

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇEŞİTLİ LİGANDLARI KULLANARAK Fe³⁺, Al³⁺ VE Cu²⁺ BİR
ARADA SPEKTROFOTOMETRİK TAYİNİ İÇİN YÖNTEM
GELİŞTİRİLMESİ VE ELDE EDİLEN VERİLERİN EN KÜÇÜK
KARELER KALİBRASYON YÖNTEMİ (PLS) VE TEMEL BİLEŞEN
REGRESYON (PCR) YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ahmet KABA

**Danışman
Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2015**

© 2015 [Ahmet KABA]

TEZ ONAYI

Ahmet KABA tarafından hazırlanan "**Çeşitli ligandları kullanarak Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺ nin bir arada spektrofotometrik tayini için yöntem geliştirilmesi ve elde edilen verilerin en küçük kareler kalibrasyon yöntemi (PLS) ve temel bileşen regresyon (PCR) yöntemi ile değerlendirilmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman **Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ**

Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi **Prof. Dr. Fikret KARCI**

Pamukkale Üniversitesi

Jüri Üyesi **Prof. Dr. Fethiye GÖDE**

Süleyman Demirel Üniversitesi

Enstitü Müdür V. **Doç. Dr. Yasin TUNCER**

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Ahmet KABA

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Demir.....	3
1.2. Alüminyum.....	4
1.3. Bakır.....	5
1.4. Eriyokrom Siyanin R (ECR).....	8
1.5. Kullanılan Yöntem.....	8
1.5.1. Spektrofotometri	8
1.5.2. UV ve görünür alan spektrofotometrisi.....	14
1.5.3. UV ve görünür bölge moleküler absorpsiyon spektroskopisinin uygulamaları	16
1.6. Kemometrik Yöntemler.....	17
1.6.1. Çok değişkenli kalibrasyon algoritmaları	20
1.6.1.1. Temel bileşen analiz yöntemi (principal component analysis (PCA) method)	20
1.6.1.2. Temel bileşen regresyon yöntemi (principal component regression (PCR) method).....	21
1.6.1.3. Kısmi en küçük kareler yöntemi (partial least squares regression (PLS) method)	23
1.6.2. Kalibrasyon (derişim) setinin tasarımı.....	25
1.6.3. Çapraz validasyon işlemi (cross validation procedure)	26
1.6.4. Varyans analizi (anova)	26
1.6.5. Kemometrik kalibrasyon yöntemlerinin uygulamaları	28
1.6.5.1. Kemometrik yöntemlerin uygulama alanları.....	28
1.6.5.2. Çoklu bileşen analizi (multi komponent analysis)	28
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	29
3. MATERYAL ve METOT	35
3.1. Materyal.....	35
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	35
3.2.1. Uv-görünür spektrofotometre cihazı	35
3.2.2 pH metre	36
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
3.3.1. Kullanılan çözeltiler	36
3.4. Komplekslerin Oluşumu İçin Optimum Şartların Belirlenme Çalışmaları	38
3.4.1. Ligand miktarı.....	38
3.4.2. Optimum pH belirlenmesi.....	39
3.4.3. Kompleks oluşum süresinin belirlenmesi	39
3.4.4. Metal derişimi - absorbans ilişkisi	39
3.4.5. Yabancı iyon etkisi	40

3.5. Yöntem	40
3.5. 1.UV/BG spektroskopisi yöntemi.....	40
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	42
4.1. Komplekslerin Oluşumu İçin Optimum Şartlar.....	42
4.1.1. Ligand miktarı	42
4.1.2. Optimum pH.....	44
4.1.3. Bekletme süresi	45
4.1.4. Yabancı iyon etkisi	45
4.1.5. Metal derişimi - absorbands ilişkisi.....	46
4.2. Kalibrasyon Setinin Hazırlanması	49
4.3. Spektral Koşulların Optimizasyonu	50
4.3.1. Temel bileşen analizi (PCA).....	51
4.3.2. Temel bileşen regresyonu yöntemi (PCR)	52
4.3.2.1. Kalibrasyon yönteminin validasyonu.....	54
4.3.2.2. PCR yöntemi için ANOVA testi	56
4.3.2.3. PCR yönteminde istatistiksel analiz.....	56
4.3.2.3.1. Kalibrasyonun standart hatası.....	56
4.3.3. Kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS)	59
4.3.3.1. Kalibrasyon yönteminin validasyonu.....	59
4.3.3.2. PLS yöntemi için ANOVA testi	61
4.3.3.3. PLS yönteminde istatistiksel analiz	61
4.3.3.3.1. Kalibrasyonun standart hatası.....	61
4.3.4. PLS ve PCR validasyon yönteminin doğal su numunesine uygulanması	64
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	66
KAYNAKLAR	68
ÖZGEÇMİŞ.....	71

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇEŞİTLİ LİGANDLARI KULLANARAK Fe³⁺, Al³⁺ VE Cu²⁺ BİR ARADA SPEKTROFOTOMETRİK TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE ELDE EDİLEN VERİLERİN EN KÜÇÜK KARELER KALİBRASYON YÖNTEMİ (PLS) VE TEMEL BİLEŞEN REGRESYON (PCR) YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Ahmet KABA

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ

Bu tez çalışmasında, kemometrik kalibrasyon yöntemleri temel bileşen analizi (PCA) temel bileşen regresyonu yöntemi (PCR), kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS)), sulardaki Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺'nin aynı anda miktar tayinlerine hiç bir ayırma işlemi kullanmaksızın başarıyla uygulanmıştır ve bu yöntemler UV Görünür Alan Spektroskopisi yöntemlerinden elde edilen veriler kemometrik olarak değerlendirilmiştir.

Bu kemometrik yöntemlerin validasyonu için, Fe³⁺ için 0,25-1,25 µg/mL derişim aralığında, Al³⁺ 0,10-0,50 µg/mL ve Cu²⁺ için 0,40-1,20 µg/mL derişim aralığında bileşikleri içeren 15 adet karışımdan oluşan kalibrasyon (derişim) seti, hidroklorik asit içerisinde hazırlandı. Kalibrasyon setinin 400- 600 nm aralığında absorpsiyon spektrumu kaydedildi. Kalibrasyon seti ve bu sete karşılık 510-560 nm aralığında elde edilen absorpsiyon verileri arasındaki ilişkidenden yararlanılarak üç kemometrik kalibrasyon oluşturuldu. PCR ve PLS yöntemlerinin validasyonu, Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺ içeren sentetik karışımların analiziyle gerçekleştirildi. PCR ve PLS yöntemlerinin Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺ karışımlarının analizine uygulamasında, PCR ve PLS için % geri kazanım sonuçları ile karşılık gelen standart sapma değerleri sırasıyla Fe³⁺ için % 135,10 / 13,60 ve %100,23 / 2,53 ; Al³⁺ için % 99,68 / 8,38 ve % 100,44 / 9,21 ve Cu²⁺ %101,52 / 14,74 ve % 101,48 / 14,77 için olarak bulundu.

Sonraki basamakta PCA, PCR ve PLS yöntemleri, çeşme sularında Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺'nin aynı anda miktar tayinlerine uygulandı.

Anahtar Kelimeler: Çeşme suyu, metal , spektrofotometre, PCA, PCR, PLS, UV, Kemometri

2015, 71 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DEVELOPMENT A SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF Fe³⁺, Al³⁺ AND Cu²⁺ USING VARIOUS LIGAND AND ASSESMENT OF THE OBTAINED DATA BY LEAST SQUARES CALIBRATION (PLS) AND PRINCIPAL COMPONENT REGRESSION (PCR) METHODS

Ahmet KABA

Süleyman Demirel University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ

In this thesis, three different chemometric calibration methods principle component analysis (PCA), partial least square (PLS) and principal component regression (PCR) were successfully applied to the simultaneous determination of Fe³⁺, Al³⁺ and Cu²⁺ in natural water preparations without using any separation step. The data of UV-Visible Spectroscopy applied to the chemometric calculations.

For the validation of this chemometric metot, a calibration set of 15 ternary mixtures containing compounds in the working range of 0,25-1,25 µg/mL for Fe³⁺, 0,10 - 0,50 µg/mL for Al³⁺ and 0,40-1,20 µg/mL for Cu²⁺ was prepared in hydro chloric acid. Calibration sets 400-600 nm range absorption spectra were recorded. Three chemometric calibrations were constructed by using the relationship between the calibration set and its corresponding absorption data obtained in the range 510-560 nm. The synthetic mixtures of three metals were used for the validity of the calibrations. Means recoveries (percent) and relative standard deviation of PCR and PLS methods were found to be 135,10 % / 13,60 and 100,23% / 2,53 for Fe³⁺; 99,68% / 8,38 and 100,44% / 9,21 for Al³⁺ and 101,52% / 14,74 and 101,48% / 14,77 for Cu²⁺ respectively.

In the next step, the PCA, PCR and PLS methods were applied to the simultaneous determination of Fe³⁺, Al³⁺ and Cu²⁺ in tap water preparations and successful results were obtained.

Keywords: Tap water, metal, spectrophotometry, PCA, PCR, PLS, UV, Chemometrics.

2015, 71 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ'a teőekkürlerimi sunarım.

3405-YL1-12 No`lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Ahmet KABA
ISPARTA, 2015

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Eriyokrom Siyanin R'nin açık formülü.....	8
Şekil 1.2. Enerji seviyeleri arasındaki fark	10
Şekil 1.3. Sürekli spektrum	11
Şekil 1.4. Absorpsiyon kanunu	11
Şekil 1.5. Elektromanyetik radyasyonun spektral alanları	14
Şekil 1.6. Bir çift ışık yollu spektrofotometrenin optik sistemi ve bileşenleri	16
Şekil 1.7. Kemometrinin ilişkili olduğu disiplinler	19
Şekil 1.8. X1 ve X2 olan iki değişken için PC1 ve PC2 olan iki esas bileşeni gösteren diyagram	21
Şekil 1.9. PLS2 kalibrasyonu	24
Şekil 4.1. Fe ³⁺ -ECR kompleksinin oluşumuna ligand miktarının etkisi	43
Şekil 4.2. Al ³⁺ -ECR kompleksinin oluşumuna ligand miktarının etkisi	43
Şekil 4.3. Cu ²⁺ -ECR kompleksinin oluşumuna ligand miktarının etkisi.....	43
Şekil 4.4. Fe ³⁺ -ECR kompleksinin oluşumuna pH'nın etkisi	44
Şekil 4.5. Al ³⁺ -ECR kompleksinin oluşumuna pH'nın etkisi	45
Şekil 4.6. Cu ²⁺ -ECR kompleksinin oluşumuna pH'nın etkisi	45
Şekil 4.7. Fe ³⁺ -ECR kompleksinin absorpsiyon spektrumları	47
Şekil 4.8. Al ³⁺ -ECR kompleksinin absorpsiyon spektrumları	47
Şekil 4.9. Cu ²⁺ -ECR kompleksinin absorpsiyon spektrumları	48
Şekil 4.10. Fe ³⁺ (0,5 µg/mL), Al ³⁺ (0,1 µg/mL) ve Cu ²⁺ (0,6 µg/mL) ile üç bileşiğe karşılık gelen karışımın absorpsiyon spektrumları.....	50
Şekil 4.11. Kemometrik verilerden elde edilen özdeğerlerin grafiği.....	52
Şekil 4.12. PCR kalibrasyon basamağında Fe ³⁺ -ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar	57
Şekil 4.13. PCR kalibrasyon basamağında Al ³⁺ -ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar	58
Şekil 4.14. PCR kalibrasyon basamağında Cu ²⁺ -ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar	58
Şekil 4.15. PLS kalibrasyon basamağında Fe ³⁺ -ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar	62
Şekil 4.16. PLS kalibrasyon basamağında Al ³⁺ -ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar	63
Şekil 4.17. PLS kalibrasyon basamağında Cu ²⁺ -ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar	63
Şekil 4.18. Doğal su numunesinin absorpsiyon spektrumu.....	64

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Varyans analizi çizelgesi	27
Çizelge 4.1. Çalışılan metal komplekslerinin spektroskopik özellikleri	46
Çizelge 4.2. Fe ³⁺ , Al ³⁺ ve Cu ²⁺ analizi için kalibrasyon seti.....	49
Çizelge 4.3. Fe ³⁺ -ECR, Al ³⁺ -ECR ve Cu ²⁺ -ECR sentetik karışımlarına PCR validasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri.....	55
Çizelge 4.4. Fe ³⁺ -ECR, Al ³⁺ -ECR ve Cu ²⁺ -ECR sentetik karışımlarına PLS validasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri.....	60
Çizelge 4.5. Doğal su numunesine PLS ve PCR validasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri.....	65
Çizelge 4.6. Dünya sağlık örgütü ve TS 266 değerleri	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ANOVA	Varyans analizi (Analysis of variance)
AO	Ortalanmış absorban
AR	Alizarin kırmızısı
BSS	% Bağlı standart sapma
CO	Ortalanmış derişim
CZE	Kapiler zone elektrot
ECR	Eriyocrom siyanin R
GC	Gas chromatography
GC-MS	Gas chromatography-Mass spectrometry
GK	% Geri Kazanım
HPLC	High-performance liquid chromatography
IR	İnfrared
IS	İç standart
LC-MS	Liquid chromatography-mass spectrometry
LLOQ	Kuantifikasyon limiti
LOD	Dedektör limiti
NMR	Nükleer manyetik rezonans spektrometre
PC	Matematiksel anlamda temel bileşenler
PCA	Temel bileşen analizi yöntemi(Principal component analysis method)
PCR	Temel bileşen regresyon yöntemi (Principal component regression)
PLS	Kısmi en küçük kareler yöntemi(Partial least squares regression)
PRESS	Prediction error sum of squares
SRM	Standart Reference Method
SS	Standart sapma
UV	Ultra viyole görünür bölge spektroskopisi
TS	Türk standartları
X	Ortalama değer
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1.GİRİŞ

Bu çalışmada şehir şebeke sularında bulunan demir alüminyum ve bakırın spektrofotometrik olarak tayini için yöntem geliştirilmesi, çok değişkenli kalibrasyon teknikleri ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın önemini üçlü karışım halinde olan sentetik numunedeki her bir bileşenin ayrı ayrı analiz edilmesine gerek olmaması oluşturmaktadır. Birden fazla etken maddenin bir arada bulunduğu bileşiklerde bu etken maddelerin aynı bölgede absorbans vermeleri sonucunda spektral girişimleri nedeniyle doğrudan kantitatif analizleri mümkün olmadığı için bir ayırma işleminin ardından ancak analizleri yapılabilir. Bu durum, uzun yıllar ürün analizlerinde UV-GB spektrofotometrilerin kullanımını kısıtlayıcı bir faktör olmuştur. Ancak günümüzde karışım analizlerinde UV-görünür alan spektrofotometrisi, kemometrik yöntemlerin kullanımıyla tekrar güncellik kazanmıştır.

