

**AKIŞ ENJEKSİYON ANALİZ YÖNTEMİ İLE
DEMİR TAYİNİ**

**Ali BAHADIR
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKIŞ ENJEKSİYON ANALİZ YÖNTEMİ İLE DEMİR TAYİNİ

ALİ BAHADIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

PROF. DR. ADEM ASAN

SAMSUN-2012

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından / /2012 tarihinde yapılan sınav ile Kimya Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Müberra ANDAÇ

Üye : Prof. Dr. Adem ASAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hüseyin GENÇCELEP

ONAY :

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../2012

Prof. Dr. Ümit SERDAR
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

AKIŞ ENJEKSİYON ANALİZ YÖNTEMİ İLE DEMİR TAYİNİ**ÖZ**

Bu çalışmada; demir (II) ve toplam demir için çok seçici, duyarlı ve hızlı bir akış enjeksiyon analiz (AEA) yöntemi geliştirildi. Yöntem, demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7-pentahidroksiflavon reaktifinin asidik ortamda (pH:4.5) renkli bir kompleks oluşturmasına ve oluşan kompleksin absorpsiyonunun spektrofotometrik olarak (λ_{mak} :415 nm) ölçülmesine dayanmaktadır. AEA yönteminde hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) % 4 etil alkol-su içerisinde 1×10^{-5} M 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaktifi ile oluşan karışım kullanılmıştır. Yöntem optimize edildikten sonra demir (II) nin tayinine etki eden parametreler ve girişim yapan iyonlar test edildi. Geliştirilen yöntemde doğrusal çalışma aralığının $5-100 \mu\text{g L}^{-1}$ olduğu ve tayin limitinin $20 \mu\text{L}$ enjeksiyon hacmi için (S/N=3) kriterine göre yaklaşık $6 \mu\text{g L}^{-1}$ düzeyinde olduğu bulundu. Geliştirilen yöntem nehir ve deniz suyu numunelerine başarıyla uygulandı. Ayrıca metodun doğruluğunu ortaya koymak için aynı örnekler atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) ile de analiz edilerek sonuçlar karşılaştırıldı ve bulunan sonuçların uyum içinde olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Akış Enjeksiyon Analiz Yöntemi, Demir, Spektrofotometri, 2', 3, 4', 5, 7-Pentahidroksiflavon.

**DETERMINATION OF THE IRON WITH FLOW INJECTION ANALYSIS
METHOD**

ABSTRACT

In this study, an ultra-sensitive and highly selective, rapid flow-injection spectrophotometric method for the determination of iron (II) and total iron has been proposed. The method was based on the reaction between iron (II) and 2', 3, 4', 5, 7-pentahydroxyflavone in acidic solution with a strong absorption at 415 nm. The carrier solution used was 1×10^{-5} M 2', 3, 4', 5, 7-pentahydroxyflavone in 4 % ethanol-water solution in acetic acid-sodium acetate (pH 4.5). Parameters affect simultaneously for the determination of iron (II) and interfering ions were tested. Linear calibration graphs were obtained 5-100 $\mu\text{g L}^{-1}$ of iron (II) and the limit of detection (blank signal plus three times the standard deviation of the blank) was $6 \mu\text{g L}^{-1}$, both based on injection volumes of 20 μL . The method has been successfully applied to the determination of iron (II) and total iron in river and sea water samples. On the other hand, the method was verified by atomic absorption spectrophotometry (AAS) and found good agreement with the obtained results.

Key words: Flow injection analysis, Iron, Spectrophotometry, 2', 3, 4', 5, 7-Pentahydroxyflavone

TEŞEKKÜR

Öncelikle, danışmanlığımı yürüten ve yüksek lisans eğitimim boyunca bana göstermiş olduğu güveninden, yakın ilgi ve alakasından, tez çalışmalarım süresince desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, engin bilgi, tecrübe ve yardımlarıyla yol gösteren çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Adem ASAN'a, ve çalışmalarım boyunca maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme ve değerli arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Demir ve önemi	3
2.2. Demir Kaynakları ve Demir İhtiyacı	4
2.3. Demir Metabolizması	5
2.4. Organizmada Demir Depo Yerleri	6
2.5. Demirin Organizmadan Atılımı	7
2.6. Akış Enjeksiyon Analiz Yöntemi (AEA)	7
2.7. AEA Tekniği nedir?	8
2.8. AEA'nın Çalışma İlkesi	9
2.9. AEA Sinyali	10
2.10. Örnek ve Reaktif Bölgelerin Dağılması	11
2.11. Dağılma Katsayısı	12
2.12. Dağılma Katsayılarına Göre AEA Sistemlerinin Sınıflandırılması	12
2.12.1. Sınırlı Dağılma	12
2.12.2. Orta Dağılma	13
2.12.3. Geniş Dağılma	13
2.13. Dağılmayı Etkileyen Faktörler	13
2.13.1. Enjeksiyon Hacmi	13
2.13.2. Hareketli Faz Akış Hızı	14
2.13.3. Hareketli Faz ve Reaktif Akış Hızları Oranı	15
2.13.4. Kolon Uzunluğu	15
2.13.5. Kolon İç Çapı	16
2.14. Tekniğin Diğer Tekniklerle Karşılaştırılması	16
2.14.1. AEA ve Klasik Analiz Teknikleri	16
2.14.2. AEA ve Kesikli Akış Analiz Tekniği	17
2.14.3. AEA ve HPLC (Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi)	19

2.15.	AKIŞ ENJEKSİYON ANALİZ TEKNİĞİ	20
2.15.1.	Sistemin Bileşenleri	20
2.15.2.	Pompa	20
2.15.3.	Örnek Enjeksiyon Bölmesi	20
2.15.4.	Reaksiyon çemberi	21
2.15.5.	Dedektör	21
2.15.6.	Çıktıları Kaydedici Sistem	21
2.16.	Yaygın Olarak Kullanılan AEA Sistemleri	21
2.16.1.	Tek Kanallı Sistemler	21
2.16.2.	İki Kanallı Sistemler	22
2.16.3.	Üç Kanallı Sistemler	23
2.16.4.	Reaktif Enjeksiyon Tipi AEA Sistemi	23
2.16.5.	Çok Dedektörlü Sistemler	24
2.17.	Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (AAS)	25
2.17.1.	Işık kaynakları	26
2.17.2.	Atomlaştırıcılar	26
2.17.3.	Monokromatörler	27
2.17.4.	Dedektörler	27
2.18.	Akış Enjeksiyon Analizi İle Yapılan Çalışmalar	27
3.	MATERYAL VE METOD	30
3.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
3.2.	Kullanılan Cihazlar	31
3.3.	Kullanılan Reaktif Çözeltiler	31
3.4.	Genel Prosedür	32
3.5.	Örnek Hazırlama Prosedürü	33
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	34
4.1.	Metal Kompleksleri İçin Spektrofotometrik Çalışmalar	33
4.2.	AEA İçin Optimum Şartların Belirlenmesi	36
4.2.1.	Reaktif Konsantrasyonun Etkisi	37
4.2.2.	Akış Hızının Etkisi	37
4.2.3.	pH Etkisi	38

4.2.4.	Karıştırma Çemberinin Etkisi	39
4.2.5.	Enjeksiyon Hacminin Etkisi	40
4.2.6.	Kalibrasyon eğrisi ve tayin limiti	40
4.2.7.	Girişim etkileri	43
4.2.8.	Uygulamalar	43
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER	46
	KAYNAKLAR	47
	ÖZGEÇMİŞ	53

SİMGE VE KISALTMALAR

MS	Kütle spektroskopisi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
HPLC	Yüksek Performans sıvı kromatografisi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi
LC	Sıvı Kromatografisi
UV- Gör.	Ultraviyole ve Görünür Işık
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
t_R	Alıkonma zamanı
k	Kapasite faktörü
α	Seçicilik
UV	Ultraviyole
DAD	Diode Array Dedektör
IR	Kızıl Ötesi
IS	İç Standart
R_s	Ayırma gücü
R	Korelasyon katsayısı
r^2	Tanımlayıcılık katsayısı
BSS	Bağıl Standart Sapma
BH	Bağıl Hata
SS	Standart Sapma
NLREG	Nonlinear Regression
KAA	Kesikli Akış Analiz
FIA	Flow Enjeksiyon Analiz
AEA	Akış Enjeksiyon Aanaliz
LOD	Gözlenebilme sınırı

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Hemoglobinin kimyasal yapısı	4
Şekil 2.2. Organizmada demir depo yerleri	6
Şekil 2.3. AEA tekniğinin aşamaları	9
Şekil 2.4. AEA sinyali	10
Şekil 2.5. Dağılma katsayısı üzerine enjeksiyon hacminin etkisi	14
Şekil 2.6. Akış hızının dağılma üzerine etkisi	15
Şekil 2.7. AEA ve KAA' da dağılmanın gelişmesi	17
Şekil 2.8. Tek kanallı AEA sisteminin basit bir gösterimi	20
Şekil 2.9. İki kanallı AEA sisteminin basit bir gösterimi	22
Şekil 2.10. Üç kanallı AEA sisteminin basit bir gösterimi	23
Şekil 2.11. Reaktif enjeksiyon tipi AEA sistemi	24
Şekil 2.12. Çok detektörlü sistemler	24
Şekil 2.13. Yarıklı, tek detektörlü AEA sistemi	25
Şekil 2.14. AAS blok şeması	26
Şekil 2.15. Reaktif olarak kullanılan 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon'un açık yapısı	29
Şekil 3.1. Demir tayini için kullanılan AEA sisteminin blok şeması R: Hareketli faz çözeltisi, (HAc/Ac ⁻ çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su ortamında 1x10 ⁻⁵ M 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon); P: peristatik pompa; S: Rheodyne örnek enjeksiyon vanası; RC: karıştırma çemberi (50 cm uzunluğunda 0,5 mm i.d); D: Spektrofotometrik dedektör; W: atık; B: Bilgisayar; M: Monitör; Y: yazıcı	32
Şekil 4.1. 5x10 ⁻⁶ M derişimde demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavonun oluşturduğu kompleksin UV-Gör. absorpsiyon spektrumu	34
Şekil 4.2. 5x10 ⁻⁶ M derişimde test edilen diğer metallerin (M-2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon kompleksi) ve 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavonun reaktifinin UV-Gör.	

- absorpsiyon spektrumu (M: Cr(III), Al(III), Cd(II), Mn(II), K(I), Na(I), Ag(I), Ca(II), Mg(II), Ba(II), Hg(II)) 35
- Şekil 4.3.** Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon kompleksinden elde edilen pik yüksekliğine 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon konsantrasyonunun etkisi (hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içine eklenen 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaktifi; akış hızı: 0,8 mL/ dk.; 50 µg L⁻¹ demir (II) çözeltisinden 20 µL enjeksiyon) 37
- Şekil 4.4.** Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon kompleksinden elde edilen pik yüksekliği üzerine hareketli faz akış hızının etkisi (hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içinde 1x10⁻⁵ M 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon; 50µ gL⁻¹ demir (II) çözeltisinden 20 µL enjeksiyon) 38
- Şekil 4.5.** Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaksiyonundan elde edilen pik yüksekliğine pH'nın etkisi. (hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içinde 1x10⁻⁵ M 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon; 50 µg L⁻¹ demir(II) çözeltisinden 20 µL enjeksiyon; akış hızı 0,8 mL/dak) 39
- Şekil 4.6.** Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaksiyonuna karışma çemberinin etkisi (hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içinde 1x10⁻⁵ M 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon; 50 µg L⁻¹ demir(II) çözeltisinden 20 µL enjeksiyon; akış hızı 0,8 mL/dak) 40
- Şekil 4.7.** Standart demir (II) çözeltisinin farklı derişimlerinden elde edilen pikler; A)100 µg L⁻¹, B) 75 µg L⁻¹, C) 40 µg L⁻¹, D) 25 µg L⁻¹, E) 15 µg L⁻¹, F) 5 µg L⁻¹(hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içinde 1x10⁻⁵ M 2', 3, 4', 5, 7-

pentahidroksiflavon; her bir çözültiden 20 µL enjeksiyon;
akış hızı 0,8 mL/dak)

41

Şekil 4.8. Standart demir (II) çözültisi için elde edilen kalibrasyon grafiği

42

ÇİZELGELER LİSTESİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1. AEA ve KAA' nın karşılaştırılması	18
Çizelge 2.2. AEA ile HPLC' nin karşılaştırılması	19
Çizelge 4.1. 50 µg L ⁻¹ standart demir (II) derişimine yabancı iyonların girişim etkileri	43
Çizelge 4.2. Demir (II) ve toplam demirin nehir ve deniz suyu örneklerinden elde edilen sonuçları	44

1. GİRİŞ

Dünya üzerindeki hızlı nüfus artışı ve beraberinde getirdiği hızlı kentleşme ve sanayileşme çeşitli çevre sorunlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Çevredeki atıkların bir kısmı, içermiş olduğu ağır metaller ile önemli bir kirlilik kaynağı oluşturmaktadır. Çevre için toksik olan bu elementler, özellikle su kaynaklarının kirlenmesinde rol oynayan önemli etkenlerden birisidir.

Denize atılan evsel ve endüstriyel atıklar, tarım ilaçları, petrol ve diğer kirleticiler, ortamın ekolojisi ve biyolojisi üzerine olumsuz etki yapmaktadır. Çeşitli atıklarla birlikte denizlere ulaşan kirletici maddelerden en önemlileri, ortamda uzun süre bozulmadan kalan ve toksik olan kimyasal maddelerle bunların türevleridir. Bu kimyasal maddelerden ağır metallerin suda düşük derişimlerde bulunmaları bile çok önemli kirlilik unsuru olup, tüm canlıların sağlığını tehdit etmektedir. Ayrıca, ağır metaller, biyolojik olarak parçalanamadıklarından çevrede biriktiği, oradan canlıların bünyesinde yoğunlaştığı ve dışarı atılmaları çok yavaş olduğu için zamanla etkili dozlara ulaşarak ciddi hastalıklara yol açabilirler (Şengün ve Müezzinoğlu, 1993).

Ağır metaller sulara koloidal tanecik veya çözülmüş halde bulunurlar. Koloidal tanecik halinde bulunan metaller, hidroksitler, oksitler, silikatlar veya sülfidler olarak kile, silikaya ya da organik maddeye adsorplanmış halde bulunurlar. Çözülmüş halleri ise iyon veya organometalik iyonlaşmayan kompleksler şeklindedir. Yüzey sularındaki eser metallerin çözünürlüğü, suyun pH'sı, ligantların tür ve derişimleri ile çevrenin yükseltgeyici özelliğine bağlıdır (Çınar, 2008).

Demir, insan vücudu için önemi oldukça fazla olan bir elementtir. Kanda oksijeni taşıyan kırmızı kan hücrelerinin ve çeşitli enzimlerin üretiminde, B vitaminlerinin kullanımında ve bakır, kalsiyum gibi minerallerin emiliminde görev alır. Demir minerali, bağışıklık sistemini güçlendirerek hastalıklardan korunmaya yardımcı olur. Vücut direncini arttıran demir yorgunluğa karşı etkilidir. Demir minerali vücudun büyümesine de yardım eder. Bu nedenle, özellikle gelişme çağındaki çocuklar için vücut ve beyin gelişimi açısından çok önemlidir (Yılmaz, 2000).

Demir eksikliği ve buna bağlı olarak oluşan kansızlık (anemi) ise demir eksikliği anemisi olarak adlandırılır. Yapıya bağlı olarak kadınlarda erkeklerden daha çok demir

emilimi görülür. Bu nedenle kadınlarda demir eksikliği daha fazla görülür. Demir eksikliği; halsizlik, yorgunluk, solgunluk, sinirlilik, konsantrasyon bozukluğu, kalp çarpıntısı, bağışıklık sisteminde zayıflık, saçlarda ve kemiklerde kırılabilirlik gibi sorunlara yol açar. Ayrıca, saç dökülmesi, saçlarda ve tırnaklarda çatlaklar, dudak kenarlarında yaralar ve yutma güçlüğü gibi şikâyetlere sebep olabilmektedir. Özellikle C vitamini demir emilimini kolaylaştırdığı için anemiden korunmaya yardımcı olur. Gebelikte, bebeklerde ve çocuklarda demir ihtiyacı daha fazla olduğu için özellikle bu dönemlerde demir eksikliği sonucu oluşabilecek gelişim bozukluklarının önüne geçmek için yeterli miktarda demir alınmalı, gerekirse demir hapları ya da şurupları ile demir takviyesi yapılmalıdır. Yetişkinlerde erkeklerin günlük demir ihtiyacı ortalama 8-10 mg kadardır. Bu miktar gebelik, emzirme ve özel dönemlerinden dolayı kadınlarda biraz daha fazladır (Yılmaz, 2000).

Demir (II) nin miktarı havalandırılmış sularda çok yüksek değildir. Buna karşın yeraltı sularında (özellikle de tutucu tabakalarda), uygun çözünürlük koşullarında yüksek demir (II) ye rastlamak mümkündür. Suda (Fe^{2+}) veya (Fe^{3+}) kolloidal formda, karmaşık organik mineraller veya hidroksit şeklinde bulunmaktadır. Demir, genelde magnezyum ile bağlantılıdır ve bu elementin bulunduğu ortamda bulunma olasılığı fazladır (Yılmaz, 2000).

Musluk suyundaki varlığı koagülasyon etkisi, pH seviyesinin iyi kontrol edilmemesi veya işleme sürecindeki bir aksaklığa işaret eder. İçme suyundaki miktarı genellikle 0,3 mg/L düzeyinin altındadır. Demir, insan vücudunun işlevi için gerekli bir element olup ona bağlı zehirlenmelere nadir olarak rastlanmaktadır. 0,3 hatta 0,1 mg/L üzerindeki demir varlığı renk, leke, tat bakımından tüketici açısından olumsuzluklar yaratır (Çınar, 2008).

Giderek artan çevre kirliliğinin ve etkilerinin araştırılmasında, gıda maddelerinde, çevresel numunelerde ve diğer pek çok alanda eser metal tayini son derece önemli bir yer tutmaktadır.

Çeşme, kaynak ve deniz suyu gibi farklı su numunelerinde eser metal tayininde akış enjeksiyon analizi (Du ve ark., 2006; Lista ve ark., 1999; Teixeira ve ark., 1999), atomik absorpsiyon spektrometrisi (Mendil ve Tüzen, 2011; Tripathi ve ark., 1999) başta olmak üzere, indüktif eşlemeli atomik emisyon spektrometrisi (ICP-AES) (Ferrerira ve ark., 1998), nötron aktivasyon analizi (NAA) (Mok ve Wai, 1984),

voltametri (Agraz ve ark., 1995), kromatografi (Lu ve ark., 1999) ve x-ışınları floresans spektrometrisi (Sofia ve ark., 2011) gibi enstrumantel teknikler kullanılmaktadır.

