersif Çözücü					
1	10	8	CHCl <sub>3</sub>	100	Aseton	1500	1	98,0	44,4	23,5
2	5	4	CCl <sub>4</sub>	100	Aseton	500	1	13,6	13,3	15,1
3	5	8	CCl <sub>4</sub>	500	Metanol	1500	1	43,9	36,6	26,5
4	10	4	CHCl <sub>3</sub>	500	Metanol	500	1	47,8	0	11,8
5	10	8	CCl <sub>4</sub>	100	Metanol	500	5	50,2	47,5	17,6
6	10	4	CCl <sub>4</sub>	500	Aseton	1500	5	0	10,0	7,8
7	7,5	6	CHCl <sub>3</sub>	300	Aseton	1000	3	32,9	101,3	17,7
8	7,5	6	CCl <sub>4</sub>	300	Metanol	1000	3	35,8	30,1	8,9
9*	5	4	CHCl <sub>3</sub>	100	Metanol	1500	5	0	0	0
10	5	8	CHCl <sub>3</sub>	500	Aseton	500	5	95,7	14,0	35,3
11	7,5	6	CHCl <sub>3</sub>	300	Metanol	1000	3	99,8	9,5	17,7
12	7,5	6	CCl <sub>4</sub>	300	Aseton	1000	3	0	11,1	26,6

\*Bu deneyde ekstraksiyon fazı oluşmadığından geri kazanım için sıfır yazıldı.

İlk tasarımın (Tablo 6.4) 2 numaralı deneyinde pH:6'da Ni için geri kazanım değeri % 94,0 iken ikinci tasarımda (Tablo 6.6) pH:4'te geri kazanım değeri % 13,6 olarak bulunmuştur. Her iki tasarımdaki 6 numaralı deneyler karşılaştırıldığında ilk tasarımda Ni için geri kazanım değeri pH:6'da %97,76 (Tablo 6.4) iken ikinci tasarımda pH:4'te Ni tayin edilememiştir. 11 numaralı deneyde ise aynı şartlarda ikinci tasarımda pH: 6'da geri kazanım değeri %99,81 olarak bulunmuştur (Tablo 6.6). Bu verilerden Ni iyonlarının geri kazanımının pH:6'da daha iyi olduğu anlaşılmaktadır.

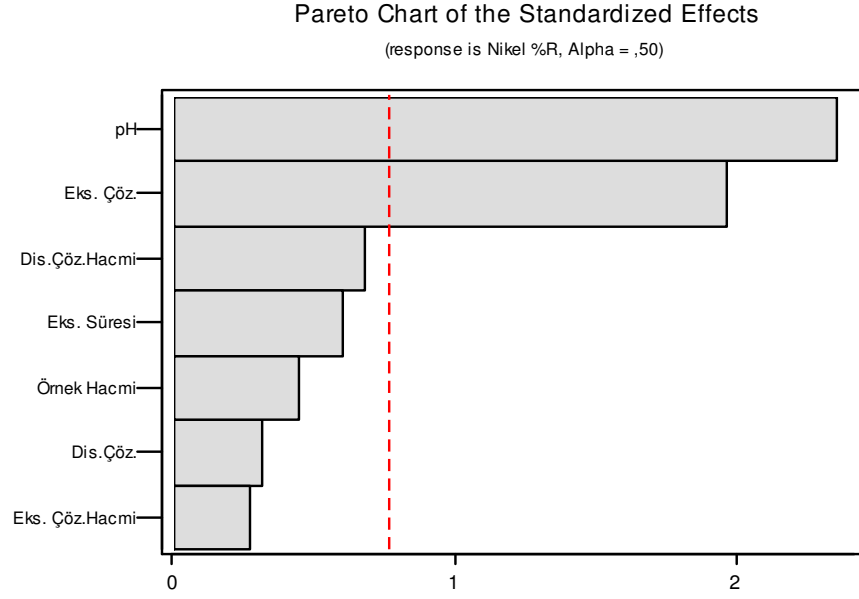
Analitler için elde edilen geri kazanım değerlerinin %95 güven seviyesinde faktoriyel tasarımda varyans analizleri yapılarak, her bir faktör için etki değerleri, T ve P değerleri hesaplanmıştır (Tablo 6.7). P değerinin 0,05'ten küçük olması faktörün ekstraksiyon için önemli ve etkin olduğunu gösterir.

Tablo 6.7: Faktoriyel tasarım istatistiki verileri

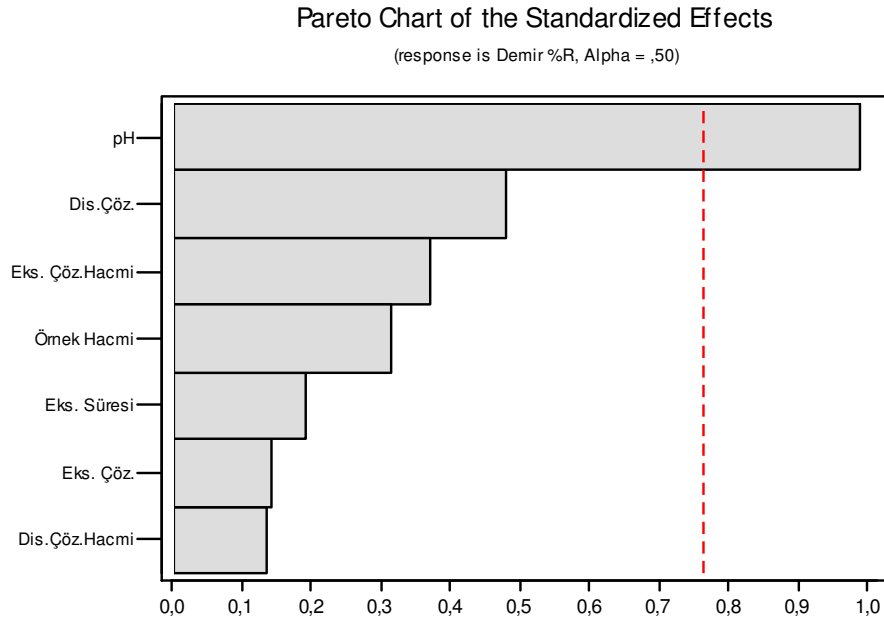
Faktör	Ni			Fe			Co		
	Etki Değeri	T	P	Etki Değeri	T	P	Etki Değeri	T	P
Örnek Hacmi	10,68	0,45	0,686	9,49	0,31	0,774	-4,05	-1,09	0,356
pH	56,62	2,36	0,099	29,80	0,99	0,396	17,07	4,60	0,019
Eks. Çöz.	38,44	1,96	0,144	3,43	0,14	0,898	0,59	0,20	0,857
Eks.Çöz. Hacmi	6,37	0,27	0,808	-11,15	-0,37	0,736	6,24	1,68	0,191
Dis. Çözücü	6,20	0,32	0,777	-11,74	-0,48	0,666	-7,26	-2,39	0,097
Dis.Çöz. Hacmi	-16,33	-0,68	0,545	4,03	0,13	0,902	-5,52	-1,49	0,234
Eks. Süresi	-14,36	-0,60	0,591	-5,70	-0,19	0,862	-4,05	-1,09	0,356

Pareto kart diyagramları ile değişkenlerin etki değerlerinin boyutu belirlenir ve DLLME yönteminin analitlere uygulanmasında değişkenlerin hangi düzeylerinin seçileceğine karar verilir. Buna göre Ni iyonlarının ekstraksiyonunda, pH, ekstraksiyon çözücüsü, ekstraksiyon çözücüsü hacmi, dispersif çözücü ve örnek hacmi değişkenlerinin etki değerleri pozitif olduğundan deneysel tasarım verilerine göre bu değişkenlerin daha yüksek seviyesinde çalışılması gerekmektedir. Dispersif çözücü hacmi ve ekstraksiyon süresinin etki değerleri negatif olduğundan deneylerde bu değişkenler için düşük seviyede çalışılmalıdır. Fe iyonlarının ekstraksiyonunda ise örnek hacmi, pH, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon çözücüsü ve dispersif çözücü hacmi değişkenleri için yüksek seviyede, ekstraksiyon çözücü hacmi ve dispersif çözücü türü değişkenlerinde ise düşük seviyede çalışılması gerekmektedir.

Ni ve Fe iyonları için Pareto kart etki değerleri Şekil 6.3 ve 6.4'te verilmiştir. Şekillere göre Ni ve Fe tayininde pH, referans hattını geçtiği için, ekstraksiyon veriminde en önemli değişkendir.



Şekil 6.3: Ni(II)'ye ait verilerin pareto kart ile gösterimi

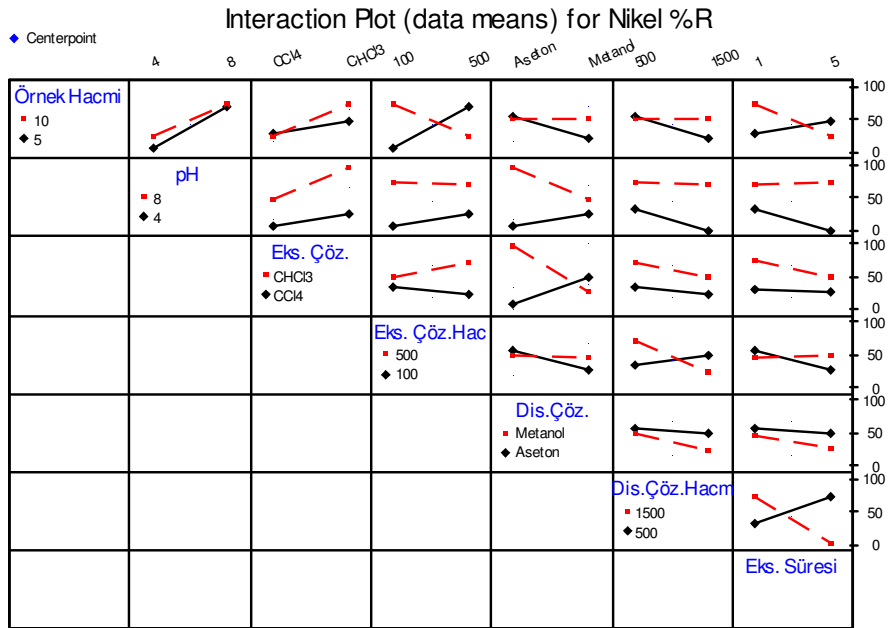


Şekil 6.4: Fe(II)'ye ait verilerin pareto kart ile gösterimi

pH, hem Fe hem de Ni iyonunun ekstraksiyon verimi için en önemli bir değişkendir. Etki değerlerinin pozitif olmasından dolayı düşük seviye olan pH:4 yerine, pH:6 olarak belirlendi. (Tasarımda yüksek pH'larda çalışma öngörülürken bir önceki tasarımda yüksek pH'larda Ni iyonlarının geri kazanım değerlerinin düştüğü görülmüştü. Bu nedenle Ni'in geri kazanılması üzerinde pH etkisi ayrıca

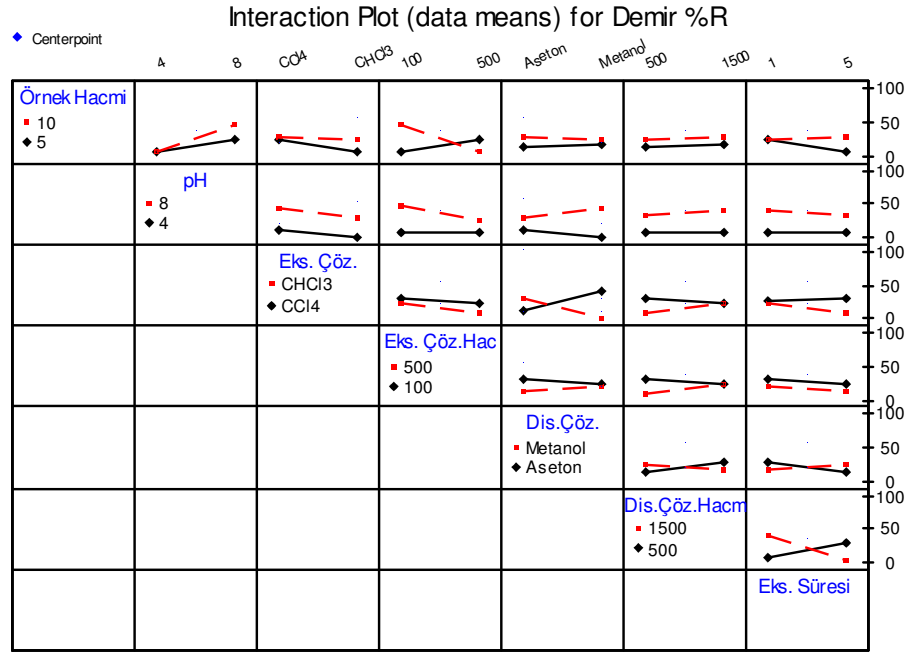
değerlendirildi ve sonuçlar Bölüm 6.3.1’de verildi). Nikel için diğer önemli etkiler ekstraksiyon çözücüsü türü ve dispersif çözücü hacmi iken, Fe için dispersif çözücü türü ve ekstraksiyon çözücüsü hacmidir.

Değişken etkileşim grafikleri (Şekil 6.5-6.6) incelenirken, değişkenler arasındaki etkileşim eğrisi birbirine paralel ise; değişkenler arasında etkileşim olmadığı, etkileşim grafikleri çakışıyor ise; değişkenlerin birbirini etkilediğine karar verilir. Buna göre Şekil 6.5’te Ni(II) ekstraksiyonunda ekstraksiyon çözücüsünün, pH ve dispersif çözücü hacmi ile etkileşimleri önemsizken, dispersif çözücü türü ile etkileşimi önemli görünmektedir. Ayrıca ekstraksiyon çözücü hacminin hem örnek hacmi hem de dispersif çözücü hacmi ile etkileşiminin önemli olduğu görünmektedir.



Şekil 6.5: Ni(II)'in geri kazanımında faktörlerin birbirleri ile etkileşimi

Şekil 6.6'daki etkileşimler incelendiğinde Fe(II) ekstraksiyonunda ekstraksiyon çözücüsü ile pH arasında etkileşim olmadığı, fakat dispersif çözücü türü ile birbirlerini etkiledikleri görülmektedir. Ni(II) iyonlarının ekstraksiyonuna benzer şekilde Fe(II) ekstraksiyonunda, ekstraksiyon çözücü hacminin hem örnek hacmi hem de dispersif çözücü hacmi ile etkileşiminin önemli olduğu görünmektedir.



Şekil 6.6: Fe(II)'in geri kazanımında faktörlerin birbirleri ile etkileşimi

Her iki etkileşim grafiğinde dispersif çözücü türünün ekstraksiyon çözücüsü türü ile etkileşiminin önemli olduğu görülmektedir. Ni ekstraksiyonunda dispersif çözücü olarak yüksek seviye (metanol), Fe ekstraksiyonunda ise düşük seviyede (aseton) çalışılması tasarımda öngörülmüştü. Tablo 6.6 incelendiğinde 7 ve 11 numaralı deneylerde dispersif çözücü türü dışındaki tüm faktörler aynı olduğunda Ni ve Fe'in kantitatif olarak geri kazanıldığı görülmüştür. Dispersif çözücü türünü farklılaştırarak aynı çözelti ortamından her iki analitin geri alınabileceği düşünülmüş ve dispersif çözücü olarak iki çözeltinin karışımı kullanılarak MINITAB 13.1 istatistik programında 2-seviyeli faktoriyel seçilerek tam (full) faktoriyel tasarım yapılmıştır. Tasarım faktör, seviye ve deneyleri Tablo 6.8 ve 6.9'da verilmiştir. Deneyde pH:6, ekstraksiyon çözücüsü hacmi 300 µL, dispersif çözücü hacmi 1000 (500+500) µL, ekstraksiyon süresi 3 dakika ve örnek hacmi 7,5 mL olarak sabit tutulmuştur.

Tablo 6.8: Tam (full) faktoriyel tasarım değişkenleri-I

Faktörler	Adı	Düşük (-)	Yüksek (+)
A	Ekstraksiyon Çözücüsü	Kloroform	Klorobenzen
B	Dispersif Çözücü 1	Metanol	Aseton
C	Dispersif Çözücü 2	Asetonitril	Metanol



Tablo 6.9: Tam (full) faktoriyel tasarım deneyleri ve geri kazanım değerleri-I (n:4)

Deney No	Ekstraksiyon Çözücüsü	Dispersif Çözücü 1	Dispersif Çözücü 2	Nikel %R	Demir %R	Kobalt %R
1	Kloroform	Aseton	Asetonitril	61,5	18,9	22,7
2	Kloroform	Aseton	MeOH	102,6	49,1	9,1
3	Kloroform	MeOH	Asetonitril	63,8	8,8	36,4
4	Klorobenzen	Aseton	Asetonitril	56,4	69,2	0
5	Klorobenzen	MeOH	MeOH	80,0	41,3	13,6
6	Klorobenzen	Aseton	MeOH	43,6	69,2	40,9
7	Klorobenzen	MeOH	Asetonitril	99,1	11,0	27,3
8	Kloroform	MeOH	MeOH	100,8	54,1	0

Tablo 6.9’de 2, 7 ve 8 numaralı deneylerde Ni için kantitatif geri kazanım değeri elde edilirken Fe kantitatif geri alınmamıştır. Sonraki deneyler için ekstraksiyon çözücüsü olarak kloroform, dispersif çözücü olarak da metanol seçildi. Çözücü türlerinin optimize edilmesinden sonra da ekstraksiyon ve dispersif çözücü hacimleri ve ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi incelendi (Tablo 6.10 ve 6.11).