Ağır metal katyonlarının tayini günlük yaşamda ve özellikle analitik kimyada önemli bir yer tutmaktadır. Çalışılan örneklerde tayin edilecek madde genellikle birden fazladır. Birden fazla ağır metalin analiz edilmesi gerekebilir. Ağır metal katyonları içeren numunelerin analizlerinde ağır metal katyonlarının cinsine ve derişimlerine bağlı olarak uygun bir analiz yönteminin seçilmesi zorunludur. Genellikle analizlenecek numunede analit, analite bozucu etki yapan bir matriks ortamında bulunur. Numunenin analiz edilmeden önce bu bozucu etki yapan türlerin ortamdaki uzaklaştırılması veya içinde olduğu ortamda maskelenmesi gerekir. Ayırma ve maskeleyiş sırasında ortamdaki bir miktar analitte uzaklaştırılabilir (Zarei, 2005).

Kimyada özellikle analitik kimyada karmaşık matikslerin analizinde hızlı, doğru, kesin ve güvenilir sonuçlara ulaşmak günümüzde çok önemlidir. Bu işlemlerle uğraşan analizciler bir gün içerisinde yaptığı deneylerden oldukça çok miktarlarda veri elde edebilirler. Bu verilerin değerlendirilmesi için istatistikçiye gerek duymaması zamandan kazanmasına yardımcı olur. Bu

sebeple bir kimyacının ölçme ve değerlendirme bilimlerinden kemometriyi biliyor ve uygulayabiliyor olması gerekir.

Bir çok ağır metal iyonu gerçek örneklerde bir arada bulunurlar. Bundan dolayı farklı örneklerdeki bu iyonların birlikte tayini için UV-Vis, x ışınları floresans, atomik floresans spektrofotometri, polarografi, kromatografi ve atomik absorpsiyon spektrometri gibi teknikler kullanılmaktadır. Bunlar arasında en yaygın olanlarından biri UV-Vis spektrofotometridir (Rodrigez, 1998). Ancak klasik spektrofotometrik teknikler kullanılarak bu iyonların birlikte tayini zordur, çünkü genellikle absorpsiyon spektrumları belli bir bölgede çakışır ve üst üste binen eğriler kalitatif değerlendirme için uygun olmamaktadır. Son zamanlarda kantitatif spektrofotometri PCA, PCR, PLS gibi çok değişkenli istatistiksel yöntemlerin kullanılmasıyla gelişmiştir (Ghasemi, 2003).

UV-Vis spektrofotometri ile çoklu metal tayini için seçici bir renklendirici reaktif olması gerekmez. Örneğin tezimizde yararlandığımız eriokrom siyanin R şelat yapıcı reaktiflerde kullanılabilir. Fakat çevresel örneklerdeki eser miktardaki ağır metallerin tayini, matriks etkileri ve yetersiz duyarlılık nedeniyle zordur. Dolayısıyla bir ön zenginleştirme ve ayırma gibi işlemlere gerek duyulabilir. Bu zor ve karmaşık kimyasal işlemlere gerek duyulmadan da PCA, PCR, PLS gibi çok değişkenli kalibrasyonları kullanarak tayinler gerçekleştirilebilir. Son zamanlarda kantitatif spektrofotometri, PCR, PLS gibi birçok çok değişkenli istatistiksel yöntemlerin kullanılmasıyla gelişmiştir (Rodrigez 1998; Ghasemi 2003; Martens ve Naes 1989).

Bunlar gibi farklı birçok kemometrik yöntem ile spektroskopik, kromatografik ve elektroanalitik gibi farklı analitik tekniklerden elde edilen sonuçlar, çok bileşenli analiz ile iyileştirilebilmektedir (Moneeb 2006).

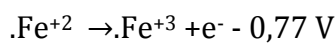
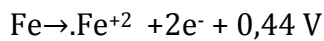
Yapılan tez çalışmasında demir, alüminyum ve bakır için yapılacak spektrofotometrik tayinler de kullanılacak ligandların ön denemelerinde alizarin kırmızısı ile eriokrom siyanin R kullanılmıştır. Suyun içerisinde demir

alüminyum ve bakırla beraber oluşturulan kompleks yapıların spektrofotometrik analizlerinde en uygun sonuçları eriyokrom siyanin R ligandı oluşturmuştur. Yapılan çalışmada klasik UV spektrofotometrik analiz yöntemi değişkenlerde tek tek kompleks yapılarında ve değişkenlerin hepsinin bir arada olduğu kompleks yapılarda uygulanmıştır. Elde edilen analiz sonuçları ile kemometrik kalibrasyon yöntemlerinden temel bileşen regresyonu yöntemi (PCR) ve kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS) ile uygulanmıştır. Bu bölümde analizi yapılacak bu metal iyonları ve uygulanan yöntemler hakkında bilgi verilecektir.

1.1. Demir

Doğada bileşikleri halinde bulunur. Manyetit, (Fe_3O_4), Hematit (Fe_2O_3), limonit $2Fe_2O_3 \cdot 3(H_2O)$, pirit (FeS_2), Siderit ($FeCO_3$), asıl mineraller diğerleri, ilmenit, Kromit, Kalkopirit, Pirit sayılabilir. Yer kabuğunda % 4,7 oranında alüminyumdan sonra en çok bulunan metaldir. Saf demir gri siyah renklidir. Dövülüp tel ve levha haline getirilebilir. Alfa, beta, gama olmak üzere üç allotropu vardır. Alfa demir, $950^{\circ}C$ da beta demire, $1400^{\circ}C$ da gama demire dönüşür. Alfa ve gama demir, iç merkezli kübik, beta demir, yüzey merkezli kübik sistemdedir (Tezcan, 2007).

Demir bir manyetik alanda veya elektrik akımına tutulursa manyetik özellik gösterir. Demir içinde karbon, nikel, kobalt gibi metaller bulunursa bu özellik artar. $775^{\circ}C$ da bu özellik kaybolur. Demir bileşiklerinde +2 ve +3 değerlik alır. +2 bileşiklerine ferro +3 bileşiklerine ferri denir. Demirin yükseltgenme potansiyelleri,



olduğundan, iyon halindeki Fe^{+2} bileşikleri, Fe^{+3} bileşiklerinden daha karalıdır. +3 değerlikli demir daha çok kompleks bileşik yapmaya yatkındır. Demir

bileşiklerinden karbonatlı, fosfatlı, sülfürlü olanları suda çözünmez, diğerleri çözünür.

İnsan vücudunda kadınlarda 2,45 g, erkeklerde 345 g demir bulunur. Bunun %60 kadarı kan hücrelerinde hemoglobin içerisinde , %10-13 kadarı kaslarda miyoklobin içerisinde ve enzimlerde, %15-30 kadarı karaciğer, dalak, kemik iliğinde depolanmış haldedir.

Gıdalarda yeteri kadar demir alınmaması, sindirim sisteminde yeterli emilim olmaması, kan kaybı gibi durumlarda demir eksikliği anemisi görülür. Gebelik, emzirme, gelişme çağlarında demire olan gereksinim artar. Üreme çağındaki bayanlarda daha çok görülür.

Bazı hastalıklarda veya ilaç halinde gereğinden fazla demir alınmasında vücutta aşırı demir birikir. Eğer demir aşırılığı tedavi edilmez ise karaciğer sirozu, şeker hastalığı, ciltte bronzlaşma, kalpte büyüme, harabetme gibi sorunlar yaratır.

Bir kişinin günde 10-15 mg demir alması gereklidir. Emilen demir kan içerisinde hücrelere taşınır. Kırmızı kan hücrelerindeki demir hücre ölene kadar içinde kalır. Hücrenin ölmesinden sonra açığa çıkan demir tekrar kan yapılmasında kullanılır. Bir kısım demir, ferritin, hemosiderin moleküllerinin yardımı ile gereğinde kullanılmak üzere depo edilir.

Bazı bitkilerde, etlerde bulunur. Demir eksikliğinin en önemli nedeni, et tüketimidir. Etteki demir en kolay emilir. Diğer kaynaklardan alınan demirin, demir iyonlarına dönüştürülmesi gerekir. C vitamini, demir emilmesini kolaylaştırır. Fosfatlar, tannatlar (çay), fitatlar demir emilimini zorlaştırır. Demirce zengin olan besin maddeleri, hayvansal gıdalar, karaciğer, dalak,

kırmızı et, organ etleri, yumurta, bitkisel gıdalar, üzüm, pekmez, kuru meyveler, yeşil sebzeler, fıstık, susam ve fındık sayılabilir.

1.2. Bakır

Bakırın, dövülebilen, tel haline çekilebilen kırmızı renkli yumuşak bir metal olup özgül ağırlığı 8,9'dur. Gümüşten sonra elektriği en iyi ileten metaldir. Havada ısıtılan bakırın yüzeyi bakır (II) oksitten CuO , müteşekkil bir tabaka ile kaplanır. Bir bakır tel veya birçok bakır bileşikleri alevi yeşile boyarlar. Hidroklorik asit ile ısıtıldıklarında bakır halojenürleri ve diğer bakır bileşikleri alevi maviye boyar.

Bakır(II) tuzları suda iyonlarına ayrışarak mavi renkli çözeltileri meydana getirirler . Bu renk, hidrate bakır (II) iyonunun $Cu(OH)_4^{2+}$ karakteristik rengidir. Bu iyonları ihtiva eden bir çözeltiliye amonyak fazlası ilave edildiğinde, koyu mavi renkli bir bakır (I) sülfür tabakası ile örtülür. Rutubetli havada bırakılan bakır metalinin rengi matlaşır ve yüzeyi yeşil renkli bazik karbonattan, $Cu_2(OH)_2CO_3$, müteşekkil bir koruyucu tabaka ile kaplanır (Özdemir, 1981).

Havadaki sülfür dioksit'de bakır metali ile birleşerek formülü, $Cu_4(OH)_6SO_4$ olan bazik bakır sülfatı meydana getirir. Bazı binaların çatılarında rastlanan yeşil renk bu bileşiğin meydana gelmesindedir. Birçok bakır (I) ve bakır (II) bileşikleri mevcuttur . Fakat bakır (II) bileşikleri bakır (I) bileşiklerinden daha çoktur. Bakır (II) oksit, redresörlerde alternatif akımı doğru akıma çevirmede kullanılır. Bakır (II) oksit aynı zamanda kimya laboratuvarlarında oksitleyici olarak kullanılır.

Göztaşı (bakır vitrolü) olarak adlandırılan mavi renkli hidrate bakır (II) sülfat $CuSO_4.5H_2O$, bakırın en önemli bileşiklerinden biridir. Hidrate bakır (II) sülfat , bakır kaplamacılığında, diğer bakırlı bileşiklerin yapımında bağ hastalıklarında

çok kullanılan maddedir . Hidrate bakır (II) sülfat , kuru ortamda veya ısıtıldığında, hidrate suyunu kaybederek beyaz toz halinde bakır (II) sülfata döner, su aldığıda tekrar mavi renkli hidratı haline gelir.