Akış enjeksiyon analizi (AEA), farklı deteksiyon sistemleri ile kullanılabilmesi, yüksek tekrarlanabilirlik ve basitliği nedeniyle metal iyonlarının tayin edilmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu amaçla demirin tayini için spektrofotometrik (Andac ve ark., 2009; Bagheri ve ark., 2000), optoelektrokimyasal (Haghihi ve Safavi, 1997) elektrokimyasal (Bagher ve ark., 2011) ve kemiluminesans (Saitoh ve ark., 1998; Andrew ve ark., 1998) deteksiyon sistemleri akış enjeksiyon analiz ile birleştirilerek kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

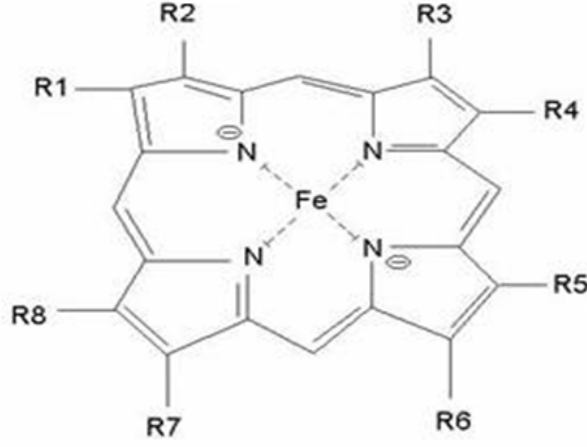
2.1. Demir ve Önemi

Kimyasal olarak Fe simgesiyle gösterilen demir yeryüzünde çok bulunan bir elementtir. Kimyasal olarak 2 değerlikli olan demir, okside olmaya çok meyillidir. Demirin bu özelliği, vücutta oksijen tutmasına yol açmaktadır. Demir, kaya ve toprakta ferrik formda bulunur ve bu formu, çoğu biyolojik sistemler için kullanışlı değildir.

Gıdalarda alınan demirin büyük bir bölümü üç değerli ferri demir bileşikleri şeklindedir. Fakat bu üç değerli demir bileşikleri kolayca emilmez, ancak iki değerlikli ferro demir bileşiklerine dönüşünce kolayca emilir. Gıdalarla alınan demirin büyük bir bölümü üç değerli ferri demir bileşikleri şeklindedir.

Hemen hemen tüm canlılar, demire ihtiyaç duyarlar. Bu özelliği suyun, canlılar için önemiyle paralellik göstermektedir. Şu bir gerçektir ki demir varlığında oksijensiz yaşayan canlılar olmasına rağmen, susuz yaşayan canlı mevcudiyetinin olup olmadığı kesinlik kazanmamıştır.

Organizmada demir, başlıca hemoglobin, miyoglobin, sitokromlar olmak üzere çeşitli dokulara dağılmış halde bulunur. Hemoglobin, kan globulini manasına gelip, kana kırmızı rengini veren ve oksijen taşımada görevli alyuvarların yapısında bulunan porfirin türevlerinden bir proteindir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Hemoglobinin kimyasal yapısı

Miyoglobin ise, kırmızı kaslarda yoğun olarak bulunan ve kaslarda oksijen tutulmasını sağlayan bir proteindir. Vücuttaki bütün demir miktarı 4-5 g kadardır. Bunun % 64'i hemoglobine, % 4'ü miyoglobine, % 1'i çeşitli hem bileşiklerine, % 1'i de plazmada transferrine bağlıdır. Transferrin, ise plazmada ilgili dokulara demir taşınmasında görevli bir proteindir. Geri kalan % 30 kadarı da ferritin halinde retiküloendotelial sistem ve karaciğer parankima hücrelerinde (hepatosit) depo edilir.

2.2. Demir Kaynakları ve Demir İhtiyacı

En önemli demir kaynakları önem sırasına göre, et, karaciğer, yumurta, böbrek, pekmez, kuru meyveler ve yeşil yapraklı sebzelerdir. En iyi demir kaynağı karaciğerdir. 150 g karaciğer 12 mg demir içerir. Bu miktar demiri karşılamak için 8 yumurta veya 500 g et yemek gerekir. Buna karşın yemekle içilen çay, demirin emilimini azaltır. Demir bakımından zengin olan diğer gıdalar arasında, kuru fasulye, mercimek ve bezelye gibi baklagiller de sayılabilir. Süt ise demir bakımından çok fakirdir. Bu nedenle bebek ve yavru doğarken, büyük bir demir deposu ile birlikte dünyaya gelir. Bu demir, doğumdan sonra büyük oranda yıkıma uğrayan alyuvarların yerine, yeni oluşan alyuvarların gereksinimini karşılar. Hayvansal organizma, büyük oranda alyuvarlarda bulunan demiri tekrar tekrar kullandığından, demir gereksimi oldukça azdır.

Normal diyetteki demirin 1/10' unun emildiği düşünülürse, günlük alınması gerekli demir miktarı 10-15 mg'dır. Genellikle süt çocuklarında günlük demir gereksinimi 1-2 mg yeterli iken, yetişkin erkeklerde 10, kadınlarda 20, gebelikte 30-35 mg demir alınması önerilir (Yılmaz, 2000).

2.3. Demir Metabolizması

Midede demir emilimi çok az düzeydedir. Mide salgısının düşük pH'sı, C vitamini, sülfidril grupları ve diğer indirgeyici maddeler besinlerdeki 3 değerli demiri 2 değerli demire indirger. Nitekim insanlarda midenin bir bölümünün çıkarılması sonucunda gelişen demir yetersizliği anemisine (kansızlık) oldukça sık rastlanmaktadır. Demirin büyük bir bölümü ince bağırsağın üst kısımlarında emilir. Pankreastan salınan NaHCO_3 onikiparmak bağırsağındaki asidi nötralleştirmesi sonucu 2 değerli demiri 3 değerli demire dönüştürür (Yılmaz, 2000).

Bağırsak epitel hücrelerinde, hücre içi demir stabil değil hareketlidir. Demirin bir bölümü mitokondrilere gider. Geri kalan bölümü de bağırsak epitel hücrelerindeki apoferritin ile kanda demir taşıyan bir polipeptit olan transferrine (siderofilin) gider. Fakat plazmadaki iki değerli demirin, üç değerli demire oksitlenmesi, başka bir deyişle demirin transferrin ile birleşebilmesi için ferrokinaز ve seruloplazmin gereklidir. Apoferritin demirle birleşerek ferritini yapar.

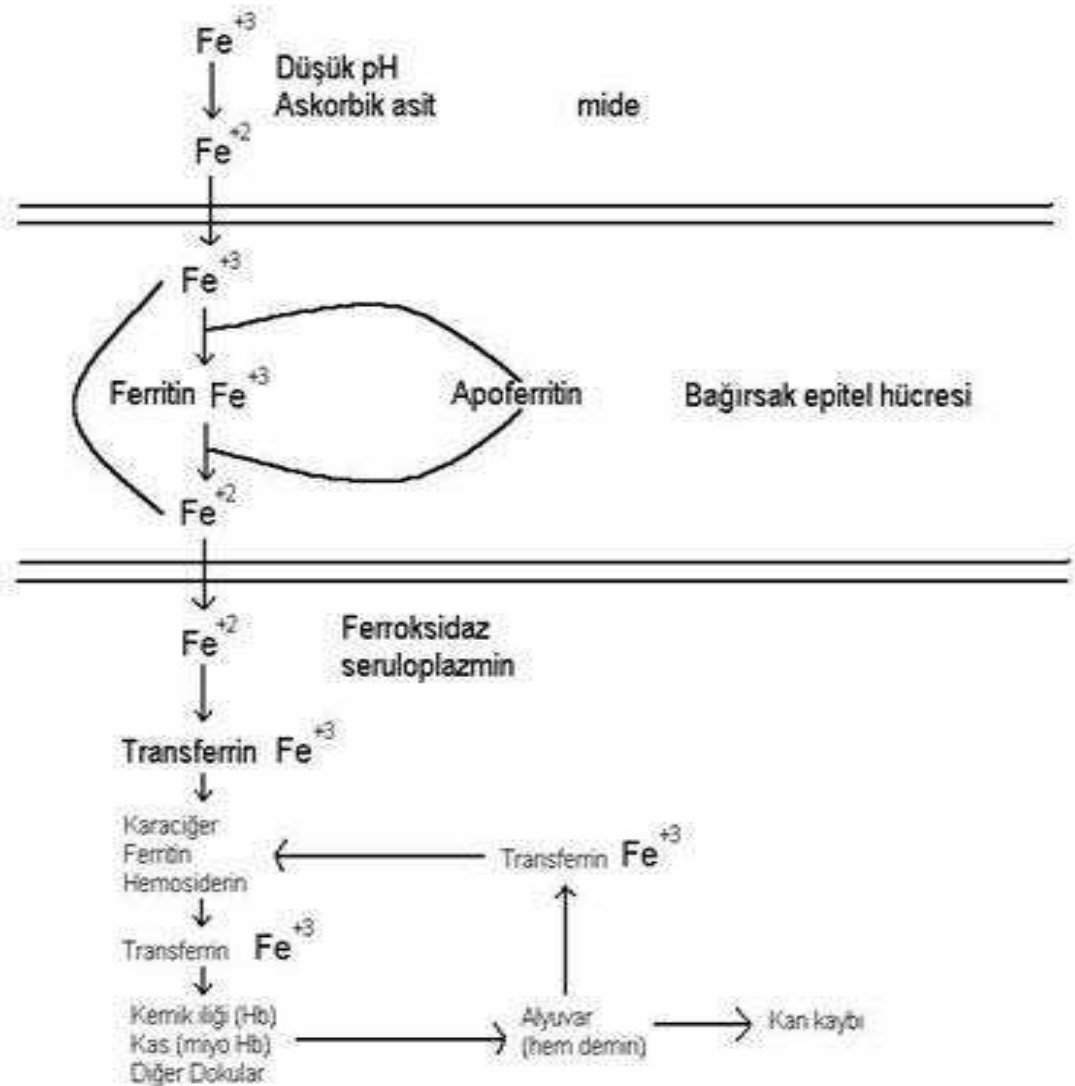
Demir emilimi oldukça yavaştır ve ancak günde birkaç mg kadar emilir. Demir emilimini, organizmanın demir gereksinimi belirler. Tahıllarda bulunan fitik asit, demir ile reaksiyona girerek ince bağırsakta suda kolay çözünmeyen bileşiklerin oluşumuna neden olur. Fosfat ve oksalatlar da aynı şekilde demirle birleşip suda kolay çözünmeyen bileşikler oluşturarak emilimi engeller. Buna karşın vücutta demir depoları boşaldığında, alyuvar oluşumu arttığında ve anemi durumunda, demir emilimi artar ve birkaç katına çıkabilir.

Demir, ince bağırsaktan emildikten sonra hızla kana geçer. Burada apotransferrine bağlanarak transferrin (hareket halinde yer değiştirme) yapar ve kana geçer. Demir, plazmadaki transferrin ile, vücudun gereksinim duyulan bölgesine taşınır. Plazmada bulunan transferrinin taşıyabileceği en fazla demir miktarına “ demir bağlama kapasitesi“ denir. Transferrin molekülü, kemik iliğindeki eritroblastların (genç

alyuvarlar) zarındaki reseptörlere, güçlü bir biçimde bağlanır ve bağlı demirle birlikte eritroblastların içine endositoz ile taşınır.

Alyuvarlar ömürlerini tamamlayıp yıkıldıktan sonra buradaki demir, kemik iliği, dalak ve karaciğerdeki monosit ve makrofajlarda tutulur. Burada serbest demir ayrılır ve başlıca ferritin havuzunda depolanır, ya da kemik iliğine giderek yeni alyuvarın oluşumunda kullanılır.

2.4. Organizmada Demir Depo Yerleri



Şekil 2.2. Organizmada demir depo yerleri (Yılmaz, 2000)

Vücutta başlıca demir depo edilen yerler, karaciğer, dalak, bağırsak mukozası ve kemik iliğidir. Bunları, böbrek, kalp, iskelet kasları ve beyin izler. Depo moleküllerinin en önemli şekli ise ferritindir. Hemosiderin ise az olduğu için önemsizdir. Kandaki fazla demir, vücudun tüm hücrelerinde, özellikle karaciğer hepatositlerinde, daha az olarak da kemik iliğinin retikuloendotelyal hücrelerinde birikir (Yılmaz, 2000).

Hücre sitoplazmasında demir, apoferritin ile bağlanarak ferritini yapar ve dokulardaki başlıca demiri oluşturur. Böylece demir, büyük oranda depolarda ferritin şeklinde depo edilir. Bu nedenle ferritin şeklinde depolanan demire "depo demir" adı verilir. Ferritin molekülü, 4500 kadar demir atomu içerebilir. Ferritin'de iki demir bağlama bölgesi vardır. Normal koşullarda % 35'i demirle doymuş haldedir. Kandaki fazla demirin çok az bir kısmı ise, karaciğer, dalak ve kemik iliğinde hemosiderin şeklinde depo edilir. Hemosiderin, fizyolojik koşullarsa, kemik iliği, dalak ve karaciğerdeki retikuloendotelyal hücrelerde, patolojik olarak ise hemen bütün beden hücrelerinde bulunan, depolanmış demir molekülleridir. Fazla miktardaki hemosiderin, dokuları yıkıma uğratarak hemokromatoza neden olur (Yılmaz, 2000).

2.5. Demirin Organizmadan Atılımı

Organizmada demir, çok ekonomik bir şekilde kullanılır. Dışarı atılması oldukça sınırlı olduğundan, demir yetersizliği yavaş yavaş gelişir. Gıdalarla alınan, ince bağırsaktan emilen demir yetersiz olduğunda, ya da gebelik, süregen (kronik) enfeksiyonlar ve kanama gibi durumlarda, demir yetersizliği oluşur ve demir gereksinimi artar.

Demir başlıca bağırsaklardan atılır ve insanda her gün dışkı ile çıkarılan demir miktarı 1 mg kadardır. İnce bağırsak hücrelerinde, ferritine bağlı demir, bu hücrelerin yaşamları sona erdiğinde bağırsağa dökülmesi ile birlikte yitirilir ve dışkı ile atılır. Kanama durumunda yitirilen demir miktarı artar. Kadınlarda ise menstruasyon, gebelik, doğum ve laktasyon (süt verme) nedeni ile yitirilen demir miktarı artar (Yılmaz, 2000).

2.6. Akış Enjeksiyon Analiz Yöntemi (AEA)

Akış Enjeksiyon Analiz (AEA) tekniği 1975 yılında Ruzicka ve Hansen tarafından tanımlanmıştır. Ruzicka ve Hansen'in Danimarka'da, Stewart'ın Amerika'da

aynı zamanlarda aldıkları patentlerle başlatılan bu yeni teknoloji, hızlı bir şekilde dünyada büyük bir kabul görmüştür. Tanımlandığından beri bu konudaki gelişmeler çok sayıda monograf ve araştırma yayınında yer almıştır (Ruzicka ve Hansen, 1975).

AEA tekniği basit temelli, oldukça ucuz donanımlı, elle gerçekleştirilen seyreltme, deriştirme, karıştırma, çözücü ekstarksiyonu vb. gibi bir çok analitik işlemin otomasyonunu sağlayan hızlılık, kesinlik, doğruluk açısından mükemmel sonuç elde edebilme kapasitesine sahip bir tekniktir. Çok amaçlı kullanıma uygun olması bu tekniği analitik teknikler arasında göze çarpar hale getirmektedir. AEA sistemi çok basittir ve arzu edilen herhangi bir ihtiyacı karşılamak için karmaşık değişiklikler gerektirmemektedir. Aynı zamanda sistemin optimizasyonunu ve kimyasal değişkenlerin kontrolünü sağlamak çok kolaydır. AEA tekniği toprak örneklerinin analizinde, atık suyun laboratuarda işlenmesinde ve fosfat, amonyum, nitrat ölçümlerinin gerekli olduğu çevresel uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu durum sistemin amaca uygun olarak çalışmasını sağlayan değişkenlerin belirlenmesi ihtiyacını doğurmuştur. Bu nedenle farklı AEA sistemlerinin makul dizaynı için bu tekniği oluşturan genel kavramların bilinmesi gerekmektedir.

2.7. AEA Tekniği Nedir?

AEA tekniği belirli hacimdeki örnek çözeltisinin uygun bir hareketli faz içerisine enjeksiyonuna dayanmaktadır. Enjekte edilen örnek, bir bölge oluşturur ve dedektöre doğru taşınır. Bu taşınma sırasında reaktif ile karşılaşır ve kimyasal reaksiyona girerek tayin edilebilir türlerine dönüşürler. Buradaki esas mekanizma, sisteme enjekte edilen örneğin hareketli fazla birlikte karışma bölgesine sürüklenmesi neticesinde değişen absorbans, elektrot potansiyeli gibi parametreleri devamlı olarak kaydeden detektörde geçici bir pik oluşumu ile sonuçlanır. Pik yüksekliği veya alanı konsantrasyonla orantılıdır ve bilinen konsantrasyonundaki örneklerle karşılaştırılarak kantitatif tayin amaçlı kullanılırlar. Kısaca AEA tekniğinin başarılı bir şekilde çalışması ve uygulanması için bazı temel özelliklere sahip olması gerekmektedir.

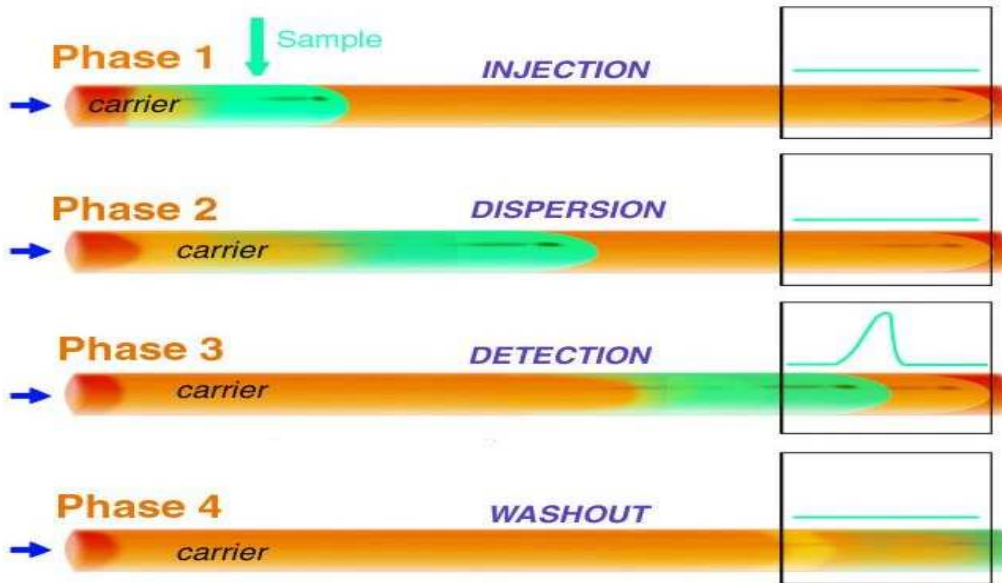
Bunlar;

1. Kesintisiz sürekli akış,
2. Tekrarlanabilir örnek enjeksiyonu,

3. Örnek bölgesinin kontrollü kısmi dağılması,
şeklinde sıralanabilir.