Tablo 6.10: Tam (full) faktoriyel tasarım değişkenleri-II

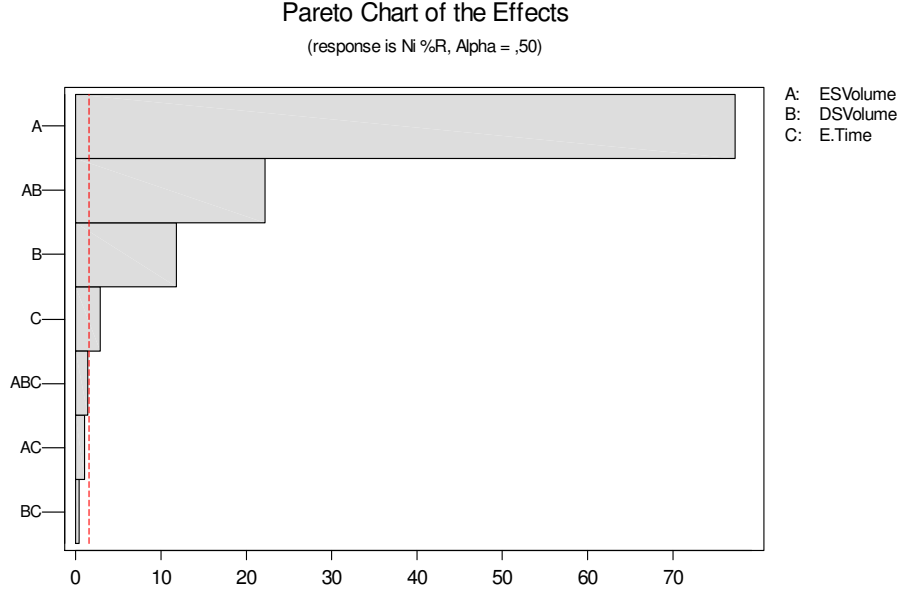
Faktörler	Adı	Düşük (-)	Yüksek (+)
A	Ekstraksiyon Çözücüsü Hacmi	100	300
B	Dispersif Çözücü Hacmi	500	1000
C	Ekstraksiyon Süresi	1	3

Tablo 6.11: Tam (full) faktoriyel tasarım deneyleri ve geri kazanım değerleri-II (n:4)

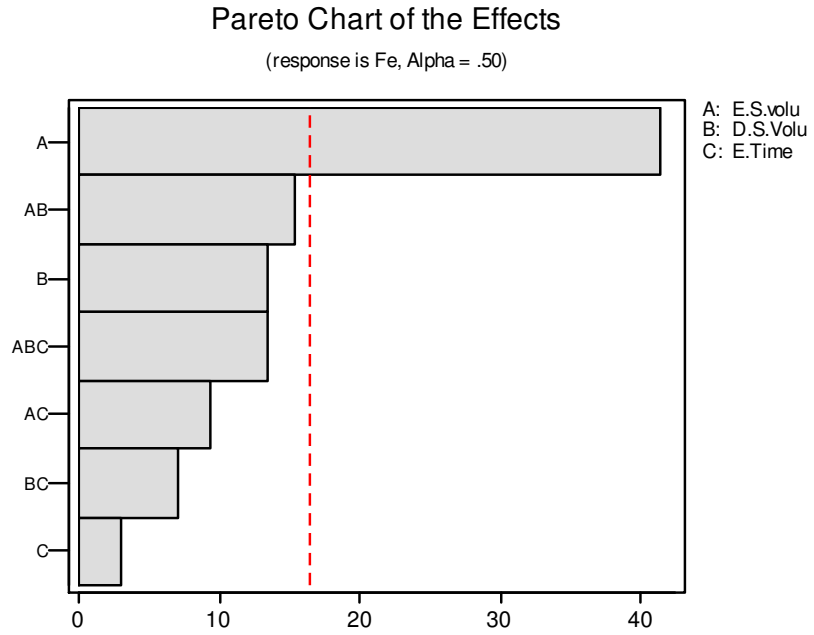
Deney No	Eks.Çözücü Hacmi, µL	Disp.Çözücü Hacmi, µL	Ekstraksiyon Süresi, dk.	Nikel %R	Demir %R	Kobalt %R
1	300	1000	1	97,1	52,7	10,8
2*	100	1000	1	0	0	0
3	300	1000	3	102,0	60,6	16,2
4*	100	1000	3	0	0	0
5	300	500	1	64,1	71,3	10,8
6	100	500	3	12,2	35,1	32,3
7	100	500	1	8,7	22,3	10,8
8	300	500	3	67,0	38,3	21,5

\*Bu deneylerde ekstraksiyon fazı oluşmadığından geri kazanım için sıfır yazıldı.

Tablo 6.11’de 1 ve 3 numaralı deneylerde Ni için kantitatif geri kazanım değeri elde edilirken Fe kantitatif geri alınamamıştır. Değişkenlerinin etki değerlerinin boyutu Pareto kart diyagramlarından anlaşılabilir (Şekil 6.7 ve 6.8).

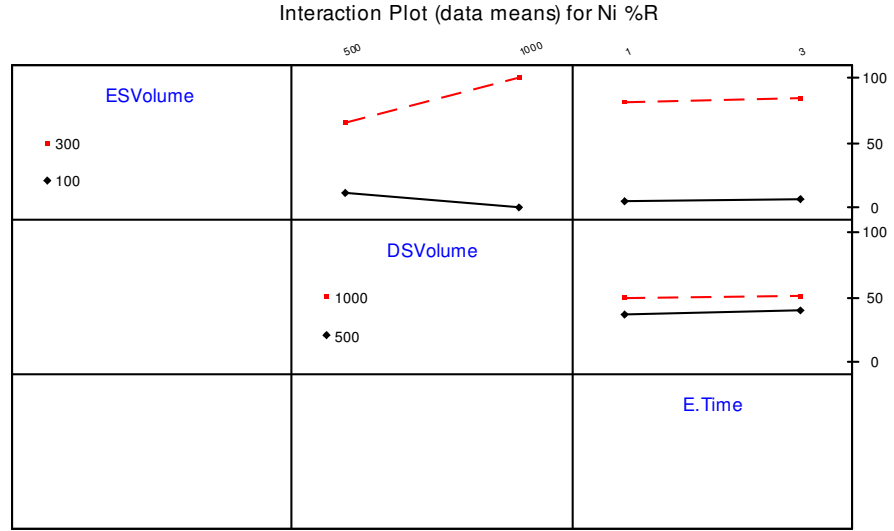


Şekil 6.7: Ni(II)'ye ait verilerin pareto kart ile gösterimi-II

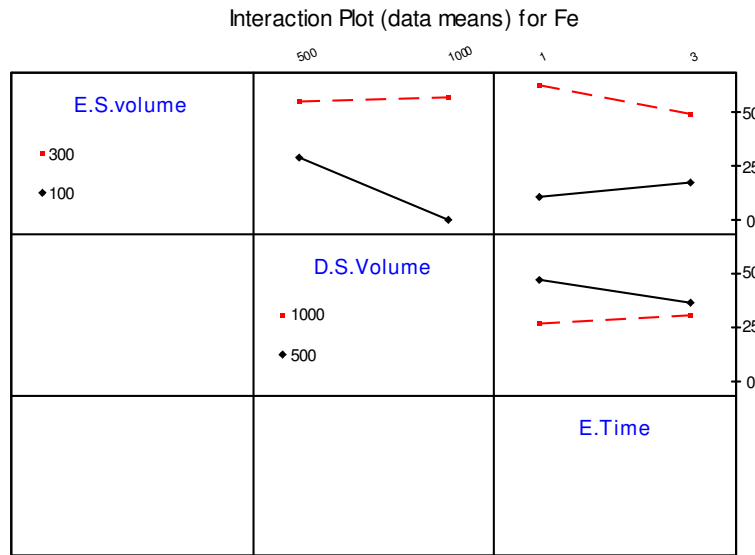


Şekil 6.8: Fe(II)'ye ait verilerin pareto kart ile gösterimi-II

Ni ve Fe iyonlarının geri kazanımı için en önemli etkinin ekstraksiyon çözücüsü hacmi (Şekil 6.7-6.8) olduğu görülmektedir. Ni için etki değeri (77,3175) ve Fe için etki değeri (41,353) pozitif olduğundan yüksek seviye olan 300  $\mu\text{L}$ , ekstraksiyon çözücü hacmi olarak belirlenmiştir. Dispersif çözücü hacmi de 1000  $\mu\text{L}$  olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresinin çok önemli olmadığı görülmüştür.

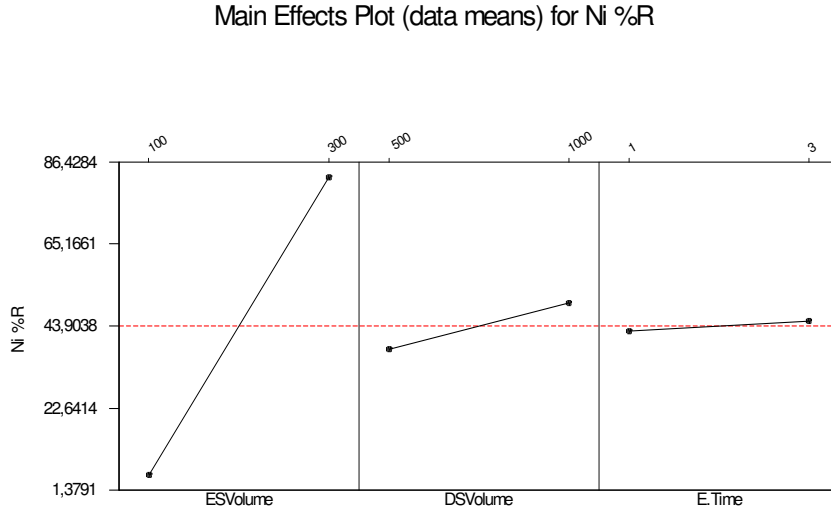


Şekil 6.9: Ni(II)'nin geri kazanımında ekstraksiyon ve dispersif çözücü hacmi ve ekstraksiyon süresinin birbirleri ile etkileşimleri



Şekil 6.10: Fe(II)'nin geri kazanımında ekstraksiyon ve dispersif çözücü hacmi ve ekstraksiyon süresinin birbirleri ile etkileşimleri

Faktörlerin birbirleri ile etkileşimleri incelendiğinde çizgiler paralel olduğunda o iki etkileşim önemsizdir. Şekil 6.9’da ekstraksiyon zamanının hem dispersif çözücü hacmi ile hem de ekstraksiyon çözücüsü hacmi ile etkileşiminin Ni iyonlarının geri kazanımında etili olmadığı görülmektedir. Şekil 6.10’da ise Fe(II) iyonlarının ekstraksiyonunda her bir değişkenin birbirleri ile etkileşimlerinin önemli olduğu görülmektedir.

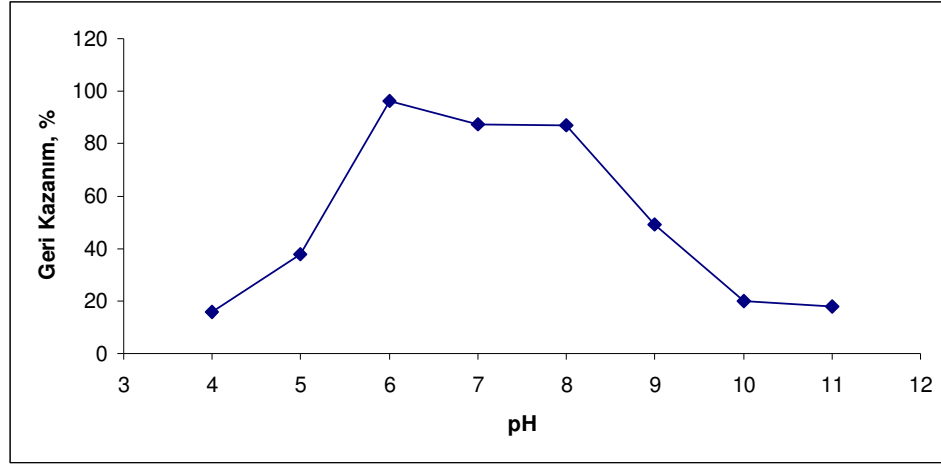


Şekil 6.11: Ni(II)’nin geri kazanımında faktörlerin etkisi

Şekil 6.11 incelendiğinde Ni iyonunun ekstraksiyonu için ekstraksiyon çözücüsü oldukça büyük bir etkiye sahiptir. Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi arttıkça geri kazanım artmaktadır. Ekstraksiyon süresi ekstraksiyon verimine çok fazla etki etmemektedir.

### 6.3.1 pH etkisi

Metal komplekslerinin kullanımını esas alan önderiştirme yöntemlerinde pH en önemli değişkendir. Çünkü kompleks oluşumu çözelti pH’ı ile yakından ilgilidir. Bu nedenle Ni iyonlarının DLLME ile önderiştirilmesine pH etkisi incelendi ve bu amaçla, çalışılan pH değerlerinde tampon çözeltiler kullanıldı. Örnek hacmi 7,5 mL, nikel miktarı 0,5 µg alındı ve bunlara 1 mL tampon çözelti ile 0,01 mol L<sup>-1</sup> 8-hidroksikinolin çözeltisinden 0,5 mL eklendi. Bölüm 6.2.2’de verilen yöntem uygulandı.



Şekil 6.12: DLLME ile Ni iyonlarının geri kazanımına pH etkisi

Şekil 6.12’de görüldüğü gibi DLLME ile Ni iyonlarının tayininde pH:6 da geri kazanım değeri kantitatifdir. Bu nedenle deneylerde optimum pH 6 olarak belirlenmiştir.

### 6.3.2 Tampon türü ve reaktif ekleme sırasının etkisi

DLLME ile önderiştirme yönteminde  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONH}_4$  tamponu, pH:6 için kullanıldığında Ni(II) iyonları ile aynı ortamda bulunan Co(II) ve Fe(II) iyonlarının geri kazanım değerleri düşük bulunmuştu. Bu düşük değerlerden tampon bileşiminin etkili olup-olmadığı anlamak için pH:6 tamponu olarak amonyum asetat yerine sodyum asetat kullanımıyla hazırlanan asetat tamponunu ile gerçekleştirilen deneyler sonrasında geri kazanım değerleri Ni(II), Co(II) ve Fe(II) için sırasıyla % 17,2; 11,1 ve 46,0 olarak bulunmuştur. Tampon bileşimi değiştiğinde Ni(II) iyonları da kantitatif olarak geri kazanılamamıştır.

DLLME çalışmasında pH ayarlanmasında tampon yerine, asit-baz kullanımının etkisi de değerlendirildi. Fakat Ni(II), Co(II) ve Fe(II) için geri kazanım değerleri sırasıyla % 45,37; 42,86 ve 20,0 olarak düşük bulundu. Bu, en azından nikel tampon çözelti kullanımının gerekli olduğunu göstermiştir.

Çalışmada reaktif ekleme sırasının analitlerin geri kazanma değerlerinin etkisi de incelendi. Tampon, ligand sırası değiştirilerek, örnek çözeltilisine önce 8-hidroksikinolin çözeltisi, sonra pH:6 (asetik asit/amonyum asetat) tamponu ilave edilerek DLLME uygulandı. Ni için geri kazanım değeri % 93,9 olarak elde edilirken Fe(II) ve Co(II) için geri kazanım değerleri sırasıyla % 5,4 ve % 14,8 olarak

bulunmuştur. Ligand ve tampon ekleme sırasının önemli olmadığı anlaşılmıştır. Yapılan faktoriyel tasarım ve pH taraması sonucunda Fe ve Co, Ni ile birlikte tayin edilemediğinden çalışmalara sadece Ni tayini için devam edilmiştir.

#### **Ni için optimum şartlar:**

**pH:6 (Asetik asit/Amonyum asetat tamponu)**

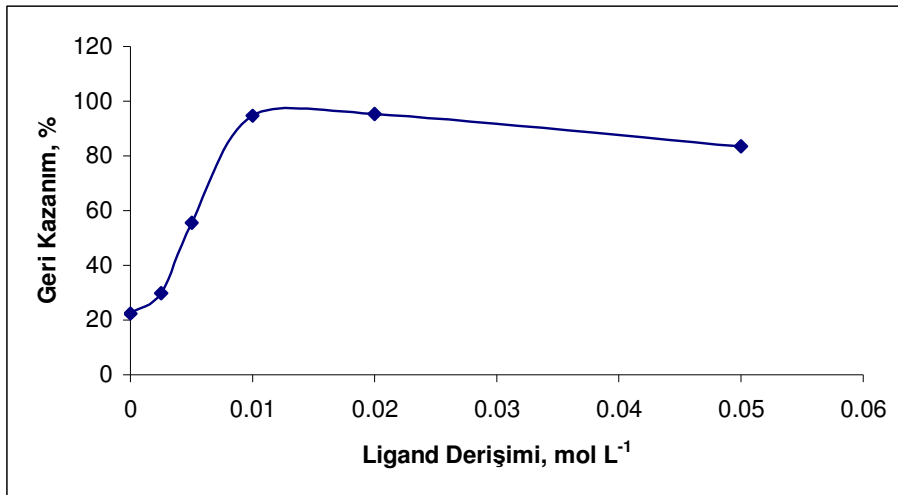
**Ekstraksiyon çözücüsü ve hacmi: Klorofom, 300 µL**

**Dispersif Çözücü ve hacmi: Metanol, 1000 µL**

**Ekstraksiyon süresi: 3 dakika** olarak, belirlenmiştir.

#### **6.3.3 Ligand derişiminin ve ilave şeklinin etkisi**

Ekstraksiyon verimini etkileyen bir diğer değişken ligand derişimidir. Kompleks oluşum dengesinin kompleks oluşumu lehine kayması ve mevcut nikelin tamamını kompleksleştirmek için ligand derişimi önemlidir. Bunun için 0,0025-0,05 mol L<sup>-1</sup> derişim aralığında 8-hidroksikinolin çözeltileri hazırlandı ve bu çözeltilerden örnek çözeltisine 0,5 mL eklendi. Şekil 6.13'te görüldüğü gibi ligand derişimi 0-0,01 mol L<sup>-1</sup> aralığında Ni(II) iyonlarının geri kazanım değeri artmakta, 0,01 mol L<sup>-1</sup> den fazla olduğunda ekstraksiyon fazı doygun hale geldiğinden geri kazanım değeri azalmaktadır. Elde edilen verilerden optimum ligand derişimi 0,01 mol L<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir.