İnsan vücudunda yaklaşık olarak bakır 100-150 g kadar bulunur. Bunun %10'u karaciğer ve beyinde, geri kalanı ise kandadır. Bakır, kanda plazmaya ve alyuvarlara dağılır. Kanda, demir ile beraber, hemoglobini meydana getirir. Bakır ayrıca birçok enzimin fonksiyonunu ve kalp çalışmasını düzenler. Vücuda bakır yüklemesi yapıldığı taktirde, kırık kemiklerin kaynaması hızlandırılır. Vücudun günlük bakır ihtiyacı 1,5-3 mg arasında değişir. Bakır vücut tarafından zor emilen bir maddedir. Besinlerdeki bakırın ancak %5 vücut tarafından alınır. Karaciğer, fındık, kuru üzüm, istiridye, midye ve mürekkep balığı bakırca zengindir. Bakır eksikliği kansızlık ve kemik yapısında bozukluklarla kendini gösterir.

Bakır vücut gelişmesi üzerinde kötü etkisinin de olduğu savunulmaktadır. Aynı zamanda yapılan araştırmalar, bakırın, vücuttaki beta-amiloid proteinin atılmasını engelleyerek Alzheimer riskini artırdığını göstermiştir. Fakat ne kadar bakırın bu riski artırdığı konusunda kesin bir bilgi elimizde bulunmamaktadır.

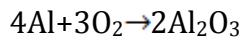
Bakır metabolizmasında oluşan bozukluklarda, saçlardaki bakır , miktarı düşerken, karaciğer ve beyinde bakır birikir. Bakır eksikliği demir eksikliği gibidir. Halsizlik, solukluk, ödem oluşur. Vücuda fazla çinko alınmasında bakır eksikliğine yol açar. Büyüme yavaşlar, saç dökülür, iştahsızlık, cilt sorunları oluşur. Alyuvar azalacağından, dokularda oksijenleme bozuklukları ortaya çıkar. Dolayısıyla dokular kendi kendini tedavi edemez. Troid hormonları azalır, kolesterol artışı ile kalpte çarpıntılar ortaya çıkar. Kemik yapısı etkilenir, sinirlerde iletiler azalır. Kan hücreleri etkilendiğinden vücudun savunması azalır, hastalıklar daha uzun ve ağır seyreder. Bakır fazlalığı, bakır eksikliğine göre daha fazla görülür. Bakır vücutta fazla birikmesi ruhsal sorunlar, hafıza

noksanlığı, iştahsızlık, şizofreni, Eklem, adale ağrıları, kekemeli , çocuklarda hiper aktivite, Hafif düzeyde fazlalık, hastalık hastası kişiler olarak görülür. Bakır fazlalığı, depolanmış suların kullanılması, bakır kaplarda yemek pişirilmesi sonucunda kolayca oluşur. Besin maddelerinden tahıllar, kuru yemişler, yapraklı sebzeler, kabuklu deniz ürünleri, karaciğer bakır kaynaklarıdır.

1.3. Alüminyum

Alüminyum diğer metallere nazaran yeryüzü kabuğunda silisyum ve oksijenden sonra en çok bulunan bir metaldir. Alüminyum volkanik kayaların %8,13'ünü teşkil eder. Oksijene karşı olan büyük ilgisi, bu elementin serbest halde doğada bulunmasına mani teşkil eder. Alüminyum cevherleri arasında en fazla bulunanı, alumino-silikatlar'dır. Bu silikatlar arasında ortoklas $KAISi_3O_8$, muskovit (mika) $KH_2Al_3(SiO_4)_2.H_2O$ cevherleri en önemlileridir. Yine bu arada, alüminyum bileşiklerinden diaspor $Al_2O_3.H_2O$, Alumin Al_2O_3 ve kriyolit Na_3AlF_6 gibi mineraller doğada bol miktarda bulunurlar.

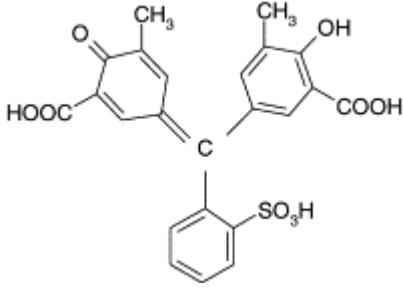
Cıva ile amalgam oluşturan alüminyum, cıvanın alüminyum üzerinde böyle bir koruyucu oksit tabakasının teşekkülüne mani olması sebebiyle alüminyum amalgamı rutubetli havada çok çabuk korozyona uğradığı gibi suda da hidrojen gazı vererek çözünür. Yüksek sıcaklıkta ısıtılan alüminyum çabuk oksidasyona uğrar. İnce toz haline getirilmiş alüminyum metali ısıtıldığında parlak bir alev vererek yanar. Böyle bir reaksiyon ekzotermiktir.



Toz halindeki alüminyum yüksek sıcaklıklarda aynı zamanda birçok metal oksitleri ile reaksiyona girerek serbest metallerin elde olmalarını sağlar.

1.4. Eriyokrom siyanin R (ECR)

Eriyokrom Siyanin R, bir çok ağır metal iyonunun tayininde kullanılan ve çok tercih edilen bir indikatördür. Bunlara örnek olarak en fazla, sentetik karışımlarda, alaşımlarda, bitki örneklerinde, hemodiyaliz çözeltilerinde, doğal içme, yer altı, nehir ve musluk sularında bulunan alüminyum ve demirin tayininde kullanılmıştır. Absorbansı arttırmak amacıyla çözeltilere farklı yüzey aktif maddelerde katılabilir. Şekil 1.1'de eriyokrom siyanin R'nin kimyasal yapısı verilmiştir. Molekül formülü $C_{23}H_{15}Na_3O_9S$ olan eriyokrom siyanin R'nin IUPAC adlandırması ise 5-((3-carboxy-5-methyl-4-oxo-2,5-cyclohexadien-1-ylidene)(2-sulfophenyl)methyl)-2-hydroxy-3-methyl benzoic acid, trisodium salt şeklindedir. Mor renkli toz halinde olan maddenin molekül ağırlığı ise 536,39 g/mol dır (Tataroğlu, 2007).



Şekil 1.1. Eriyokrom Siyanin R' nin açık formülü

1.5. Kullanılan Yöntem

1.5.1. Spektrofotometri

Spektrofotometrik yöntemler madde ile ışığın etkileşmesine dayanmaktadır. Işık ile madde arasındaki etkileşmeden yararlanılarak gerçekleştirilen analiz

yöntemleri, az analiz materyali gerektirmesi, seçiciliği ve doğruluk derecesinin yüksek oluşu nedeniyle analitik amaçlar için sıkça kullanılmaktadır.

Bu yöntemlerden biri olan spektrofotometri, ışık enerjisinin absorpsiyonuna dayalı bir yöntemdir. Işık ise elektromanyetik bir radyasyondur ve frekansı (ν) veya dalga boyu (λ) ile karakterize edilir. Enerji ise:

$$E = h.\nu \text{ (1) veya } E = h.c/\lambda \quad (1.1)$$

formülleriyle ifade edilir (h (plank sabiti) = 6.63×10^{-27} erg.s ve $c = 3 \times 10^{10}$ cm/s).

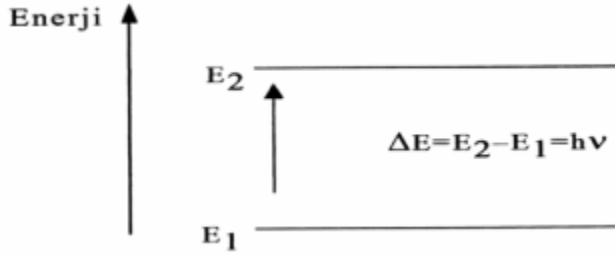
Bu eşitliklere göre ışığın dalga boyu büyüdükçe enerjisinin azalmasına karşılık dalga boyu küçüldükçe enerjisi artar.

Işık; atom ve moleküller tarafından absorbe edilebilir. UV ve görünür alandaki ışığın absorpsiyonu molekülü oluşturan atomların bağ elektronları ile ilgilidir. Absorbe edilen enerji kuantlıdır ve elektronların düşük enerjili orbitallerden (temel hal) daha yüksek enerjili orbitallere (uyarılmış hal) geçmesine neden olur. Ama her enerji absorbe edilemez; ancak iki enerji seviyesi arasındaki farka eşit bir enerji absorbe edilebilir.

UV ve görünür alandaki ışığın absorpsiyonu aynı zamanda bir molekülün titreşim ve dönme enerji seviyelerinde de değişikliğe neden olur; çünkü bir molekülün toplam enerjisi:

$$E_{\text{toplam}} = E_{\text{elektronik}} + E_{\text{titreşim}} + E_{\text{dönme}} + E_{\text{ötelenme}} \quad (1.2)$$

dir ve her bir elektronik enerji seviyesi çok sayıda titreşim ve dönme enerji seviyesinden meydana gelmiştir (Şekil 1.2).

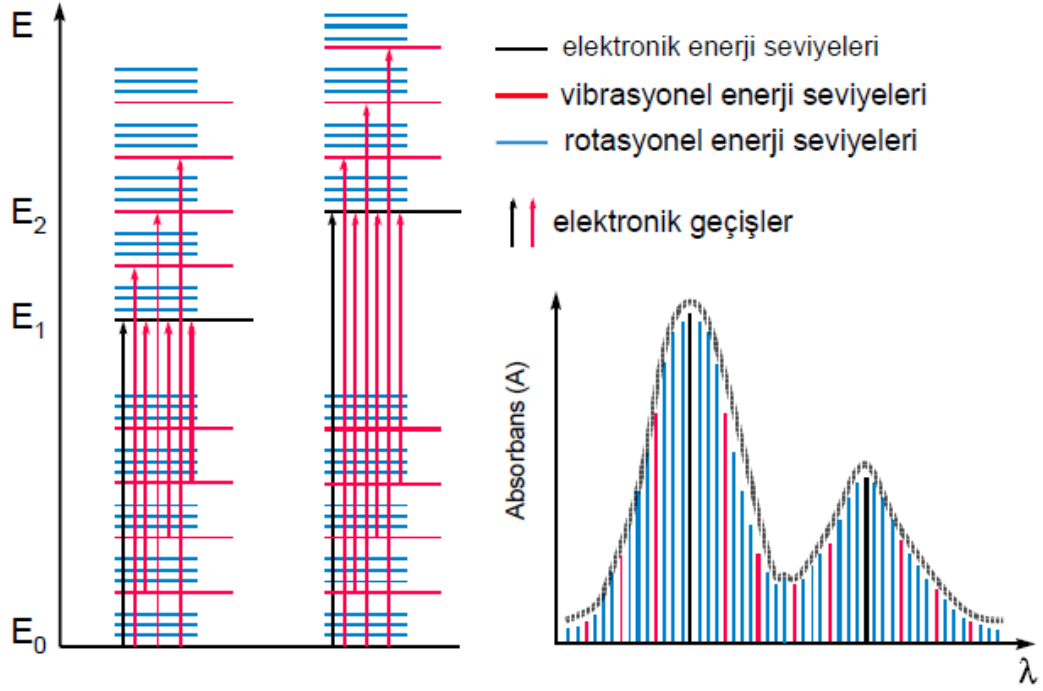


Şekil 1.2. Enerji seviyeleri arasındaki fark

Elektronik enerji diğer enerjilerden büyüktür. Bu nedenle elektronik uyarılma sırasında titreşim ve dönme enerji seviyelerinde de değişme olur. Titreşim ve dönme enerjiler moleküldeki atomların titreşmesi ve molekülün dönmesi ile ilgilidir. Ötelenme enerjisi molekülün bütününe ötelenme hareketi ile ilgilidir ve en düşük enerjili harekettir.

Hangi spektrum bölgesinde olursa olsun belli bir dalga boyundaki ışığın absorpsiyonu enerjisi absorbe etme kapasitesine sahip bir yapının varlığının göstergesidir. Bu en kolay, dalga boyunun düzenli olarak değiştirilerek bir maddenin üzerine düşürülmesinden sonra, ışığın geçmeden önce ve geçtikten sonraki şiddetinin ölçülmesi ile belirlenir. Absorpsiyonun olduğu veya ışığın geçtiği dalga boyları kaydedilir. Absorpsiyon miktarının dalga boyunun bir fonksiyonu olarak kaydedilmesi sonucunda "absorpsiyon spektrumu" elde edilir. Atomların elektronik uyarılmaları sonucunda her bir yüksek enerjili atomik orbitale geçişe karşılık fotoğraf plağında bir çizgi gözlenir. Bir atomda da birden çok fazla sayıda atomik orbital olduğu için bu tür uyarılma için çok sayıda çizgiden meydana gelen "çizgi spektrumu" görülür (atomik absorpsiyon spektrofotometresi).