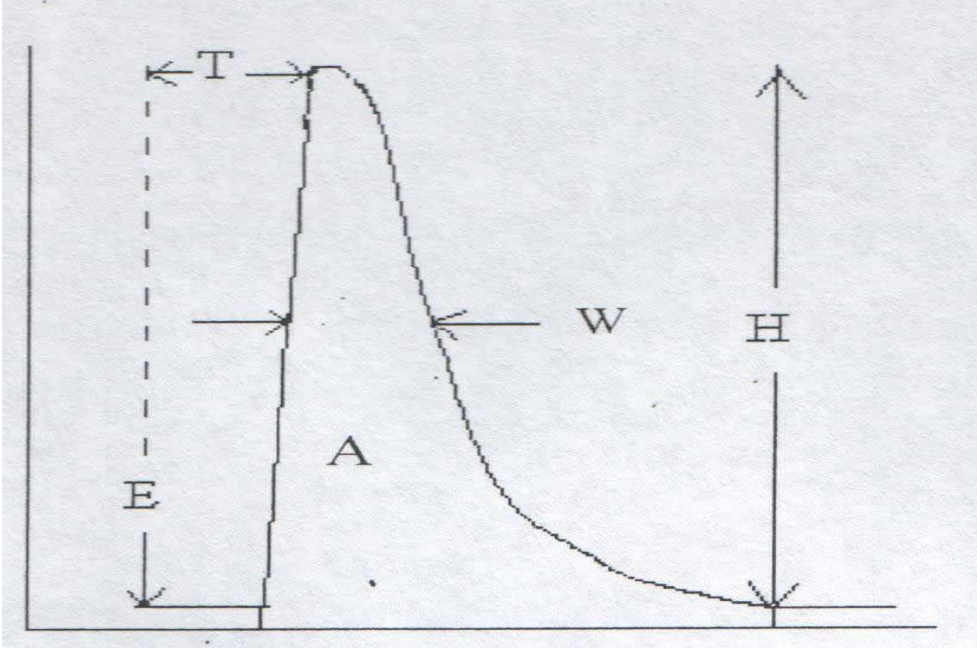
2.8. AEA'nın Çalışma İlkesi

AEA'nın çalışma sisteminde; çözelti, sistemdeki elastik borulardan, peristaltik pompa vasıtasıyla pompalanır. Bu pompalar içindeki akışkanı (örnek numune ve reaktif) döner merdaneler yardımıyla boruya doğru iletirler. Peristaltik Pompa sürekli olarak içindeki döner merdaneler yardımıyla sıvıyı boru içinde iter. Böylece düzenli akış sağlanır. Analit iyonları veya küçük moleküller, numune çözeltisinden, membranı geçerek reaktif akımına karışır. Reaktifteki bir madde analit ile etkileşerek renkli bir madde oluşturur ve bu renkli madde ile fotometrik ölçüm yapılır (Şekil 2.3'de enjekte edilen numune aşamalarını görülmektedir).



Şekil 2.3. AEA tekniğinin aşamaları (Kikas, Chem 3211)

2.9. AEA Sinyali



Şekil 2.4. AEA sinyali

Şekil 2.4.de, H pik yüksekliği, W pik genişliği, A pik alanı ve T enjeksiyon anından pik maksimumuna kadar geçen süredir. Bu süre alıkonma zamanı olarak da adlandırılır. Ayrıca T, pikin başlangıcıyla yeniden temel hale (base-line) dönüşü arasında geçen zaman olup bu parametre analizi yapılan maddenin seyrelme veya dağılmasının bir ölçüsüdür. Şekilde x eksenini zamanı, y eksenini ise sinyal şiddetini göstermektedir.

Detektörün enjekte edilen türlere hızlı ve doğrusal bir şekilde cevap verdiği durumlarda pik yüksekliği, pik alanı veya pik genişliği ölçümü arasında herhangi bir fark yoktur. Enjekte edilen materyalin konsantrasyonu her bir parametreye farklı şekilde bağlı olmasına rağmen böyle durumlarda her birinden yararlı bilgiler alınabilir.

Pik yüksekliği kolayca tanımlandığı ve absorpsiyon, potansiyel, akım gibi detektör cevaplarıyla doğrudan ilgili olduğundan en sık kullanılmaktadır.

$$\underline{H=k.C} \quad k, \text{ orantı sabiti};$$

C, çözelti konsantrasyonu

Pik yüksekliğine benzer şekilde pik alanı A detektör cevabıyla doğrudan ilişkilidir.

$$\underline{A=k.C} \quad k, \text{ orantı sabiti},$$

C, çözültü konsantrasyonu

Fakat pik alanı ölçümlerinin bazı sakıncaları vardır. Temel hale yakın olan pik kısmı, pik maksimumuna yakın, olan kısımlara göre daha orantısız hesaplandığından logaritmik detektörlerin (log C) cevabını kabaca değiştirir. Dolayısıyla pik alanı ile konsantrasyon arasındaki ilişkide yanlışlıklara neden olabilir.

Konsantrasyonun logaritması ile orantılı olan pik genişliği de geniş bir dinamik aralığa sahip olmakla birlikte pik yüksekliği ve pik alanı ölçümleri kadar kesinlik arz etmez.

2.10. Örnek ve Reaktif Bölgelerinin Dağılması

AEA sisteminde akışın 2 temel amacı vardır. İlki örnek bölgesini detektöre doğru yönlendirmek diğeri ise hareketliyle örnek bölgesi arasındaki karışmayı sağlayıp yeniden detektöre doğru yürütmektir. Eğer hareketli faz reaktifi de içeriyorsa, bu süreç tayin edilebilir ürünlerin oluşumunu sağlayan kimyasal reaksiyonun gerçekleşmesi için analit ve reaktifi bir araya getirir. Bu süreç, AEA tekniğinde dağılma veya kontrollü dağılma olarak da bilinir. Dağılma kolay tanımlanamayan, çok karmaşık bir olaydır. Dağılmayı “dar çaplı tüpler boyunca akışkanın akışıyla yaratılan akış modellerinin neden olduğu reaktif ve örnek bölgesi arasındaki hareketli fakat tekrarlanabilir karışma” olarak tanımlamak mümkündür.

Örnek ve reaktif arasındaki dağılma sadece AEA tekniğine özgü bir işlem değildir. Örnek ve reaktif arasındaki karışımı homojenize etmek ve seyreltmeyi amaçlayan basit bir analitik işlem diğer akış analiz tekniklerinde de meydana gelebilir. Buradaki asıl nokta, AEA tekniğinde dağılmanın tekrarlanabilir ve kontrol edilebilir olmasıdır. Dağılma dinamiktir ancak örnek bandı detektöre ulaşmadan önce dengeye veya kararlı hale ulaşılması zordur.

Dağılmanın birbirine zıt 2 fonksiyonu vardır. Bir yandan duyarlılığın artmasına neden olan analit ve reaktif arasındaki kimyasal etkileşimi artırır. Diğer taraftan da duyarlılığın düşmesine, pik genişlemesine ve örnekleme sıklığının azalmasına neden olan seyrelmeyi artırır. Genellikle başlangıçta duyarlılıkta net bir artışa neden olan kimyasal etki ağırlıktadır. Fakat seyrelmenin ağırlıkta olduğu durumlarda duyarlılık düşer. Bu yüzden yeni bir metodun geliştirilmesi sırasında çalışmacı ilgili uygulama için seyrelme ve etkileşim meydana gelmesi arasında en iyi dengeyi veren koşulları araştırmak zorundadır.

AEA tekniğinde radyal ve aksel olmak üzere 2 tip dağılma vardır. Aksel dağılma akıntının akış yönünde meydana gelir ve radyal dağılmadan daha fazla seyrelmeye ve pik genişlemesine neden olur. Akış yolunun düzgün olmaması akış yolunda aniden meydana gelen değişiklikler radyal dağılmayı artırır.

2.11. Dağılma Katsayısı

AEA sistemlerinde istenilen derecede dağılmayı sağlamak için örnek ve reaktif bölgeleri ayarlanabilir. Bundan dolayı dağılma kontrol edilebilir ve farklı analitik amaçlara ulaşmak için farklı şekillerde tasarlanabilir. Dağılmanın kantitatif değerlendirilebilmesi amacıyla katsayısı tanımlanmıştır. Buna göre dağılma katsayısı D, “enjekte edilen bölgenin akışkan içinde, dağılmadan önce ve sonraki konsantrasyonlarının oranı” şeklinde tanımlanabilir. Dağılma katsayısını matematiksel olarak şu şekilde ifade etmek mümkündür.

$$D = C^0 / C$$

Burada C^0 enjekte edilen çözeltideki ilgili bileşenin başlangıç konsantrasyonu, C ise bileşenin dağılmış örnek bölgesi içindeki konsantrasyonudur.

Dağılma katsayısı birimsizdir ve 1’den büyük değerdir. Değer aynı zamanda çalışan akışkanın seyreltme faktörünü de yansıtır. Yani, D=2 denildiğinde örnek çözeltisinin 1/1 oranında hareketli akışkanla seyreltiği anlaşılmaktadır (Ruzicka ve ark., 1977).

2.12. Dağılma katsayılarına Göre AEA Sistemlerinin Sınıflandırılması

2.12.1. Sınırlı Dağılma

Dağılma katsayısı $1 < D < 3$ olan sistemler sınırlı dağılmaya sahip sistemler olarak adlandırılırlar. Bu tür sistemler gerçek analit konsantrasyonunun hareketli akışkanla seyrelmesinin önlenmesi gerektiği durumlarda kullanılır. Bu nedenle böyle sistemler en yüksek duyarlılığın arzulandığı ve ön deriştirme gerektiren durumlar için çok önemlidir. İyon seçici elektrotlar ve atomik spektroskopi gibi yüksek duyarlılığa sahip detektörler genellikle bu tip uygulamalarda kullanılırlar.

Sınırlı dağılmanın elde edilmesi için, enjeksiyon bölmesi ile detektör arasındaki mesafe kısaltılmalı veya düşük hacimli akış yolu oluşturulmalıdır.

2.12.2. Orta Dağılma

Dağılma katsayısı $3 < D < 10$ olan sistemler orta dağılmaya sahip sistemler olarak adlandırılır. Bu tür sistemler, tayin edilebilir türlerin oluşması için örnek reaktif arasında tam bir karışmanın gerekli olduğu durumlarda kullanılır. Bu sistemler çoğunlukla spektrofotometrik detektörlerle birleştirilerek kullanılır.

Orta dağılmanın elde edilmesi için enjeksiyon bölgesi ile detektör arasına bir karıştırıcı bölgesi yerleştirilmelidir.

2.12.3. Geniş Dağılma

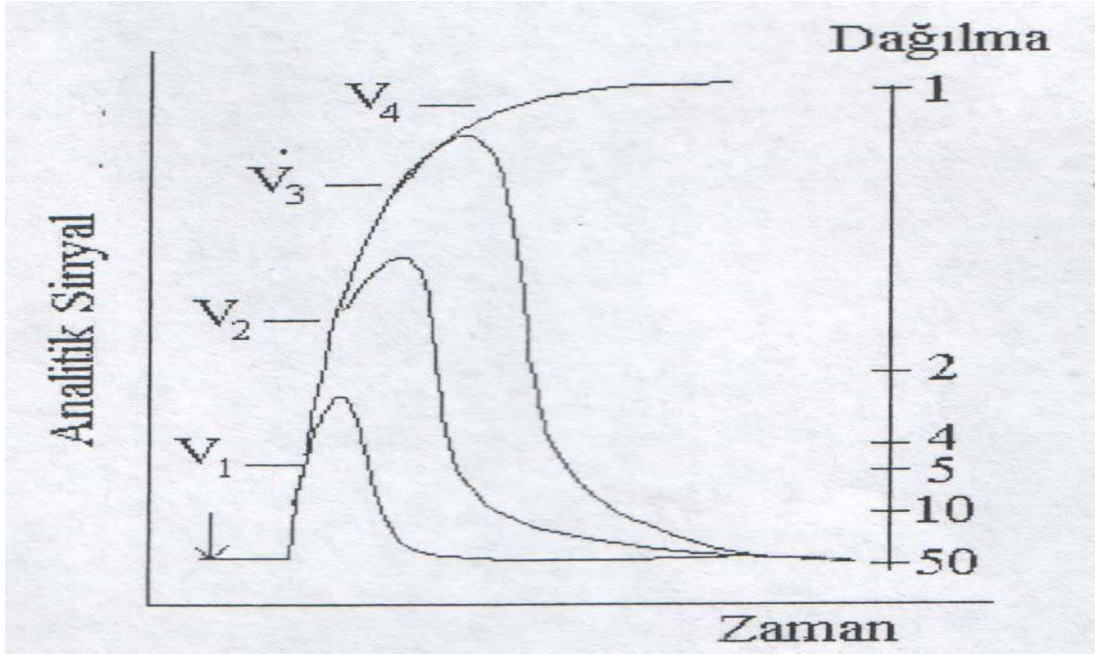
Dağılma katsayısı $D > 10$ olan sistemler geniş dağılmaya sahip sistemler olarak adlandırılır. Bu tür sistemler çok konsantre örneklerin konsantrasyonlarını detektörlerin dinamik aralığına uydurmak amacıyla kullanılır. Bu sistemler geniş ölçüde örnek reaktif karışmasının gerekli olduğu durumlarda kullanılır.

Geniş dağılmanın elde edilmesi için örnek enjeksiyon hacmi küçültülmeli, enjeksiyon bölgesi ile detektör arasındaki mesafe uzatılmalı veya bir karıştırıcı bölgesi yerleştirilmelidir.

2.13. Dağılmayı Etkileyen Faktörler

2.13.1. Enjeksiyon Hacmi

Enjekte edilen bölgenin hacminin (çoğunlukla örnek hacmi) dağılma üzerine etkisi çok sık olarak çalışılmıştır. Enjeksiyon hacminin artmasıyla dağılma katsayısının dolayısıyla dağılmanın azaldığı kanıtlanmıştır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Dağılma katsayısı üzerine enjeksiyon hacminin etkisi ($V_1 < V_2 < V_3 < V_4$)

Fakat bu durum sadece sistemin geometrik özellikleri tarafından belirlenen belirli bir hacmin altında geçerlidir. Çoğunlukla AEA sisteminde dağılmayı kontrol etmek amacıyla kullanılan örnek enjeksiyon hacmi 100-200 μL dir. Bununla birlikte çok küçük dağılma veya çok yüksek duyarlılığın arzu edildiği durumlarda daha büyük örnek hacimleri kullanılabilir. Ancak bu örnekleme sıklığından biraz fedakârlık etmeyi gerektirir.

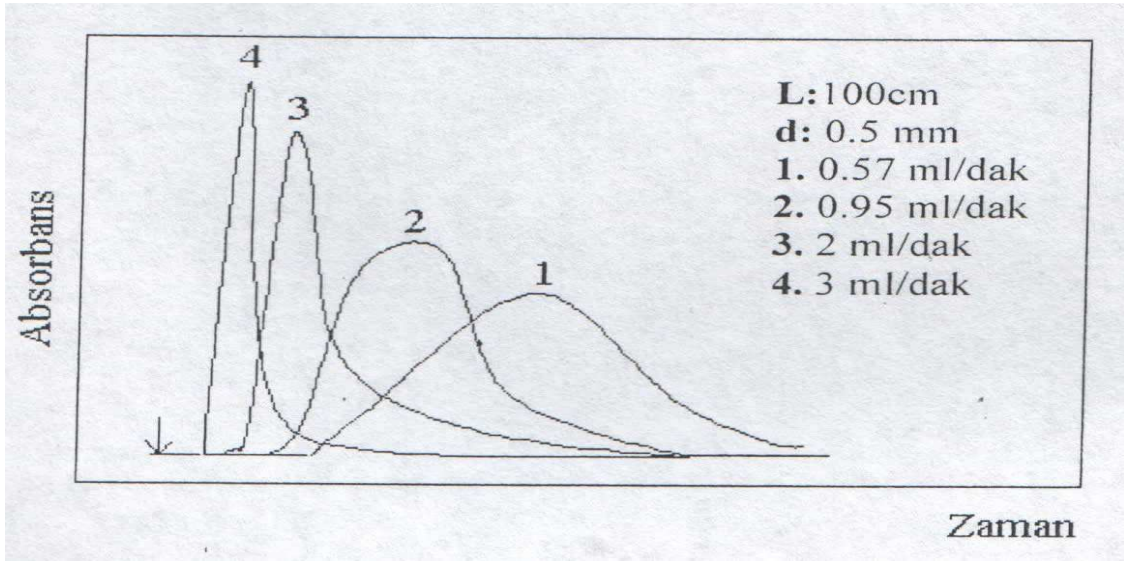
En düşük uygulanabilir örnek hacmi enjektörün ve enjeksiyon bölmesinin yapısıyla ilgilidir. Çoğu enjeksiyon bölmeleri 10-50 μL aralığında enjeksiyona izin vermektedir. Enjekte edilen örnek hacminin değiştirilmesi, dağılmanın istenilen şekilde ayarlanması için çok güçlü bir yoldur. Fakat dağılma katsayılarında en fazla 3-4 faktörlük değişmeye neden olabilir.

2.13.2. Hareketli Faz Akış Hızı

Ruzicka ve Hansen tarafından, küçük çaplı kolonlarda akış hızındaki azalmayla dağılmanın azalması kural olarak belirtilse de bu durum ancak moleküler difüzyon

hızının akışkan tarafından oluşturulan taşınma hızına yaklaştığı çok düşük akış hızlarında geçerlidir (Ruzicka ve Hansen,1981-1988).

Kolon uzunluğu ve iç çapı sabit tutularak akış hızlarının değiştirilmesiyle dağılmadaki değişim izlenmiş ve bu aralıkta akış hızının artmasıyla dağılma ve pik genişliğinin azaldığı gözlenmiştir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Akış hızının dağılma üzerine etkisi

2.13.3. Hareketli Faz ve Reaktif Akış Hızları Oranı

Hareketli faz/reaktif akış hızı oranınının (C/R) dağılmaya etkisi üzerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Oranın 1 olması, enjekte edilen bölgenin hareketli faz ve reaktifin birleşme noktasından sonra 1/1 oranında seyrettiğini ifade eder. Bu durumda toplam akışın hareketli faz akışına oranı $(C+R)/C$ eşitliğine göre 2 olduğundan, dağılma katsayısı 2'lik bir faktörle artmaktadır.

2.13.4. Kolon Uzunluğu

Kolon uzunluğunun dağılma üzerine etkisi Ruzicka ve Hansen (1988) tarafından bir kural olarak şu şekilde ifade edilmiştir. “Örnek bölgesinin dağılması dar kolonlarda kat edilmesi gereken mesafenin kareköküyle artar”. Fakat bu kural sadece kolonların düz olduğu durumlarda geçerlidir. Sistemin kararlılığını sağlamak ve kat edilmesi gereken mesafeyi artırmak amacıyla kullanılan kıvrımlı kolonlarda, kolon uzunluğunun

dağılmaya katkısı çok fazla çalışılmamıştır. Bu radyal dağılmayı artırıp, eksenel dağılmayı sınırlayan ikincil akışın oluşması yüzündendir.