Şekil 6.13: Ni iyonlarının geri kazanımına ligand derişimi etkisi

Literatürde DLLME çalışmalarda ligand, sulu çözeltiye ekstraksiyon ve dispersif çözücü karışımı eklenmeden önce (Shamsipur ve diğ., 2009, Jia ve diğ., 2010) ya da

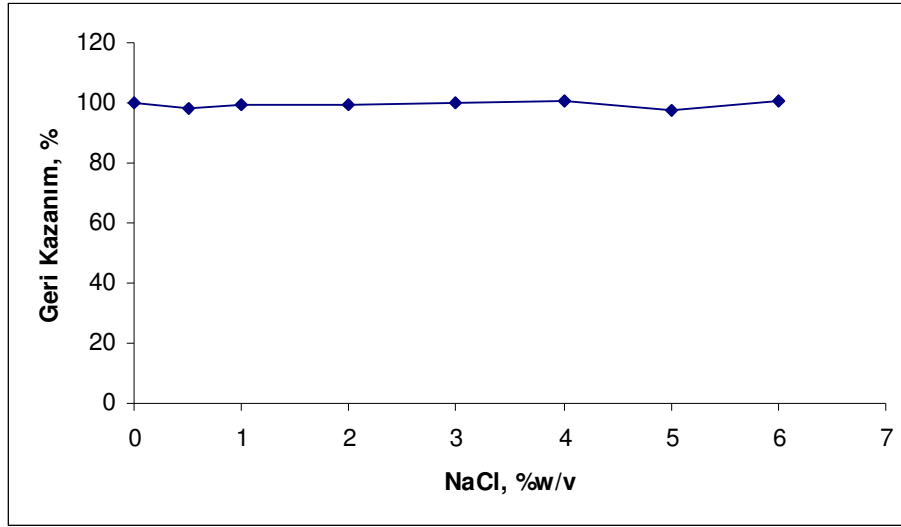
dispersif çözücü ve ekstraksiyon çözücüsü ile birlikte üçlü karışım halinde eklenmesi gerektiği (Baliza ve diğ., 2009, Rivas ve diğ., 2009) konusunda uygulamalar vardır. Bu sebeple ligand ilave şeklinin Ni iyonlarının ekstraksiyonuna etkisi incelendi. Bu amaçla 8-hidroksikinolin çözeltisinin örnek çözeltisine ilavesi iki şekilde yapıldı. İlk olarak 0,01 mol L<sup>-1</sup> ligand çözeltisi metanolde hazırlandı. Bu çözeltinin 0,5 mL'si belirli pH'ya tamponlanmış örnek çözeltisine ilave edildi. Bu çözelti üzerine 300 µL kloroform içeren 1 mL metanol çözeltisi hızlıca eklenerek deneyler yapıldı. İkinci yöntemde ise, derişimi 5.10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> olan ligand çözeltisi metanolde hazırlandıktan sonra, bu çözeltinin 1 mL'si ile 300 µL kloroform karışımı belirli pH'ya tamponlanmış örnek çözeltisine ilave edildi. (Her iki yöntemde de örnek çözeltisine ilave edilen ligand miktarı 5.10<sup>-6</sup> moldür.) Bu yöntemde ligand+dispersif çözücü+ekstraksiyon çözücüsünün her üçü aynı ortamda olduğundan birinci yöntemle göre 0,5 mL daha az metanol kullanıldı ve birinci yöntemle yapılan deneylerle kıyaslandığında bulutlanmanın daha kalıcı olduğu görüldü. Ancak Ni için geri kazanım değeri % 64,8 olarak düşük bulunduğundan, kantitatif geri kazanmanın elde edildiği uygulama olan ligand çözeltisinin, dispersif ve ekstraksiyon çözücüsü karışımından önce örnek çözeltisine ilavesinin uygun olduğuna karar verildi.

#### **6.3.4 Tuz etkisi**

Geleneksel ekstraksiyon metodlarında ekstraksiyon verimini artırmak ve organik faz içerisinde polar analitlerin bozunmadan kalmasını sağlamak için sulu örnek çözeltiyeye tuz eklenmesi ortak bir kabuldür. Genellikle bu amaç için NaCl kullanılır. Ekstraksiyon üzerine tuz ilavesi ekstraksiyon verimi üzerinde negatif ve pozitif yönde olmak üzere analitin yapısal karakterine bağlı olarak iki etki vardır. Tuz etkisi (salting out) organik bileşiklerin sudaki çözünürlüğünü azaltır. Tuz ilavesi, çözeltideki iyonik kuvvetin artmasına ve özellikle daha polar olan analitlerin suda az çözünür hale gelmesine neden olur. Sulu ortamdaki tuz iyonları, hidrasyon tabakasını sararak analitin suda çözünmesini azaltır. Bu etki fazlar arası dağılma katsayısını, dolayısıyla ekstraksiyon verimini artırır. Diğer taraftan çözeltideki tuz iyonları polar moleküller ile elektrostatik etkileşime girebilir ve böylece analitlerin kütle transferinin azalmasına neden olabilir. Analitlerin çözünürlüğüne bağlı olarak, yüksek tuz konsantrasyonlarında tuz etkisi ile ekstraksiyonun miktarı artabilir veya çözeltide dağılmış olarak bulunan yüklü tanecikler (elektrolitler ve analitler)

arasındaki çekim kuvvetleri nedeniyle analitlerin ekstraksiyonu azalabilir. Bu sebeple tuz etkisi sıvı-sıvı ekstraksiyon çalışmalarında incelenmeyi gerektirir.

DLLME ile Ni iyonlarının önderiştirilmesinde sulu çözeltinin iyon şiddetinin etkisinin araştırılması amacıyla sulu çözeltide NaCl miktarı % 0-6 (w/v) olacak şekilde deneyler gerçekleştirildi. Şekil 6.14'te görüldüğü gibi tuz ilavesinin ekstraksiyon verimi üzerine herhangi bir etkisi olmamıştır. Bu nedenle deneylerin devamında sulu çözeltiliye tuz eklenmemiştir. Ancak elde edilen sonuca göre ortamda belirli bir miktara kadar bulunabilecek tuz miktarının da olumsuz etki göstermediğini söylemek mümkündür.

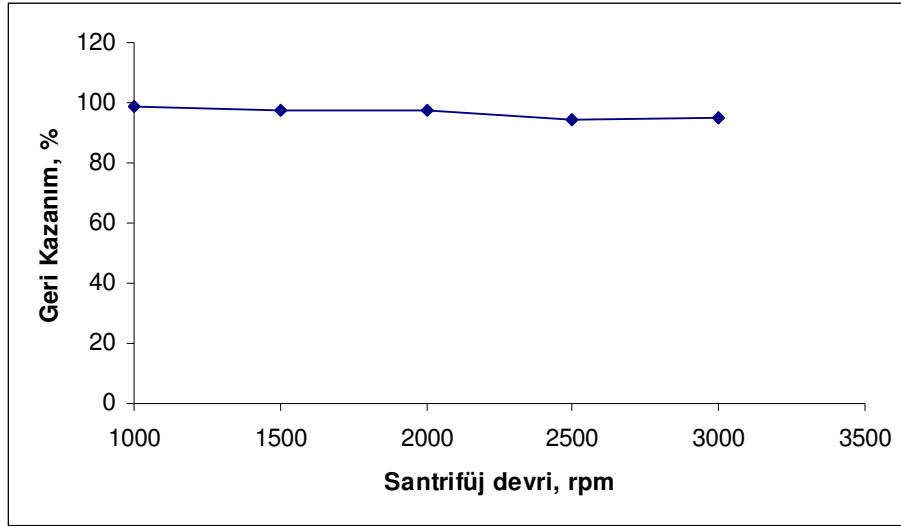


Şekil 6.14: DLLME sonrası Ni iyonlarının geri kazanımına tuz etkisi

### 6.3.5 DLLME'de santrifüj devrinin etkisi

DLLME ile Ni önderiştirme işleminde, diğer bir işlem basamağı santrifüj ile organik fazın sulu fazdan ayrılmasıdır. İki fazın karıştırılmasını izleyen 3 dakikalık karıştırma basamağından sonra çözelti 5 dakika santrifüjlendi. Santrifüj devri 1000-3000 rpm aralığında değerlendirildi. Şekil 6.15'te görüldüğü gibi santrifüj devrinin ekstraksiyon verimi üzerine herhangi bir etkisi olmadığından santrifüj devri 1000 rpm olarak belirlendi.





Şekil 6.15: DLLME sonrası Ni iyonlarının geri kazanımına santrifüj devrinin etkisi

### 6.3.6 Ekstraksiyon işleminde çalkalama şeklinin etkisi

Yapılan faktoriyel tasarımda ekstraksiyon süresi 3 dakika olarak belirlenmişti. Yapılan tüm deneylerde bu 3 dakikalık sürede numuneler shakerda 725 rpm de çalkalandı. Ayrıca hiç çalkalama yapılmadan, elle ve vortekste 1200 rpmde (n:4) çalkalanan numunelerde Ni iyonlarının geri kazanımlarının nasıl değiştiği incelendi (Tablo 6.12).

Tablo 6.12: Ni iyonlarının geri kazanımına çalkalama şeklinin etkisi (n:4)

Çalkalama Şekli ve Hızı	Geri kazanım, %
Çalkalama yapılmadan	97,7
Çalkalayıcı kullanımı, 725 rpm	98,6
Elde çalkalama (manuel)	100,5
Vorteks, 1200 rpm	77,1

Çalkalama yapılmadığı durumda, santrifüj tüpündeki örnek çözelti üzerine dispersif çözücü içeren ekstraksiyon çözücüsü şırınga ile hızlıca eklendi. 3 dakika boyunca çalkalama yapılmadan bekledikten sonra numuneler santrifüjlenerek sulu faz damlalıklı alındı.

Elle çalkalama işleminde plastik santrifüj tüpünün kapağı kapatılarak 3 dakika boyunca yavaşça çalkalandı.

Çalkalama yapılmadan, elde ve çalkalayıcı ile çalkalama yapıldığında Ni iyonlarının geri kazanım değerleri birbirlerine yakın çıkmaktadır. Ancak vorteks kullanıldığında geri kazanım değerleri düşük çıkmaktadır. Bu konu ayrıca araştırılmamıştır.

### 6.3.7 DLLME yönteminde sediment fazın sulu çözeltiye alınması

DLLME'de ekstraksiyon çözücüsü olarak sudan daha yüksek yoğunluğa sahip, genellikle klorlu (kloroform, karbon tetra klorür vb.) organik çözücüler kullanılır. Bu durum ICP-OES ve ters faz HPLC gibi bazı cihazlarda ekstraksiyon çözücüsünün sisteme verilmesi problemini yaratmaktadır. Bu nedenle bazı uygulamalarda organik faz buharlaştırılır ve kalıntı ölçüm sistemine uygun çözücü ile çözeltiye alınarak tayin edilir (Rezaee ve diğ., 2010).

DLLME ile Ni(II) iyonlarının deriştirilmesinde sulu faz damlalıklı alındı. Tüpün dibinde toplanan organik faz (kloroform) AAS'ye verildiğinde alevin söndüğü ve kloroformun hava/asetilen alevi için uygun bir çözücü olmadığı görüldü. Bu nedenle organik faz su banyosunda buharlaştırıldı. Bu işlem sonrasında dipte çökelek kaldığı görüldü. Ekstraktanın ölçüm sistemine uygun bir çözücü ile çözülerek çözeltiye alınması son derece önemlidir. Bunun için sediment faz kalıntısının çözünürleştirilmesinde 0,1 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>, 1 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>, 2 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>, etanolde 0,5 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>, ve 2,8 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> çözeltileri kullanıldı. HNO<sub>3</sub> derişimi 2,8 mol L<sup>-1</sup> den daha az olduğunda dipte kalan çökelek tam olarak çözülmediğinden geri kazanım değerleri düşük, etanolde 0,5 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> kullanıldığında ise çökelek tamamen çözünmesine rağmen nikel için geri kazanım değeri % 48,61 olarak bulunmuştur. Kalıntı 2,8 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> ile çözüldüğünde çözeltideki Ni(II) iyonlarının geri kazanım değeri kantitatifdir (% 99,6). Bu nedenle kalıntının çözünürleştirilmesinde çözücü olarak 2,8 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> kullanılmıştır.

### 6.3.8 Yabancı iyon etkisi

Geliştirilen yöntemin optimum koşullarda doğal sulara uygulanması amaçlanmıştır. Doğal su örneklerinin temel bileşenlerinden olan bazı alkali (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) ve toprak alkali (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) katyonlar ile bazı anyonların (Cl<sup>-</sup> ve NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), DLLME ile Ni ekstraksiyonuna etkileri incelendi. Na<sup>+</sup>, NaCl; K<sup>+</sup>, KCl; Ca<sup>2+</sup>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O; Mg<sup>2+</sup>, MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O; Ba<sup>2+</sup>, BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, CH<sub>3</sub>COONa.3H<sub>2</sub>O; CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; olarak alındı. Ayrıca ligant ile etkileşme olasılığı olan Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, As<sup>3+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cd<sup>2+</sup> ve Cr<sup>3+</sup> gibi katyonların da etkisi incelendi (Tablo 6.13).

Tablo 6.13: Ni(II) iyonlarının geri kazanımına yabancı iyon etkisi (n:3, sulu çözeltideki Ni derişimi: 0,033 mg L<sup>-1</sup>, İyon/Ni<sup>2+</sup>: derişim oranı)

İyonlar	C <sub>İyon</sub> /C <sub>Ni(II)</sub>	R %	İyonlar	C <sub>İyon</sub> /C <sub>Ni(II)</sub>	R %
Na <sup>+</sup>	118000	99,4	Cu <sup>2+</sup>	50	99,3
	354000	99,8		100	91,9
	590000	97,6		150	95,7
	708000	100,6		200	53,1
	1000000	99,4		500	22,6
K <sup>+</sup>	500	98,1	As <sup>3+</sup>	50	97,2
	1000	86,0		100	99,2
	2000	97,5		150	96,6
	3000	96,0		200	92,4
	5000	85,6		500	98,9
Mg <sup>2+</sup>	500	98,1	Mn <sup>2+</sup>	1000	100,9
	750	85,6		2000	96,5
	1000	86,2		50	99,6
Ca <sup>2+</sup>	2000	83,1	100	95,6	
	3000	95,3	150	99,1	
	5000	57,1	200	94,3	
	500	99,1	500	95,8	
Ba <sup>2+</sup>	1000	92,8	Zn <sup>2+</sup>	1000	94,2
	2000	93,8		1200	94,8
	3000	97,8		50	99,4
	5000	80,6		100	96,2
Cl <sup>-</sup>	182000	99,4	Pb <sup>2+</sup>	150	97,5
	546000	99,8		200	91,0
	910000	97,6		300	86,0
	1091000	100,6		500	66,6
	1540000	99,4		50	97,6
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	3100	96,4	Fe <sup>3+</sup>	100	94,4
	6200	95,4		150	98,4
	9300	95,3		200	81,0
	15500	57,1		500	85,8
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	1000	100,2	Cd <sup>2+</sup>	50	96,1
	1500	84,3		100	92,0
	2000	91,7		150	89,9
	3000	88,3		200	41,2
CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	1000	99,5	Cr <sup>3+</sup>	500	13,7
	1500	85,2		50	98,2
	2000	87,5		100	98,9
	3000	89,2		150	96,2
Co <sup>2+</sup>	50	99,0	Cr <sup>3+</sup>	200	83,9
	100	95,8		500	82,0
	150	99,9		50	99,1
	200	82,9		100	97,8
	500	82,6		150	97,9
			200	73,5	
			500	74,9	

Elde edilen bu verilerden DLLME ile Ni iyonlarının tayininde bulunan tolerans sınırları Tablo 6.14'te verilmiştir.