Moleküllerde ise birden fazla sayıda atom içermeleri nedeni ile absorpsiyon sonucunda atomlar için gözlenen çizgilerin bir araya gelmesi söz konusudur ve bunun sonucunda “sürekli spektrum” meydana gelir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Sürekli spektrum (moleküldeki elektronik geçişler ve UV-görünür spektrum)

Işık absorpsiyonu spektrofotometrelerde ölçülür. Bu ölçüm atom, iyon veya molekül üzerine gönderilen ışığın şiddeti (I_0) ile geçen ışığın şiddeti (I) arasındaki farkın ölçümü şeklindedir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Absorpsiyon kanunu

Işığın absorpsiyonunun üzerine düştüğü atom, iyon veya molekülün derişimi ile orantılı olarak ilk kez Lambert ve Beer tarafından ortaya konulmuştur. Beer'e göre aynı derinlikte bir çözeltilen geçen ve çözeltili tarafından absorblanan monokromatik bir ışın demetinin şiddeti çözeltilenin derişimiyle logaritmik, üstel veya geometrik olarak azalır. Bu gerçek:

$$I = I_0 \cdot 10^{-aC} \quad (1.3)$$

şeklinde verilir. I_0 gelen ışının şiddeti, I çözeltiliyi terk eden ışının şiddeti, a çözeltilenin türüne ve monokromatik ışının dalga boyuna bağlı bir sabit, C ise çözeltilenin derişimidir.

Lambert'e göre, bir çözeltilen geçen monokromatik bir ışın demetinin şiddeti, çözeltili içinde aldığı yolla logaritmik, üstel veya geometrik olarak azalır. Bu gerçek logaritmik olarak;

$$I = I_0 \cdot 10^{-al} \quad (1.4)$$

şeklinde gösterilir. (l = çözeltilenin derinliği)

Yukarıda açıklanan iki kanun birleştirilerek,

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon.l.C} \quad (1.5)$$

denklemini elde edilir. Burada:

I = Numuneyi terk eden ışığın şiddeti,

I_0 = Numune üzerine gönderilen ışığın şiddeti,

ϵ = Molar absorpsiyon katsayısı,

C = Absorpsiyon yapanın derişimi,

l = Işığın numune içerisinde aldığı yol (cm)'dur.

Eşitliğin eksi logaritması alınırsa,

$$\log I_0 / I = E.l.C \quad (1.6)$$

olur. Log I_0 / I ye absorbans denir ve A ile gösterilir. E ise absorbtivite katsayısı olup, bu katsayı seçilen dalga boyuna göre değişir.

$$A = \log I_0 / I = E.l.C \quad (1.7)$$

Bu eşitlik kısaca,

$$A = E.l.C \quad (1.8)$$

şeklinde verilir ve bu eşitlikten derişim (C) hesaplanabilir. Bu bağıntıda A değeri C'ye karşı grafiğe geçirilirse eğimi E.l olan bir doğru elde edilir, ancak her zaman muntazam bir doğru elde edilemez. Böyle sapmaların (hataların) çeşitli nedenleri olabilir. Bunlar başlıca:

Beer Kanunundan Sapmalar

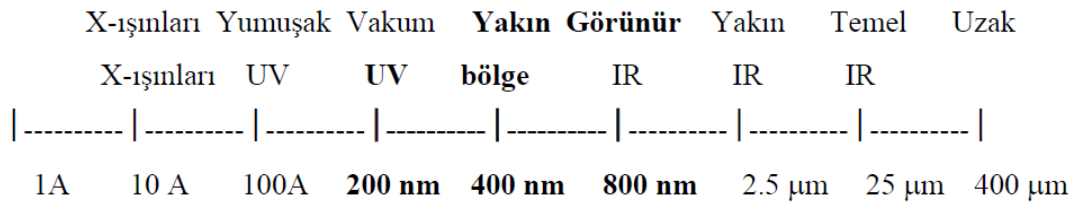
i) Cihazdan kaynaklanan sapmalar: Cihazdaki hatalar şunlar olabilir: Cihaza gelen potansiyelin düzgün olmaması, ışın kaynağının iyi çalışmaması, dedektör sisteminin iyi çalışmaması, kaçak ışınların olması, monokromatörün (dalga boyu seçicisi) hatalı olması, slit ayarının iyi ayarlanmaması vb.

ii) Kimyasal maddelerden kaynaklanan sapmalar: Ölçüm yapılan çözeltilerde meydana gelen iyonlara ayrışma, birleşme, kompleks oluşumu, fosforesans ve floresans olayları, çözeltinin pH'sı ve ortam ısı gibi olaylar nedeniyle sapmalar gözlenir.

iii) Analizci hatasından ileri gelen sapmalar: Analizcinin dikkatsizliği ve bilgisizliğinden ileri gelen uygun olmayan çözücülerle çalışmak, yüksek absorblama derişimlerinde çalışmak, çözelti içinde kabarcıklar ve asılı parçacıkların bulunması, çözeltinin ölçüldüğü kabın kirli ve çizik olması gibi sebeplerden ötürü sapmalar olabilir.

1.5.2. UV ve görünür alan spektrofotometrisi

Görünür ışık toplam elektromanyetik radyasyonun çok düşük bir bölümüdür (400–800 nm) ve insan gözü tarafından renk olarak görülür. 400 nm olan alt ucunda mor renk vardır ve gökkuşağı renklerini takip ederek 800 nm olan üst sınıra geldiğinde kırmızı renk görülür. Görünür ışığın altındaki bölgeye (100–400 nm) "UV" bölgesi, üstündeki bölgeye ise (800 nm–25 μ) "İnfrared" bölgesi adı verilir (Şekil 1.5.).



Şekil 1.5. Elektromanyetik radyasyonun spektral alanları

Moleküllerin elektromanyetik dalgalarla, özellikle ultraviyole, görünür alan ve enfraruj ışınları ile uyarılması sonucu meydana gelen absorpsiyondan, molekül hakkında kalitatif ve kantitatif bilgi edinmek mümkündür (Absorpsiyon spektroskopisi). UV ve görünür alandaki ışık kullanıldığında bileşiklerdeki atomların dış elektronları, cinslerine ve konumlarına göre bu ışığın belli dalga boylarını absorbe ederler ki bu özellik dış elektronların uyarılmasına dayandığından bu yöntem, görünür ve ultraviyole alan spektroskopisi veya elektron spektroskopisi adını alır. Bu yöntemden maddelerin yapı aydınlatmalarında ve kantitatif tayinlerinde yararlanır. UV ve görünür alan soğurma teknikleri, maddelerin yaklaşık 190-900 nm dalga boyları aralığında ışık soğurması ölçümlerine dayanan analitik yöntemleri kapsar.

UV-Görünür alan absorpsiyon spektroskopisi, kantitatif amaçlarla en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Hem organik hem de inorganik maddelerin tayininde kullanılabilmesi, son zamanlardaki gelişmelerle 10^{-6} - 10^{-7} M civarına kadar duyarlı olması bu yöntemi çekici hale getirmektedir. Yine bu yöntemle iyi bir kesinlik ve doğruluk sağlamak mümkündür. Zira yöntemin bağıl doğruluktan sapmasının % 1-3 arasında olduğu, bazı tedbirler alınarak bu belirsizliğin çok daha aşağı düşürülebildiği belirtilmiştir. Bunlardan başka yöntemin kolay veri elde etmede fark edilir bir üstünlüğünün olduğunu belirtmek gerekir (Kaya, 2007; Holler, 1999; Gündüz, 2002).

Bir spektrofotometre şu kısımlardan meydana gelmiştir (Şekil 1.6.):

- 1- Işık kaynağı
- 2- Monokromatör
 - a) Işık giriş aralığı
 - b) Prizma
 - c) Işık çıkış aralığı

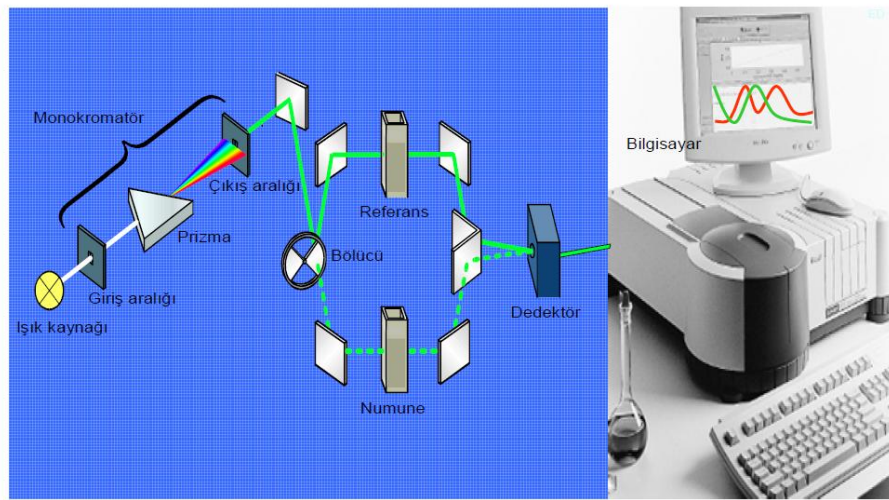
3- Yansıtıcı ayna ve bölücü

4- Aynalar

5- Numune ve referans kapları

6- Dedektör

7- Sisteme bağlı bilgisayar ve spektrofotometrik program



Şekil 1.6. Bir çift ışık yollu (double beam) spektrofotometrenin optik sistemi ve bileşenleri

1.5.3. UV ve görünür bölge moleküler absorpsiyon spektroskopisinin uygulamaları

Bu yöntemin başlıca uygulama alanları şunlardır.

1. Nitel Analiz: Analizi yapılacak olan bilinmeyen madde saflaştırıldıktan sonra uygun bir çözücüde çözülerek spektrumu alınır. Bu spektrum bilinen bileşiklerin aynı koşullarda çekilmiş spektrumları ile karşılaştırılır. Bilinmeyen madde spektrumu kendisinininkine tam olarak uygun maddedir. Bu yöntem nitel analiz için çok uygun bir yöntem değildir. Çünkü moleküllerin absorpsiyon bantları oldukça geniştir ve bazı kromoforların absorpsiyon bantları birbiri ile

örtüşebilir. Ayrıca moleküllerin UV ve görünür bölge absorpsiyon spektrumlarında çok az sayıda bant bulunur. Bu az sayıda bandın birbiri ile karşılaştırılarak karar verilmesi bazen hatalı sonuçlara yol açabilir.

2. Nicel Analiz: Işının absorplamasına dayanan analiz yöntemleri nicel analiz için oldukça yararlı ve güçlü yöntemlerdir. Bu yöntemlerin klasik yöntemlere göre önemli avantajları vardır.

- a) Analiz süresi kısadır. Sonuç çabuk alınır.
- b) Doğruluk derecesi yüksektir. Çoğunlukla analizlerdeki hata binde bir veya iki civarındadır.
- c) Oldukça duyarlı bir yöntemdir. 10^{-8} M a kadar seyreltik çözeltilerin bile analizleri yapılabilir.
- d) Her maddenin kendine özgü bir absorpsiyon spektrumu olduğu için seçiciliği yüksektir. Çoğunlukla bir karışımdaki maddeler bir ön ayırma işlemine gerek kalmaksızın analizleri yapılabilir.
- e) Hem organik hem de anorganik pek çok molekül UV ve görünür bölge ışınları absorpladığından uygulama alanı geniştir (Şener, 2006).

1.6 Kemometrik Yöntemler

Kimyada ya da analitik kimyada verilerin işlenmesi ve istatistiksel değerlendirilmesi ile bu verilerin sağlandığı deney faktörlerinin araştırılması, optimize edilmesi, zaman tasarrufunun sağlanması ve kantitatif ölçümler için kalibrasyonların gerçekleştirilmesi için gerekli olan deneysel tasarımların hazırlanması kimyanın belki de en çok hesaplama ve modelleme çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu alanlarıdır. Temel kimya ve fizik bilgileri ile birlikte mühendislik ve hesaplama tekniklerine, matematik ve istatistik konularına dayanan kimyada verilerin işlendiği ve değerlendirildiği alan kemometri olarak bilinmektedir (Kitiş, 2011).