Örgülü (sarmal) kolonlarda üç boyutlu bir akış üretildiğinden radyal ikincil akış daha fazla artmakta ve akışkan fark edilir ölçüde dağılmayı artırmaksızın uzun mesafeler alabilmektedir. Bu nedenle örgülü kolonlar hareketli fazın önemli ölçüde seyreltme yapmasına fırsat vermeden enjekte edilen bölgenin alıkonma zamanını önemli ölçüde artırmaktadır (Ruzicka ve Hansen, 1981; Karlberg ve Pacey, 1989).

2.13.5. Kolon İç Çapı

Kolon iç çapının dağılmaya etkisi üzerine Karlberg ve Pacey tarafından yapılan çalışmada iç çapın 0,35-0,9 mm aralığında olması halinde dağılmaya katkısının önemsiz olduğu ifade edilmiştir. Fakat kullanılan sistemin orta dağılmalı bir sitem olduğu belirtilmiştir. Eğer daha sınırlı dağılmaya sahip olan AEA sistemine bir atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) detektörü bağlanırsa kanalın iç çapının dağılmaya daha fazla katkısı olacağı öne sürülmüştür.

Örneğin 15 cm uzunluğunda 0,35 mm iç çapa sahip kolon kullanıldığında dağılma katsayısı 1,02 olarak elde edilirken; 1,05 mm iç çapa sahip kolon kullanıldığında dağılma katsayısının 1,41'e ulaştığı görülmüştür. Bu durum sinyalin şiddetinde % 30'luk bir azalmaya karşılık gelmektedir. Bu nedenle genellikle sınırlı dağılmaya sahip sistemlerde kolon iç çapının dağılma üzerine etkisi göz önüne alınmalıdır. Bu bağlamda dikkatsizce yapılan kolon bağlantıları sırasında istenmeyen kısmı genişlemelerden kaçınılması için önlem alınmalıdır. Bu genişleyen bölümler dağılmayı önemli ölçüde artıran küçük karıştırıcı bölmesi gibi davranırlar (Ranger, 1981).

2.14. Tekniğin Diğer Tekniklerle Karşılaştırılması

2.14.1. AEA ve Klasik Analiz Teknikleri

AEA klasik analiz tekniklerine alternatif bir tekniktir. Basit bir ifadeyle, büret, pipet gibi cam malzemeler boru, pompa ve vanalarla yer değiştirmiştir. Böylece her bir deneme için, gerekli zaman bakımından, zehirli reaktiflerle minimum temasın sağlanması bakımından, hem örneklerin, hem de reaktiflerin atmosferik gazlarla (C

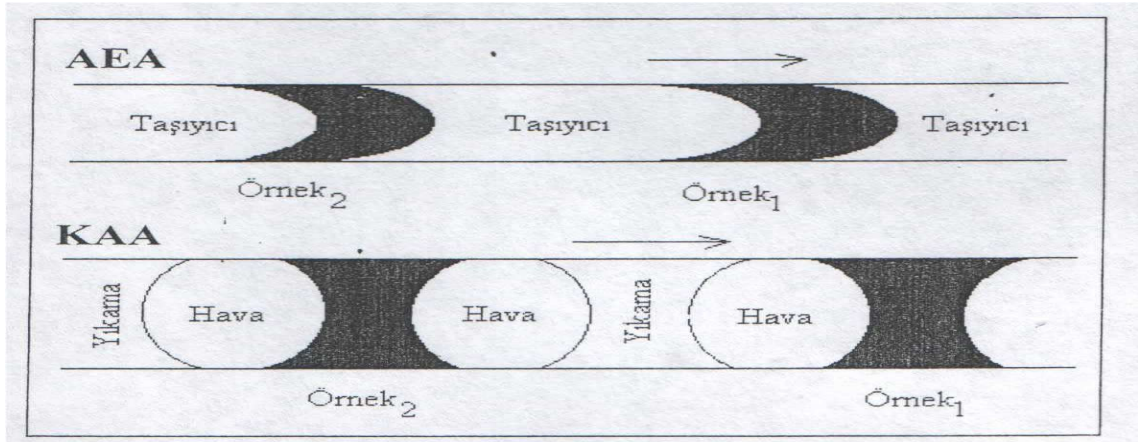
O₂, O₂, nem vb.) temasın önlenmesi ve kirlilikten korunması bakımından pek çok avantajlar sağlamaktadır. Diğer taraftan klasik analiz tekniklerinde becerikli ve uzman bir kişi AEA tekniğini kullanarak daha fazla doğruluk ve tekrarlanabilirliğe ulaşabilir.

2.14.2. AEA ve Kesikli Akış Analiz Tekniği

Kesikli Akış Analiz tekniğinde akış yoluna hareketli faz ile birlikte hava kabarcığı gönderilir. Belirli periyotlarla gönderilen hava kabarcıklarının varlığı iki teknik arasındaki en önemli farktır (Şekil 2.7). Kesikli Akış Analiz tekniği akışın hava kabarcıklarıyla kesilmesine dayanırken AEA tekniğinde hava kabarcıklarının önlenmesi önemlidir.

Hava kabarcıklarının üç önemli rolü üstlendikleri varsayılmaktadır. Bunlar;

- 1.Enjekte edilen örnekler arasında oluşması muhtemel kirliliği önlemek,
- 2.Akış yoluna gönderilen örneğin dağılmasını veya seyrelmesini engellemek,
- 3.Hava kabarcıklarının baskısıyla sistemin kendi içinde bir akış dengesi oluşturmak, böylelikle hem fiziksel hem de kimyasal dengeye ulaşmasını sağlamaktır.



Şekil 2.7. AEA ve KAA'da dağılmanın gelişmesi (KAA: Kesikli Akış Analiz).

Bununla birlikte Kesikli Akış Analiz tekniğinin bazı kusurları mevcuttur. Bunlar;

1. Sistemin teknik karmaşıklığı minyatürizasyonu kısıtlar.
2. Hava kabarcıklarının baskısı sistemde titremeye neden olur ve sinyalin kaydedilmesinde bir gecikme meydana gelir.
3. Sistem bazı ilave mekanizmalara gerek duymaktadır.

4. Elektrokimyasal detektörlerin cevabını bozan statik elektrik oluşumu mümkün olabilir.

5. Hava kabarcıklarının varlığında akış hızının kontrolü zorlaşır.

Kesikli Akış Analiz tekniğinin bu gibi dezavantajlarından dolayı hava kabarcıklarının olmadığı AEA tekniği özellikle klinik kimyada önemli ve yaygın bir teknik haline gelmiştir.

AEA tekniğinin Kesikli Akış Analiz tekniğine göre avantajlarını şu şekilde sıralamak mümkündür.

1. Daha tekrarlanabilir akış hızlarına ulaşılabilir.
2. Cihaz karmaşık değildir, bu nedenle oldukça ucuzdur.
3. Sistem kolaylıkla minyatürize edilebilir.
4. Örneklemme hızı oldukça yüksektir.
5. Analitik potansiyel ve uygulama alanı oldukça geniştir.

Bütün bunlar haricinde iki teknik arasındaki farkları, Çizelge 2.1’de görmek mümkündür.

Çizelge 2.1. KAA ve AEA’nın karşılaştırılması

Parametre	Kesikli Akış Analiz	AEA
Örnek Tanıştırma	Aspirasyon	Enjeksiyon
Örnek Hacmi	0,2-2 mL	10-100 µL
Cevap Zamanı	2-30 dakika	3-60 saniye
Tayin	Dengede	Kontrollü Dağılma
Örnekleme Sıklığı	≤ 80 /saat	≤ 100 /saat
Kesinlik	% 1-2	% 1-2
Reaktif Tüketimi	Yüksek	Düşük
Düğü Arası Yıkama	Şart	Gerekli Değil
Sürekli Kinetik Analiz	Mümkün Değil	Mümkün
Titrationlar	Mümkün Değil	Mümkün
Veri eldesi	Pik Yüksekliği	Pik Yüksekliği, Pik alanı, Pik genişliği

2.14.3. AEA ve HPLC (Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi)

AEA tekniği ile kromatografi arasında çok büyük benzerlikler mevcuttur. Aslında AEA tekniği Kesikli Akış Analiz tekniğinden daha çok kromatografiye benzemektedir. Ranger tarafından AEA tekniği, HPLC ve Kesikli Akış Analiz tekniğinin bir hibriti (bileşimi) olarak ifade edilmiştir (Ranger, 1981).

İki teknik arasındaki benzerlik ve farklılıkları Çizelge 2.2’de görmek mümkündür.

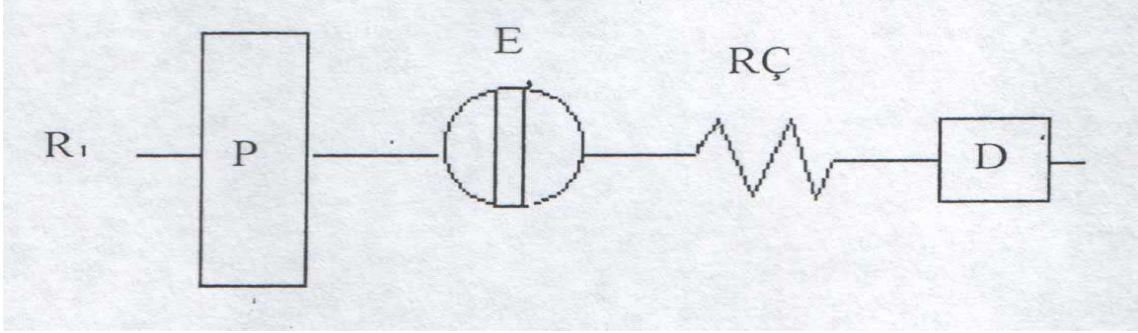
Çizelge 2.2. AEA ile HPLC’ nin karşılaştırılması

Ortak Özellikler	Farklı Özellikler		
Kesintisiz Akış		HPLC	AEA
Enjeksiyon	Kolon	Önemli	Mümkün
Küçük Örnek Hacmi;	Basınç	Yüksek	Düşük
Değişken Akış Hızı;	Maliyet	Yüksek	Düşük
Küçük kolon Çapı	Uygulama alanı	Sınırlı	Geniş
	Veri eldesi	Pik yüksekliği pik alanı	Pik yüksekliği, pik alanı, pik genişliği
	Temel analitik amaç	Kompleks bir madde karışımını çok sayıda bileşene ayırmak ve analiz etmek.	Çok sayıda örnekte tek bir bileşeni hızlı bir şekilde analiz etmek

2.15. AKIŞ ENJEKSİYON ANALİZ TEKNİĞİ

2.15.1. AEA Sisteminin Bileşenleri

En basit AEA sistemi Şekil 2.8’de gösterilmektedir.



Şekil.2.8. Tek kanallı AEA sisteminin basit bir gösterimi (R: reaktif akışı; P: pompa; E: enjeksiyon bölmesi; RÇ: reaksiyon çemberi; D: detektörü göstermektedir.)

Sistem bileşenlerini şu şekilde açıklamak mümkündür:

2.15.2. Pompa

Dar kolonlar boyunca hareketli ve reaktif çözeltilerini göndermek amacıyla kullanılır. En sık kullanılanı peristaltik pompadır. 4-8 reaktif veya hareketli fazı pompalama kapasitesine sahiptir. AEA sisteminde genellikle kullanılan akış hızı 0,5-4 ml /dak’dır (Prados ve ark., 2002).

2.15.3. Örnek Enjeksiyon Bölmesi

Küçük hacimlerdeki örneğin, tekrarlanabilir bir şekilde hareketli faz akış yolu içine enjeksiyonu amacıyla kullanılır. En yaygın olarak tercih edileni düşük basınçlı ve dört yöne dönebilen enjeksiyon vanasıdır. Bunlar elle, elektronik olarak veya sıkıştırılmış havayla harekete geçirilebilirler. Enjektör tamamıyla otomatik işlemler için oto örnekleyciye bağlanabilir.

2.15.4. Reaksiyon Çemberi

Reaksiyon çemberlerinin fonksiyonu, radyal karışmanın şiddetini dolayısıyla örnek bölgesi ile reaktif arasındaki reaksiyonu artırmaktır. Kısa ve geniş düz kolon, kıvrılmış uzun ince kolon veya karıştırıcı bölmesi bulunan ince kolon, içi tanecik dizili kolon veya örgülü kolon tipi reaksiyon çemberleri mevcuttur. Kıvrılmış uzun ince kolon şeklindeki reaksiyon çemberleri en yaygın kullanılanlarıdır.

2.15.5. Detektör

AEA Sisteminde absorpsiyon, floresans, atomik emisyon veya absorpsiyon, potansiyometrik, difüzyon akımı, elektriksel iletkenlik gibi değişimleri hissedebilen bir veya daha fazla dedektör kullanılabilir. Kullanılan detektörün küçük hacim, düşük gürültü düzeyi, geniş bir konsantrasyon aralığı için hızlı ve doğrusal cevap, yüksek duyarlılık gibi özelliklere sahip olması istenir.

2.15.6. Çıktıları Kaydedici Sistem

Analiz işlemlerinin zamanlaması, sinyal gösterimi, kalibrasyon ve sonuçların hesaplanması için mikroişlemcilerin kullanıldığı oldukça gelişmiş ve ticari olarak elde edilebilen, kısmen veya tamamen otomatik sistemler üretilmiştir.

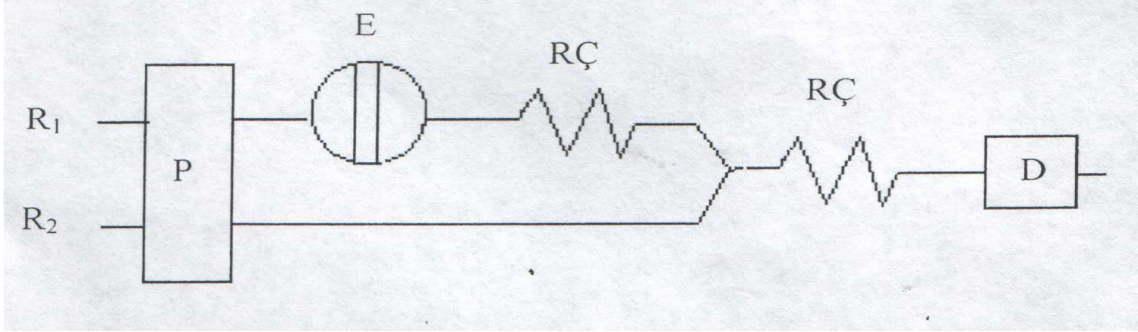
2.16. Yaygın Olarak Kullanılan AEA Sistemleri

En yaygın olarak kullanılan AEA sistemlerini şu şekilde sınıflandırmak mümkündür.

2.16.1. Tek Kanallı Sistemler

Bu tür bir sistem Şekil 2.8'de görülmektedir. Reaktif içeren hareketli faz pompayla sisteme verilir. Bilinen hacimdeki örnek çözeltisi reaktif içeren bu akışa enjekte edilir. Dağılma, reaktif ve örneğin karışmasına neden olur. Reaktör kısmında analit ve reaktif arasında meydana gelen kimyasal reaksiyon sonucu oluşan ürünler detektöre ulaşır.

2.16.2. İki Kanallı Sistemler



Şekil 2.9. İki kanallı AEA sisteminin basit bir gösterimi

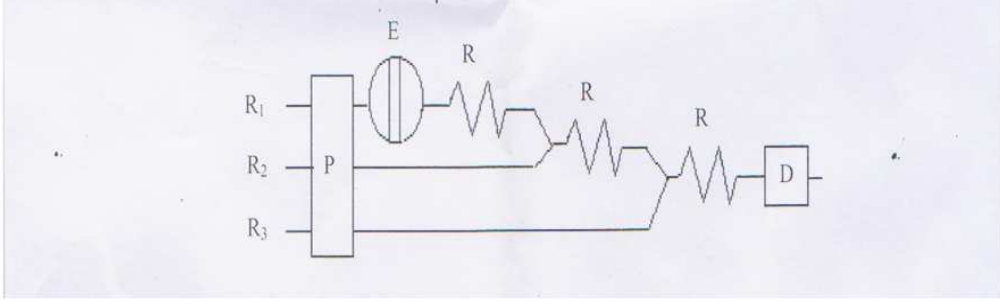
Bu tür bir sistem Şekil 2.9'da görülmektedir. İki kanallı sistemin iki farklı şekilde kullanımı mümkündür.

1. Tek bir kimyasal reaksiyon meydana gelir ve tek kanallı sistemlere benzer bir hal alır. İki kanallı yaklaşımda örnek, reaktif içermeyen bir hareketli içerisinde enjekte edilir ve daha sonra reaktif ile birleşir. Bu, örnek kuşağı boyunca örnekle reaktifin daha homojen karışmasına neden olur. Böylece tek kanallı yaklaşıma göre daha fazla duyarlılık ve performans elde edilir. Bu nedenle tek kimyasal reaksiyonunun gerçekleştiği çalışmalarda iki kanallı sistem tek kanallı sisteme göre daha fazla tercih edilir.

2. İki kimyasal basamak içerir. Örnek ilk olarak birinci reaktifi içeren hareketli faza enjekte edilir. Analit ve reaktifin reaksiyonu sonucu oluşan ara ürün daha sonra ikinci bir reaktifle reaksiyona girer ve son olarak oluşan ürün detektöre gider.

2.16.3. Üç kanallı sistemler

Bu tür bir sistem Şekil 2.10'da görülmektedir. Üç kanallı sistemin de iki farklı kullanımı mümkündür:



Şekil 2.10. Üç kanallı AEA sisteminin basit bir gösterimi

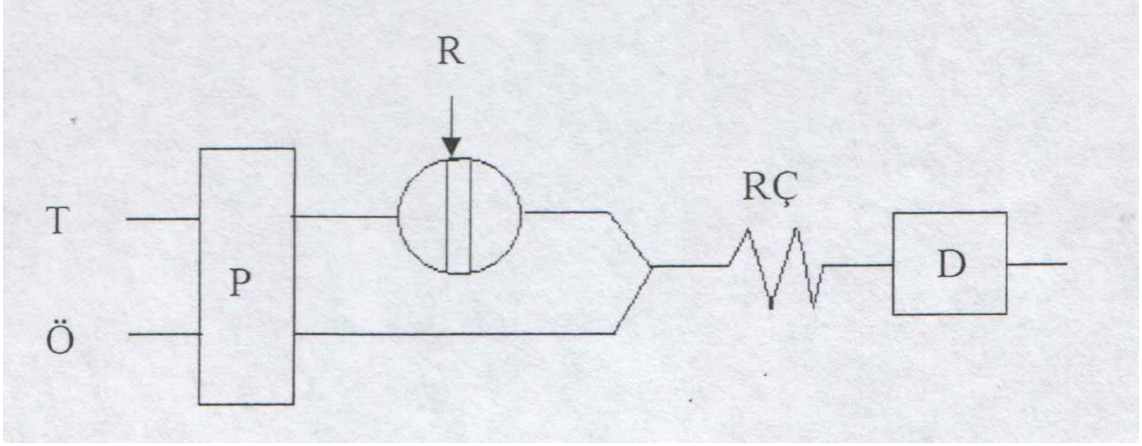
1. İki kimyasal basamak içeren kullanımında örnek, reaktif içermeyen hareketli faza enjekte edilir. Daha sonra bu akış ilk reaktif ile reaksiyona girer ve oluşan ürünler detektöre gider.