Tablo 6.14: DLLME- FAAS ile sulu çözeltideki 0,033  $\mu\text{g L}^{-1}$  Ni(II) iyonlarının geri kazanımında yabancı iyonların tolerans sınırları

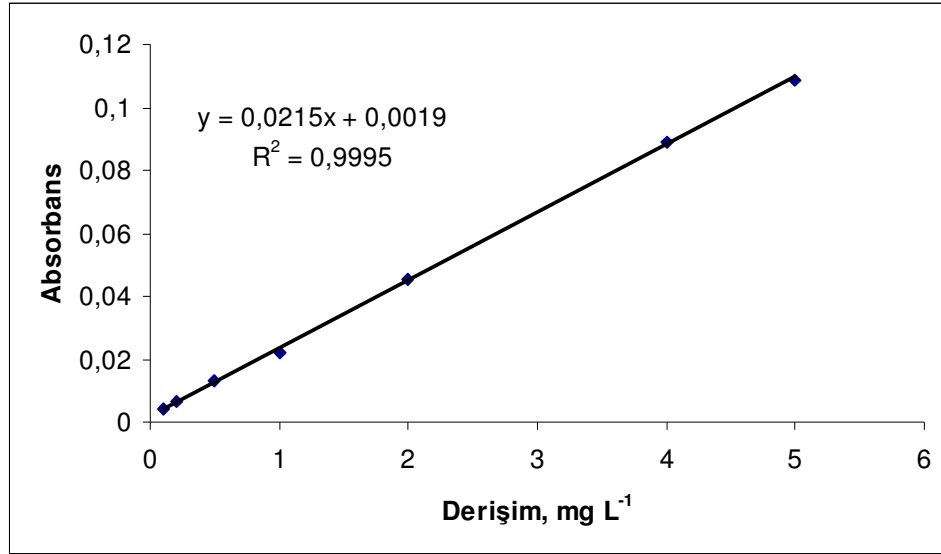
Yabancı İyon	Tolere edilebilir değerler (Yabancı iyon/Ni(II) oranı)
$\text{Na}^+$	1000000
$\text{K}^+, \text{Ca}^{2+}, \text{Ba}^{2+}$	3000
$\text{Mg}^{2+}$	500
$\text{Co}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Pb}^{2+}, \text{Fe}^{3+}, \text{Cd}^{2+}, \text{Cr}^{3+}$	150
$\text{As}^{3+}$	2000
$\text{Mn}^{2+}$	1200
$\text{Cl}^-$	1540000
$\text{CO}_3^{2-}, \text{CH}_3\text{COO}^-$	1000
$\text{NO}_3^-$	9300

Maksimum tolere dileyebilir matriks iyon miktarları ile genel olarak doğal sulardaki iyon derişimleri dikkate alındığında, yöntemin bu iyonların bulunduğu ortamlara kolaylıkla uygulanabileceği anlaşılmaktadır.

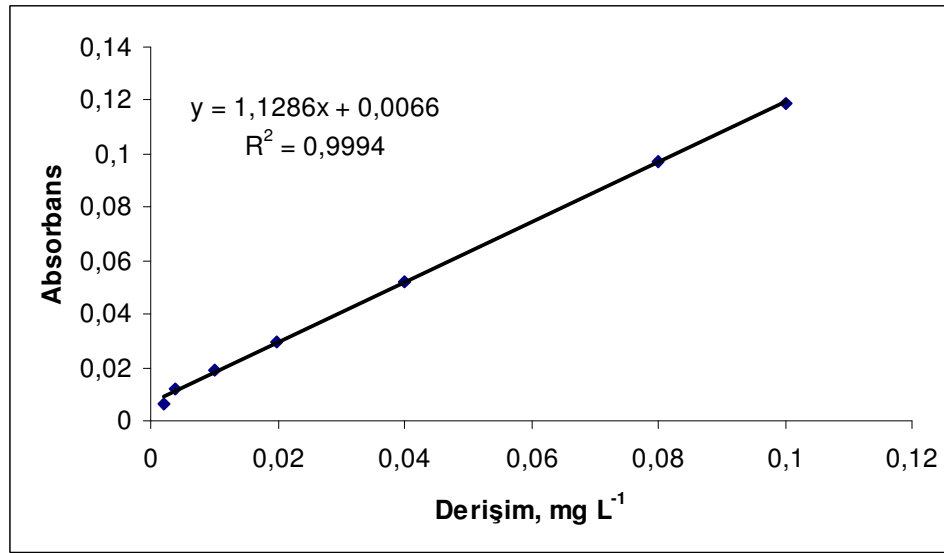
#### 6.4 Yöntemin Analitik Değerlendirilmesi

Nikel deriştirilmesi ve tayini için optimize edilen DLLME-AAS yöntemi, lineerlik, gözlenebilme sınırı, geri kazanım, kesinlik ve doğruluk gibi kantitatif analizdeki önemli değişkenler dikkate alınarak analitik açıdan değerlendirilmiştir.

Analizlerin yapıldığı atomik absorpsiyon spektrometresinin çalışma aralığını belirlemek amacıyla Ni için 0,1-10  $\text{mg L}^{-1}$  derişim aralığında çözeltiler hazırlandı ve doğrusal kalibrasyon aralığını belirlemek için AAS ile tayin edildi. Kalibrasyon grafiği 5  $\text{mg L}^{-1}$ 'ye kadar doğrusaldı (Şekil 6.16). Doğrusal çalışma aralığında kullanılan çözeltilere karşılık gelen seyreltik sulu Ni kalibrasyon çözeltilerine DLLME yöntemi uygulanarak önderiştirmeli kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 6.17).



Şekil 6.16: Ni(II) iyonunun önderiştirmesiz kalibrasyon grafiği



Şekil 6.17: Ni(II) iyonunun önderiştirmeli kalibrasyon grafiği

DeneySEL zenginleştirme faktörü  $E_F$  önderiştirmeli ve önderiştirmesiz oluşturulan kalibrasyon doğrularının eğim oranlarından hesaplanır.  $E_F$ , DLLME ile ulaşılan duyarlıktaki artış oranını gösterir. Buna göre, deneySEL zenginleştirme faktörü;

Ni(II) için  $E_F = 1,1286 / 0,0215 = 52,5$  olarak hesaplanmıştır.

Teorik zenginleştirme faktörü ise, örnek hacminin, derişirme sonrası elde edilen çözelti hacmine oranlanmasıyla bulunur. Deneyde örnek hacmi 7,5 mL, son çözelti hacmi 0,15 mL olduğu için teorik zenginleştirme faktörü 50,0'dir. Buna göre teorik

ve deneysel zenginleştirme faktörü arasında önemli bir fark yoktur. Deneysel zenginleştirme faktörünün bağıl hatası + % 5.0'dir. % 5.0'lık bağıl hata, kantitatif geri kazanma değerleri ( $\geq$ % 95) ile uyumludur.

Nikelin gözlenebilme sınırını tayin etmek için, 7,5 mL'lik çözeltiler kullanıldı. Son hacim 0,15 mL'dir. 16 tane kör numune ölçümlerinin absorbans değerlerinin ortalaması standart sapmasının 3 katı ile toplanarak elde edilen absorbans değeri önderiştirmeli kalibrasyon denkleminde yerine konuldu. Gözlenebilme sınırı Ni (II) için  $1,04 \mu\text{g L}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Kantitatif tayin sınırı  $2,99 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $10\sigma$ ,  $n=16$ ) dir.

Belirlenen optimum şartlarda DLLME ile sulu ortamdan sediment faza geçen Ni için geri kazanma verimleri ve geri kazanma verimlerinin tekrarlanabilirliği araştırıldı. Bu amaçla,  $33 \mu\text{g L}^{-1}$  nikel çözeltilisinin 10 tekrar ölçümünde geri kazanma değeri  $\%99,6 \pm 1,0$ , bağıl standart sapma değeri  $0,97 \%$  olarak bulunmuştur.

Örnekleme sıklığı, bir saatte ekstrakte edilebilen örnek sayısıdır. Aynı anda santrifüjlenen 4 örnek için hesaplanmıştır.

Tüketim indeksi, bir birim zenginleştirme faktörü elde etmek için tüketilen, mililitre cinsinden örnek hacmi olarak tanımlanır (Baliza ve diğ., 2009). Nikel iyonu içeren sulu örnek çözeltisi hacminin deneysel zenginleştirme faktörüne oranlanmasıyla hesaplanmıştır. DLLME-FAAS yönteminin analitik verileri Tablo 6.15'te özetlenmiştir.

Tablo 6.15: DLLME-FAAS ile Ni tayini için analitik veriler

Değişkenler	
Lineer aralık ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2-100
r <sup>2</sup>	0,9994
Deneysel zenginleştirme faktörü	52,5
Teorik zenginleştirme faktörü	50
Gözlenebilme sınırı (LOD, $\mu\text{g L}^{-1}$ ) ( $3\sigma$ , $n=16$ )	1,04
Kantitatif tayin sınırı (LOD, $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2,99
Tekrarlanabilirlik (R.S.D., %)(Ni(II) derişimi $0,033 \text{ mg L}^{-1}$ , $n:10$ )	0,97
Örnek Hacmi (mL)	7,5
Örnekleme sıklığı (örnek sayısı saat <sup>-1</sup> )	24
Tüketim indeksi (mL)	0,14

## 6.5 Gerçek Örnek Analizleri

### 6.5.1 İçme suyu analizi

Optimize edilen DLLME yöntemi musluk suyu ve farklı firmalara ait bazı şişe sularının analizine uygulandı. Su örnekleri herhangi bir ön işlemle geçirilmeden Bölüm 6.2.4'te açıklanan DLLME yöntemi uygulandı. Son çözelti hacmi 0,15 mL'ye tamamlandı. Çözeltideki nikel, alevli AAS-mikroenjeksiyon tekniği ile tayin edildi. Elde edilen analiz sonuçları, Tablo 6.16'da verilmiştir. Geri kazanım değerleri % 90,7 ile % 103,4 aralığında, bağıl standart sapma değerleri ise % 0,36-7,44 aralığında bulunmuştur. Su örneklerine ilave edilen Ni geliştirilen yöntemle kantitatif olarak tayin edilebilmiştir.

Tablo 6.16: İçme suyu örneklerindeki Ni(II) iyonlarının geri kazanım değerleri (n:4)

Örnek	Eklene, $\mu\text{g L}^{-1}$	Bulunan, $\mu\text{g L}^{-1}$ , $\text{xort} \pm s$	Geri kazanım, %
Musluk Suyu	0	< LOQ	-
	10	$9,81 \pm 0,73$	98,1
	20	$19,67 \pm 1,45$	98,4
	40	$40,40 \pm 2,83$	101,0
Danone Hayat Su	0	< LOQ	-
	10	$10,25 \pm 0,31$	102,5
	20	$19,85 \pm 0,47$	99,2
	40	$40,32 \pm 1,79$	100,8
Nestle Pure Life Su	0	< LOQ	-
	10	$9,92 \pm 0,64$	99,2
	20	$19,23 \pm 0,07$	96,1
	40	$40,29 \pm 1,24$	100,7
Pınar Su	0	< LOQ	-
	10	$10,34 \pm 0,40$	103,4
	20	$20,02 \pm 0,32$	100,1
	40	$39,87 \pm 0,31$	99,7
Saka Su	0	< LOQ	-
	10	$10,16 \pm 0,31$	101,6
	20	$20,29 \pm 0,24$	101,4
	40	$40,58 \pm 0,09$	101,4
Damla Su	0	< LOQ	-
	10	$9,07 \pm 0,10$	90,7
	20	$19,94 \pm 0,80$	99,7
	40	$38,48 \pm 0,53$	96,2

### 6.5.2 Atık su analizi

Denizli Belediyesi Atık Su Arıtma Tesisi'nden alınan tesis giriş suyu çok kirli olduğundan örnek önce adi süzgeç kağıdından, sonra siyah ve mavi bant süzgeç kağıdından süzöldükten sonra süzöntü 0,45 µm gözenekli selöloz nitrat membran filtreden (Sartorius GmbH, Germany) süzöldü. Atık suyun tesiste arıtılmasından sonra tesis çıkışından alınan arıtılmış atık su örneği sadece 0,45 µm gözenekli selöloz nitrat membran filtreden (Sartorius GmbH, Germany) süzöldü. Süzölen atık su örneklerinden 7,5 mL alınarak Bölüm 6.2.4'te açıkladığı şekilde DLLME yöntemi uygulandı. Son çözelti hacmi 0,15 mL'ye tamamlandı. Çözeltideki nikel, mikroenjeksiyon örnekleme alevli AAS ile tayin edildi. Ayrıca atık su örneklerine analit ekleme de yapıldı (Tablo 6.17). bağıl standart sapma değerleri %1,17-5,80 aralığında değişmektedir.

Tablo 6.17: Atık su örneklerindeki Ni(II) iyonlarının geri kazanım değerleri (n:4)

Örnek	Ekleneñ, µg L <sup>-1</sup>	Bulunan, µg L <sup>-1</sup> , xort ± s	Geri kazanım, %
Atık Su – Giriş Suyu	0	12,60 ± 0,31	-
	10	21,44 ± 0,47	94,9
	20	30,79 ± 0,67	94,4
	40	48,31 ± 1,32	91,8
Atık Su – Çıkış suyu	0	5,16 ± 0,30	-
	5	9,84 ± 0,22	96,8
	10	14,84 ± 0,30	97,9
	20	24,81 ± 0,29	98,6
	40	44,55 ± 0,73	98,6

### 6.5.3 Tel analizi

Nikelin AAS ile tayininde dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon ile önderiştirilmesi yönteminin bir uygulaması olarak 0,30 mm nikel kaplı tel analizi gerçekleştirildi. Bu amaçla 0,0020 g tel örneği tartılarak 3-4 damla derişik HNO<sub>3</sub>'te çözöldü ve hacim saf su ile 1 L'ye tamamlandı. Bu çözeltiden 7,5 mL'lik örnekler alınarak analit ekleme ile deriştirme gerçekleştirildi (Tablo 6.18). Geri kazanım değerleri kantitatif olarak bulunmuştur. Bağıl standart sapma değerleri % 1,99-4,18 aralığındadır.



Tablo 6.18: Tel örneğindeki Ni(II) iyonlarının geri kazanım değerleri (n:4, Xort ± s)

Örnek	Eklene, $\mu\text{g L}^{-1}$	Bulunan, $\mu\text{g L}^{-1}$ , xort ± s	Geri kazanım, %
0,30 mm Ni kaplı tel	0	29,21 ± 1,22	-
	10	38,19 ± 0,76	97,4
	20	49,00 ± 1,76	99,6
	40	69,38 ± 1,57	100,2

#### 6.5.4 Standart referans madde analizi

Yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla, geliştirilen yöntemin diğer bir uygulaması sertifikalı BCR-715 Endüstriyel Atık Su örneğinde gerçekleştirildi. Bunun için alınan 0,1 mL su örneği üzerine 7,4 mL ultra saf su eklendi ve geliştirilen DLLME-AAS yöntemi uygulandı. Analiz sonucu  $1,18 \pm 0,03 \text{ mg L}^{-1}$  (xort ± ts/ $\sqrt{n}$ ) olarak bulundu. Sertifikalı değer olan  $1,2 \text{ mg L}^{-1}$  ile bulunan değer karşılaştırıldığında bağıl hata -% 1.67 olarak bulunmuştur.

Yöntem BCR-403 deniz suyuna da uygulandı. 20 kat seyreltilen deniz suyu örneğinin pH'ı nötrleştirildikten sonra çözültiden alınan 7,5 mL örneğe geliştirilen DLLME yöntemi uygulandı. Deney sonunda Ni için geri kazanım değeri yaklaşık %10 civarında bulundu.

Geliştirilen yöntem ayrıca SRM 1515 Apple Leaves'e uygulandı. Bölüm 6.2.2'de verilen çözümlendirme işlemi ile örnek çözelti fazına alındı. Bu çözültiden 7,5 mL alınarak DLLME yöntemi uygulandı. Deney sonunda bulunan nikel miktarı, sertifikalı değerle karşılaştırıldığında, bulunan değer sertifikalı değerın yaklaşık 3 katıdır (Sertifikalı değer  $0,91 \text{ mg kg}^{-1}$ , bulunan değer  $2,75 \text{ mg kg}^{-1}$ dir). Geri kazanım değeri iyi olamamakla birlikte 8 tekrar ölçüm için bulunan Ni miktarının bağıl standart sapma değeri % 2,69'dur.

Geliştirilen yöntem BCR-715 endüstriyel atık su örneğinde oldukça iyi sonuç vermesine karşın daha karmaşık matrikse sahip olan BCR-403 deniz suyu ve SRM 1515 Apple Leaves örneklerinde sonuçlar belgeli değerle uyumlu çıkmamıştır. DLLME'nin en büyük dezavantajlarından biri olan karmaşık matriksli ortama uygulanamama, deneysel sonuçlardan da anlaşılmaktadır.

## 7. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu tez kapsamında önerdiğimiz ve analitik olarak değerlendirdiğimiz RP-HPLC-DAD ve DLLME-FAAS yöntemleri, tayini düşünülen metal iyonlarıyla hazırlanan model çözeltilerle optimize edilmiştir. Optimize edilen bu yöntemler çeşitli su örneklerine uygulanmıştır. Elde edilen bulgular ve yöntemin örneklere uygulanmasına ilişkin deneysel sonuçlar aşağıda tartışılmıştır.

### I. Bölüm: RP-HPLC ile Co(II), Fe(II) ve Ni(II) Tayini

Tezin ilk bölümünde Co(II), Fe(II) ve Ni(II) gibi metal iyonlarının çeşitli biyolojik ve çevresel örneklerdeki miktarlarının aynı anda çoklu element tayini için bir yüksek performanslı sıvı kromatografik yöntem geliştirme amaçlanmıştır. Çalışmada ligand olarak, daha önce pek çok metal iyonu ile kompleks oluşturduğu bilinen ve gerek spektrofotometrik gerekse kromatografik tayinlerinde kullanılmış olan 4-(2-piridilazo) rezorsinol (PAR) kullanılmıştır. Tayinler DAD detektörü ile yapıldığından karışım halindeki numunenin sisteme enjeksiyonundan sonra metal-PAR bileşiklerinin 200-900 nm aralığında spektrumu alınarak her bir kompleksin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyları belirlenmiştir.