Günümüzde bilgisayar, yazılım, istatistik ve uygulamalı matematik alanlarındaki gelişmeler, kimya alanında, özellikle de analitik kimyada karmaşık sistemlerin

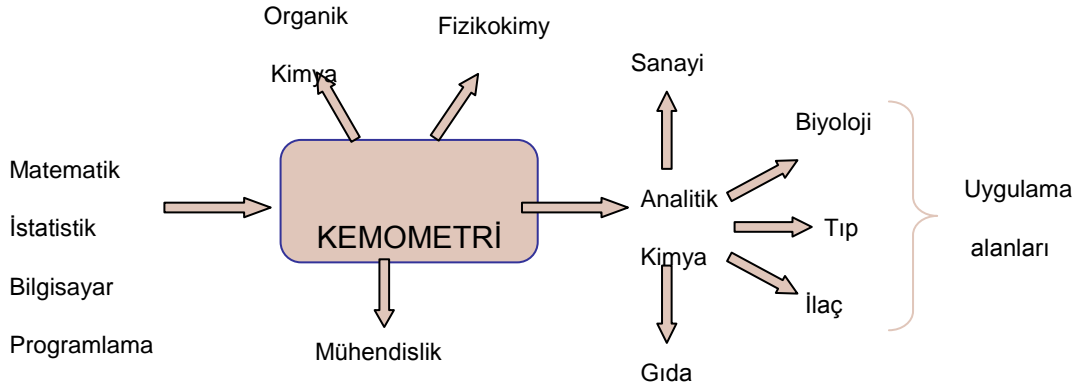
çözümü için kemometri adı verilen yeni bir disiplinin doğuşuna neden olmuştur. Bu gelişmeler, analitik kimya ve komşu dallardaki araştırmacılara, analitik problemlerin çözümünde yeni olanaklar sağlayan çok boyutlu ve çok değişkenli parametrelerin kullanıldığı kemometrik yöntemlerle yeni çalışma alanları doğurmuştur. Kemometri, istatistik ve matematik ile birlikte bilgisayar kullanarak kimyasal verilerin işlenmesini kapsayan bir kimya disiplindir. Kemometri, kimyasal analizlerde, kimyasal verilerden gerçek bilginin ekstraksiyonunu veya saklı bilgilerin açığa çıkarılmasına olanak tanıyan güçlü bir araçtır. Kemometrinin temel uygulama alanlarından biri de analitik kimyadır.

Kemometri kavramı, 1972 yılında İsveçli Svante Wold ve Amerikalı Bruce R. Kowalski tarafından ileri sürülmüştür ve 1974 yılında uluslararası kemometri derneği tarafından bu disiplinin ilk resmi açıklaması yapılmıştır. Kemometri içerik olarak, tanımlayıcı ve açıklayıcı istatistik (descriptive and inference statics), sinyal işleme (signal processing), deneysel tasarım (experimental design), modelleme (modeling), kalibrasyon (calibration), optimizasyon (optimization), yapı tanıma (pattern recognition), sınıflandırma (classification), yapay akıl yöntemleri (artificial intelligence methods), resim işleme (image processing), bilgi ve sistem kuramı (information and system theory) gibi kavram ve uygulamaları kemometrinin konularını oluşturmaktadır.

Günümüzde kemometrik yöntemlerin gelişmesiyle birden fazla etken madde içeren ürünlerin kantitatif analizi hiçbir kimyasal ön ayırma işlemi ve hiçbir grafik işlemi gerektirmeksizin hızlı, doğru ve hassas olarak gerçekleştirilmektedir. Bu durum kemometriye diğer yöntemlere göre büyük bir avantaj kazandırmıştır ve kemometrinin kullanım alanının geniş bir alana yayılmasını sağlamıştır.

Kemometri; analitik kimya, adli tıp, biyoloji, gıda kimyası, çevre kimyası, arkeoloji gibi alanlarda kullanılmaktadır. Fizikokimyacılar ve madde bilimciler,

sinyal işleme ve çok değişkenli verilerin analizinde kemometrik yöntemleri uyguladıkları görülmektedir. Organik kimyacılar ve farmasotik kimyacılar, reaksiyon koşullarının optimizasyonunda deneysel tasarım ve ilaç tasarımında yapı etki ilişkisi çalışmalarında kemometrinin araçlarını kullanmaktadırlar (Vandeginste vd., 1998).



Şekil 1.7. Kemometrinin ilişkili olduğu disiplinler.

Şekil 1.7 de görüldüğü gibi kemometrik çalışmalarda, analitik kimyacıların ve diğer ilgili disiplinlerin ihtiyaçları ölçüsünde uygulamalı matematik ve istatistik bilgisine sahip olmaları gerektiği açıktır. Burada programlama ve hesaplama çok önemlidir. Kemometrik uygulamaların çoğu kompleks hesaplamalar içermektedir. Bu hesaplamaları elle veya basit hesap makineleriyle gerçekleştirmek mümkün olmadığı için bilgisayar programlarına ihtiyaç vardır. Kemometrik hesaplamalarda genellikle EXCEL, MATLAB, PANORAMA, MİNİTAB, XLSTAT, SOLO ve diğer paket programlar kullanılmaktadır (Dinç, 2009).

İki veya daha fazla aktif bileşiği içeren karışımlarda bu aktif bileşiklerin hiçbir ayırma işlemi kullanmaksızın analizi analitik kimyanın ve diğer komşu dalların temel problemlerinden birisidir. Karışım halindeki numunelerin analizi için çeşitli kromatografik ve spektrofotometrik yöntemlerin yaygın olarak kullanıldığı çalışmalarda da görülmektedir. Bazı durumlarda bahsedilen bu yöntemlerin de iyi sonuçlar vermediği de bir gerçektir. Sayılan bu nedenlerden dolayı daha düşük miktarlarda numunelerin analizi için gelişmiş analitik

cihazlar geliştirilmesine rağmen klasik analitik cihazlardan elde edilen verilerin çeşitli matematiksel algoritmalara tabi tutularak yöntemlerin hassasiyeti ve sonuçların doğruluğu artırılmaya çalışılmaktadır.

1.6.1. Çok Değişkenli Kalibrasyon Algoritmaları

1.6.1.1. Temel Bileşen Analizi Yöntemi (Principal Component Analysis (PCA) Method)

Çok bileşenli verilerle ilgili en önemli sorunlardan biri, orijinal verilerin tamamının desen ve ilişkilerinin görülmesini engellemesidir. Çok değişkenli analiz yöntemlerinin birçoğunun temel hedefi verilerin boyutunu küçültmektir. Temel bileşen analizi daha çok bileşenler arasında korelasyonun olmadığı durumlarda verilerin miktarını azaltmak için kullanılan bir tekniktir.

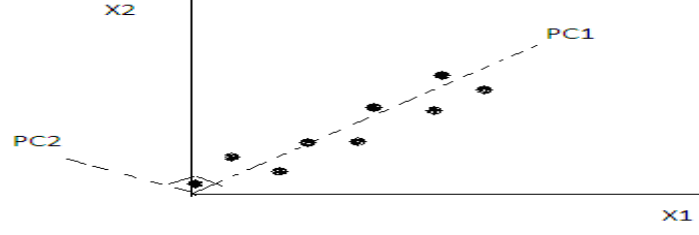
Temel bileşen analizinin dayandığı ana fikir, her bir numuneyi tanımlayan orijinal değişkenlerin, X_1, X_2, \dots, X_n , doğrusal kombinasyonu olan $PC1, PC2, \dots, PCn$ şeklindeki temel bileşenleri bulmaktır.

$$PC1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + \dots + a_{1n}X_n \quad (1.9a)$$

$$PC2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + \dots + a_{2n}X_n \quad (1.9b)$$

vb.

Esas bileşenler genellikle ortak varyans (kovaryans) matrisinden elde edilir. Ortak varyans, iki değişkenin birleşik varyansının bir ölçüsüdür. Matematiksel anlamda temel bileşenler (PC), ortak varyans matrisinin eigenvektör (özvektör) leridir ve bu vektörlerin bulunmasında kullanılan tekniğe eigen analizi adı verilir. Her bir esas bileşene (yani, eigen vektörüne) karşılık gelen eigen değeri, o esas bileşenle tanımlanan veri takımının varyansının miktarını gösterir. Esas bileşenler birbirine dik açı oluşturur (Şekil 1.8). Bu özellik diksellik olarak adlandırılır (Uyanık, 2008).



Şekil 1.8. X1 ve X2 olan iki değişken için PC1 ve PC2 olan iki esas bileşeni gösteren diyagram (Uyanık, 2008).

1.6.1.2. Temel Bileşen Regresyon Yöntemi (Principal Component Regression (PCR) Method)

Kemometrik kalibrasyon yöntemlerinden birisi olan temel bileşen regresyon yöntemi, derişim seti için ölçülen absorbans verilerinin dekompozisyonu ile birbirine dik (ortogonal) doğrular elde edilmesi esasına dayanır. Bu elde edilen doğrular kurulacak kalibrasyonun koordinat sistemidir.

Burada açıklanan PCR algoritması Martens ve Naes (1984) tarafından verilen şemaya göre açıklanmaktadır. PCR kalibrasyonu kurulmasındaki basamaklar aşağıdaki biçimdedir:

Analiz edilecek maddenin derişim ve absorbans verilerinin varyans-kovaryansı bulunur. Varyans-kovaryans saçılma matriksinin öz vektörleri ve öz değerleri hesaplanır. Seçilen öz değere (eigenvalue) karşılık gelen öz vektör (eigen vector) kalibrasyonun lineer bileşenidir.

PCR algoritmasında genel lineer regresyon denklemi aşağıdaki biçimde yazılabilir:

$$C = a + b \cdot A \quad (1.10)$$

Burada C analiz edilecek maddenin derişimidir, a sabit sayı, b ise temel bileşenlerin ve C- loading matriksinin (q) çarpımından elde edilir:

$$b = P \cdot q \quad (1.11)$$

Burada P öz vektörlerin matriksidir. Öz vektörler kolon matriksi en uygun öz değere (faktöre) ya da öz değerlere (faktörlere) karşılık gelmektedir. Burada q vektörü C-loading olarak adlandırılır ve T (sayı matriksi) üzerinden C' nin regresyonu ile tayin edilir.

$$q = D \cdot T^T \cdot Y_0 \quad (1.12)$$

Burada D diagonal matriks olup her bir öz değer tersine eşittir. t_1 sayı matriksi aşağıdaki eşitlikten elde edilebilir:

$$t_1 = A_0 \cdot P_1 \quad (1.13)$$

Ortalanmış absorpsiyon ve derişim, A_0 ve C_0 ile gösterilebilir. Burada a sabiti genel lineer regresyon denklemi kullanılarak aşağıdaki eşitlikten hesaplanabilir:

$$a = C_0 - A^T_0 \cdot b \quad (1.14)$$

Her bir aşamada elde edilen değerler denklemde yerine konarak numunede bilinmeyen derişimi hesaplanabilir.

Yönteminin avantajları:

- i) Dalga boyu seçimi gerektirmez, genellikle bütün spektral alan ya da bu spektral alanın geniş bir bölgesi kullanılabilir.
- ii) Çok bileşen analiz için kullanılabilir.
- iii) PCR data işlemleri için ve kalibrasyondaki katsayılarının hesaplanmasında ILS regresyon işleminin kullanılmasına olanak tanır.
- iv) Analiz edilecek bileşenlerin bilinmesi şartıyla çok kompleks karışımlar için kullanılabilir.
- v) Bazen orijinal kalibrasyonkarışımlarında bulunan fakat numunede bulunmayan bileşenli numunelerin miktar tayininde kullanılabilir.
- vi) Kalibrasyon için ölçülen absorpsiyonların dekompozisyon işleminde sonra uygun öz vektörlere karşılık seçilen öz değerlerin deneysel ortamdan ve ölçüm aletlerinden gelen gürültünün eliminasyonuna olanak tanır.

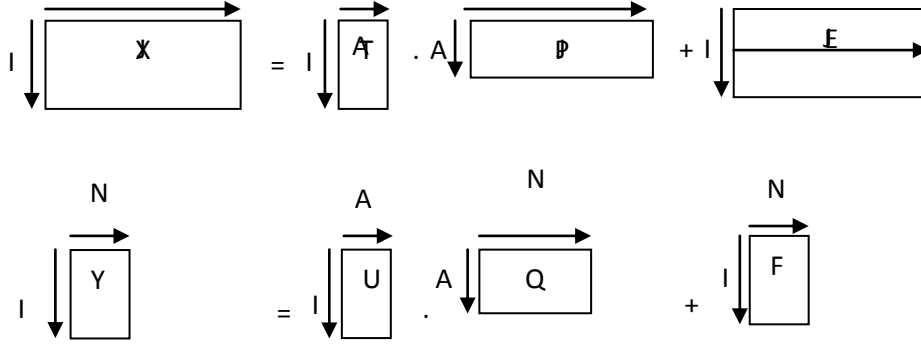
Yönteminin dezavantajları:

- i) Hesaplamalar klasik yöntemlere göre daha yavaştır.
- ii) Yöntemin optimizasyonu temel kalibrasyon komponentlerinin bazılarının bilinmesini gerektirir (anlaşılması ve yorumlanması çok kompleks modeller için).
- iii) Kalibrasyon için temel alınan vektörler analiz edilecek bileşenlere karşılık gelmeyebilir.
- iv) Genellikle çok sayıda kalibrasyon numunesinin kullanılması doğru bir kalibrasyon için gereklidir.
- v) Kalibrasyon numunelerinin hazırlanması bileşenlerin derişimleri ile doğrusallıktan uzaklaşmaları nedeniyle zordur (Dinç, 2007).