2. Üç kimyasal basamak içeren kullanımında örnek, ilk reaktif içeren akışa enjekte edilir. Bu reaksiyonunun ürünü daha sonra ikinci reaktif ile reaksiyona girer. Bu reaksiyon ürünü ise üçüncü reaktif ile reaksiyona girer. Son olarak oluşan ürün tayin edilmek üzere detektöre gider.

En yaygın olarak yukarıda bahsedilen AEA sistemleri kullanılmakla birlikte istenen uygulamaya bağlı olarak AEA sistemlerinin çok farklı şekillerde dizayn edilmesi mümkündür. Bunlara birkaç örnek vermek mümkündür.

2.16.4. Reaktif Enjeksiyon Tipi AEA Sistemi

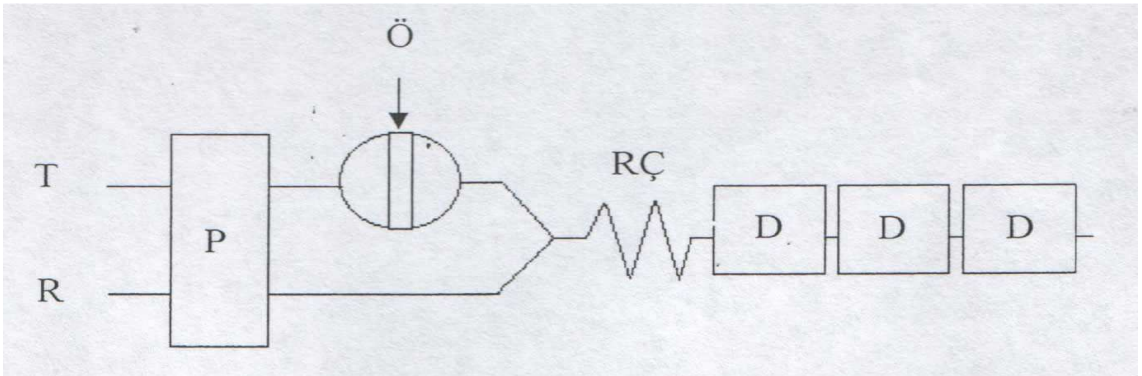
Bu tür bir sistem Şekil 2.11'de görülmektedir. Deniz suyu analizleri, sürekli atık su izleme uygulamaları gibi örnek materyalinin fazla olduğu durumlarda reaktif enjeksiyon veya ters AEA tekniği kullanılır. Burada sürekli akan örnek üzerine reaktifin enjeksiyon veya ters AEA tekniği kullanılır. Bu şekilde uygulamayla hem reaktifin ekonomik kullanımı sağlanır hem de analitik duyarlılığın artırılması mümkündür.



Şekil 2.11. Reaktif enjeksiyon tipi AEA sistemi

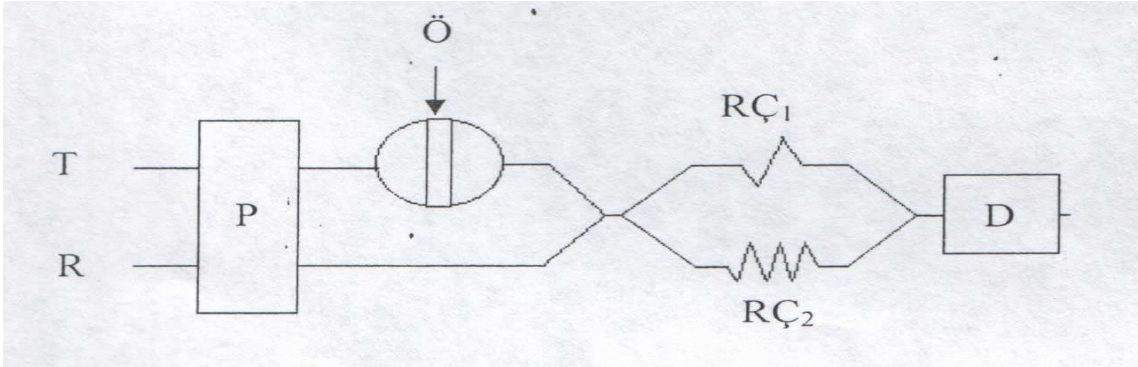
2.16.5. Çok Detektörlü Sistemler

AEA sistemlerinde çok sayıda eş zamanlı veya çok hızlı bir şekilde kısa aralıklarla tayin etmek için birden çok detektör seriler halinde kullanılabilir. Şekil 2.12’de görüldüğü gibi örnek bölgesi değişik detektörlere paralel akış yolları boyunca ulaşmaktadır.



Şekil 2.12. Çok detektörlü sistemler

Diğer bir şekilde ise örnek, enjeksiyondan hemen sonra ikiye ayrılıp, alıkonma zamanı farklı olan reaksiyon çemberlerine gönderilir (Şekil 2.13). Daha sonra, detektöre ulaşmadan yeniden birleştirilmesi sağlanır. Böyle bir sistemde bazen birden çok detektör uygulanabilmektedir.



Şekil 2.13. Yarıkılı, tek detektörlü AEA sistemi

2.17. Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (AAS)

Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi, inorganik ya da organik materyallerdeki metalik ya da metalik olmayan elementlerin kantitatif analizi için en yaygın kullanılan önemli enstrümantal tekniklerden biridir.

Atomik absorpsiyon olgusu ilk kez 1802’de güneş ışığının emisyonundaki karanlık bantların Wollaston tarafından incelenmesiyle ortaya çıkmıştır. 1859’da, Kirchoff ve Bunsen, Wollaston’un bu gözlemini tam olarak açıklamışlar ve karanlık bantların güneşteki temel halde bulunan atomik gazların absorpsiyonu sebebiyle olduğunu göstermişlerdir. Bununla birlikte, ışığın atomik buharlar tarafından absorpsiyon yöntemi, Alan Walsh’ın 1953’de ilk analitik atomik absorpsiyon spektrometresini yapımına kadar kantitatif amaçlar için kullanılamamıştır.

Bu buluş sayesinde, atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAS), hem metalik elementlerin hem de metalik olmayan elementlerin analizi için standart bir metot olarak kabul görmüştür. AAS, sadece tayini yapılan elemente duyarlı olması ve milyonda bir (% 0,0001) analitik duyarlılık sağlaması sebebiyle oldukça fazla uygulama alanı bulmuştur. AAS tekniği iki aşamaya ayrılır; analit moleküllerin atomik gaz fazına geçmesi (atomlaşma) ve daha sonra radyasyonun serbest atomlar tarafından absorpsiyonudur. Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi ilke olarak Beer-Lambert kanununa dayanmaktadır.

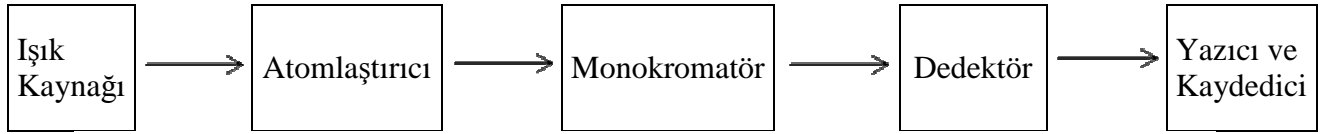
Beer-Lambert kanununa göre, belli yoğunluktaki ışın demeti çok sayıda atomların bulunduğu ortama gönderilirse ışığın bir kısmı atomlar tarafından;

I_0 şiddetinde bir ışık demeti, yoğunluğu c , uzunluğu l olan bir ortamdan geçirilirse şiddeti azalır ve I olur. I ve I_0 arasında,

$$I = I_0 \cdot e^{-kcl} \text{ veya } -\text{Log} I / I_0 = kcl$$

şeklinde bağıntı vardır. Burada $-\text{Log} I / I_0$ absorbans olarak adlandırılır. Bu formül absorbansın, maddenin derişimi ile doğru orantılı olduğunu gösterir ve madde derişimine karşı ölçülen absorbans değerlerinden kalibrasyon grafiği hazırlanır ve buradan bilinmeyen maddenin derişimi bulunur.

Genel bir atomik absorpsiyon spektrometrisinin şeması Şekil 2.14' de görülmektedir



Şekil 2.14. AAS blok şeması

2.17.1. Işık Kaynakları

AAS'de incelenen element çok dar dalga boyu aralığında absorpsiyon yaptığı için sürekli bir ışık kaynağı kullanarak absorpsiyon hattını ayırmak yerine, absorpsiyon hattından daha dar emisyon hattı veren bir spektral kaynak kullanmak alet tasarımı açısından çok büyük kolaylık sağlamaktadır. Bu amaçla değişik ışık kaynakları kullanılmaktadır. Ancak çok kullanılan ışık kaynağı oyuk katot lambalarıdır.

2.17.2. Atomlaştırıcılar

AAS'de atomlaşma basamağı alevle ya da elektrotermal metotlarla başarıyla gerçekleştirilir. Her iki metotta da ısı enerjisi, analit molekülünü buharlaştırmak ve moleküller arası kimyasal bağları kırmak için kullanılır. Atomlaşma sırasında gaz fazına geçen moleküllerin atomlaşma yüzdesi, atomlaşma verimi olarak adlandırılır. Atomlaşma verimi, AAS' nin analitik duyarlılığında önemli bir sınırlayıcı etkendir (Lagalante, 1999).

Atomlaştırıcıların görevi örnekteki molekül veya iyonlardan temel haldeki element atomlarını oluşturmaktır. Bir analizin başarılı olup olmaması atomlaşmanın etkinliğine bağlıdır. Tayinin duyarlılığı incelenen elementin atomlaşma derecesi ile doğrudan orantılıdır.

Atomik absorpsiyon spektrometrisinde atomlaşma için üzerinde en çok çalışılan ve geliştirilen yöntem, örneğin çözelti halinde aleve püskürtülmesi olmuştur. Daha sonraki yıllarda alevsiz atomlaştırıcılar geliştirilmiş ve büyük önem kazanmıştır (Unicam, 1991).

2.17.3. Monokromatörler

Spektroskopik yöntemler için aletin kalitesi genellikle monokromatörün spektral bant genişliğine bağlı olduğu halde atomik absorpsiyon için bu kadar önemli değildir. Atomik absorpsiyonda iki elementin birbirinden ayrılması sadece oyuk katot lambasının emisyon hatlarının yarı genişliği (0,002 nm) ile absorpsiyon hatlarının yarı genişliğine (0,004 nm) bağlıdır. Başka bir deyişle normal bir monokromatörün ayırma gücünün çok altında değerlerdir.

Monokromatörün asıl görevi incelenen elementin rezonans hattını ışık kaynağının yaydığı öteki hatlardan ayırmaktır. Deneyler 0,2 nm' lik bant genişliğinin pratik olarak bütün elementler için yeterli olduğunu göstermiştir (Unicam, 1991).

2.17.4. Detektörler

AAS'de ışık sinyalinin elektrik sinyaline dönüştürülmesinde foto çoğaltıcılar kullanılır. Foto çoğaltıcının kullanacağı spektral aralık, katot üzerindeki ışığa duyarlı tabakaya ve tüpün pencere malzemesine bağlıdır. Atomik absorpsiyonun incelendiği tüm spektral aralıkta yeterli duyarlılığa sahip bir foto çoğaltıcı bulmak zordur. Foto çoğaltıcılarda çoğunlukla UV ve görünür bölgenin kısa dalga boylarında CsSb, görünür bölge için de Se veya CdSe katot kullanılır (Unicam, 1991).

2.18. Akış Enjeksiyon Analizi ile Yapılan Çalışmalar

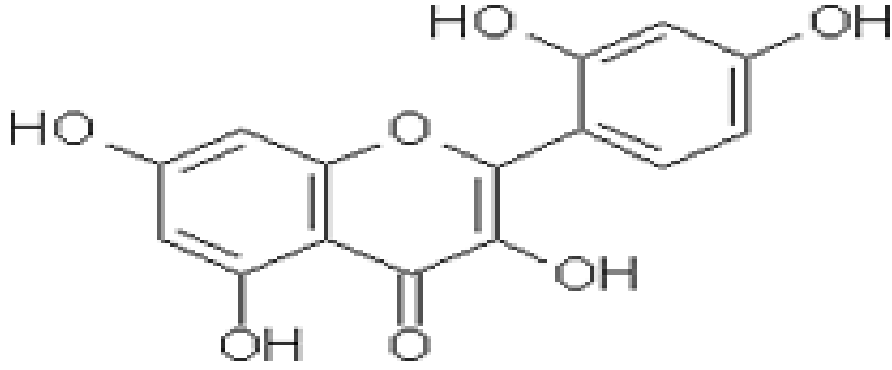
Demir, yer kabuğunda dördüncü olarak en bol bulunan elementtir. Genel olarak, doğal sularda demirin ana kaynağı, kayalar ve topraktır (Dojido ve Best, 1993).

Demir (II) normal olarak nehir suyunda demir (III) den azdır (Sangi ve ark., 2004). Demir (III) hızlı bir şekilde sulu ortamda demir oksit ve demir hidroksitlere dönüşebilir. Böylece, demir iyonu, doğal su sistemi içinde hareketlilik gösterir. Demir ve diğer eser metallerin toksisitesini kontrol ve demir tayini için basit ve düşük maliyetli yöntemlere ihtiyaç vardır (Udnan ve ark., 2004; Morelli, 1983).

Akış Enjeksiyon Analizi (AEA), hızlı hassas ve çok sayıda ölçüm için geniş uygulama alanı bulmuştur (Zaijun ve ark., 2004; Hirata ve ark., 1999).

Dedektör olarak spektrofotometre kullanılarak belirli dalga boyunda demir (II) hassas bir şekilde analiz edilmiştir (Kass ve Ivaska, 2002; Van Staden ve Kluever, 1998). Çeşitli ligandlar kullanılarak AEA sisteminde spektrofotometre ile demir (III) ve toplam demir miktarı tayin edilmiştir. Örneğin, 2-tiyobarbitürik asit (Kass ve Ivaska, 2002), norfloksasin (Wirat, 2008) tiron (Van Staden ve Kluever, 1998), tetrasiklin (Ahmed ve Roy, 2009) ve dimethyldithiocarbamate (ferbam) (Malik ve Rao., 1997) gibi iyonik demir ile kompleks oluşturabilen ligandlar kullanılarak akış-enjeksiyon analiz sisteminde spektrofotometrik dedektörle demir (II) ve demir (III) miktarları belirlenmiştir. Bu reaktiflerle yapılan demir analizlerinde yabancı iyonların girişim etkileri kısmen elimine edilmiştir.

Daha önceki çalışmalarda demir (II), demir (III) ve toplam demir, deniz ve nehir suyu örneklerinde farklı kompleksleştirici ligandlar kullanılarak hassas bir şekilde analiz edilmesi için AEA tayin yöntemleri geliştirildi (Wirat, 2008; Asan ve ark.,2003, 2008, 2010; Andac ve ark.,2009). Bu çalışmada ise, demir (II) ve toplam demirin belirlenmesi için 2', 3, 4', 5, 7-pentahidroksiflavon reaktifi kullanılarak hassas ve son derece seçici, basit ve ekonomik UV-Gör. Spektrofotometrik dedektörü kullanılarak, akış enjeksiyon analiz yöntemi geliştirilmiştir. Söz konusu bu reaktif daha önce demirin spektrofotometrik tayininde kullanılmıştı (Ahmet ve Roy, 2009). Ancak Akış Enjeksiyon Analizinde kullanılmamıştı. Kompleksleştirici reaktif olarak kullanılan 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavonun açık yapısı Şekil 2.15' de görüldüğü gibidir.



Şekil 2.15. Reaktif olarak kullanılan 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavan'ın açık yapısı

Bu çalışmada, 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavan reaktifini içeren hareketli faz ile sisteme enjekte edilen demir (II) arasında maksimum 415 nm de absorpsiyon yapan bir kompleks oluşmaktadır. 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavan reaktifinin çözünürlüğü suda sınırlıdır ancak alkol-su ortamında iyi çözünmektedir. Bu nedenle sistemde hareketli faz olarak alkol-su karışımı kullanılmış, sisteme enjekte edilen demir (II) ile hareketli fazdaki ligandın kompleks oluşturması sonucu AEA yöntemi ile su numunelerindeki demir (II) ve toplam demirin analizi spektrofotometre kullanılarak başarıyla gerçekleştirilmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Amonyum demir (III) sülfat	(Merck)
2. Amonyum demir (II) sülfat	(Merck)
3. Krom (III) nitrat	(Merck)
4. Alüminyum (III) nitrat	(Merck)
5. Kadmiyum (II) nitrat	(Merck)
6. Mangan (II) nitrat	(Merck)
7. Potasyum nitrat	(Merck)
8. Sodyum nitrat	(Merck)
9. Gümüş nitrat	(Merck)
10. Kalsiyum nitrat	(Merck)
11. Magnezyum nitrat	(Merck)
12. Baryum nitrat	(Merck)
13. Civa (II) nitrat	(Merck)
14. Potasyum siyanür	(Merck)
15. Potasyum nitrit	(Aldrich)
16. Potasyum sülfat	(Merck)
17. Potasyum karbonat	(Merck)
18. Potasyum klorür	(Merck)
19. Potasyum bromür	(Merck)
20. Potasyum fosfat	(Aldrich)
21. Amonyum klorür	(Aldrich)
22. Potasyum tiyosiyanat	(Aldrich)
23. Asetik asit	(% 78 Merck)
24. Sodyum asetat	(Merck)
25. Hidrojen peroksit	(Merck)
26. Nitrik asit	(% 65 merck, d=1,41 g/ml)
27. Etil alkol	(d=0,73 g/mL Carlo Erba)
28. Sertifikalı metal alaşımı	(Zn/Al/Cu 43XZ3F, MBH)
29. Hidroklorik asit	(% 37 Merck, d=1,18 g/mL)

30. 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon (BDH Chemicals)
31. Sodyum azid (Fluka)

3.2. Kullanılan Cihazlar

1. pH metre (JENWAY 3040 dijital) (Çözeltinin pH'sını ölçmek için)
2. AAnalyst 700 Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (Perkin Elmer) (Demir tayini için)
3. Avery Berkel terazi (0,0001 duyarlıkta)
4. Unicam spektrofotometre (GBC cintra 20, Australya) (spektrofotometrik çalışmalar için)
5. Uv-Gör. Spektrofotometre (Spectra system UV 3000 HR, Thermo seperation products, USA) (AEA sisteminde detektör olarak)
6. Peristaltik pompa (ISMATEC; IPC, İsviçre) (AEA sisteminde demir tayini için)
7. PC 1000 bilgisayar programı

3.3. Kullanılan Reaktifler ve Çözeltiler

Standart stok demir (II) ve demir (III) çözeltileri 5×10^{-3} M olacak şekilde $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ maddelerinin deiyonize suda çözülmesiyle hazırlandı. Sonraki çalışmalarda istenen derişimlerdeki demir; çözeltiler bu stok çözeltilerden istenen oranda deiyonize su ile seyreltilerek hazırlandı ve stok çözeltiler karanlıkta saklandı.