Kromatografik şartların belirlenmesi ve yöntemin optimizasyonu için PAR ile kompleks oluşturan metal iyonlarının ve bu iyonların Inertsil ODS-3 kolonda alıkonma zamanlarının belirlenmesine çalışıldı. Bunun için metanol:THF:Su (60:5:35, v/v) hareketli faz ve 0,9 mL dk<sup>-1</sup> akış hızında farklı derişimlerde analit veya analitler içeren çözeltiler hazırlanarak HPLC'ye enjekte edildi. Elde edilen kromatogramlar Şekil 5.2-5.8'de verilmiştir. Bu deneyler sonunda PAR kompleksi şeklinde tayini gerçekleştirilebilen metal iyonları Co(II), Fe(II) ve Ni(II) olarak belirlenmiştir. Bu metal iyonları için DAD dedektör ile maksimum absorpsiyonun gözleendiği dalga boyları Co-PAR için 525 nm, Ni-PAR için 517 nm, Fe-PAR için 484 nm'dir. Kromatogramların anlaşılır olması için çalışmada tek bir dalga boyunda, 525 nm'de alınan kromatogramlar gösterilmiştir.

Kompleks oluşumunda pH etkisini incelemek için, asetik asit/amonyum asetat tamponu kullanılarak hareketli faz pH'ı değiştirilmiştir. Yüksek pH'larda (pH>7.5) kolon dolgusunun bozulması ve parçalanmasına sebep olan siloksanın hidrolizinden dolayı kullanılan C<sub>18</sub> kolunu ile pH 3-6 aralığı çalışılmıştır. Değişen pH ile ayırıcılıkların çok fazla değişmediği (Tablo 5.3), Fe-PAR şelatının pik alanında önemli bir değişiklik olmazken pH 5'e kadar Co(II) ve Ni(II)- PAR komplekslerinin pik alanlarının arttığı, sonrasında azaldığı görülmüştür (Tablo 5.4). PAR genellikle pK<sub>a2</sub> (p-OH)=5.46) değerine yakın pH'ta mono anyonik formdadır ve pH 3-6 arasında metal iyonları ile dayanıklı şelatlar oluşturmaktadır (Marczenko and Balcerzak 2000). pH 6'dan sonra, PAR'ın mono anyonik formunun azalmasıyla metal-PAR şelatlarının miktarı azalmaktadır. Sonuç olarak hareketli faz için en uygun pH 5.0 olarak belirlenmiştir.

Çalışmada optimize edilen bir diğer değişken, kolonun ayırma gücünü arttıran faktörlerden birisi olan hareketli faz akış hızının etkisidir. Hareketli faz akış hızı 0,3-1,2 mL dk<sup>-1</sup> aralığında değiştirilmiş ve elde edilen kromatogramlardan bazıları Şekil 5.9'da verilmiştir. Tablo 5.5'de görüldüğü gibi hareketli faz akış hızının artmasıyla analitlerin alıkonma zamanları kısalmış, fakat teorik tabaka yüksekliği artmıştır. Düşük akış hızlarında ise pik alanı değerleri artmakta fakat analiz süresi uzamaktadır. Kromatografik ayırmalarda teorik tabaka yüksekliği ne kadar düşüğe ayırım o kadar iyi olmaktadır. Ayrıca analiz süresinin de kısa olması istendiğinden akış hızı 0,6 mL dk<sup>-1</sup> seçilmiştir.

Hareketli fazdaki ligand derişiminin etkisi incelenirken PAR derişimi 5x10<sup>-4</sup>, 5x10<sup>-5</sup> ve 5x10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> olarak değiştirilmiştir (Şekil 5.10). PAR derişiminin artmasıyla metal-PAR komplekslerinin pik alanlarının artmasına karşın (Tablo 5.6), piklerin ayırıcılıklarının daha iyi olduğu 5x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>, optimum PAR derişimi olarak belirlenmiştir.

Kromatografik kolonda ayırmayı iyileştirmek için, hareketli fazdaki metanol yüzdesi değiştirilmiştir (Şekil 5.11). Metanol miktarı %40 olduğunda analiz süresi uzamış (Şekil 5.11.A), %80 olduğunda ise pikler üst üste çakışmıştır (Şekil 5.11.C). Hareketli fazdaki optimum metanol miktarı %60 olarak bulunmuştur.

Hareketli fazdaki ligand derişimi etkisinden sonra numuneye eklenen ligand derişiminin etkisi incelenmiştir. Numuneye ligand ilave edilmeden (kolon içi türevleme) ve ilave edilerek (ön kolon türevleme) kromatogramlar alındı (Şekil

5.12). Analitlere ait pik verileri incelendiğinde kolon öncesi türevleme yapıldığında Fe(II)'ye ait pik alanında yaklaşık %23 oranında artış olurken Co(II) ve Ni(II)'e ait piklerin alanlarında önemli bir değişiklik olmamıştır (Tablo 5.7). Kolon içi türevlemede ise Fe(II)'ye ait pik alanındaki azalmanın nedeni muhtemelen PAR'da safsızlık olarak bulunabilecek demirden dolayıdır. Bu verilerden numuneye PAR eklenmesine gerek olmadığına karar verilmiştir.

Co(II), Fe(II) ve Ni(II) iyonlarının eş zamanlı tayinlerine V(V), Ti(II), Pb(II), Mn(II), Mo(II), Cd(II), As(III), As(V), Cu(II), Au(III), Hg(II), Cr(III), Cr(VI) metal iyonlarının etkileri incelenmiştir. Bu iyonlardan V(IV) ve V(V) dışındaki diğer tüm iyonlar, 1-5 µg aralığında, çalışılan şartlarda PAR ile kompleks oluşturmamaları yada oluşan komplekslerinin çalışılan dalga boyunda absorpsiyon yapmamalarından dolayı kromatogramda pik vermemiş ve çalışılan analitlerin pik alanları üzerine herhangi bir etkilerinin olmadığı görülmüştür. V(IV) ve V(V) iyonları varlığında ise Fe(II)-PAR ve Ni(II)-PAR komplekslerine ait piklerin alan ve yüksekliklerinde herhangi bir değişiklik olmazken Co(II)-PAR kompleksine ait pikin çatallandığı görülmüştür (Şekil 5.13.A). Bu nedenle hareketli fazdaki metanol yüzdesi azaltılarak Co(II), Fe(II) ve Ni(II) iyonlarının yanında vanadyum iyonunun da tayin edilebileceği düşünülmüştür. Hareketli fazdaki metanol yüzdesi 50 ve 40 olarak değiştirilmiş ve Co, Fe, Ni ve V iyonlarını içeren çözelti pH'ı 5'e tamponlanarak HPLC'ye enjekte edilerek eş zamanlı olarak tayin edilebilen analit sayısı arttırılmaya çalışılmıştır. Elde edilen kromatogramlar (Şekil 5.13) incelendiğinde hareketli fazdaki metanol miktarı %50 olduğunda vanadyumun da kromatografik olarak tayin edilebileceği öngörülmüştür. Bu nedenle çalışmanın devamında, daha önce hareketli faz bileşimi %60 metanol: %5 THF: %35 su ve akış hızı 0,6 mL dk<sup>-1</sup> olduğunda optimize edilen hareketli faz akış hızı, pH'ı ve bileşimi, numuneye ilave edilen PAR etkisi gibi parametreler, belirlenen yeni hareketli fazda tekrar optimize edilmiştir.

Hareketli faz %50 metanol içerdiğinde öncelikle hareketli fazın akış hızı değiştirilerek Co, Fe, Ni ve V tayin edilmeye çalışılmıştır. Akış hızı 0,3-0,8 mL dk<sup>-1</sup> aralığında değiştirilmiştir (Şekil 5.14). Hareketli fazın akış hızının azalmasıyla analitlerin alıkonma süreleri artmış ve analiz süresi uzamıştır (Şekil 5.16 A). Fakat analitlerin pik alanları düşük akış hızında arttığından (Şekil 5.16 B), duyarlılığın ve resolüsyonun daha iyi olduğu 0,3 mL dk.<sup>-1</sup> akış hızı, HPLC ile tayin için en uygun akış hızı olarak seçilmiştir. Bu akış hızında vanadyum iyonu varlığında kalibrasyon

eğrileri çizilmeye çalışılmıştır (Şekil 5.15). Yüksek derişimde V(IV) iyonuna ait pikteki kuyruklanma giderilemediğinden bu iyonun ait pik alanı tam olarak hesaplanamadığından ve V(IV)iyonu derişimi arttıkça Co(II) piki de etkilendiğinden kromatografik vanadyum tayininden vazgeçilmiştir.

Belirlenen yeni hareketli faz bileşimi ve akış hızında analitlerin alıkonma zamanı, pik yüksekliği ve pik alanlarına hareketli faz pH'nın etkisi araştırıldı. pH değışimi ile analitlerin alıkonma zamanlarında önemli bir değışiklik olmamıştır (Şekil 5.17). pH 5'e kadar Co ve Ni iyonlarının pik alanları artmış, sonra azalmıştır. Co, Fe ve Ni iyonlarının ayrılmasında hareketli faz optimum pH'ı 5 olarak bulunmuştur.

0,3 mL dk<sup>-1</sup> akış hızında hareketli fazdaki metanol yüzdesi değıştirilmiş ve azalan metanol miktarı ile analitlerin alıkonma zamanları uzamıştır (Şekil 5.19-5.20). Ayrıca RP-HPLC'de yaygın olarak kullanılan hareketli faz MeOH:su karışımı olduğundan hareketli faza THF eklenmeden de deneyler yapılmıştır. THF içermeyen hareketli fazda analiz süresi uzamış ve Ni(II) iyonuna ait pik skalasının dışında kalırken (Şekil 5.20.C), Co(II) ve Fe(II) iyonlarının pik alanlarında herhangi bir değışiklik olmamıştır. Elde edilen bu verilerden en uygun hareketli faz bileşimi %50 MeOH: %5 THF: %45 su(v/v) olarak belirlenmiştir.

Belirlenen diğere optimum kromatografik şartlarda kolon içi şelatlama ve kolon öncesi şelatlama ile metal-PAR kompleksi oluşumları karşılaştırılmıştır (Şekil 5.21). Elde edilen kromatogramlar incelendiğinde her iki şekilde şelatlamada Co(II) ve Ni(II) iyonlarına ait piklerin alanlarında herhangi bir değışiklik olmadığı fakat kolon öncesi türevleme yapıldığında Co(II) pikinin omuz verdiği (Şekil 5.21.B), kolon içi türevleme ile şelatlamada ise bu omuzun olmadığı (Şekil 5.21.A) görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlardan kolon öncesi türevlemeye göre daha hızlı ve kolay olan kolon içi türevleme yapılmış ve böylelikle numuneye PAR eklenmemiştir.

Kromatografik çalışmada ayrıca Fe türevmesi yapılmaya çalışılmış ve bunun için öncelikle belirlenen optimum şartlarda Fe(II) ve Fe(III) iyonları içeren çözeltilerin kromatogramları alınmıştır (Şekil 5.22). Her iki iyonun alıkonma zamanları aynı olduğundan Fe(III)'ün Fe(II)'ye indirgenmesi için SnCl<sub>2</sub> kullanılmıştır (Şekil 5.23). Elde edilen sonuçlardan ve muhtemelen yapısında bulunan resorsinol grubunun okside olmasından dolayı PAR'ın indirgeyici olarak görev yapmasından dolayı (Oszwaldowski ve Okada, 1999) bu yöntemle su örneklerinde ve asitle parçalama sonrası katı örneklerde toplam Fe tayini yapılabileceğı sonucuna varılmıştır.

Yöntemin analitik değerlendirilmesi için belirlenen optimum şartlar altında lineerlik, gözlenebilme sınırı, geri kazanım, tekrarlanabilirlik gibi kantitatif analizdeki bazı önemli parametreler incelendi. Metal-PAR şelatları için kalibrasyon doğruları her bir metal iyonu derişimine karşı pik alanları ile çizildi (Şekil 5.24-5.26). Kalibrasyon verileri ve analitik sonuçlar Tablo 5.8’de özetlenmiştir. Gözlenebilme sınırları Co(II), Fe(II) ve Ni(II) için sırasıyla 0.50, 9.07 and 2.00  $\mu\text{g L}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Geliştirilen yöntemin doğruluğu BCR-715 endüstriyel atık su standart referans madde ile test edilmiştir (Şekil 5.27). Fe ve Ni için bulunan değerler sertifikalı değerler ile karşılaştırıldığında Fe ve Ni için sırasıyla % bağıl hata değerleri -5,3 ve -5,8 olarak bulunmuştur (Tablo 5.9).

Optimize edilen RP-HPLC/DAD yöntemi çeşitli su örneklerinin analizine uygulandı. Musluk suyu, Belediye atık suyu, Pamukkale ve Karahayıt sularına standart ekleme ile yöntemin doğruluğu test edildi. Su örneklerine ilave edilen analitler kantitatif tayin edilebilmiştir. Tablo 5.10’dan da görüleceği gibi geri kazanım değerleri %92 ile %106,1 arasında, bağıl standart sapma değerleri Co, Fe ve Ni için sırasıyla 4.0, 4.9 ve 4.3 % bulunmuştur.

Kobalt, demir ve nikelin eş zamanlı tayinleri için geliştirilen bu yöntem seçici ve duyarlıdır. Bu yöntemle Co, Fe ve Ni’in önderiştirme basamağı gerektirmeden tayin edilebileceği belirlenmiştir. Ayrıca bu yöntemin metal tayinleri için pahalı olan ICP-AES ve ICP-OES aletlerine göre daha ekonomik bir yöntem olduğu söylenebilir.

Geliştirilen RP-HPLC-DAD yöntemi diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında, elde edilen düşük gözlenebilme sınırları nedeniyle örnekler önderiştirilmeden Co,Fe ve Ni tayin edilebilecektir. Fakat daha düşük gözlenebilme sınırı elde edilebilmesi için geliştirilen bu yöntem bir önderiştirme yöntemi ile de kullanılabilir. Bunun için XAD-7 kolonu ile önderiştirme işlemi uygulanan numuneler geliştirilen yöntemle analiz edildi (Şekil 5.28-5.30). Katı faz ekstraksiyonu uygulanan numunelerde HPLC ile tayin sonucu bulunan Ni miktarı (Tablo 5.12) ve Fe miktarı (Tablo 5.13), AAS sonuçları ile karşılaştırılmış ve sonuçlar birbirleriyle uyumlu bulunmuştur. Bu sonuçlardan geliştirilen RP-HPLC-DAD yöntemi uygun şartlarda SPE ile birlikte eser metal iyonlarının deriştirilmesi ve tayininde kullanılabilir.

Ayrıca 1,3 difenil guanidin varlığında metal-PAR kompleksleri içeren çözeltiye DLLME yöntemi uygulanmıştır. DLLME sonrası elde edilen sediment faz

buharlaştırılarak kalıntıdaki analitler saf su içersine alınmıştır ve bu çözeltiden 10 µL HPLC'ye enjekte edilmiştir (Şekil 5.33). Analitlerin geri kazanım değerleri, referans çözeltideki (Şekil 5.31) analitlerin pik alanları ile karşılaştırılarak hesaplanmaya çalışılmıştır. Kromatogramlar incelendiğinde numunedeki Fe(II)-PAR ve Ni(II)-PAR komplekslerinin alıkonma zamanlarında (7.3 ve 7.9 dk) gelen piklerin kör çözeltide (Şekil 5.32) de olduğu, bu nedenle Fe(II) ve Ni(II)'nin geri alınmadığı anlaşılmıştır. Numunede görülen Co(II)-PAR kompleksine ait pikin (alıkonma zamanı 4.798) alanı referans çözeltideki Co(II)-PAR kompleksinin pik alanına oranlandığında oldukça düşük geri kazanım (%3,83) elde edildiği gözlenmiştir. Buradan anlaşılıyor ki, DLLME şartları veya kromatografik şartlar değiştirildiğinde DLLME-HPLC kombinasyonu metal iyonlarının tayininde kullanılabilir.

## **II: Bölüm: DLLME ile Nikel Önderiştirilmesi ve AAS ile Tayini**

Çalışmanın bu bölümünde eser miktardaki nikel, demir ve kobaltın deriştirilmesi ve atomik absorpsiyon spektrometrik tayini için bir önderiştirme yöntemi geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bunu için önderiştirme yöntemi olarak, sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemlerinden dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi seçilerek eser miktardaki analitlerin uygun ligand ile kompleksi oluşturulmuş ve analitlerin sulu fazdan organik faza ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ligand olarak kullanılan 8-hidroksikinolin (Şekil 6.1) mono protik iki dişli ligandır.

DLLME yönteminin optimizasyonunda MINITAB 13.1 istatistik programı ile faktoriyel tasarım yapılarak değişkenlerin rastgele kombinasyonu ile oluşturulan deneysel şartlarda deneyler gerçekleştirilmiştir. Bunun için Plackett Burman tasarımda değişkenler örnek hacmi, pH, ekstraksiyon çözücüsü ve hacmi, dispersif çözücü ve hacmi ve ekstraksiyon süresidir (Tablo 6.2). Tasarımda seçilen değişkenlerin alt (-) ve üst (+) seviye değerleri ile oluşturulan tasarım matrisi toplam 12 deney yapılmasını önermiştir (Tablo 6.3). Tablo 6.4'de verilen deney sonuçlarına göre değişkenlerin etki değerlerinin boyutu Pareto kart diyagramından belirlenmiştir. Buna göre ekstraksiyon çözücüsü, dispersif çözücü hacmi ve örnek hacminin Ni iyonlarının geri kazanımında etkili olduğu belirlenmiştir. Tablo 6.4'de verilen tasarımda pH faktörünün etki değerinin negatif olmasından dolayı pH'ı tekrar değerlendirmek ve daha düşük pH'da, asidik bölgede de çalışmak için pH faktörü için düşük seviye 4, yüksek seviye 8 olacak şekilde diğer değişkenler sabit tutularak yeni bir Plackett-Burman tasarım yapılmıştır (Tablo 6.5). Aynı tasarım koşullarında

demir ve kobaltın geri kazanma değerleri de değerlendirilmiş olup yapılan ikinci tasarım şartları ve analitlerin geri kazanım değerleri Tablo 6.6'da verilmiştir. Her iki tasarım karşılaştırıldığında Ni iyonlarının geri kazanımının pH:6'da daha iyi olduğu görülmüştür.