1.6.1.3. Kısmi En Küçük Kareler Yöntemi (Partial Least Squares Regression (PLS) Method)

Kemometrik kalibrasyonlardan en yaygın ve popüler olanı PLS yöntemidir. PLS yönteminde kalibrasyonun kurulması için kullanılan PLS algoritmalarına göre, ortogonalize edilmiş PLS algoritması (orthogonalized PLS algorithm) ve ortogonalize olmayan PLS algoritması (non-ortogonalized PLS algorithm) gibi ekilleri vardır. Ortogonalize PLS ve ortogonalize olmayan PLS kalibrasyonunun PLS1 ve PLS2 şeklinde iki tipi söz konusudur. PLS1 de bir bileşik model içerisinde iken; PLS2 de bütün bileşikler modele dahil edilmektedir.

Wold ve Martens tarafından verilen PLS algoritması en genel olanlarıdır. PLS kalibrasyonu, sayı vektörleri vasıtasıyla X- ve Y- blokları arasındaki ilişkiye dayanır. PLS algoritmasına göre sıfır etrafında merkezleştirilmiş X- değişkeninin matrisi ve sıfır etrafında merkezleştirilmiş Y- değişkeninin parçalanması aşağıdaki biçimde verilir.



Şekil 1.9. PLS2 kalibrasyonu.

$$X = T.P^T + E \quad (1.15a)$$

$$Y = U.Q^T + F \quad (1.15b)$$

$$Y = X.B + F \quad (1.15c)$$

$$B = W (P^T.W)^{-1} . Q^T \quad (1.15d)$$

Burada X= bağımlı değişken absorbands verileri), Y= bağımsız değişken (örneğin derişim), T= X için sayı matrisi, U= Y için sayı matrisi, P= X için yük matrisi, Q= Y için yük matrisi, E= X-kalıntı matrisi, F= Y-kalıntı matrisi, W=max (kovaryans (E,F)).

PCR algoritmasında olduğu gibi bu katsayılar (B) linear regresyon denkleminde yerine konursa analiz edilecek numunenin absorbands değerleri bu eşitlikte yerine yazılarak hesaplanabilir.

Yöntemin avantajları

- i) PLS kalibrasyon işlemi CLS ve ILS hesap tekniklerini kapsamaktadır.
- ii) Tek aşamalı bir dekompozisyon ve regresyon işlemi gerektirir, kalibrasyonda kullanılan öz vektörler analiz edilen bileşenler ile en geniş ortak spektral değişimin olduğu bölgede doğrudan ilişkilidir.
- iii) Kalibrasyonlar genellikle kalibrasyon setinin bilinmeyen numunelerden beklenen değişik derişimler yansıtması daha fazla güvenilirlik sağlayacaktır.

- iv)* Yalnızca analiz edilecek bileşenlerin bilinmesi şartıyla kompleks karışımlar için kullanılabilir.
- v)* Bazı durumlarda orijinal kalibrasyon karışımlarında bulunan fakat numunede olmayan bileşenli numunelerin miktar tayininde kullanılabilir.
- vi)* Bu tekniklerin hepsi spektral kantitatif analiz için uygulanırken literatürdeki sebepler genellikle PLS' nin tahmin gücünün yüksek olduğunu göstermektedir. Birçok durumda PLS metodları PCR' den daha iyi sonuçlar verir.

Yöntemin dezavantajları;

- i)* PLS hesaplamaları klasik metotlardan daha yavaştır.
- ii)* PLS modellerin anlaşılması ve yorumlanması zor olup son derece soyuttur.
- i)* genellikle çok sayıda numune için doğru bir kalibrasyon gereklidir.
- ii)* kalibrasyon numunelerinin hazırlanması bileşenlerin derişimleri ile doğrusallıktan uzaklaşmaları nedeniyle zordur (Dinç, 2007).

1.6.2. Kalibrasyon (Derişim) setinin tasarımı

Kemometrik (CLS, ILS, PCR, PLS) kalibrasyonlar için kalibrasyon seti ya rasgele (randomly) yada analizi yapılacak numunede yer alan maddelerin derişimlerini içerecek şekilde kalibrasyon (derişim) setinin tasarımı yapılır. Simetrik kalibrasyon setinin planlanmasında analiz edilecek maddelerin derişimleri, kalibrasyon setinin içinde ana kümenin permütasyonları şeklinde alt kümeler oluşturmalıdır. Kemometrik çalışmalarda rastgele kalibrasyon setinin hazırlanmasından ziyade, analiz edilecek maddelerin derişimlerine göre simetrik ve hataların minimize edilmesi açısından tercih edilecek bir durumdur. Çalışmalarda derişim seti hazırlanmasında, çeşitli tasarım şekilleri verilmele birlikte rastgele hazırlanan derişim setleri de kullanılmaktadır.

1.6.3. Çapraz validasyon işlemi (Cross-validation procedure)

Kemometrik kalibrasyonların validasyonu için kalibrasyonu ve tayin basamaklarında kalibrasyonun standart hatası (Standard error of calibration→ SEC) ve tayinin (tahminin) standart hatası (Standard error of prediction→ SEP) gibi parametreler kullanılmaktadır. SEC ve SEP değerlerini minimum yapan kalibrasyon koşulları ve F-istatistiği kullanılır. Kalibrasyon performanslarını değerlendirmek için kemometrik kalibrasyonların SEC ve SEP değerleri yanında, bilinen ve tahmin edilen derişim değerlerinin lineer regresyon analizi yapılarak, korelasyon katsayısı, doğrunun eğim (m) ve kesim (n) değerleri kullanılır.

PCR ve PLS kalibrasyonlarının kurulmasında faktör seçimi için çapraz validasyon işlemi (Cross-validation procedure) kullanılır. Bunun için karelerin tahmin (tayin) hatalarının toplamı (prediction error sum of squares→PRESS) hesaplanır. Optimal faktör sayısını bulmak için önerilen kriterler minimum PRESS değeri ve F-istatistiğidir.

1.6.4. Varyans Analizi (ANOVA)

Varyans analizi tekniği kullanılarak grup ortalamaları arasındaki farklılığın veya farklı analitik yöntemler ile elde edilen analiz sonuçlarının ortalamaları arasındaki farklılığın önemli olup olmadığına bakılabilir. Bir araştırmada k tane işlemin (veya k tane yöntemin) n tekrarının sonunda elde edilen veriler bir tabloda özet haline getirilir. Sonra kontrol ve karşıt hipotezi aşağıdaki şekilde kurulur.

H₀: İşlemlerin temsil ettiği popülasyon ortalamaları arasındaki fark tesadüften ileri gelmektedir. İşlem ortalamaları arasındaki gözlenen fark sıfır kabul edilebilir:

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_k \text{ dir.}$$

H₁: En az iki muamele grubunun ortalaması arasında gözlenen fark tesadüften ileri gelmektedir. En az iki işlem grubunun incelenen özellik üzerine olan

etkileri birbirinden farklıdır, yani aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

Karşıt hipotez kurulurken en az iki işlem arasındaki fark önemlidir denilmektedir. Çünkü kontrol hipotezinin yapılan analiz sonucunda reddedilmesi için denemede dikkate alınan k tane işlemin birbirinden farklı olması gerekmez. En az iki işlem arasındaki farklılık kontrol hipotezinin reddedilmesine sebep olabilir.

Yapılan hipotez kontrolü sonucunda karşıt hipotez kabul edilmiş ise bu en az iki grup ortalaması arasındaki farklılığın önemli olduğu “çoklu karşılaştırma yöntemleri” kullanılarak araştırılır.

Gruplar arası, gruplar içi serbestlik dereceleri ve gruplar arası- gruplar içi kareler toplamı hesaplanır. Bu değerlerin oranlanmasıyla F değeri elde edilir. Elde edilen F değeri F değeri F tablosundan ($\alpha:0,05$) okunan değerle kıyaslanır (Dinç, 2009).

Çizelge1.1. Varyans analizi çizelgesi (ANOVA testi çizelgesi = Analysis Of Variation)

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F-değeri
Yöntemler arası (Gruplar arası)	k-1	$\sum_{i=1}^k n_i (\bar{X}_i - \bar{X})^2$	$\sum_{i=1}^k n_i (\bar{X}_i - \bar{X})^2 / (k-1)$	$\frac{\sum_{i=1}^k n_i (\bar{X}_i - \bar{X})^2}{k-1}$
Yöntemler içi (Gruplar içi)	k(n-1)	$\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (X_{ij} - \bar{X}_i)^2$	$\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (X_{ij} - \bar{X}_i)^2 / (k(n-1))$	$F = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (X_{ij} - \bar{X}_i)^2}{k(n-1)}$
Genel varyasyon	nk-1	$\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (X_{ij} - \bar{X})^2$		

1.6.5. Kemometrik kalibrasyon yöntemlerinin uygulamaları

1.6.5.1. Kemometrik yöntemlerin uygulama alanları

Analitik kimyadaki miktar tayini çalışmalarında, kemometrik kalibrasyon yöntemleri ya da çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri IR spektrofotometre, UV- görünür alan spektrofotometre, spektroflorimetre, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve kapiler elektroforez gibi analitik cihazlardan elde edilen analitik veriler uygulanmaktadır. Analitik kimyanın prensip ve yöntemleri çok değişik komşu disiplin tarafından kullanılmaktadır. Bu da analitik kimyanın biyoloji, tıp, ziraat, gıda ve eczacılık gibi alanlarda geniş bir uygulama alanı olduğunu göstermektedir.

Analitik çalışmalarda kemometrik yöntemlerin uygulamaları anorganik analiz organik analiz, ilaç analizi, klinik ve biyolojik numunelerin analizi, gıda ve su analizleri, çevre analizleri ve stabilite tayinleri, çözünme hızı testleri şeklinde özetlenebilir.

1.6.5.2. Çoklu bileşen analizi (Multicomponent analysis)

Son yıllarda çoklu bileşen analizi, analitik kimyacılar için en önemli konulardan birisi oldu. Bu bağlamda, aynı anda miktar tayinlerinin klinik kimyası, ilaç analizi kirlilik kontrolü vb. gibi değişik disiplinler ile ilgili aktif bileşikler içeren karışımların kantitatif analizi için oldukça kullanışlı olduğu kanıtlanmıştır. Çok değişkenli kalibrasyonların absorbans sinyallerine uygulanmasıyla çok bileşen analizlerinden elde edilen sonuçların doğruluğu, yöntem ve kullanılan analitik sinyallere bağlıdır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Safavi (2006) ve arkadaşları yaptıkları çalışmada şelatlaştırıcı olarak Alizarin Kırmızısının kullanılmasıyla Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} 'yi spektrofotometrik metotla bir arada tayin etmişlerdir. Sistem davranış parametreleri tayin edilmiş ve optimum şartlar seçilmiştir. Üçlü karışımın bir arada tayini için en küçük kareler kalibrasyon modeli çalışmacılar tarafından uygulanmıştır. Bu amaçla absorbans verileri 400 ile 800 nm aralığında alınmıştır. Bu metodun çeşitli metal alaşımlarına uygulanmasıyla %5 den daha az bağıl standart hatanın olduğu çalışmacılar tarafından ileri sürülmüştür.

Niazi A.(2006), yaptığı çalışmada, Fe^{2+} ve Fe^{3+} 'ü spektral olarak PLS kalibrasyon yöntemiyle karışımlardaki Fe^{2+} ve Fe^{3+} ün analizini gerçekleştirmiştir. Yöntem, pH= 4,5 de demir iyonlarının ve kromojenik reaktif olarak 1,10-fenantrolin ile 5-sulfosalisilik asit arasındaki reaksiyona dayanmaktadır. Kalibrasyon, Fe^{2+} ve Fe^{3+} 'ün sırasıyla 0,1-7,0 $\mu\text{g/mL}$ and 0,5-14,0 $\mu\text{g/mL}$ içeren 34 kalibrasyon seti ve 400-600 nm dalga boyu aralığında absorbans ölçümlerinden hesaplanmıştır. PLS yöntemi ilaç numunelerindeki Fe^{2+} ve Fe^{3+} iyonlarının tayinlerine başarıyla uygulanmıştır.

Jamaluddin (1995) yaptığı çalışmada alüminyum morinle komplekse alarak doğrudan spektrofotometrik bir metot geliştirmiştir. Maksimum absorbans 421 nm de gözlenmiştir. Reaksiyon hızlı bir şekilde gerçekleşmiş ve 48 saat boyunca absorbans kararlı kalmıştır. Kompleksin 10 ng/mL den 5 ppm'e kadar Beer yasasına uyduğu ve şelatın stokiometrik oranının 2:3 (Al: morin) olduğu belirtilmiştir. 50' nin üzerinde katyon ve anyonun girişim yaptığı rapor edilerek, yöntemin birçok örneğe başarılı bir şekilde uygulandığı belirtilmiştir.

Chamsaz (2000) ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada eser miktardaki alizarin ile reaksiyonu sonucu hafif bazik ortamda alüminyum tayini gerçekleştirilmiştir. Kompleksin taşınma işlemi heptan ile gerçekleştirilmiş takiben DMF de çözülerek spektrofotometrik tayin yapılmıştır. 518 nm de gerçekleştirilen tayinde molar absorptivite $2,92.10^5 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ bulunmuştur. 5 ile 80 ppm aralığında Beer yasasının geçerli olduğu gözlenmiş ve dedeksiyon limiti 0,4 ppm olarak bulunmuştur. Çalışmanın doğruluğu grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrofotometrik metotla süt içinde tayin edilerek gerçekleştirilmiştir. Metodun doğruluğu ve hassaslığı F testi ile ve %95 güven seviye testleri ile kabul edilebilir olduğu çalışmacılar tarafından belirtilmiştir.