Çözeltideki demir (III)'ün demir (II)'ye indirgenmesi için kullanılan sodyum azid çözeltisi % 2,5 (w/v) olacak şekilde 100 mL deiyonize suda 2,5 g sodyum azidin çözünmesiyle kullanılmadan hemen önce hazırlandı.

Diğer metal çözeltileri, ilgili tuzlarından 1×10^{-2} M olacak şekilde hazırlanarak kullanıldı.

pH: 4,5 Asetik asit/sodyum asetat tampon çözeltisi, yaklaşık 0,1 M olacak şekilde hazırlanan asetik asit üzerine uygun miktardaki sodyum asetat eklenmesiyle hazırlandı.

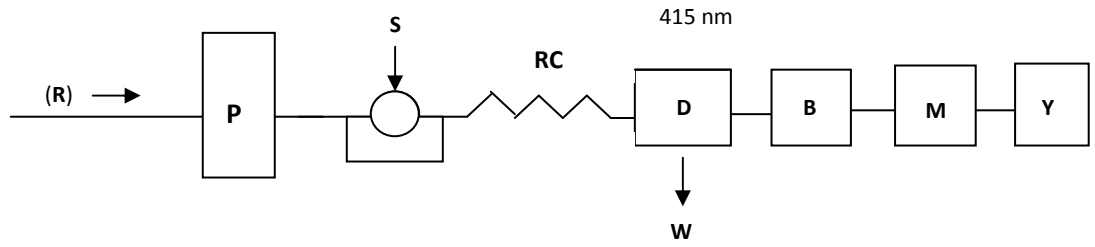
Çözeltilerin küçük hacimlerinin alınmaları ve aktarılmasında 10-100 μL ve 100-1000 μL hacim aralıklarına sahip mikro pipetler (Brand, ABD) kullanıldı.

Tüm çözeltilerin hazırlanmasında ultra saflıkta deiyonize su (R:21. 4. MΩ) kullanıldı.

Kompleksleştirici ligand olarak kullanılan 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon, saf suda çözünmemekte, fakat etilalkol-su karışımında iyi çözünmektedir. Reaktifin en iyi çözüldüğü oran hacimce % 4 etilalkol-su karışımı olduğundan (Ahmed ve Roy, 2009) çalışma boyunca bu oran kullanıldı.

3.4. Genel Prosedür

Demir tayininde kullanılan tek kanallı akış enjeksiyon analiz (AEA) sistemi blok şeması Şekil 3.1'de görüldüğü gibidir.



Şekil 3.1. Demir tayini için kullanılan AEA sisteminin blok şeması (**R**: Hareketli faz çözeltisi, (HAc/Ac⁻ çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su ortamında 1×10^{-5} M 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon); **P**: peristatik pompa; **S**: Rheodyne örnek enjeksiyon vanası; **RC**: karıştırma çemberi (50 cm uzunluğunda 0,5 mm i.d); **D**: Spektrofotometrik dedektör; **W**: atık; **B**: Bilgisayar; **M**: Monitör; **Y**: yazıcı)

Bu sistemde örnek çözelti S kısmında gösterilen Rhodyne enjeksiyon vanasından sisteme enjekte edilmektedir. AEA sisteminde hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içinde 1×10^{-5} M olacak şekilde 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon içermekte ve sistemden 0.8 mL/dak akış hızında sürekli akmaktadır.

Sisteme enjekte edilen standart demir çözeltisi ile hareketli fazdaki 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon arasında oluşan renkli kompleks spektrofotometrik dedektör ile

tain edilmektedir. Demir ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon arasında sulu ortamda oluşan kompleksleşme reaksiyonu son derece hızlı olduğundan AEA sisteminde analizi mümkün hale gelmektedir. Oluşan kompleksin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu 415 nm olduğu için spektrofotometrik dedektör tüm çalışma boyunca bu dalga boyuna ayarlandı. Enjeksiyon bölmesi ile dedektör arasına, kompleksin meydana gelebilmesini sağlamak için iç çapı 0,5 mm olan 50 cm uzunluğunda bağlantı borusu kullanıldı. Spektrofotometrede detekte edilen kompleksin derişime bağı olarak değışen absorpsiyon değışimleri, PC 1000 bilgisayar programı vasıtasıyla ekranda pikler şeklinde gözlendi ve elde dilen bu pikler değılendirilerek çizilen kalibrasyon grafiğinden kantitatif analiz gerçekleştirildi.

Gerçek numunelerdeki toplam demirin belirlenmesi için numuneye % 2,5 w/v oranında sodyum azid eklenerek demir (III)' ün demir (II)'ye indirgenmesi sağılandı. Bunun için gerçek numuneden alınan 9 mL ye 1 mL sodyum azid eklenerek ve yaklaşık 5 dakika beklendi. Daha sonra bu numuneden sisteme 20 µL enjeksiyon yapılarak gerçek numunedeki toplam demir miktarı belirlendi.

3.5. Örnek Hazırlama Prosedürü

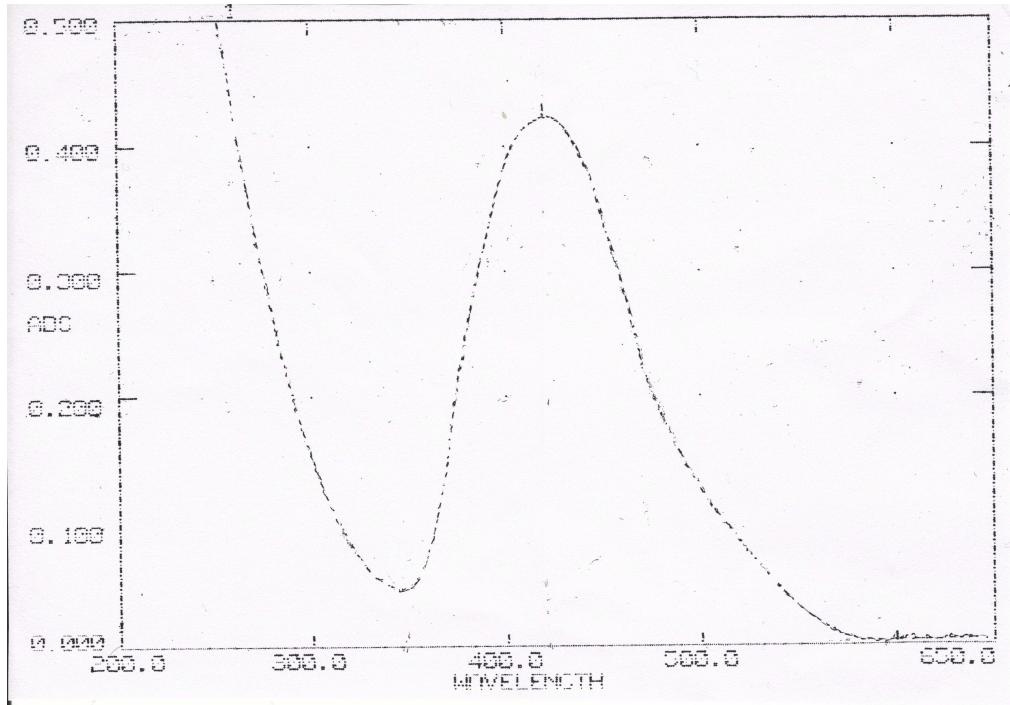
Deniz ve nehir suyu örnekleri daha önce 0,1 M nitrik asitle yıkanarak temizlenen plastik kaplara alındı ve analizden önce 0,45 µm çapındaki Millipore filtreden geçirilerek süzöldü. Filtrasyondan sonra herhangi başka bir ön işlem yapılmadan 20 µL örnek, demir (II)' nin belirlenmesi için doğrudan doğruya sisteme enjekte edildi. Örnekteki toplam demiri belirlemek için örneğın 9 mL sine % 2,5 (w/v) sodyum azid çözeltilisinden 1 mL eklendi. Daha sonra sisteme bu örneklerden 20 µL enjeksiyon yapıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Metal Kompleksleri için Spektrofotometrik Çalışmalar

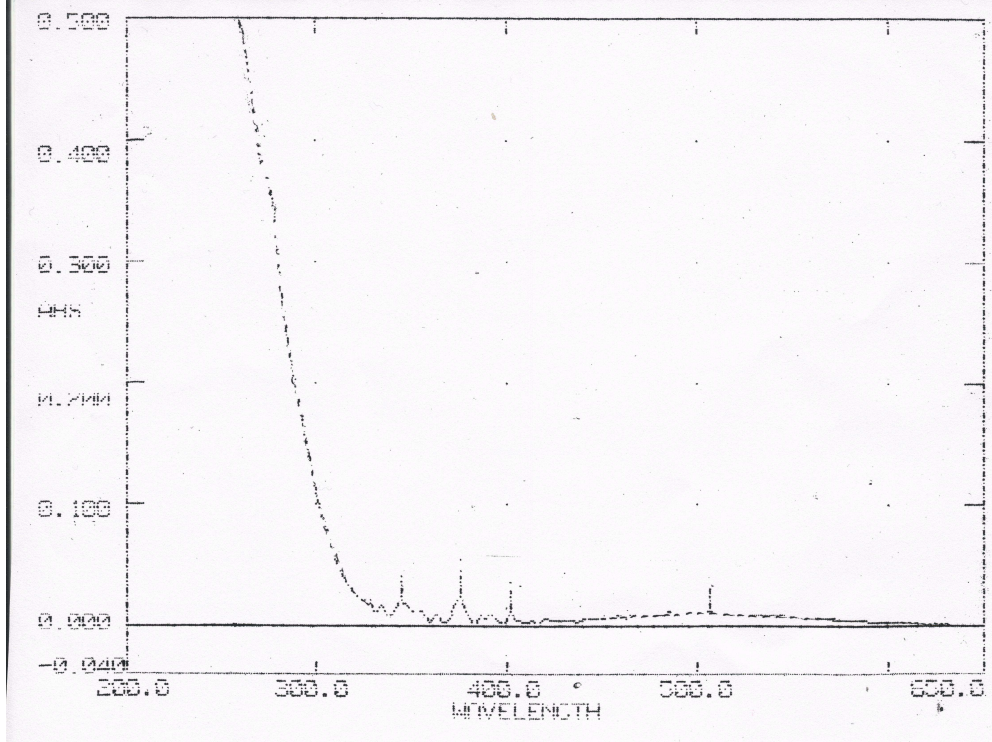
Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavinon reaktifleri arasında oluşan kimyasal tepkime mekanizması daha önce belirlenmiş ve demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavinon reaktifleri arasında 1:2 stokiyometrisinde bir kompleksin oluştuğu ortaya konmuştu. (Busev ve ark., 1981). Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavinon arasında sulu ortamda hafif açık yeşil renkli bir kompleksin meydana geldiği, kompleks oluşum reaksiyonunun son derece hızlı olduğu ve bu özellikleri nedeniyle demir (II) için oldukça seçici olduğu ortaya konmuştu.

Demir (II) iyonu ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavinon reaktifleri arasında sulu ortamda pH: 2-7 arasında farklı stokiyometrilere renkli kompleks oluşturmaktadır. 5×10^{-6} M derişimde demir (II) çözeltisi kullanılarak elde edilen kompleksin absorpsiyon spektrumu Şekil 4.1'de görülmektedir.



Şekil 4.1. 5×10^{-6} M derişimde demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavinonun oluşturduğu kompleksin UV-Gör. absorpsiyon spektrumu

Aynı derişimde test edilen diğer metallerin [Cr(III), Al(III), Cd(II), Mn(II), K(I), Na(I), Ag(I), Ca(II), Mg(II), Ba(II), Hg(II)] ve 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaktifin UV-Gör. absorpsiyon spektrumu ise Şekil 4.2 de görüldüğü gibidir.



Şekil 4.2. 5×10^{-6} M derişimde test edilen diğer metallerin (M-2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon kompleksi) ve 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavonun reaktifinin UV-Gör. absorpsiyon spektrumu (M: Cr(III), Al(III), Cd(II), Mn(II), K(I), Na(I), Ag(I), Ca(II), Mg(II), Ba(II), Hg(II))

Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaktifi arasında oluşan kompleks için Şekil 4.1 den elde edilen UV-gör absorpsiyon spektrumu dikkate alınarak belirlenen molar absorpsiyon katsayısı yaklaşık 8.6×10^4 L mol⁻¹ cm⁻¹ düzeyindedir. Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'den de görüleceği gibi sadece demir (II), 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaktifi ile 415 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon göstermektedir. Bu dalga boyunda hem 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaktifi hem de diğer metallerin kompleksleri absorpsiyon göstermemektedir ve bu metaller ile test

edilen anyonlar ihmal edilebilir bir absorpsiyona sahiptirler. Dolayısıyla yukarıda demir (II) için hızlı ve seçici kompleksleşme reaksiyonu dikkate alınarak akış enjeksiyon analizi için yeni bir yöntem geliştirildi ve geliştirilen yöntemle çevre sularındaki demir tayin edildi. Bunun için Şekil 3.1’de gösterilen AEA sistemi UV-Gör spektrofotometrik detektörle beraber ($\lambda_{max}= 415$ nm) kullanılarak gerçek numunelerdeki demirin analizi gerçekleştirildi.

4.2. AEA İçin Optimum Şartların Belirlenmesi

AEA metodunun iyi bir şekilde optimize edilmesi, sonuçların kalitesi üzerine önemli etkilere sahip olup, sistemin bileşenlerine bağlı olarak çok sayıda deneysel parametrenin incelenmesini mecburi kılar. Bu deneysel parametreler; enjeksiyon hacmi, karıştırma çemberinin özellikleri, bağlantıların uzunluk ve şekilleri gibi AEA parametreleri ya da elektrodun şekli, akış hücresinde düzenlenmesi ve akış hücresinin ölü hacmi gibi tayin parametrelerinden oluşabilir (Calatayud, 2003).

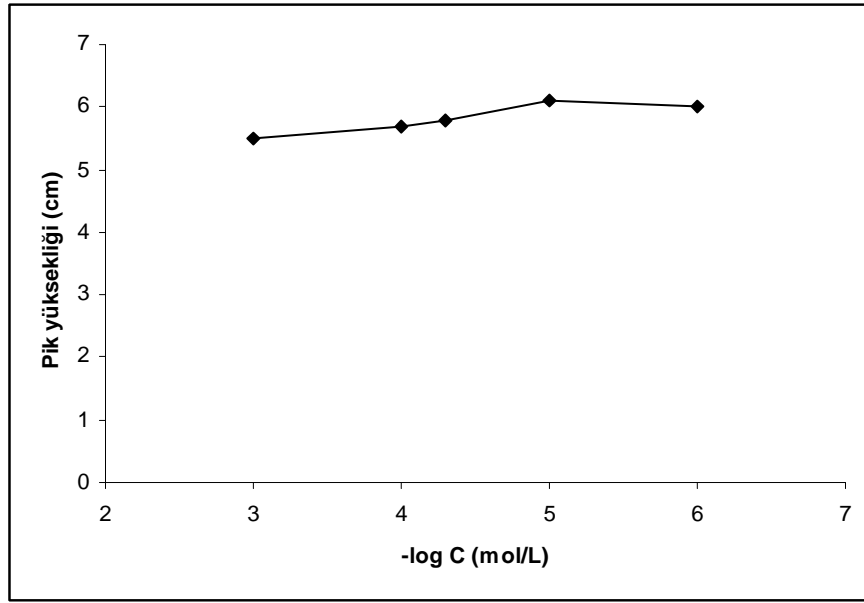
Optimizasyonun en temel amacı; doğruluk ve tekrarlanabilirlik gibi analitik özellikleri iyileştirmektir. Örnekleme sayısı, örnek ve reaktif tüketimi, çalışma maliyeti yukarıda sayılanlara göre daha geri planda kalmaktadır (Calatayud, 2003)

AEA’da akış yolunun uzunluğu, enjeksiyon hacmi ve hareketli fazın akış hızı gibi parametreler sistemin duyarlılık ve örnekleme sıklığı gibi özelliklerini etkilemektedir. Akış yolunun uzunluğu örneğin dağılmasını artırdığından dolayı, piklerin genişlemesine yol açmaktadır. Bu nedenle, akış yolunun uzunluğu mümkün olduğu kadar küçük tutulmalıdır. Diğer taraftan, örnek enjeksiyonundan dolayı akışta meydana gelen ani değişikliklerin detektöre ulaşmadan önce dengelenebilmesi için de belli bir uzunluğa sahip olması gerekmektedir. Tayin edilecek tür bir reaksiyon sonucu oluşuyorsa, örnekle reaktifin birbiriyle yeterli derecede karışmasını mümkün kılacak dağılmayı sağlayacak uzunluğa sahip olmalıdır. (Calatayud, 2003)

50 $\mu\text{g L}^{-1}$ derişimde demir (II) çözeltisi kullanılarak akış enjeksiyon sisteminde demir tayinin optimizasyonu için çeşitli parametreler değiştirilerek araştırıldı ve optimum koşullar belirlendi. Sıcaklığın ve iyon şiddetinin etkisi çalışma boyunca dikkate alınmadı.