Analitler için elde edilen geri kazanım değerlerinin %95 güven seviyesinde faktoriyel tasarımda varyans analizleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 6.7'de verilmiştir. P değerinin 0,05'ten küçük olması o faktörün önemli olduğunu göstermektedir. Pareto kart diyagramları ile değişkenlerin etki değerlerinin boyutu belirlenir ve DLLME yönteminin analitlere uygulanmasında değişkenlerin hangi düzeylerinin seçileceğine karar verilir. Değişkenlerinin etki değerleri pozitif olduğunda deneysel tasarım verilerine göre bu değişkenlerin daha yüksek seviyesinde, negatif olduğunda ise bu değişkenlerin daha düşük seviyesinde çalışılması gerekmektedir. Ni ve Fe iyonları için Pareto kart etki değerlerine (Şekil 6.3-6.4) bakıldığında pH, referans hattını geçtiği için, ekstraksiyon veriminde en önemli değişkendir.

Değişken etkileşim grafikleri (Şekil 6.5-6.6) incelenirken, değişkenler arasındaki etkileşim eğrisi birbirine paralel ise; değişkenler arasında etkileşim olmadığı, etkileşim grafikleri çakışıyor ise; değişkenlerin birbirini etkilediğine karar verilir. Buna göre Şekil 6.5'te Ni(II) ekstraksiyonunda ekstraksiyon çözücüsünün, pH ve dispersif çözücü hacmi ile etkileşimleri önemsizken, dispersif çözücü türü ile etkileşimi önemli görünmektedir. Şekil 6.6'daki etkileşimler incelendiğinde Ni(II) iyonlarının ekstraksiyonuna benzer şekilde Fe(II) ekstraksiyonunda, ekstraksiyon çözücü hacminin hem örnek hacmi hem de dispersif çözücü hacmi ile etkileşiminin önemli olduğu görünmektedir.

Tablo 6.6 incelendiğinde 7 ve 11 numaralı deneylerde dispersif çözücü türü dışındaki tüm faktörler aynı olduğunda Ni ve Fe'in kantitatif olarak geri kazanıldığı görüldüğünden dispersif çözücü olarak iki çözeltinin karışımı kullanılarak MINITAB 13.1 istatistik programında 2-seviyeli faktoriyel seçilerek tam (full) faktoriyel tasarım yapılmıştır. Tasarım faktör, seviye ve deneyleri Tablo 6.8 ve 6.9'da verilmiştir. Deneyde pH:6, ekstraksiyon çözücüsü hacmi 300 µL, dispersif çözücü hacmi 1000 (500+500) µL, ekstraksiyon süresi 3 dakika ve örnek hacmi 7,5 mL olarak sabit tutulmuştur.



Tablo 6.9’de 2, 7 ve 8 numaralı deneylerde Ni için kantitatif geri kazanım değeri elde edilirken Fe kantitatif geri alınamamıştır. Sonraki deneyler için ekstraksiyon çözücüsü olarak kloroform, dispersif çözücü olarak da metanol seçildi. Çözücü türlerinin optimize edilmesinden sonra da ekstraksiyon ve dispersif çözücü hacimleri ve ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi incelenmiştir (Tablo 6.10 ve 6.11). Değişkenlerinin etki değerlerinin boyutu Pareto kart diyagramlarından anlaşılmaktadır (Şekil 6.7 ve 6.8). Ni ve Fe iyonlarının geri kazanımı için en önemli etkinin ekstraksiyon çözücüsü hacmi (Şekil 6.7-6.8) olduğu görülmektedir. Ni ve Fe için etki değerleri pozitif olduğundan yüksek seviye olan 300 µL, ekstraksiyon çözücü hacmi olarak belirlenmiştir. Dispersif çözücü hacmi de 1000 µL olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresinin çok önemli olmadığı görülmüştür.

Şekil 6.9’da ekstraksiyon zamanının hem dispersif çözücü hacmi ile hem de ekstraksiyon çözücüsü hacmi ile etkileşiminin Ni iyonlarının geri kazanımında etili olmadığı, Şekil 6.10’da ise Fe(II) iyonlarının ekstraksiyonunda her bir değişkenin birbirleri ile etkileşimlerinin önemli olduğu görülmektedir. Şekil 6.11 incelendiğinde Ni iyonunun ekstraksiyonu için ekstraksiyon çözücüsü oldukça büyük bir etkiye sahiptir. Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi arttıkça geri kazanım artmaktadır.

Yapılan her iki tasarım pH için bizi farklı yönlendirdiğinden ve metal komplekslerinin oluşumunda en önemli değişken pH olduğundan tampon çözeltiler kullanılarak pH’ın ekstraksiyon verimine etkisi incelenmiş ve Ni tayini için optimum pH 6 olarak belirlenmiştir. Yapılan faktoriyel tasarım ve pH taraması sonucunda Fe ve Co, Ni ile birlikte tayin edilemediğinden çalışmalara sadece Ni tayini için devam edilmiştir. Ni için optimum şartlar: pH:6 (Asetik asit/Amonyum asetat tamponu) ekstraksiyon çözücüsü ve hacmi: kloroform, 300 µL; dispersif çözücü ve hacmi: metanol, 1000 µL; ekstraksiyon süresi: 3 dakika olarak belirlenmiştir.

Çalışmada ligand derişimi ve ilave şeklinin etkisi (Şekil 6.13), tuz etkisi (Şekil 6.14) ve santrifüj devrinin ekstraksiyon verimi üzerine etkileri incelenmiştir. Deneyler sonucunda optimum ligand derişimi 0,01 mol L<sup>-1</sup>; ligand çözeltilisinin, dispersif ve ekstraksiyon çözücüsü karışımından önce örnek çözeltilisine ilavesinin uygun olduğuna karar verilmiştir. Tuz ilavesinin ekstraksiyon verimi üzerine herhangi bir etkisi olmadığından deneylerin devamında sulu çözeltiliye tuz eklenmemiştir. Ancak elde edilen sonuca göre ortamda belirli bir miktara kadar bulunabilecek tuz

miktarının da olumsuz etki göstermediğini söylemek mümkündür. Optimum santrifüj devri 1000 rpm olarak belirlenmiştir.

DLLME yönteminde sediment fazın sulu çözeltiye alınması oldukça önemlidir ve Ni iyonlarının kantitatif geri kazanımı için sediment fazın çözünürleştirilmesinde 2,8 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> kullanılmıştır.

Geliştirilen yöntemin doğal sulara uygulanması amaçlandığından, doğal su örneklerinde bulunabilecek bazı iyonların etkileri incelenmiştir (Tablo 6.13). Tablo 6.14'te verilen maksimum tolere dileyebilir matriks iyon miktarları ile doğal sulardaki iyon derişimleri dikkate alındığında, yöntemin bu iyonların bulunduğu ortamlara kolaylıkla uygulanabileceği anlaşılmaktadır.

Geliştirilen yöntem analitik açıdan değerlendirilmiş ve elde edilen veriler Tablo 6.15'te gösterilmiştir. Ni için gözlenebilme sınırı 1,04 µg L<sup>-1</sup>, deneysel zenginleştirme faktörü 52,5 olarak bulunmuştur.

Geliştirilen yöntem musluk suyu ve bazı şişe sularının analize uygulanmış ve geri kazanım değerleri % 90,7 ile % 103,4 aralığında, bağıl standart sapma değerleri ise % 0,36-7,44 aralığında bulunmuştur (Tablo 6.16). Su örneklerine ilave edilen Ni geliştirilen yöntemle kantitatif olarak tayin edilebilmiştir. Yöntem ayrıca atık su örneğine (Tablo 6.17) ve tel örneğine (Tablo 6.18) de uygulanmış ve kantitatif sonuçlar elde edilmiştir.

Yöntemin doğruluğu BCR-715 endüstriyel atık su standart referans madde ile test edilmiş ve elde edilen sonuç sertifikalı değer ile karşılaştırıldığında bağıl hata -%1,67 olarak bulunmuştur. Ayrıca BCR-403 deniz suyu ve SRM 1515 Apple Leaves referans maddelerine de geliştirilen yöntem uygulanmış fakat kantitatif sonuçlar elde edilememiştir. Bu sonuçlar, DLLME'nin en büyük dezavantajı olan karmaşık matrikslere uygulanamamasından kaynaklanmaktadır.

Geliştirilen DLLME-FAAS yöntemi çeşitli su örneklerine başarıyla uygulanan hızlı, basit ve ekonomik bir yöntemdir.

## KAYNAKLAR

- Ali, I. and Aboul-Enein, H.Y.**, 2002. Speciation of Arsenic and Chromium Metal Ions by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography, *Chemosphere*, **48**, 275-282.
- Amoli, H.S., Porgamb, A., Sadr, Z. B. and Mohanazadeh, F.**, 2006. Analysis of metal ions in crude oil by reversed-phase high performance liquid chromatography using short column, *Journal of Chromatography A*, **1118**, 82-84.
- Arain, M.A., Wattoo, F. H., Wattoo, M. H. S., Ghanghro, A. B., Tirmizi, S. A., Iqbal, J. & Arain, S.A.**, 2009. Simultaneous determination of metal ions as complexes of pentamethylene dithiocarbamate in Indus river water, Pakistan, *Arabian Journal of Chemistry*, **2**, 25-29.
- Bai, H., Zhou, Q., Xie, G. and Xiao, J.**, 2010. Temperature-controlled ionic liquid-liquid-phase microextraction for the pre-concentration of lead from environmental samples prior to flame atomic absorption spectrometry, *Talanta*, **80**, 1638-1642.
- Baliza, P. X., Teixeira, L. S. G. and Lemos, V. A.**, 2009. A procedure for determination of cobalt in water samples after dispersive liquid-liquid microextraction, *Microchemical Journal*, **93**, 220-224.
- Bidabadi, M. S., Dadfarnia, S. and Haji Shabani, A. M.**, 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.
- Biparva, P. and Hadjmohammadi, M. R.**, 2007. Cloud Point Extraction Using NDTT Reagent for Preconcentration and Determination of Copper in Some Environmental Water Samples by Flame Atomic Absorption Spectroscopy, *Acta Chim. Slov.*, **54**, 805-810.
- Bohrer, D., Becker, E., Cícero do Nascimento, P., Dessuy, M. and Machado de Carvalho, L.**, 2007. Comparison of graphite furnace and hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of selenium status in chicken meat, *Food Chemistry*, **104**, 868-875.
- Brandão, G. P., Calixto de Campos, R., Ribeiro de Castro, E. V. and Coutinho de Jesus, H.**, 2007. Determination of copper, iron and vanadium in petroleum by direct sampling electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, **62**, 962-969.
- Cao, J., Liang, P. and Liu, R.**, 2008. Determination of trace lead in water samples by continuous flow microextraction combined with graphite furnace

- atomic absorption spectrometry, *Journal of Hazardous Materials*, **152(3)**, 910-914.
- Cacho, C., Brito, B., Palacios, J., Pérez-Conde, C. and Cámara, C., 2010.** Speciation of nickel by HPLC-UV/MS in pea nodules, *Talanta*, **83**, 78–83.
- Caroli, S., 1985.** Improved Hollow Cathode Lamps for Atomic Spectroscopy (Ellis Horwood Series in Analytical Chemistry, Wiley: New York).
- Cassella, R. J., Brum, D. M., Lima, C. F. and Fonseca, T. C. O., 2011.** Direct determination of Cu and Fe in jet fuel by electrothermal atomic absorption spectrometry with injection of sample as detergent emulsions, *Fuel*, **90**, 1215-1220.
- Chamsaz, M., Arbab-Zarar, M. H. and Nazari, S., 2003.** Determination of arsenic by electrothermal atomic absorption spectrometry using headspace liquid phase microextraction after *in situ* hydride generation, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **18**, 1279-1282.
- Chamsaz, M., Arbab-Zarar, M. H. and Akhondzadeh, J., 2008.** Triple-phase Single-drop Microextraction of Silver and Its Determination Using Graphite-Furnace Atomic-Absorption Spectrometry, *Analytical Sciences*, **24(6)**, 799-801.
- Chanpaka, S. S., Kukusamude, C. & Grudpan, K., 2006.** Flow-injection in-line complexation for ion- pair reversed phase high performance liquid chromatography of some metal-4-(2-pyridylazo) resorcinol chelates, *Talanta*, **68**, 1720-1725.
- Chen, H., Chen, J., Jin, X. and Wei, D., 2009.** Determination of trace mercury species by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry after cloud point extraction, *Journal of Hazardous Materials*, **172**, 1282-1287.
- Cheng, G. W., Lee, C. F., Hsu, K. C., Wu, H. L. & Huang, Y. L., 2008.** On-line microdialysis–nano-Au/TiO<sub>2</sub>–high-performance liquid chromatography system for the simultaneous determination of cobalt and nickel in water, *Journal of Chromatography A*, **1201**, 202-207.
- Chung, Y and Chung, W., 2003.** Determination of Co(II) Ion as a 4-(2 Thiazolylazo) resorcinol or 5-Methyl-4-(2-thiazolylazo)resorcinol Chelate by Reversed-Phase Capillary High-Performance Liquid Chromatography, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **2003**, 24, 1781-1784
- Cooper, H. K., Duke, M. J. M., Simonetti, A. & Chen, G.C., 2008.** Trace element and Pb isotope provenance analyses of native copper in northwestern North America: results of a recent pilot study using INAA, ICP-MS, and LA-MC-ICP-MS, *Journal of Archaeological Science*, **35**, 1732-1747.
- Çiftçi, H., Ölçücü, A. and Çiftçi, T., 2007.** The Determination of Nickel in Some Plants with Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography (HPLC), *International Journal of Science & Technology*, **2**, No 2, 105-108.

- Dadfarnia, S., Haji Shabani, A. M. and Kamranzadeh, E.,** 2009. Separation/preconcentration and determination of cadmium ions by solidification of floating organic drop microextraction and FI-AAS, *Talanta*, **79**, 1061-1065.
- Dadfarnia, S., Salmanzadeh, A. M. and Haji Shabani, A. M.,** 2008. A novel separation/preconcentration system based on solidification of floating organic drop microextraction for determination of lead by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **623**, 163-167.
- Dadfarnia, S. and Haji Shabani, A. M.,** 2010. Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals-A review, *Analytica Chimica Acta*, **658**, 107-119.
- Divrikli, U., Soylak, M. and Elci, L.,** 2003. Separation and Enrichment of Gallium(III) as 4-(2-thiazolylazo) resorcinol (TAR) Complex by Solid Phase Extraction on Amberlite XAD-4 Adsorption Resin, *Analytical Letters*, **36**, 839-852.
- Doroschuk, V. O., Lelyushok, S. O., Ishchenko, V. B. and Kulichenko, S. A.,** 2004. Flame atomic absorption determination of manganese(II) in natural water after cloud point extraction, *Talanta*, **64**, 853-856.
- Dulski, T. R.,** 1999. Trace Elemental Analysis of Metals Methods and Techniques, Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- El Dessouky, S. I., El-Nadi, Y. A., Ahmed, I. M., Saad, E. A. and Daoud J. A.,** 2008. Solvent Extraction Separation of Zn(II), Fe(II), Fe(III) and Cd(II) using Tributylphosphate and CYANEX 921 in Kerosene from Chloride Medium, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, **47(2)**, 177-183.
- Elci, L., Kartal, A. A. and Soylak, M.,** 2008. Solid phase extraction method for the determination of iron, lead and chromium by atomic absorption spectrometry using Amberite XAD-2000 column in various water samples, *Journal of Hazardous Materials*, **153**, 454-461.
- Fan, Z. and Liu, X.,** 2008. Determination of methylmercury and phenylmercury in water samples by liquid-liquid-liquid microextraction coupled with capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A*, **1180**, 187-192.
- Fan, Z. and Zhou, W.,** 2006. Dithizone-chloroform single drop microextraction system combined with electrothermal atomic absorption spectrometry using Ir as permanent modifier for the determination of Cd in water and biological samples, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **61**, 870-874.
- Farajzadeh, M.A., Bahram, M. and Vardast, M. R.,** 2010. Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction of Co(II) and Fe(III) as their oxinate chelates and analysis by HPLC: Application for the simultaneous determination of Co(II) and Fe(III) in water samples. *Journal of Separation Science*, **32**, 4200-4212.
- Fiamegos, Y. C. and Stalikas, C. D.,** 2007. Theoretical analysis and experimental evaluation of headspace in-drop derivatisation single-drop

- microextraction using aldehydes as model analytes, *Analytica Chimica Acta*, **599**, 76-83.
- Flanagan, R. J., Morgan, P. E., Spencer, E. P. and Whelpton, R.**, 2006. Micro-Extraction Techniques in Analytical Toxicology: Short Review, *Biomedical Chromatography*, **20**, 530-538.
- Fragueiro, S., Lavilla, I. and Bendicho, C.**, 2004. Headspace sequestration of arsine onto a Pd(II)-containing aqueous drop as a preconcentration method for electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **59**, 851-855.
- Fragueiro, S., Lavilla, I. and Bendicho, C.**, 2006. Hydride generation-headspace single-drop microextraction-electrothermal atomic absorption spectrometry method for determination of selenium in waters after photoassisted pre-reduction, *Talanta*, **68**, 1096-1101.
- Ghaedi, M., Tavallali, H., Shokrollahi, A., Zahedi, M., Montazerzohori, M. and Soylak, M.**, 2009. Flame atomic absorption spectrometric determination of zinc, nickel, iron and lead in different matrixes after solid phase extraction on sodium dodecyl sulfate (SDS)-coated alumina as their bis (2-hydroxyacetophenone)-1,3-propanediimine chelates, *Journal of Hazardous Materials*, **166**, 1441-1448.
- Gil, S., Fragueiro, S., Lavilla, I. and Bendicho, C.**, 2005. Determination of methylmercury by electrothermal atomic absorption spectrometry using headspace single-drop microextraction with in situ hydride generation, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **60**, 145-150.
- Gil, S., Loos-Vollebregt, M. T. C. de and Bendicho, C.**, 2009. Optimization of a single-drop microextraction method for multielemental determination by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry following in situ vapor generation, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **64**, 208-214.
- Greenwood, N. N. and Earnshaw, A.**, 1997. Chemistry of Elements, Second Edition, Butterworth-Heinemann, Elsevier Science Ltd, Great Britain.
- Gündüz, T.**, 2004. Instrumental Analiz, Yedinci Baskı, Gazi Kitabevi Tic. Ltd. Şti., Ankara.
- Hemmatkhan, P., Bidari, A., Jafarvand, S., Hosseini, M. R. M. and Assadi, Y.**, 2009. Speciation of chromium in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry, *Microchim Acta*, **166**, 69-75.
- Hoffmann, B.W. and Schwedt, G.**, 1982. Application of HPLC to inorganic analysis Part VII: Comparison between pre-column and on-column derivatization for separation of different metal oxinates; quantitative determination of Mn(II) besides Mn(III) ions, *Journal of High Resolution Chromatography*, **5**, 439-440.
- Hu, Q., Yang, G., Li, H., Tai, X. and Yin, J.**, 2004. Study on Determination of Seven Transition Metal Ions in Water and Food by Microcolumn High-Performance Liquid Chromatography, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **25**, 694-698.