Bulut (2010) ve arkadaşları su örneklerindeki eser miktardaki alüminyumun tayini için ayırma ve ön deriştirme işlemleri geliştirmişlerdir. Bu amaçla çalışmacılar Co^{2+} elementini taşıyıcı olarak 8-hidroksikinolini de şelatlaştırıcı olarak kullanmışlar ve UV-Vis spektrofotometrisi ile su örneklerindeki ve diyaliz konsantresindeki eser miktardaki alüminyumunu tayin etmişlerdir. Tayindeki bağıl standart sapmanın çok az olduğu çalışmacılar tarafından belirtilmiştir.

Martire ve Hainberger (2004) , yaptıkları çalışmada alüminyumunu hassas bir şekilde tayin etmek için spektrofotometrik bir metot geliştirmişlerdir. Bu amaçla krom fast blue B ve setiltrimetilamonyum bromür maddelerini kullanmışlardır. 0,0102 ile 0,0806 ppm aralığında Beer yasasının geçerli olduğu çalışmacılar tarafından bildirilmiş ve 645 nm de maksimum absorbans gözlenmiştir. Çalışmada gözlenen molar absorptivite $1,23.10^5 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ dir. 44 iyonun girişim yaptığı belirtilen çalışmada çeşitli örneklerde alüminyum tayin edilmiştir.

Ying-Quan (1983) ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada alüminyumun spektrofotometrik tayini klorofosfanazo ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla

çalışmacılar klorofosfanazo ile alüminyum reaksiyona sokmuş ve pH 4 – 6 da sulu çözelti içinde kırmızı –mor kompleksini oluşturmuşlardır. Çalışmada 610 nm de maksimum absorpsiyon gözlenirken, molar absorptivite de $1,96 \cdot 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olmuştur. Elde edilen kompleksin renginin 24 saat boyunca değişmediği çalışmacılar tarafından bildirilmiştir. Çalışmada titan ve zirkonyum ciddi girişimler yapmıştır.

Coscione ve arkadaşlarının (2000) yaptıkları çalışmada, kromojenik belirteç olarak ksenol sarısının aşırısının kullanıldığı bitkilerdeki demir ve alüminyumun bir arada spektrofotometrik tayininde en küçük kareler kalibrasyon modeli geliştirilmiştir. Deney şartları, sistem karmaşıklığının azaltılması, girişim yapan maddelerin önlenmesi gibi parametreler üzerine kurulmuş ve bu şartlar rutin analizde kullanılmıştır. Her bir bileşenin karıştırılmasından sonra spektrumlar alınmıştır. Ortamda oluşan Al-XO komplekslerinin yapısını geliştirmek üzere etanolik çözeltiler kullanılmıştır. En iyi kalibrasyon modeli PLS-2 algoritmasının kullanılmasıyla beş değişkenin merkezileştirilmesinden sonra gözlenmiştir. Bitkilerden ekstraktlarda kuvvetli görülmesi muhtemel girişim yapan maddelerden sadece Zn gözlenebilmiştir. Yapılan spektroskopik çalışmalar ICP-AES metodu ile de doğrulanmıştır. Önerilen işlem sonunda kuru bitki ağırlığına bağlı olarak 12,5 ile 2500 ppm Alüminyum ve Demir tayin edilebilmiştir.

Gotoh ve arkadaşları (2003) yaptıkları çalışmada kan düzeyinde bakır ve demir tayinleri için flow injection spektrofotometrik metot geliştirmişlerdir. Bu amaçla 20 ve 30 mm uzunluğunda ikiz akış hücreleri geliştirilmiş ve bunlar hassas bir şekilde tayin amacıyla kullanılmıştır. Çalışmacılar bakır ve demiri 580 ve 710 nm de 5-Br-PSAA maddeleri ile etkileştirerek bir arada tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada elde edilen tayin limitleri bakır için 0,39 g/L ve demir için ise 0.20 g/L olarak bulunmuştur. Bağlı standart sapma değerleri ise bakır için %0,81 ve demir için ise % 0,52 dir. Yapılan çalışma ICP-AES ile

kontrol edilmiştir. Metodun hastalar üzerine başarıyla tatbik edildiği çalışmacılar tarafından bildirilmiştir. Önerilen Flow injection metodunun hassasiyeti örnekler içindeki serum miktarını tespitinde çok hassastır.

Kendüzler (2003) yaptığı çalışmada eser miktardaki bakır tayinini atomik absorpsiyon spektrofotometresinde, Ambersorp 572 üzerinde 1-nitroso-naftol-3,6-disülfonik asit şelatıyla tutturarak gerçekleştirmiştir. Başarılı olan bu işlemi çalışmacılar bakır tayini için, çeşitli sulara, alüminyum folyo ve çay örneklerine uygulamışlardır.

Rodriguez ve arkadaşları (1998) yaptıkları çalışmada, UV spektrofotometrik olarak çok değişkenli kalibrasyon ile Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} ve Cu^{2+} iyonlarının bir arada tayini ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Bu metallerin 1,5-bis(di-2-piridil metilen) tiyokarbonhidrazid (DPTH) ile kompleksleri oluşturulmuş ve bu metal iyonlarının dörtlü karışımlarının kararlılığı kemometrik yaklaşımlarla sağlanmıştır. Optimum pH= 4,0 için sodyum asetat tamponu kullanılmıştır. Bu koşullarda Co^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} iyonlarını ihtiva eden karışımının absorbansının yarım saat sonra sabit kaldığı görülmüştür. Derişim aralıkları Co^{2+} için 0,2-1,3 $\mu g/mL$ Ni^{2+} için 0,1-1,2 $\mu g/mL$ Fe^{3+} için 0,1-1,1 $\mu g/mL$ ve Cu^{2+} için 0,2-1,2 $\mu g/mL$ 'dir. Temel bileşen analizi (PCR) ve kısmi en küçük kareler regresyonu (PLS-1 ve PLS-2) kullanılarak karışımdaki iyonların birlikte tayininden elde edilen sonuçlar hesaplanmıştır. En iyi geri kazanım değerleri PLS-2 metodu ile elde edilmiştir. Bu işlem karışımlarda ve biyolojik materyallerde bahsedilen iyonların bir arada tayinine olanak sağlamıştır.

Ghasemi ve arkadaşları (2001) yaptıkları çalışmada kısmi en küçük kareler (PLS) kalibrasyon metodu ve resazurin sülfid reaksiyonunu kullanarak kobalt, nikel ve bakırın birlikte katalitik tayini ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. PLS kalibrasyon metodu Co^{2+} , Ni^{2+} ve Cu^{2+} 'nin resazürin ve sülfid arasındaki reaksiyonun katalitik etkisine dayanarak birlikte kinetik tayinine uygulanmıştır. Kobalt, nikel ve bakır yokken resazurin ve sülfid arasındaki reaksiyon çok

yavaştır ve bu katyonların eser miktardaki varlığı bile reaksiyonun birkaç dakikada bitmesine ve rezazürinin renginin hemen kaybolmasına yol açmaktadır. Sıcaklığın, NaOH ilavesinin ve reaktiflerin reaksiyon oranı üzerindeki etkileri çalışılmıştır. Bu metal iyonlarının varlığında ve yokluğunda sıcaklığın reaksiyon oranı üzerine etkisi çalışılmış ve artan sıcaklıkla birlikte reaksiyon oranının arttığı bulunmuştur. Yeterli sıcaklık olarak 25°C seçilmiştir. NaOH derişimi 0,09-0,1 mol/L, rezazürin derişimi 0,0002 mol/L ve sülfid derişimi 0,05 mol/L olarak belirlenmiştir. Klasik tek değişkenli kalibrasyon için bu çalışma koşullarında sırasıyla Co²⁺, Ni²⁺ ve Cu²⁺ 0,1-1,0 µg/mL, 0,1-2,8 µg/mL ve 0,1-1,1 µg/mL aralığında alınmıştır. Çok değişkenli kalibrasyonda tayin için PLS-1 metodu kobalt, nikel ve bakır karışımlarının kararlılığı için değerlendirilmiştir. Bu amaç için 31 adet sentetik karışım seti hazırlanmıştır.

Zarei ve arkadaşları (1995) yaptıkları çalışmada Fe²⁺, Ni²⁺ ve Co²⁺ nin 1-(2- pridilazo)-2- naftol (PAN) ile komplekslerini oluşturularak spektrofotometrik olarak birlikte tayinini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada Fe²⁺, Ni²⁺ ve Co²⁺ nin reaktif ile kompleksleri spektral çakışma göstermektedir. Bu metal katyonları PLS kullanılarak birlikte tayin edilmiştir. Önerilen bu metot sentetik örnekler içerisinde Fe²⁺, Ni²⁺ ve Co²⁺ nin tayini için tatmin edici bir uygulama göstermiştir. Fe²⁺, Ni²⁺ ve Co²⁺ yi ayırmak için sıcaklığın ve iyonik güçlerin etkisi de denenmiştir. 10°C- 40°C aralığındaki absorpsanlar da sıcaklığın etkisi optimize koşulları bozmadığı çalışmacılar tarafından saptanmıştır. Bu aralıkta absorpsanlar değişim göstermediğinden çalışmadaki deneysel çalışmalar oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Ghasemi ve arkadaşları (2001), iki değişkenli kalibrasyon yöntemlerinden kısmi en küçük kareler metodu (PLS) ana bileşen regresyonu (PCR) kullanılarak, 4-(2- pyridylazo) resorcinol (PAR) ile verdikleri komplekslerin oluşumuna dayalı nikel ve kobalt +2 değerlikli iyonların aynı anda tayini için uygulanmıştır. Orijinal ikili karışımlarda, birinci ve ikinci türev absorpsiyon spektrumları PLS ve PCR yöntemleri ile kalibrasyon matrislerinin optimizasyonunu yapmak için kullanılmıştır. Kemometrik farklı yaklaşımlar uygulanarak elde edilen sonuçlar karşılaştırılmış ve değerlendirilmiştir. Savitzky-Golaykonvolüsyon yöntemi ikili

karışımlarda birinci ve ikinci türev absorpsiyon spektrumları hesaplamak için kullanılır. Kalibrasyon matrisleri sırayla kobalt için 15-540 ng/ml ve nikel için 15-560 ng/ml bulunmuştur.

Absalan ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmada, Fe^{2+} ve Fe^{3+} eş zamanlı tayini kısmi en küçük kareler kalibrasyonu (PLS) ve temel bileşen regresyonu (PCR) kullanılarak incelenmiştir. Setil trimetil amonyum bromür gibi misel ortamında pH 4'de demirin 2 yükseltgenme basamağı ile 1,2-kinon-2-tiyosemikarbozon-4-sülfonik asit (NQT4S) (CTAB) ile kompleks oluşumuna dayalı bir modeldir. Çalışmacıların sonuçları Fe^{2+} ve Fe^{3+} ün eş zamanlı tayininde derişim aralıklarının 0,1-2,1 ve 0,25-2,25 ng/mL içinde yapılabildiğini göstermiştir. Kullanılan maddelerin tahmini düşük yüzde hataları (%5,5) elde edildiğinden bu maddeler kullanılmaya devam edilmiştir. Bazı çevre örneklerinde Fe^{2+} ve Fe^{3+} ün eş zamanlı tayinleri için bu işlem başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Yöntemde bir su numunesi içinde demirin iki tane yükseltgenme basamağının dönüşümüne izin verdiği gözlemlenmiştir.

Şahin ve arkadaşlarının (2007) de yaptıkları çalışmada, atık su örnekleri (poliesterli kumaş, poliestersiz kumaş, sentetik atık su) COD ve TOC ölçümlerinde kullanılmak için üç farklı yolla elde edilmiştir. Poliester olan atık suyun poliester olmayan atık suya göre TOC ve COD değerleri daha düşük bulunmuştur. Atık su sentetik boya banyosu içerisinde boyaların çoğunlukla kumaşlar için sınırlı olduğunu göstermiştir. Dispers boya miktarının belirlenmesi ön derişim yöntemleri olan SPE kullanıldıktan sonra HPLC ile gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon tasarımının önemi ve doğrulama hataları hesaplanarak ve yüklerin grafiksel gösterimi ile araştırılmıştır. Çalışmacılar ayrıca bağımsız doğrulama setleri kullanmanın etkileri üzerinde durmuşlardır. Kalibrasyon tasarım PCR ve PLS hatalar üzerinde önemli etkiye sahip olduğu çalışmacılar tarafından gösterilmiştir.