4.2.1. Reaktif Konsantrasyonun Etkisi

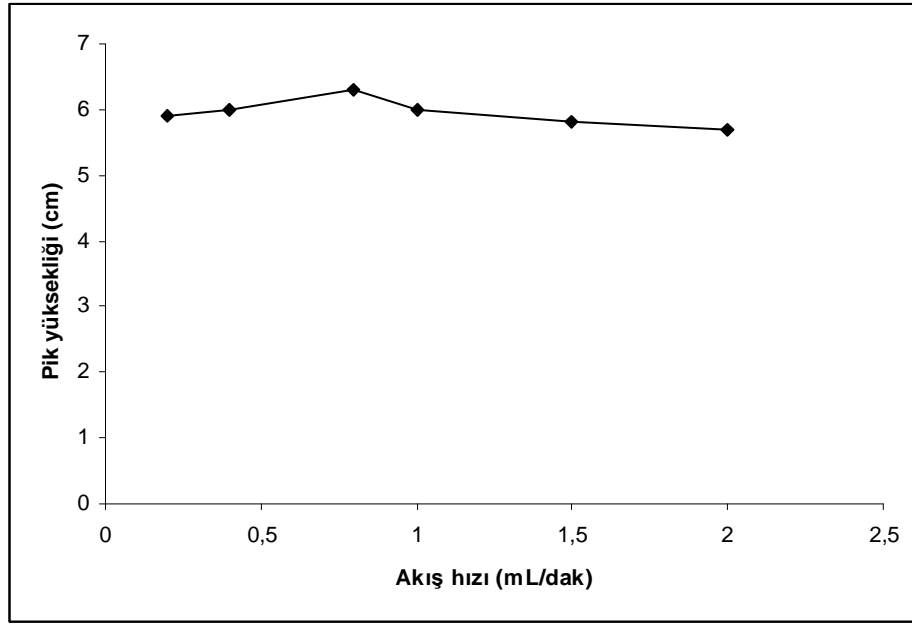
2', 3, 4', 5, 7- Pentahidroksiflavyon konsantrasyonu 1×10^{-3} - 1×10^{-6} M aralığında değiştirilerek $50 \mu\text{g L}^{-1}$ sabit demir (II) derişimine karşı elde edilen pik yükseklikleri karşılaştırıldı. 1×10^{-5} M derişime kadar pik yüksekliğinin arttığı bu derişimden sonra ise önemli bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. Bu durum Şekil 4.3. de görülmektedir.



Şekil 4.3. Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavyon kompleksinden elde edilen pik yüksekliğine 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavyon konsantrasyonunun etkisi (hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içine eklenen 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavyon reaktifi; akış hızı: 0,8 mL/ dk.; $50 \mu\text{g L}^{-1}$ demir (II) çözeltisinden 20 μL enjeksiyon)

4.2.2. Akış Hızının Etkisi

Sistemde hareketli faz akış hızı 0,2 ile 2 mL/dk arasında değiştirilerek en uzun hangi akış hızında piklerin elde edilebileceği araştırıldı. Akış hızının artmasıyla pik yüksekliğinin azaldığı gözlemlendi. Bunun nedeni akış hızının artmasıyla demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavyon reaktifi arasındaki reaksiyondan oluşacak kompleksin meydana gelmesi için yeterli zamanı bulamayışı olabilir. Şekil 4.4'den de görülebileceği gibi en iyi pik yüksekliğinin elde edildiği akış hızı 0,8 ml/dk olarak belirlendi ve daha sonraki bütün çalışmalarda bu akış hızı kullanıldı.

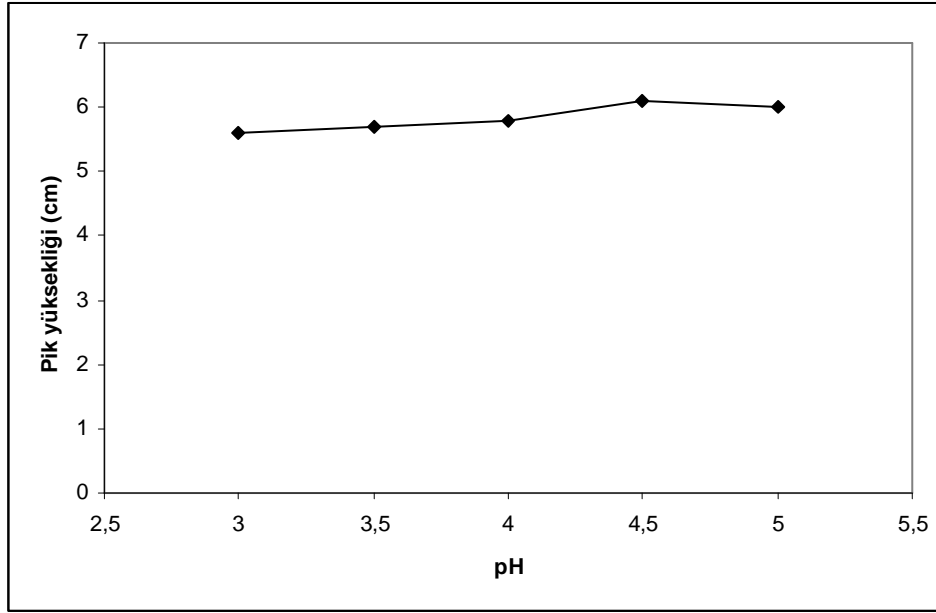


Şekil 4.4. Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon kompleksinden elde edilen pik yüksekliği üzerine hareketli faz akış hızının etkisi (hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içinde 1×10^{-5} M 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon; $50 \mu \text{g L}^{-1}$ demir (II) çözeltisinden 20 μL enjeksiyon)

4.2.3. pH Etkisi

AEA sisteminin optimizasyonunda 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon konsantrasyonu 1×10^{-5} M ve akış hızı da 0,8 mL/dak olarak optimize edildikten sonra hareketli fazın pH'sının pik yüksekliğine etkisi araştırıldı. Bunun için hareketli fazın pH'sı 3.0-5.0 arasında değiştirilerek elde edilen pik yüksekliklerindeki değişiklikler gözlemlendi. Gerek pik şekli ve gerekse pik yüksekliği bakımından demir ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon arasında oluşan kompleks için en iyi pH değerinin 4,5 olduğu belirlendi. Ayrıca demir (II) ve demir (III) çözeltilerinin 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaktifi ile yapılan spektrofometrik ön çalışmalarda ortamın pH değeri de ayarlandı. Buna göre hem demir (III) girişiminin en az olduğu hem de Şekil 4.5 den de görüleceği gibi AEA sisteminden elde edilen pikler değerlendirildiğinde optimum pH değerinin 4,5 olduğu belirlenmiş ve çalışma boyunca ortam tampon çözelti ile bu değere ayarlanmıştır.

Elde edilen pik yüksekliğine pH'nın etkisi Şekil 4.5'de gösterildiği gibidir.

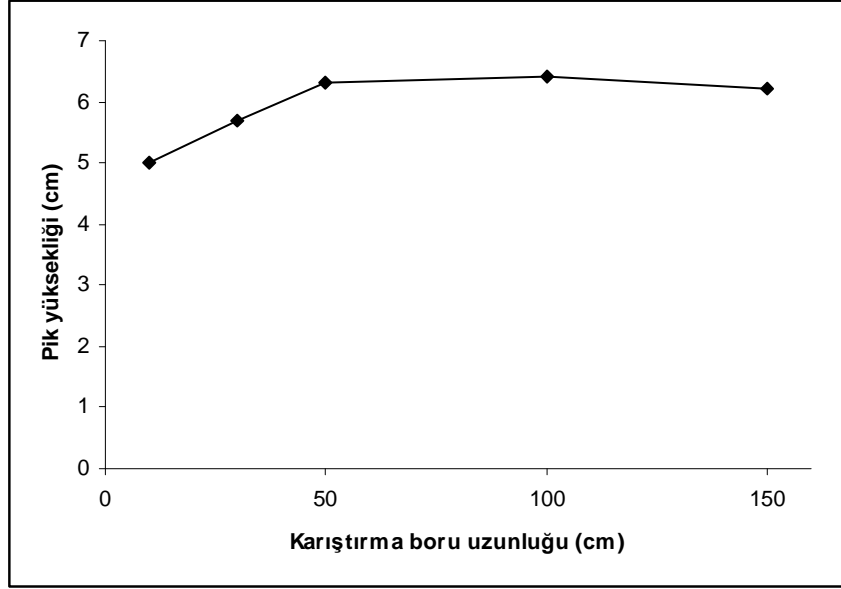


Şekil 4.5. Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaksiyonundan elde edilen pik yüksekliğine pH'nın etkisi. (hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içinde 1×10^{-5} M 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon; $50 \mu\text{g L}^{-1}$ demir(II) çözeltisinden $20 \mu\text{L}$ enjeksiyon; akış hızı $0,8 \text{ mL/dak}$)

4.2.4. Karıştırma Çemberinin Etkisi

Geliştirilen AEA yöntemi, sisteme enjekte edilen demir (II) ile hareketli fazda bulunan 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavonun birbiriyle reaksiyonu sonucu renkli bir kompleks meydana getirmeleri ve bu renkli kompleksin absorpsiyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır. Bunun için, demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaktifinin en uygun sürede etkileşip kompleks oluşturmaları gerekir. Bu amaçla enjeksiyon bölmesi ile spektrofotometrik dedektör arasına iç çapı $0,5 \text{ mm}$ olan $10\text{-}150 \text{ cm}$ uzunluğunda değişen bağlantı boruları karışma ortamı olarak düşünüldü ve farklı uzunluktaki borular test edildi. Özellikle kullanılan boru uzunluğu 100 cm den uzun olunca sistemden elde edilen piklerde genişleme gözlenmiştir. Bu durum AEA yönteminde istenmeyen bir durumdur. Bu nedenle, en iyi pik şekli ve en iyi pik yüksekliği 50 cm boru kullanılarak elde edildiğinden, karıştırma çemberi olarak 50 cm bağlantı borusu çalışma boyunca kullanıldı.

Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon'un reaksiyonundan elde edilen piklere karıştırma çemberinin etkisi Şekil 4.6 de görüldüğü gibidir.



Şekil 4.6. Demir (II) ile 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaksiyonuna karışma çemberinin etkisi (hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içinde 1×10^{-5} M 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon; $50 \mu\text{g L}^{-1}$ demir(II) çözeltisinden $20 \mu\text{L}$ enjeksiyon; akış hızı $0,8 \text{ mL/dak}$)

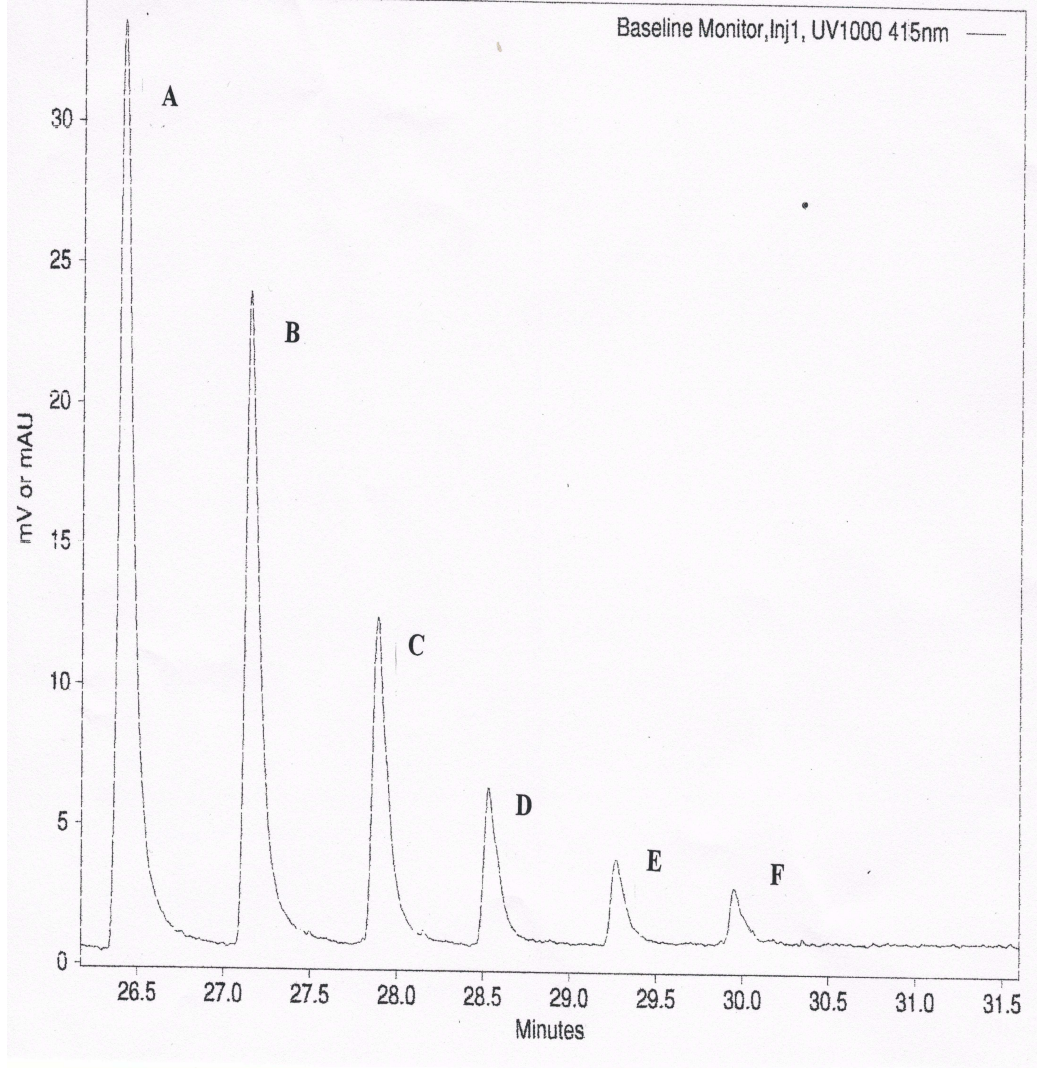
4.2.5. Enjeksiyon Hacminin Etkisi

Sistemin bütün parametreleri optimize edildikten sonra örnek hacmi $5-50 \mu\text{L}$ arasında değiştirilerek elde edilen pik şekilleri incelendi. Küçük hacimlerde örneğin kısmen dağılması, pik yüksekliğinde azalma ve piklerde genişleme nedeniyle duyarlılık açısından $20 \mu\text{L}$ enjeksiyon hacmi çalışma boyunca kullanıldı.

4.2.6. Kalibrasyon Eğrisi ve Tayin Limiti

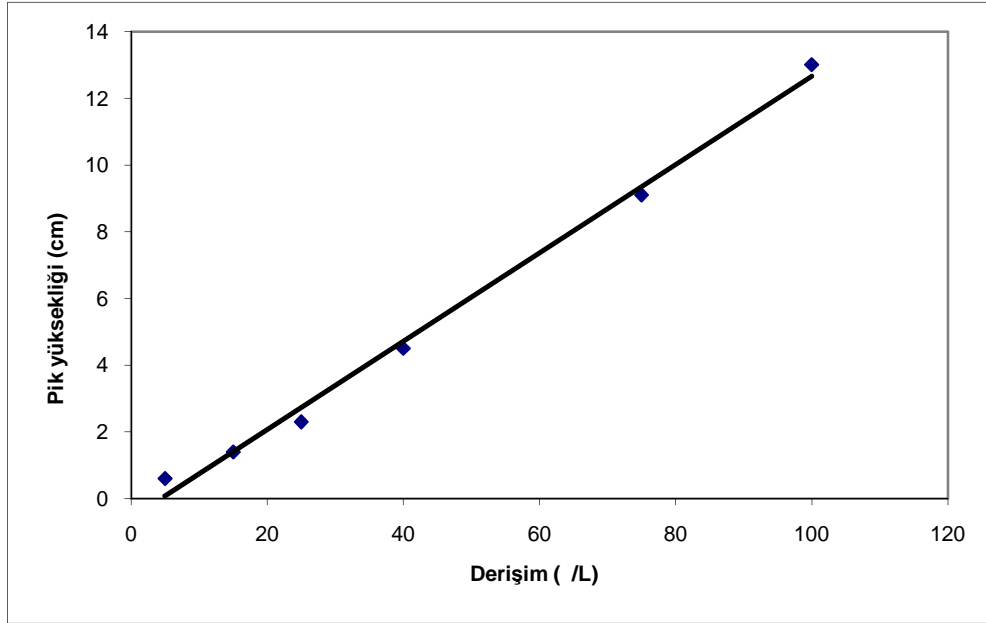
Geliştirilen AEA ile demir tayin yöntemi, demir (II) nin asidik ortamda 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon reaktifi ile kompleks oluşturması ve oluşan bu kompleksin spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır. Burada oluşan kompleksin absorpsiyonu ölçülmekte ve bilgisayar programı sayesinde ölçülen absorbanlar pik

şeklinde izlenmektedir. Bu bağlamda, öncelikle çeşitli ön denemeler yapılmış ve neticede demir (II) nin değişen derişimlerine karşı farklı pikler elde edilmiştir. Söz konusu farklı demir (II) derişimleri sisteme peşpeşe enjekte edilmiş ve elde edilen pikler bilgisayar çıktısı halinde Şekil 4.7 de verilmiştir.



Şekil 4.7. Standart demir (II) çözeltisinin farklı derişimlerinden elde edilen pikler; A) $100 \mu\text{g L}^{-1}$, B) $75 \mu\text{g L}^{-1}$, C) $40 \mu\text{g L}^{-1}$, D) $25 \mu\text{g L}^{-1}$, E) $15 \mu\text{g L}^{-1}$, F) $5 \mu\text{g L}^{-1}$ (hareketli faz, asetik asit-sodyum asetat çözeltisi ile tamponlanmış (pH:4.5) 4:96 (v/v) etanol-su karışımı içinde 1×10^{-5} M 2', 3, 4', 5, 7- pentahidroksiflavon; her bir çözeltiden $20 \mu\text{L}$ enjeksiyon; akış hızı 0,8 mL/dak).

Bu verilerden hareketle geliştirilen demir (II) tayin yöntemi doğruluk, kesinlik, doğrusal çalışma aralığı ve tayin limiti gibi parametreler açısından valide edildi. Öncelikle optimize edilen şartlar altında demir (II) için doğrusal kalibrasyon 5-100 $\mu\text{g L}^{-1}$ arasında, r^2 değeri 0,9944 ve regresyon denklemi $y= 0.132x -0.589$ (y: cm olarak pik boyu; x ise $\mu\text{g/L}$ olarak derişimi göstermektedir) olarak bulundu. Şekil 4.8'da standart demir (II) çözeltisi için elde edilen kalibrasyon grafiği görülmektedir.



Şekil 4.8. Standart demir (II) çözeltisi için elde edilen kalibrasyon grafiği

Standart demir (II) ile çözeltisinin farklı derişimlerine karşı elde edilen piklerden ve buna bağlı olarak çizilen kalibrasyon grafiğinden sinyalin gürültüye oranı 3 kriteri dikkate alınarak bulunan fiziksel tayin limitinin (LOD) yaklaşık $6 \mu\text{g L}^{-1}$ düzeyinde olduğu belirlendi. Ayrıca, $50 \mu\text{g L}^{-1}$ standart demir (II) çözeltisi için sisteme 10 kere peş peşe enjeksiyon sonucu elde edilen piklerin bağıl standart sapması % 2 den daha küçük olduğu bulundu. Demir tayini için geliştirilen AEA yöntemi, saatte en az 60 numunenin analizine imkan tanımaktadır.

4.2.7. Girişim Etkileri

Geliştirilen AEA yöntemi ile demir tayini için, $50 \mu\text{g L}^{-1}$ standart demir (II) derişimi sabit tutularak anyonların ve birçok metal katyonunun bu derişimdeki girişim etkileri araştırıldı. Bu amaçla farklı derişimlerdeki her bir metal ve anyon çözeltisinden bu derişimdeki demir (II) çözeltisine eklenerek sisteme enjeksiyonlar yapıldı ve elde edilen pikler değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’de görüldüğü gibidir.