- Khalili Zanjani, M.R., Yamini, Y., Shariati, S. and Jönsson, J. A.,** 2007. A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop, *Analytica Chimica Acta*, **585**, 286-293.
- Jamshidi, M., Ghaedi, M., Mortazavi, K., Biareh, M. N. and Soylak, M.,** 2011. Determination of some metal ions by flame-AAS after their preconcentration using sodium dodecyl sulfate coated alumina modified with 2-hydroxy-(3-((1-H-indol 3-yle)phenyl) methyl) 1-H-indol (2-HIYPMI), *Food and Chemical Toxicology*, **49**, 1229–1234.
- Jeannot, M. A. and Cantwell, F. F.,** 1996. Solvent Microextraction into a Single Drop, *Analytical Chemistry*, **68(13)**, 2236-2240.
- Jia, X., Han, Y., Liu, X., Duan, T. and Chen, H.,** 2010. Speciation of mercury in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochimica Acta, Part B: Atomic Spectroscopy*, in press, doi: 10.1016/j.sab.2010.12.003.
- Jia, X., Han, Y., Wei, C., Duan, T. and Chen, H.,** 2011. Speciation of mercury in liquid cosmetic samples by ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, DOI: 10.1039/c0ja00121j
- Jiang, H., Hu, B., Chen, B. and Xia, L.,** 2009. Hollow fiber liquid phase microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the speciation of arsenic (III) and arsenic (V) in fresh waters and human hair extracts, *Analytica Chimica Acta*, **634**, 15–21.
- Jiang, H., Qin, Y. and 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.
- Johrami, E. Z., Bidari, A., Assadi Y., Hosseini, M.R.M. and Jamali, M.R.,** 2007. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry Ultra trace determination of cadmium in water samples, *Analytica Chimica Acta*, **585**, 305-311.
- Kagaya, S., Takata, D., Yoshimori, T., Kanbara, T. and 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.
- Karatepe, A., Korkmaz, E., Soylak, M. and Elci, L.,** 2010. Development of coprecipitation system for the speciation/preconcentration of chromium in tap waters, *Journal of Hazardous Materials*, **173(1-3)**, 433-437.
- Kaur, V. and Malik, A. K.,** 2007. A new method for simultaneous determination of Co(II), Ni(II) and Pd(II) as morpholine-4-carbodithioate complex by SPME–HPLC–UV system, *Talanta*, **73**, 425–430.

- Kaur, V., Aulakh, J. S. and Malik A., K.,** 2007. A new approach for simultaneous determination of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Pd(II) using 2-thiophenylaldehyde-3-thiosemicarbazone as reagent by solid phase microextraction–high performance liquid chromatography, *Analytica Chimica Acta*, **603**, 44–50.
- Karadjova, I. B., Lampugnani, L. and Tsalev, D. L.,** 2005. Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Determination of Arsenic in Essential Lavender and Rose Oils, *Talanta*, **65**, 1015-1021.
- Kellner, F., Mermet, J.-M., Otto, M. and Widmer H. M.,** 1998. Analytical Chemistry, Wiley-VCH: Weinheim, Germany.
- Kokya, T. A. and Farhadi, K.,** 2009. Optimization of disperssve liquid-liquid microextraction fort he selective determination of trace amounts of palladium by flame atomic absorption spectroscopy, *Journal of Hazardous Materials*, **169**, 726-733.
- Lee, J.-Y., Kumar, R. J., Kim, J.-S., Park, H.-K. and Yoon, H.-S.,** 2009. Liquid–liquid extraction/separation of platinum(IV) and rhodium(III) from acidic chloride solutions using tri-iso-octylamine, *Journal of Hazardous Materials*, **168**, 424-429.
- Lemos, V. A., Santos, M. S., David, G. T., Maciel M. V. and Bezerra M. de A.,** 2008, Development of a cloud-point extraction method for copper and nickel determination in food samples, *Journal of Hazardous Materials*, **159**, 245-251.
- Leong, M.-I. and Huang, S.-D.,** 2008. Dispersive liquid–liquid microextraction method based on solidification of floating organic drop combined with gas chromatography with electron-capture or mass spectrometry detection, *Journal of Chromatography A*, **1211**, 8-12.
- Li, L., Hu, B., Xia, L. and Jiang, Z.,** 2006. Determination of trace Cd and Pb in environmental and biological samples by ETV-ICP-MS after single-drop microextraction, *Talanta*, **70(2)**, 468-473.
- Liang, P. and Peng, L.,** 2010. Determination of silver(I) ion in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after preconcentration with dispersive liquid-liquid microextraction, *Microchim Acta*, **168**, 45-50.
- Liang, P., Peng, L. and Yan, P.,** 2009. Speciation of As(III) and As(V) in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction separation and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Microchim Acta*, **166**, 47-52.
- Liang, P. and Sang, H.,** 2008. Determination of trace lead in biological and water samples with dispersive liquid–liquid microextraction preconcentration, *Analytical Biochemistry*, **380**, 21–25.
- Lin, M.-Y. and Whang, C.-W.,** 2007. Microwave-assisted derivatization and single-drop microextraction for gas chromatographic determination of chromium(III) in water, *Journal of Chromatography A*, **1160**, 336-339.



- Liu, H. and Dasgupta, P. K.**, 1996. Analytical Chemistry in a Drop. Solvent Extraction in a Microdrop, *Analytical Chemistry*, **68**, 1817-1821.
- Liu, L. and Hu, B.**, 2007. Hollow-fibre liquid phase microextraction for separation and preconcentration of vanadium species in natural waters and their determination by electrothermal vaporization-ICP-OES, *Talanta*, **72**, 472-479.
- Liu, W. and Lee, H. K.**, 2000. Continuous-flow microextraction exceeding 1000-fold concentration of dilute analytes, *Analytical Chemistry*, **72(18)**, 4462-4467.
- Ma, M. and Cantwell, F. F.**, 1999. Solvent Microextraction with Simultaneous Back-Extraction for Sample Cleanup and Preconcentration: Preconcentration into a Single Microdrop, *Analytical Chemistry*, **71(2)**, 388-393.
- Ma, Z.-Li, Wang, Y.-P., Wang, C.-X., Miao, F.-Z. and Ma, W.-X.**, 1997. Reversed-phase ion-pair high performance liquid chromatographic determination of Co(III)-, Ni(II)-, V(V)- and Fe(III)-2-(2-benzothiazolylazo)-5-(3-sulfopropyl) aminophenol chelates, *Talanta*, **44**, 743-748.
- Mallah, M. H., Shemirani, F. and Maragheh, M. G.**, 2008. Use of dispersive liquid-liquid microextraction for simultaneous preconcentration of samarium, europium, gadolinium and dysprosium, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **278**, 97-102.
- Manzoori, J. L., Amjadi, M. and Abulhassani, J.**, 2009. Ionic liquid-based single drop microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of manganese in water samples, *Talanta*, **77**, 1539-1544.
- Marczenko, Z. and Balcerzak, M.**, 2000. Separation preconcentration and spectrophotometry in inorganic analysis, first ed., *Elsevier*, Amsterdam
- McMaster, M. C.**, 2007. HPLC A Practical User's Guide, Second Edition, John Wiley&Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Meyer, V. R.**, 2000. Practical High-Performance Liquid Chromatography, Third Edition, John Wiley&Sons Ltd, England.
- Miravet, R., Lopez-Sanchez, J. F. and Rubio, R.**, 2006. Leachability and Analytical Speciation of Antimony in Coal Fly Ash, *Analytica Chimica Acta*, **576**, 200-206.
- Mirzaei, M., Behzadia, M., Abadia, N. M. and Beizaeia, A.**, 2011. Simultaneous separation/preconcentration of ultra trace heavy metals in industrial wastewaters by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop prior to determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Journal of Hazardous Materials*, **186**, 1739-1743.
- Moghadam, M. R., Dadfarnia, S. and Shabani, A. M. H.**, 2011. Speciation and determination of ultra trace amounts of chromium by solidified floating organic drop microextraction (SFODME) and graphite

- furnace atomic absorption spectrometry, *Journal of Hazardous Materials*, **186**, 169-174.
- Mohammadi, S. Z., Afzali, D. and Baghelani, Y. M.**, 2009. Ligandless-dispersive liquid-liquid microextraction of trace amount of copper ions, *Analytica Chimica Acta*, **653**, 173-177.
- Mohammadi, S. Z., Afzali, D., Taher, M.A. and Baghelani, Y. M.**, 2009. Ligandless-dispersive liquid-liquid microextraction for the separation of trace amounts of silver ions in water samples and flame atomic absorption spectrometry determination, *Talanta*, **80**, 875-879.
- Morita, Y., Kobayashi, T., Kuroiwa, T. and Narukawa, T.**, 2007. Study on Simultaneous Speciation of Arsenic and Antimony by HPLC-ICP-MS, *Talanta*, **73(1)**, 81-86.
- Mudasir, Arai, M., Yoshioka, N. and Inouea, H.**, 1998. Reversed-phase high-performance liquid chromatography of iron(II) and copper(II) chelates with 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline disulfonate, *Journal of Chromatography A*, **799**, 171-176.
- Naseri, M. T., Hosseini, M. R. M., Assadi, Y. and Kaini, A.**, 2008. Rapid determination of lead in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta*, **75(1)**, 56-62.
- Nam, S.-H., Cheng, J., Mindak, W. R. and Capar, S. G.**, 2006. Preliminary Results of Extraction, Separation and Quantitation of Arsenic Species in Food and Dietary Supplements by HPLC-ICP-MS, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **27**, No. 6, 903-908.
- Ohashi, A., Hashimoto, T., Imura, H. and Ohashi, K.**, 2007. Cloud Point Extraction Equilibrium of Lanthanum(III), Europium(III) and Lutetium(III) using Di(2-ethylhexyl)Phosphoric Acid and Triton X-100, *Talanta*, **73(5)**, 893-898.
- Ojeda, C. B. and Rojas, F. S.**, 2009. Separation and Preconcentration by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Procedure: A Review, *Chromatographia*, **69**, 1149.
- Okutani, T., Tsukada, Y., Sakuragawa, A., Yamaji, T. and Morita, S.**, 1997. Multi element trace analysis by reversed-phase high-performance liquid chromatography followed by on-line column enrichment as 2-(5-nitro-2-pyridylazo)-5-[N-propyl-N-(3-sulphopropyl) amino] phenol chelates, *Journal of Chromatography A*, **788**, 113-119.
- Oszwaldowski, S. and Okada, T.**, 1999. Micellar Electrokinetic Chromatographic Separation of Fe(II)/Fe(III) and Cu(I)/Cu(II) as 2-Pyridylazo Chelates. *Microchemical Journal*, **62**, 138-146.
- Oymak, T., Tokaloğlu, Ş., Yılmaz, V., Kartal, Ş. and Aydın, D.**, 2009. Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method, *Food Chemistry*, **113(4)**, 1314-1317.
- Özcimder, M. ve Demirci, A.**, 2004. Gaz ve Sıvı Kromatografileri, Bilim Yayıncılık, Kırıkkale.

- Padaruskas, A., Judzėntiene, A., Naujalis, E. and P., Vaida,** 1998. On-line preconcentration and determination of chromium(VI) in waters by high-performance liquid chromatography using precolumn complexation with 1,5-diphenylcarbazide, *Journal of Chromatography A*, **808**, 193-196.
- Pedersen-Bjergaard, S. and Rasmussen, K. E.,** 1999. Liquid-Liquid-Liquid Microextraction for Sample Preparation of Biological Fluids Prior to Capillary Electrophoresis, *Analytical Chemistry*, **71 (14)**, 2650-2656.
- Pena-Pereira, F., Lavilla, I. and Bendicho, C.,** 2009. Miniaturized preconcentration methods based on liquid-liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review, *Spectrochimica Acta Part B*, **64**, 1-15.
- Peng, J., Liu, S. & Deng, C.,** 2005. Separation and determination of trace amounts of aluminium(III), vanadium(V), iron(III), copper(II) and nickel(II) with CALKS and PAR by RP-HPLC, *Analytical Science*, **21**, 259-262.
- Psillakis, E. and Kalogerakis, N.,** 2002. Developments in Single-Drop Microextraksiyon, *Trends in Analytical Chemistry*, **21(1)**, 53-63.
- Rahmi, D., Zhu, Y., Fujimori, E., Umemura, T. And Haraguchi, H.,** 2007. Multielement determination of trace metals in seawater by ICP-MS with aid of down-sized chelating resin-packed minicolumn for preconcentration., *Talanta*, **72**, 600-606.
- Rao, K. S., Balaji, T., Rao, T. P., Babu, Y. And Naidu, G. R. K.,** 2002. Determination of iron, cobalt, nickel, manganese, zinc, copper, cadmium and lead in human hair by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, **57**, 1333-1338.
- Raposo Júnior, J. L., Ruella de Oliveira, S., Caldas, N. M. & Gomes Neto, J. A.,** 2008. Evaluation of alternate lines of Fe for sequential multi-element determination of Cu, Fe, Mn and Zn in soil extracts by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **627**, 198-202.
- Rezaee, M., Assadi, Y., Hosseini, M.-R.M., Aghaee, E., Ahmadi, F. and Berijani, S.,** 2006. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction, *Journal of Chromatography A*, **1116**, 1-9.
- Rezaee, M., Yamini, Y. and Faraji, M.,** 2010. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method, *Journal of Chromatography A*, **1217**, 2342-2357.
- Rivas, R. E., Lopez-Garcia, I. and Hernandez-Cordoba, M.,** 2009. Speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters using dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, **64**, 329-333.
- Rodrigues, G. D., Hespanhol da Silva, M. do C., Mendes da Silva, L. H., Paggioli, F. J., Minim, L. A. and Coimbra, J. S. Dos R.,** 2008.