Çizelge 4.1. $50 \mu\text{g L}^{-1}$ standart demir (II) derişimine yabancı iyonların girişim etkileri

Tolerans limiti ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Yabancı iyonlar
≤ 50000	Cr(III), Al(III), Cd(II), Mn(II), K(I), Na(I), Ag(I), Ca(II), Mg(II), Ba(II), Hg(II), CN^- , NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , Cl^- , Br^- , PO_4^{3-} , NH_4^+ , SCN^-
≤ 200	Fe (III)

Test edilen birçok iyon $50 \mu\text{g L}^{-1}$ derişimdeki standart demir (II) tayinine girişim yapmaktadır. Test edilen metaller arasında girişim yapan ana iyonun demir (III) iyonu olduğu belirlendi. Yaklaşık $200 \mu\text{g L}^{-1}$ civarında demir (III) iyonunun girişim yaptığı belirlendi. Çizelge 4.1’den de görülebileceği gibi geliştirilen AEA yöntemi test edilen bütün iyonlar için girişimleri tolere edilebilir düzeydedir ve bu nedenle demir (II) ve toplam demir tayini için yeterince seçici bir analiz yöntemidir.

4.2.8. Uygulamalar

Geliştirilen AEA yöntemi standart çözeltilerle optimize edildikten sonra çevre numunelerindeki (nehir ve deniz suyu) demir (II) ve toplam demirin miktarının bulunması için uygulandı. Bunun için örnekler Samsun’da farklı noktalardan alındı ve laboratuara getirilerek analiz edildi. Ayrıca geliştirilen yöntemin doğruluğunu test etmek için atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) ile toplam demir analizi yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı. Ayrıca örnekler, AEA yönteminden elde edilen kalibrasyon

metodunun yanı sıra standart ekleme yöntemi ile de analiz edildi. Çizelge 4.2’de elde edilen sonuçlar görülmektedir.

Çizelge 4.2. Demir (II) ve toplam demirin nehir ve deniz suyu örneklerinden elde edilen sonuçları

Örnekler	Demir (II) ⁽¹⁾ ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Toplam demir ⁽¹⁾ ($\mu\text{g L}^{-1}$)		AAS	t ⁽⁴⁾
	Bulunan ⁽²⁾	Bulunan ⁽³⁾	Bulunan ⁽²⁾	Bulunan ⁽³⁾		
Atakum deniz suyu(Yeşilyurt AVM önü)	36.45(0.29)	35.14(0.14)	58.65(0.33)	56.95(0.16)	61.74(0.41)	4.10
Samsun Limanı deniz suyu	54.72(0.25)	51.58(0.23)	88.95(0.38)	86.32(0.11)	90.23(0.44)	3.81
Kürtün ırmağı suyu	29.37(0.21)	27.21(0.32)	51.13(0.34)	50.76(0.42)	53.67(0.37)	3.76

⁽¹⁾Üç ölçümün ortalaması ve parantez içindeki değerler % 95 güven sınırı ($\bar{x} \pm ts/\sqrt{N}$)

⁽²⁾ Kalibrasyondan elde edilen değerler.

⁽³⁾ Standart ekleme ile elde edilen değerler.

⁽⁴⁾Çift taraflı t testi

Çizelge 4.2 incelendiğinde, su numunelerindeki toplam demir miktarının ortalama 50.76-90.23 $\mu\text{g L}^{-1}$ sınırları arasında olduğu belirlendi. Özellikle Samsun Limanından alınan deniz suyu örneklerindeki demir miktarının yüksek çıkması anlamlıdır. AEA sisteminden elde edilen toplam demir miktarı ile AAS yönteminden elde edilen toplam demir miktarı değerlerinin iyi bir uyum içerisinde olması geliştirilen demir tayin yönteminin geçerli bir yöntem olduğu sonucunu doğurmaktadır. Ayrıca, geliştirilen yöntem için çift taraflı t testi denemesi yapılmış ve değerler 3.76-4.10 aralığında bulunmuştur. Bulunan bu değerler% 95 güvenilirlik düzeyinde verilen tablo değeri ile ($t_{\text{kritik}}(0.05)$)karşılaştırılmıştır. 2 Serbestlik derecesi için t tablosunda verilen kritik değer 4.30 dır. Buna göre, bulunan t değerlerinin tümü verilen bu kritik değerden küçük olduğundan geliştirilen yöntemle bulunan toplam demirin AAS yöntemi ile bulunan sonuçlardan anlamlı bir şekilde farklı olmadığını göstermektedir.

Gerçek numunelerden elde edilen sonuçlar, geliştirilen AEA yöntemi ile demir tayini için herhangi bir zenginleştirme ve ön işleme gerek duymadan iyi bir geri kazanımla metodun farklı örneklere uygulanabileceğini göstermektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Özellikle bir numunenin analizindeki en büyük problem ortamda bulunan diğer maddelerin girişim etkileridir. Bu çalışmada demir (II) ve toplam demir analizi için herhangi bir ön işleme ve zenginleştirmeye gerek duyulmadan son derece hızlı, duyarlı ve ucuz bir akış enjeksiyon analiz yöntemi geliştirildi. Geliştirilen metot herhangi bir ayırım işlemi olmadan direkt olarak örneklerin analizlerinin yapılmasına imkân tanımaktadır. Metot, deniz suyu, nehir suyu farklı çevre numunelerine başarı ile uygulanmıştır

Geliştirilen yöntem literatürdeki mevcut yöntemlerle karşılaştırıldığında girişim yapan maddelerin yok denecek kadar az olması ve bu girişimlerin tolere edilebilir olması sonucu yöntem rutin demir analizlerinin yapıldığı bir analiz yöntemi olarak farklı matristeki numunelere rahatlıkla uygulanabileceği söylenebilir. Ayrıca, geliştirilen AEA yönteminin basitliğinin yanı sıra reaktiflerin ticari olması ve herhangi bir toksikolojik olarak risk faktörü taşımaması önemli bir avantajdır.

KAYNAKLAR

- Agraz, M., Sevilla, T., Hernandez, L., 1995.** Voltametric quantification and speciation of mercury-compounds, *J. Of Elektroan. Chem*, 390, 47-57.
- Ahmed M.J., Roy, U.K., 2009.** A simple spectrophotometric method for the determination of iron (II) aqueous solution, *Turk. J. Chem*, 33, 709-726.
- Andac, M., Asan, A., Işıldak, İ., 2009.** A simple flow injektion spectrofotometric determination method for iron (III) based on O-acetylsalicylhydroxamic acid complexation, *Chem. Paper*, 63, 268-273.
- Andrew, R.B., Eric, P., Achterberg, R., Fauzi, C., Mantoura S., Worsfold, P.J., 1998.** Determination of sub-nanomolar levels of iron in seawater using flow injection with chemiluminescence detection, *Anal. Chim. Acta*, 361, 189-200.
- Asan, A., Andac, M., Işıldak, İ., 2003.** Flow-injection determination of nanogram levels of iron(III) with N,N-Dimethylformamide, *Analytical Sciences*, 19, 1033-1036.
- Asan, A., Andac, M., Isildak, I., Tinkilic, N., 2008.** Flow injection spectrophotometric determination of iron(III) using diphenylamine-4-sulfonic acid sodium salt *Chemical Papers*, 62(4) 345-349.
- Asan, A., Andac, M., Isildak, I., 2010.** Spectrofluorimetric flowinjection analysis of iron in environmental samples using salicylicacid, *Chemical Papers* 64 (4) 424-428.
- Bagher, G.B., Hadi, P.M., 2011.** Anadic Stripping Voltametric determination of iron (II) at an carbon paste electrode modified with dithiodianiline (DTDA) and gold nanoparticles (ENP), *Electroanalysis*, 23, 1345-1351.
- Bagheri, H., Gholami, A., Najafi, A., 2000.** Simultaneous preconcentration and speciation of iron(II) and iron(III) in water samples by 2-mercaptobenzimidazole-silica gel sorbent and flow injection analysis system, *Anal. Chim. Acta* 424, 233-242.
- Busev, A.T., Tiptsova, V.G., Ivanov, V.M., 1981.** Eds. Anylatical chemistry of Rare Elements, Mir publication, Moscow, 385.

- Calatayud, J.M., 2003.** Flow injection analysis of pharmaceuticals automation in the laboratory. *Taylor and Francis*, Bristol.
- Çınar, Ö., 2008.** Çevre Kirliliği ve Kontrolü, Ankara.
- Debra, A., Weeks, N., Kenneth, W., Bruland L., 2002.** Improved method for shipboard determination of iron in seawater by flow injection analysis, *Anal. Chim. Acta*, 453, 21-32.
- Dojlido, K., Best, G.A., 1993.** *Chemistry of water and water pollution*, Ellis Horwood Limited, Chichester, (1993).
- Du, J., Lu, K., Hang, X., 2006.** Flow-injection chemiluminescence determination of cobalt using a cobalt (II) (1,10-phenanthroline)₃ complex-catalyzed Lucigenin-periodate reaction. *Microchim Acta*, 153, 21-25.
- Ensafi, A.A., Chamjangali, A.M., Mansour, H.R., 2004.** Sequential Determination of Iron(II) and Iron(III) in Pharmaceutical by Flow-Injection Analysis with Spectrophotometric Detection, *Anal. Sci.* 20, 645-650.
- Ferreira, H.C., Ferreira, J., 1998.** Preconcentration and determination of copper and zinc in natural samples by ICP-AES after complexation and sorption on Amberlite XAD-2, *J.Braz. Chim.* 9, 525-530.
- Giokas, D.L., Paleologos, E.K., Karayannis, M.I., 2002.** Speciation of Fe(II) and Fe(III) by the modified ferrozine method, FIA-spectrophotometry, and flame AAS after cloud-point extraction, *Anal. Bioanal Chem.* 373, 237-243.
- Haghihi, A., Safavi, A., 1997.** Simultaneous flow injection determination of iron(II) and iron(III) with opto-electrochemical detection, *Anal. Chim. Acta*, 354, 43-50.
- Hirata, S., Yoshihara, H., Aihara, M., 1999.** Determination of iron(II) and total iron in environmental water samples by flow injection analysis with column preconcentration of chelating resin functionalized with *N*-hydroxyethylethylenediamine ligands and chemiluminescence detection, *Talanta*, 49, 1059-1067.
- Karlberg, B., Pacey, G.E., 1989.** A Practical Guide, Elsevier, Amsterdam, 457s
- Kass, M., Ivaska, A., 2002.** Spectrophotometric determination of iron(III) and total iron by sequential injection analysis technique, *Talanta*, 58, 1131-1137.

- Kikas, T.**, Introduction to Flow Injection Analysis (FIA). Determination of Chloride Ion, Concentration. Chem3211.
(<http://ww2.chemistry.gatech.edu/class/analyt/fia.pdf>)
- Lagalante, A.F., 1999.** Atomic Absorption Spectroscopy a Tutorial Review, Applied Spectroscopy Reviews, 34 (3), 173-189
- Lista, M.E., Palomegue U., Fernandez Band, B.S., 1999.** Flow-injection fluorimetric determination of mercury (II) with calcein. *Talanta*, 50, 881-885.
- Lu, S., Mou, K., Riviello, J.M., 1999.** Use of in chromatography for the biochemical samples, *J. Chromatogr. A*, 857, 343-349.
- Lunvongsa, S., Oshima, M., Motomizu, S., 2006.** Determination of total and dissolved amount of iron in water samples using catalytic spectrophotometric flow injection analysis, *Talanta* 68, 969-973.
- Malik, A.K., Rao, A.L.J., 1997.** Spectrophotometric determination of iron(III) dimethyldithiocarbamate (ferbam), *Talanta*, 44, 177-183.
- Mendil, D., Tuzen, M., 2011.** Assessment of trace elements in animal tissues from Turkey, *Environ Monit Assess*, 182, 423-430.
- Mohammad, R.S., Deepika, J., Jonathan P.K., Keith, A.H., 2004.** Determination of labile Cu^{2+} in fresh waters by chemiluminescence: interference by iron and other cations, *Talanta* 62, 924-930.
- Mok, K., Wai, C.M., 1984.** Preconcentration with dithiocarbamate extraction for determination of Molybdenum in seawater by Neutron Activation Analysis. *Anal. Chim*, 56, 27-29.
- Morelli, B., 1983.** Determination of iron(III) and copper(II) by zeroth, first and second derivative spectrophotometry with 2-thiobarbituric acid (4,6-dihydroxy-2-mercaptopyrimidine) as reagent, *Analyst*, 108, 870-879.
- Pascual-Reguera, I. Ortega-Carmona, S., Molina-Diaz, A., 1997.** Spectrophotometric determination of iron with ferrozine by flow-injection analysis, *Talanta*, 44, 1793-1801.
- Prados-Rozales, R.C., Luque-Garcia, J.L., Luque de Castro, M.D., 2002.** Propelling devices: the heart of flow injection approaches. *Analytica Chimica Acta*, 461, 169-180.

- Qin, W., Zhang, Z. J., Wang, F. C., 1998.** Chemiluminescence flow system for the determination of Fe(II) and Fe(III) in water, *Fresen. J. Anal. Chem.* 360, 130-132.
- Ranger, C.B., 1981.** Flow injection analysis. Principles, techniques, applications and design. *Analytical Chemistry*, 53(1), A20-A28.
- Ruzicka, J., Hansen, E.H., 1975.** Flow Injection Analysis Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. *Analytica Chimica Acta*, 78(1), 145-15.
- Ruzicka, J., Hansen, E.H., Zagatto, E.A., 1977.** Flow Injection Part VII "Use of ion-selective electrodes for rapid analysis of soil extracts and blood serum determination of potassium, sodium and nitrate. *Analytica Chimica Acta*, 88(1), 1-16.
- Ruzicka, J., Hansen, E.H., 1981.** Flow Injection Analysis, First Edition, John Wiley & Sons, New York, 522s.
- Ruzicka, J., Hansen, E.H., 1988.** Flow Injection Analysis, Second Edition, John Wiley & Sons, New York, 498s.
- Saitoh, T., Hasebe, N., Teshima, M., Kurihara L., Kawashima, T., 1998.** Simultaneous flow injection determination of iron (II) and total iron by micelle enhanced luminol chemiluminescence, *Anal. Chim. Acta*, 376, 247-254.
- Salsh, M., Fakhr-Eldin, S., Suliman, O., Duffuaa, S.O., Abu-Abdoun, I.I., 1992.** Simplex-optimized and flow injection spectrophotometric assay of tetracycline antibiotics in drug formulations, *Analyst*, 117, 1179-1183.
- Sangi, M.R., Jayatissa, D., Kim, J.P., Hunte, K.A., 2004.** Determination of labile Cu^{2+} in fresh waters by chemiluminescence: interference by iron and other cations, *Talanta*, 62, 924-930.
- Sastry, K., Krishnamoorthy, T.M., 1999.** Daily Intake of heavy metals by infants through milk and milk products. *The Science of the Total Environment*, 227, 229-235.
- Sofia, A.Z., Peter, K., Cristina, S., Mihucz, V.G., Andrea, R., Barna, B., Judit, K., Norbertand, S., Gyula, Z., 2011.** Microanalytical method development for Fe, Cu and Zn determination in colorectal. Cancer cells, *Talanta*, 85, 1959-1965.
- Şengün, F., Müezzinoğlu, A., 1993.** Çevre Kimyası, D. E. Ü. Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi, İzmir.

- Teixeira, F.R.P., Rocha P., Korn, M., Reis, B.F., Ferreira, S.L.C., Costa, A.C.S., 1999.** Flow–injection solid-phase spectrophotometry for the determination of zinc in pharmaceutical preparations. *Anal. Chim. Acta*, 383, 309-315.
- Teraboon, P., Surasak, W., Vichitr, R., Saisunee, L., 2002.** Reverse flow injection spectrophotometric determination of iron(III) using norfloxacin, *Talanta*, 58, 1293-1300.
- Teshima, N.K., Ayukawa, K.T., Kawashima, T., 1996.** Simultaneous flow injection determination of iron(III) and vanadium(V) and of iron(III) and chromium(VI) based on redox reactions, *Talanta* 43, 1755-1760.
- Themelis, G.D., Tzanavaras, P.D., Kika, F.S., Sofoniou, M. C., 2001.** Flow-injection manifold for the simultaneous spectrophotometric determination of Fe(II) and Fe(III) using 2,2'-dipyridyl-2-pyridylhydrazone and a single-line double injection approach, *Fresen. J. Anal. Chem.* 371, 364-368.
- Tripathi, R.R., Sastry, V.N., Krisnamoorthy, T.M., 1999.** Daily intake of heavy metals by infants through milk and milk products. *The Science of the total Environment*, 227, 229-235
- Undan, Y., Jakmune, J., Jayasavati, S., Christian, G.D., Synovec, R.E., Grudpa, K., 2004.** Cost-effective flow injection spectrophotometric assay of iron content in pharmaceutical preparations using salicylate reagent, *Talanta* 64, 1237-1240.
- Unicam, 1991.** Atomic Absorption Spectroscopy Methods Manual, Unicam Limited, U.K.
- Van Staden, J.F., Kluever L.G., 1998.** Determination of total iron in ground waters and multivitamin tablets using a solid-phase reactor with tiron immobilised on amberlite ion-exchange resin in a flow injection system, *Fresen. J. Anal. Chem* 362, 319-323.
- Wirat, R., 2008.** Reverse flow injection spectrophotometric determination of iron(III) using chlortetracycline reagent, *Talanta*, 74, 1236-1241.
- Yılmaz, B., 2000.** Fizioloji ders kitabı, Ankara Üniversitesi
- Yu, F.I., Hutchlason, K., Wal, C.M., 1982.** Solvent extraction of dithiocarbamate complexes and back-extraction with mercury (II) for determination of trace metals in sea water by atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim.* 54, 2536-2539.

- Zaijun, L., You, L.F., Zhongyun, L., Jia, L.T., 2004.** Pectrophotometric determination of iron(III)-dimethyldithiocarbamate (ferbam) using 9-(4-carboxyphenyl)-2,3,7-trihydroxyl-6-fluorone, *Talanta*, 63, 647-651.
- Zeriet, O., Tesfaldet, R., van Staden, J.F., Stefan, R.I., 2004.** Sequential injection spectrophotometric determination of iron as Fe(II) in multi-vitamin preparations using 1,10-phenanthroline as complexing agent, *Talanta* 64, 1189-1195.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ali BAHADIR

Doğum Tarihi: 10.01.1966

Medeni Hali: Evli

Yabancı Diller: Almanca

Eğitim Durumu:

Lise: Ondokuzmayıs Lisesi 1984

Lisans Ondokuzmayıs Üniversitesi Eğitim -Kimya 1985-1989

Çalıştığı Kurum:

Bursa-Gemlik Kız Teknik ve Meslek Lisesi

İletişim Bilgileri:

Osmaniye mah. Zafer Sk. Sarıkonak Apt. No: 38/6 – Gemlik / BURSA

Telefon: 05052689489

e-mail: ali_bahadir55@hotmail.com