- Liquid–liquid extraction of metal ions without use of organic solvent, *Separation and Purification Technology*, **62**, 687–693,
- Saleh, A., Yamini, Y., Faraji, M., Shariati, S. And Rezaee, M.,** 2009. Hollow fiber liquid phase microextraction followed by high performance liquid chromatography for determination of ultra-trace levels of Se(IV) after derivatization in urine, plasma and natural water samples, *Journal of Chromatography B*, **877**, 1758-1764.
- Saraçoğlu, S., Soylak, M. and Elçi, L.,** 2003. Separation /Preconcentration of Trace Heavy Metals in Urine, Sediments and Dialysis Concentrates by Coprecipitation with Samarium Hydroxide for Atomic Absorption Spectrometry, *Talanta*, **59**, 287-293.
- Sarafraz-Yazdi, A. and Amiri, A.,** 2010. Liquid-phase microextraction, *Trends in Analytical Chemistry*, **29**, 1-14.
- Saygi, K. O., Tuzen, M., Soylak, M. and Elci, L.,** 2008. Chromium Speciation by Solid Phase Extraction on Dowex M 4195 Chelating Resin and Determination by Atomic Absorption Spectrometry, *Journal of Hazardous Materials*, **153(3)**, 1009-1014.
- Scheid, N., Becker, S., Ducking, M., Hampel, G., Kratz, J. V., Watzke, P., Weis, P. & Zauner, S.,** 2009. Forensic investigation of brick stones using instrumental neutron activation analysis (INAA), laser ablation–inductively coupled plasma–mass spectrometry (LA–ICP–MS) and X-ray fluorescence analysis (XRF), *Applied Radiation and Isotopes*, **67**, 2128-2132.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. and Nieman, T. A.,** 1998. Principles of Instrumental Analysis, Fifth Edition, Harcourt Brace & Company, USA.
- Skoog, D. A., West, D. M. and Holler F. J.,** 1996. Fundamentals of analytical Chemistry, Seventh Edition, Saunders College Publishing, USA.
- Senturk, H. B., Gundogdu, A., Bulut, V. N., Duran, C., Soylak, M., Elci, L. and Tufekci, M.,** 2007. Separation and enrichment of gold(III) from environmental samples prior to its flame atomic absorption spectrometric determination, *Journal of Hazardous Materials*, **149**, 317-323.
- Seresthi, H., Khojeh, V. and Samadi, S.,** 2011. Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction coupled with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry with the aid of experimental design for simultaneous determination of heavy metals in natural waters, *Talanta*, **83**, 885-890.
- Settle, F. A.,** 1997. Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry, Pirentice Hall PTR.
- Shamsipur, M., Ramezani, M. and Sadeghi, M.,** 2009. Preconcentration and determination of ultra trace amounts palladium in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Microchim Acta*, **166**, 235-242.
- Silva, M. A. M., Frescura, V. L. A, Aguilera F. J. N. and Curtius, A. J.,** 1998. Determination of Ag and Au in Geological Samples by Flame Atomic

- Absorption Spectrometry After Cloud Point Extraction, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **13(12)**, 1369-1373.
- Srijaranai, S., Chanpaka, S., Kukusamude, C. and Grudpan, K.**, 2006. "Flow-injection in-line complexation for ion-pair reversed phase high performance liquid chromatography of some metal-4-(2-pyridylazo) resorcinol chelates", *Talanta*, **68**, 1720-1725.
- Street, R., Drabek, O., Szakova, J. and Mladkova, L.**, 2007. Total Content and Speciation of Aluminium in Tea Leaves and Tea Infusions, *Food Chemistry*, **104**, 1662-1669.
- Sun, M. and Wu, Q.**, 2010. Determination of ultra-trace aluminum in human albumin by cloud point extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Journal of Hazardous Materials*, **176**, 901-905.
- Şahin, Ç. A., Efeçmar, M. and Şatiroğlu, N.**, 2010. Combination of cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometry for preconcentration and determination of nickel and manganese ions in water and food samples, *Journal of Hazardous Materials*, **176**, 672-677.
- Tabrizi, A. B.**, 2010. Development of dispersive liquid-liquid microextraction method for iron speciation and determination in different water samples, *Journal of Hazardous Materials*, **183**, 688-693.
- Takahashi, T., Yawata, S. and Hoshino, H.**, 2008. Determination of boron in water samples at nanograms per cubic decimeter levels by reversed-phase partition high-performance liquid chromatography with precolumn complexation reaction using salicylaldehyde and 1-amino-8-naphthol-3,6-disulfonate, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **391**, 1101-1106.
- Takeuchi, T., Inoue, S., Yamamoto, M., Tsuji, M. and Miwa, T.**, 2001. Fluorimetric determination of magnesium and aluminum via complexation with oxine in high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **910**, 373-376.
- Tang, A.-N., Jiang, D.-Q., Jiang, Y., Wang, and Yan, X.-P.**, 2004. Cloud Point Extraction for High-Performance Liquid Chromatographic Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in Aqueous Solutions, *Journal of Chromatography A*, **1036**, 183-188.
- Tezcan, R. ve Tezcan, H.**, 2007. *Metaller Kimyası*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- Theis, A. L., Waldack, A. J., Hansen, S. M. and Jeannot, M. A.**, 2001. Headspace Solvent Microextraction, *Analytical Chemistry*, **73 (23)**, 5651-5654.
- Tüzen, M.**, 2003. Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Food Chemistry*, **80**, 119-123.
- Url-1** <<http://www.lenntech.com/periodic/elements/co.htm>>, alındığı tarih 05.07.2011
- Url-2** <<http://en.wikipedia.org/wiki/Nickel>>, alındığı tarih 05.07.2011

- Url-3** <<http://www.lenntech.com/periodic/elements/ni.htm>>, alındığı tarih 05.07.2011
- Url-4** <[http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0014/123080/AQG2ndEd\\_6\\_10Nickel.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0014/123080/AQG2ndEd_6_10Nickel.pdf)>, alındığı tarih 22.03.2011
- Wen, X., Yang, Q., Yan, Z. and 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.
- Wieteska, E., Zióek, A. and Drzewińska, A.,** 1996. Extraction as a method for preparation of vegetable samples for the determination of trace metals by atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **330**, 251-257
- Xia, L., Xuan, L., Wu, Y., Hu, B. and Chen, R.,** 2008. Ionic liquids based single drop microextraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry for determination of Co, Hg and Pb in biological and environmental samples, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **63**, 1290-1296.
- Xia, L., Hu, B., Jiang, Z., Wu, Y., Li, L. and Chen, R.,** 2005. 8 Hydroxyquinoline–chloroform single drop microextraction and electrothermal vaporization ICP-MS for the fractionation of aluminium in natural waters and drink, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **20**, 441-446.
- Vachirapatama, N., Dicoski, G. W., Townsend, A. T. and Haddad, P. R.,** 2002. Determination of vanadium as 4-(2-pyridylazo)resorcinol-hydrogen peroxide ternary complexes by ion-interaction reversed-phase liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, **956**, 221-227.
- Yang, G., Fena, W., Lei, C., Xiao, W. and Sun, H.,** 2009. Study on solid phase extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination of nickel, silver, cobalt, copper, cadmium and lead with MCI GEL CHP 20Y as sorbent, *Journal of Hazardous Materials*, **162**, 44-49.
- Yang, G., Hu, Q., Huang, Z. & Yin, J.,** 2005. Study on the Determination of Lead, Cadmium, Mercury, Nickel and Zinc by a Rapid Column High-Performance Liquid Chromatography, *Journal of The Brazilian Chemical Society*, **16**, 1154-1159.
- Yang, Y.-L., Miao, M.-M., Lin, Q., and Yang, G.-Y.,** 2004. Study on Determination of Six Transition Metal Ions in Biological Samples by SPE and RP-HPLC, *Journal of The Chinese Chemical Society*, **51**, 19-24.
- Yasui, T., Kashihara, Y., Miyake, F., Sugitani, S., Yamada, H. & Yuchi, A.,** 2008. Liquid-Liquid Extraction and Liquid Chromatographic Studies on Interactions of Inorganic Anions with Coordinatively Unsaturated Copper(II) Complexes of Heterocyclic Azo Compounds, *Analytical Science*, **24**, 993-997.

- Ying, L.-Y., Jiang, H.-L., Zhou, S. and Zhou, Y.,** 2011. Ionic liquid as a complexation and extraction medium combined with high-performance liquid chromatography in the evaluation of chromium(VI) and chromium(III) speciation in wastewater samples, *Microchemical Journal*, **98**, 200–203.
- Zhang, L., Morita, Y., Sakuragawa, A. and Isozaki, A.,** 2007. Inorganic Speciation of As(III,V), Se(IV,VI) and Sb(III,V) in Natural Water with GF-AAS using Solid Phase Extraction Technology, *Talanta*, **72(2)**, 723-729.
- Zhang, C., Miura, J. and Nagaosa, Y.,** 2005. Determination of Cadmium, Zinc, Nickel and Cobalt in Tobacco by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography with 2-(8-Quinolylazo)-4,5-diphenylimidazole as a Chelating Reagent. *Analytical Science*, **21**, 1105-1110.
- Zhang, Q., Minami, H., Inoue, S. and Atsuya, I.,** 2004. Differential Determination of Trace Amounts of Arsenic(III) and Arsenic(V) in Seawater by Solid Sampling Atomic Absorption Spectrometry After Preconcentration by Coprecipitation with a Nickel–Pyrrolidine Dithiocarbamate Complex, *Analytica Chimica Acta*, **508(1)**, 99-105.
- Zhu, W., Wu, F., Zheng, J. and Liu, C.,** 2007. The use of 3-(2-Pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine as a precolumn derivatizing reagent in HPLC determination for Fe(II) in natural samples. *Analytical Science*, **23**, 1291-1296.

## EKLER

### EK-A.1: Bazı Değişkenlerin Ni(II) İyonlarının Geri Kazanımına Etkileri

Tablo A.1.1: Ni iyonlarının geri kazanımına pH etkisi (N:4)

pH	Geri kazanım, %
4	15,8
5	37,8
6	96,2
7	87,3
8	86,9
9	49,1
10	20,0
11	17,9

Tablo A.1.2: Ni iyonlarının geri kazanımına ligand derişimi etkisi

Ligand Derişimi, mol L <sup>-1</sup>	Geri kazanım, %
0	26,5
0,0025	29,8
0,005	55,6
0,010	94,7
0,02	95,3
0,05	83,6

Tablo A.1.3: Ni iyonlarının geri kazanımına santrifüj devrinin etkisi

Santrifüj devri, rpm	Geri kazanım, %
1000	98,8
1500	97,4
2000	97,8
2500	94,4
3000	95,0



Tablo A.1.4: Ni iyonlarının geri kazanımına NaCl ilavesinin etkisi

NaCl miktarı, %w/v	Geri kazanım, %
0	99,8
0,5	98,2
1	99,4
2	99,6
3	99,8
4	100,9
5	97,6
6	100,6

## ÖZGEÇMİŞ



**Ad Soyad: Ayşen HÖL**

**Doğum Yeri ve Tarihi: Araau-İSVİÇRE / 29.12.1980**

**Adres: Tekke Mahallesi 145 Sokak No:3 Kat:2 Gökpınar / DENİZLİ**

**Lisans (1997-2001) :** Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Denizli

**Yüksek Lisans (2001-2005) :** “İnorganik Arsenik Deriştirilmesi ve Tayini”  
Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli

## MAKALELER

- 1. A. Höl, Ü. Divrikli, L.Elçi, 2011.** “Determination of Cobalt, Nickel and Iron at Trace Level in Natural Water Samples by in-Column Chelation-Reversed Phase High-Performance Liquid Chromatography”, *Environmental Monitoring and Assesment*, DOI 10.1007/s10661-011-2201-9.
- 2. L. Elçi, U. Divrikli, A. Akdoğan, A. Hol, A. Cetin, M. Soylak, 2010.** “Selective extraction of chromium(VI) using a leaching procedure with sodium carbonate from some plant leaves, soil and sediment samples.”, *Journal of Hazardous Materials*, **173**, 778-782.
- 3. A. Jastrzębska, A. Hol and E. Szlyk, 2008.** “Simultaneous and rapid determination of added phosphorus(V) compounds in meat samples by capillary isotachopheresis”, *LWT - Food Science and Technology*, **41**, 2097-2103.

## ULUSLARARASI BİLDİRİLER:

- 1. Hol, A.,** Elçi, L., Optimization of Dispersive Liquid-Liquid Microextraction of Nickel(II) by Atomic Absorption Spectrometry, *ISEAC 36- 36th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry, Roma, Italy, 5-9 October 2010.* (Sözlü)
- 2. Hol, A.,** Elçi, L., “Simultaneous Determination of Co(II), Ni(II) and Fe(II) as 4-(2-pyridylazo) resorcinol complex by RP-HPLC”, *12th Workshop on Progress in Analytical Methodologies for Trace Metal Speciation (TraceSpec2009), Mainz, Germany, 15-18 September 2009.* (Sözlü)
- 3. Divrikli, U., Höl, A., Akın, S., Arslan-Kartal, A., Kesim, A., Kaska, Y. and Elçi, L.,** “Metal Levels in The Tissues of Loggerhead Turtle Hatchlings and Embryos on

Dalaman Beach, Turkey”, *The Third Mediterranean Conference on Marine Turtles, Tunisia, 20-23 October 2008. (Sözlü)*

4. Jastrzebska, A., Hol, A., Szlyk, E., “Simultaneous determination of phosphorus(V) compounds in food sample by cITP”, *International Symposium Advances in Chromatography and Electrophoresis 2007 & Chiranal 2007, Olomouc, Czech Republic, 24-27 June 2007. (Poster)*

5. Ampiah-Bonney, R. J, Elçi, A., Özdağ, A., Elçi, L., Tyson, J. F., “Speciation of Arsenic in Water by Solid-Phase Extraction for Atomic Absorption Spectrometric Measurement”, *Water Resources in the Northeast; Science and Policy Conference, Water Conference 2003, MA Water Resources Research Center, page 22, University of Massachusetts, Amherst, MA, USA, December 5, 2003. (Sözlü)*

### ULUSAL BİLDİRİLER:

1. Höl, A., Elçi, L., “Dispersif Sıvı Sıvı Ekstraksiyonu ile Eser Metal Deriştirilmesi”, *1. Eser Analiz Çalıştayı, Denizli, 22-25 Nisan 2010. (Sözlü)*

2. Höl, A., Jastrzebska, A., Szlyk, E., “Et Örneklerindeki Fonksiyonel Katkı Maddeleri İçin Kapiler İzotakoforez Uygulamaları”, *XXI. Ulusal Kimya Kongresi, Malatya, 23-27 Ağustos 2007. (Sözlü)*

3. Arslan Kartal, A., Akdoğan, A., Höl, A., Divrikli, Ü., Elçi, L., “Denizli Şehiriçi Akarlarından Alınan Su Örneklerinin Kimyasal ve Fiziksel Özelliklerinin Yıllık ve Mevsimsel Değişimi”, *XX. Ulusal Kimya Kongresi, Kayseri, 4-8 Eylül 2006. (Poster)*

4. Divrikli, Ü., Akdoğan, A., Höl, A., Arslan Kartal A., Elçi, L., “Katı Faz Özütleme ile Fosfor Deriştirilmesinin Faktöriyel Dizayn ile Optimizasyonu”, *XX. Ulusal Kimya Kongresi, Kayseri, 4-8 Eylül 2006. (Sözlü)*

5. Höl, A., Elçi, L., “İçme Sularında İnorganik Arsenik Deriştirilmesi ve GFAAS ile Tayini”, *III. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Çanakkale, 5-7 Temmuz 2006. (Sözlü)*

6. Özdağ, A., Divrikli, Ü., Elçi, L. ve Horzum, N. (2004) “Denizli Çevresinde Yetişen Yenilebilir Yeşil Bitkilerin Eser Metal Derişim Düzeyleri”, *Kafkas Üniversitesi, XVIII. Ulusal Kimya Kongresi, Kars, 5-9 Temmuz 2004. (Poster)*

### VERDİĞİ KURSLAR

1. Ayşen HÖL, Abdullah AKDOĞAN, Aslıhan ARSLAN KARTAL, “Nikelin DLLME İle Önderiştirilmesi ve Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi İle Tayini”, 1. Eser Analiz Çalıştayı, 22 Nisan 2010, Denizli.

2. Aslıhan ARSLAN KARTAL, Abdullah AKDOĞAN, Ayşen HÖL, “Bazı Klorofenollerin DLLME ile Önderiştirilmesi ve GC-MS Uygulaması”, 1. Eser Analiz Çalıştayı, 22 Nisan 2010, Denizli.

## GÖREV ALDIĞI BİLİMSEL TOPLANTILAR

1. Organizing Committee, “1st International Symposium on Secondary Metabolites: Chemical, Biological and Biotechnological Properties (ISSMET-2011)”, Pamukkale University, Departments of Biology & Chemistry, 12-15 September 2011, Denizli.
2. Yerel Kurul Üyesi, “1. Eser Analiz Çalıştayı (EsAn-2010)”, Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 22-25 Nisan 2010. Denizli
3. Local Organization Committee, “6th Aegean Analytical Chemistry Days”, Pamukkale University, Art&Science Faculty, Department of Chemistry, 9-12 October 2008, Denizli.

## GÖREV ALDIĞI PROJELER

Proje adı	Destekleyen kurum	Yıl
Su Örneklerinde Katı Faz Ekstraksiyonu ile İnorganik Arsenik Türlemesi ve Tayini (Proje No: 2002FEF003)	PAÜ – BAP	2004
Arsenik Deriştirilmesi ve Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile Tayini [TBAG-HD/45 (105T066)]	TÜBİTAK	2006
Denizli İl Merkezindeki Bazı Akar Kaynak Sularının Kimyasal Analizi (Proje No: 2006FEF014)	PAÜ – BAP	2007
Denizli’de Bulunan Bazı Endemik Bitkilerin Uçucu Yağlarının Süper Isıtılmış Su ile Ekstraksiyonları, Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi ve GC-MS ile Analizleri (Proje No: 2006 FEF 020)	PAÜ – BAP	2009

## KATILDIĞI SEMİNER VE KURSLAR

1. ICP-MS / ICP-OES / AAS / MICROWAVE DIGESTION, 16 Mayıs 2007, İzmir
2. Yeni Nesil HPLC Kolonları ve İleri Uygulama Teknikleri, 8 Ocak 2009, İzmir
3. Kemometri Eğitimi, 31 Temmuz-2 Ağustos 2011, Antalya.

## ALDIĞI ÖDÜLLER

1. Bölüm birinciliği ödülü 2001  
- PAÜ Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Denizli
2. MEB Araştırma Bursu (Polonya Hükümetince Hükümetimiz Emrine Verilen Burslar)  
-Nicolaus Copernicus University, Torun/POLONYA  
(1 Ekim 2006-1 Şubat 2007)