3.MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada, UV/VIS spektrofotometrisi ile demir, alüminyum ve bakırın doğal sularda aynı anda tayinleri için yöntem geliştirilmiş ve elde edilen veriler PCA, PCR ve PLS gibi kemometrik yöntemlerle değerlendirilmiştir. Spektrofotometrik ölçümlerle çözücü olarak 1.10^{-3} M HCl kullanılmıştır. Çalışmanın ilk bölümünde iki farklı kompleksleştirici olan Alizarin Kırmızısı (AR) ve Eriochrome Siyanin R (ECR) kullanılmış, ECR ile daha doğru sonuçlar elde edildiğinden işlemlere ECR ile devam edilmiştir. Demir, alüminyum ve bakırın ECR ile verdiği komplekslerin oluşumu için, ligand miktarı, pH, metal derişimi ve absorbans ilişkisi, bekletme süresi ve yabancı iyon etkisi parametreleri çalışılarak optimum şartlar sağlanmıştır. Gerekli optimum şartlar sağlandıktan sonra ilk olarak metal derişimi - absorbans ilişkisi ve doğrusal aralığın bulunması çalışmaları yapılmıştır. Daha sonra demir, alüminyum ve bakır komplekslerinin sentetik karışımları hazırlanmış ve bunların yapılan spektrofotometrik ölçümlerinden elde edilen verilerle PCA, PCR ve PLS kemometrik yöntemleri geliştirilmiştir. Elde edilen veriler lisansı elimizde bulunan MİNİTAB 16 istatistik programıyla değerlendirilmiştir. Bu yöntemlerden elde edilen kemometrik denklemlerle doğal su kaynaklarında bulunan demir, alüminyum ve bakır miktarlarının tayinleri gerçekleştirilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihazlar

3.2.1. UV-GB Spektrofotometre Cihazı

UV-Vis spektrumları, bilgisayar tarafından kontrol edilen 1cm uzunluğundaki hücre ile donatılan UV 1700 Pharmaspec Shimadzu spektrofotometresi

kullanılarak not edilen spektrum değerleri doğal sulardaki demir, alüminyum ve bakırın miktarlarını belirlemek için kemometrik metotlara uygulanmıştır.

3.2.2. pH metre

Hazırlanan komplekslerin en uygun pH'larını tayin etmek için Thermo Orion 5-Star pH metresi kullanılmıştır.

3.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Yapılan çalışmada analitik saflıkta olan eriokrom siyanin R (ECR), alizarin kırmızısı (AR), demir(III) klorür heksahidrat, alüminyum potasyum sülfat, bakır nitrat tri hidrat, amonyum klorür, potasyum klorür, sodyum asetat trihidrat, hidroklorik asit, glasiyel asetik asit, nitrik asit, sülfürik asit ve 0,05 S. cm⁻¹ den düşük kondüktiviteye sahip, Milli – Q su arıtma (Millipore Corp.) sisteminden sağlanan su kullanılmıştır.

3.3.1. Kullanılan Çözeltiler

Al⁺³ çözeltisi (100 ppm) : 0,175 g AlK(SO₄)₂.12H₂O tartılarak, bir miktar 1.10⁻³ M hidroklorik asitte çözüldü ve hacmi aynı çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı.

Fe⁺³ çözeltisi (100 ppm) : 0,048 g FeCl₃.6H₂O tartılarak, bir miktar 1.10⁻³ M hidroklorik asitte çözüldü ve hacmi aynı çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı.

Cu⁺² çözeltisi (100 ppm) : 0,139 g Cu(NO₃)₂.3H₂O bir miktar 1.10⁻³ M hidroklorik asit çözeltisi ile çözümlenerek hacmi aynı çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı.

10 ppm'lik Al^{+3} çözeltisi : 100 ppm'lik Al^{+3} çözeltisinden 1 mL alınarak hacmi 1.10^{-3} M hidroklorik asit çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlandı.

10 ppm'lik Fe^{+3} çözeltisi : 100 ppm'lik Fe^{+3} çözeltisinden 1 mL alınarak hacmi 1.10^{-3} M hidroklorik asit çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlandı.

10 ppm'lik Cu^{+2} çözeltisi : 100 ppm'lik Cu^{+2} çözeltisinden 1 mL alınarak hacmi 1.10^{-3} M hidroklorik asit çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlandı.

2 ppm'lik Al^{+3} çözeltisi : 10 ppm'lik Al^{+3} çözeltisinden 2 mL alınarak hacmi 1.10^{-3} M hidroklorik asit çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlandı.

0,1 M hidroklorik asit çözeltisi : Yoğunluğu $1,19 \text{ g/cm}^3$ olan % 37'lik hidroklorik asit çözeltisinden 8,2 mL alınarak hacmi su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

1.10^{-3} M hidroklorik asit çözeltisi : 0,1 M hidroklorik asit çözeltisinden 1 mL alınarak hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Eriyokrom siyanin R ($7,4.10^{-4}$ M) çözeltisi : 0,039 g ECR tartılarak, bir miktar suda çözüldü ve hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Eriyokrom siyanin R ($8,9.10^{-4}$ M) çözeltisi : 0,047 g ECR tartılarak, bir miktar suda çözüldü ve hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Eriyokrom siyanin R ($1,6.10^{-3}$ M) çözeltisi : 0,085 g ECR tartılarak, bir miktar suda çözüldü ve hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

0,1 M hidroklorik asit çözeltisi : Yoğunluğu $1,19 \text{ g/cm}^3$ olan % 37'lik hidroklorik asit çözeltisinden 8,2 mL alınarak hacmi su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

Alizarin red S ($7,4.10^{-4}$ M) çözeltisi : 0,027 g Alizarin red S tartılarak, bir miktar suda çözüldü ve hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Alizarin red S ($8,9.10^{-4}$ M) çözeltisi : 0,032 g Alizarin red S tartılarak, bir miktar suda çözüldü ve hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Alizerin red S ($1,6.10^{-3}$ M) çözeltisi : 0,058 g Alizarin red S tartılarak, bir miktar suda çözüldü ve hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

0,4 M asetik asit çözeltisi : Yoğunluğu 1,05 g/cm³ olan asetik asit çözeltisinden 2,28 mL alınarak hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

0,4 M sodyum asetat çözeltisi : 5,44 g sodyum asetat trihidrat tartılarak, bir miktar suda çözüldü ve hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

0,1 M potasyum klorür çözeltisi : 0,745 g KCl tartılarak, bir miktar suda çözüldü ve hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

0,4 M amonyum klorür çözeltisi : 2,14 g amonyum klorür tartılarak, bir miktar suda çözüldü ve hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

0,4 M amonyak çözeltisi : Yoğunluğu 0,91 g/cm³ olan % 26'lık amonyak çözeltisinden 2,87 mL alınarak hacmi su ile 100 mL'ye tamamlandı.

0,1 M nitrik asit çözeltisi : Yoğunluğu 1,4 g/cm³ olan % 65'lik nitrik asit çözeltisinden 7 mL alınarak hacmi su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

pH=2 tamponu : 0,1 M potasyum klorür çözeltisinin üzerine 0,1 M hidroklorik asit çözeltisi ilave edilerek pH-metre ile pH=2'ye ayarlandı.

pH=4-6 tamponları : 0,4 M sodyum asetat çözeltisinin üzerine 0,4 M asetik asit çözeltisi ilave edilerek pH-metre ile ilgili pH'a ayarlandı.

pH=7-8 tamponları : 0,4 M amonyum klorür çözeltisinin üzerine 0,4 M amonyak çözeltisi ilave edilerek pH-metre ile ilgili pH'a ayarlandı.

3.4. Komplekslerin Oluşumu İçin Optimum Şartların Belirlenme Çalışmaları

3.4.1. Ligand miktarı

Fe³⁺-ECR, Al³⁺- ECR ve Cu²⁺-ECR komplekslerinin oluşumu için en uygun ligand miktarının bulunması amacıyla 10 ppm lik Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺ metal çözeltilerine

ECR çözeltisinden çeşitli hacimlerde eklenerek ortam pH'sı pH=4 tamponu ile ayarlandı. Oluşan çözeltilerin spektrumları alınarak en uygun ligand miktarı bulundu.

3.4.2. Optimum pH belirlenmesi

Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺ metal katyonlarının ECR komplekslerinin 2 ppm lik çözeltileri hazırlanarak, her bir metal kompleksine pH 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 ve 8,0 olacak şekilde spektrumları alındı.

3.4.3. Kompleks oluşum süresinin belirlenmesi

Fe³⁺ , Al³⁺ ve Cu²⁺ metal katyonlarının ECR komplekslerinin 10 ppm lik çözeltileri pH=4 tamponu ile ayarlandı. Oluşan komplekslerin spektrumları 60 dakika boyunca 5'er dakika aralıklarla ölçülerek en uygun bekleme süresi saptandı.

3.4.4. Metal derişimi - absorbans ilişkisi

Fe³⁺- ECR kompleksine ait derişim absorbans grafiğini hazırlamak üzere 10 ppm lik demir çözeltisinden 0,2 ; 0,4 ; 0,6; 0,8 ; 1,0 ve 1,2 mL ve her birine uygun şekilde ECR çözeltisinde konularak pH=4 tamponu ile hacimleri 10 mL'ye tamamlandı. Çözeltilerin absorbans değerleri kör deneme çözeltisine karşı okunarak derişimlere karşı grafiğe geçirildi.

Al³⁺- ECR kompleksine ait derişim absorbans grafiğini hazırlamak üzere 10 ppm lik alüminyum çözeltisinden 0,1 ; 0,15 ; 0,2 ; 0,25 ; 0,3 ; 0,35 ve 0,4 mL ve her

birine uygun şekilde ECR çözeltisinde konularak pH=4 tamponu ile hacimleri 10 mL'ye tamamlandı. Çözeltilerin absorbands değerleri kör deneme çözeltisine karşı okunarak derişimlere karşı grafiğe geçirildi.

Cu²⁺-ECR kompleksine ait derişim-absorbans grafiğini hazırlamak için 10 ppm lik bakır çözeltisinden sırasıyla 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1,0 ve 1,2 mL ve her birine uygun şekilde ECR çözeltisinden konularak pH=4 tamponu ile hacimleri 10 mL'ye tamamlandı. Çözeltilerin absorbands değerleri boş deneme çözeltisine karşı okunmuş, her derişim için 3 kez ölçüm yapılmış ve ortalama değerlerle derişimler arasında grafik çizilerek derişim-absorbans eğrileri oluşturuldu.

3.4.5. Yabancı iyon etkisi

Kadmiyum, kurşun ve mangan iyonlarının 100 ppm' lik çözeltilerinin 0,5 mL'sine $1,6 \cdot 10^{-3}$ M ECR çözeltisinin 1 mL'si katılarak tampon çözelti ile 10 mL' ye tamamlandı. Çözeltilerin 400-600 nm arasındaki spektrumları boş deneme çözeltisine karşı alındı. Çalışılan iyonların çalışma koşullarında absorbands oluşumuna etki edecek herhangi bir reaksiyon vermediği saptandı.

3.5. Yöntem

3.5.1. UV-GB Spektroskopisi Yöntemi

Bu çalışmada, spektrofotometrik ölçümlerle metal katyonları komplekslerinin stok çözeltilerinin spektrumları okunmuştur. Bu işlem için önce tek tek sonra farklı oranlarda hazırlanan sentetik karışımların spektrumları alınmıştır. Son işlem olarak da doğal su örneklerinde ölçümler yapılmıştır. Elde edilen veriler,

farklı kemometrik yöntemlerle değerlendirilmiştir. İlk basamakta, UV spektrofotometre cihazının kalibrasyonu (sıfırlama işlemi) yapılmıştır. Kalibrasyon işlemi önce her iki hücre boş bırakılarak havaya karşı yapılmıştır. Sonra aynı işlem bu kez her iki ışık yoluna hidroklorik asit ile hazırlanan kör numunesi konularak yapılmıştır. Bütün okumalarda hep kör bu şekilde hazırlanmıştır. Kör olarak sadece hidroklorik asit kullanılmasının nedeni bu çalışmada genel olarak çözücümüz hidroklorik asit olduğu içindir. Kör seçimi yapılırken girişim etkilerini yok etmek için, kör olarak çözücü tercih edilmiştir. İkinci basamakta, saf metal katyonları komplekslerinin tek tek spektrumları alınmıştır. Bu işlem esnasında stok metal katyonlarının derişimleri 0,1- 1,25 ppm arasında olacak arasında saf maddeler stoklardan alınarak toplam hacim 10 mL ye tamamlanarak çözeltileri hazırlanmış ve UV spektroskopisinde absorbans okumaları yapılmıştır. Üçüncü basamakta, her bir madde ayrı bir dalga boyunda maksimum verdiğiinden saf metal katyonlarından oluşturulan sentetik karışımların UV spektroskopisinde absorbans okumaları yapılmış ve birbiri yanında herhangi bir ön ayırma işlemine gerek olmaksızın metal katyonu-kompleksleri incelenmiştir. Son basamakta ise, doğal su numunelerinde Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} - ECR komplekslerinin çözeltileri incelenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

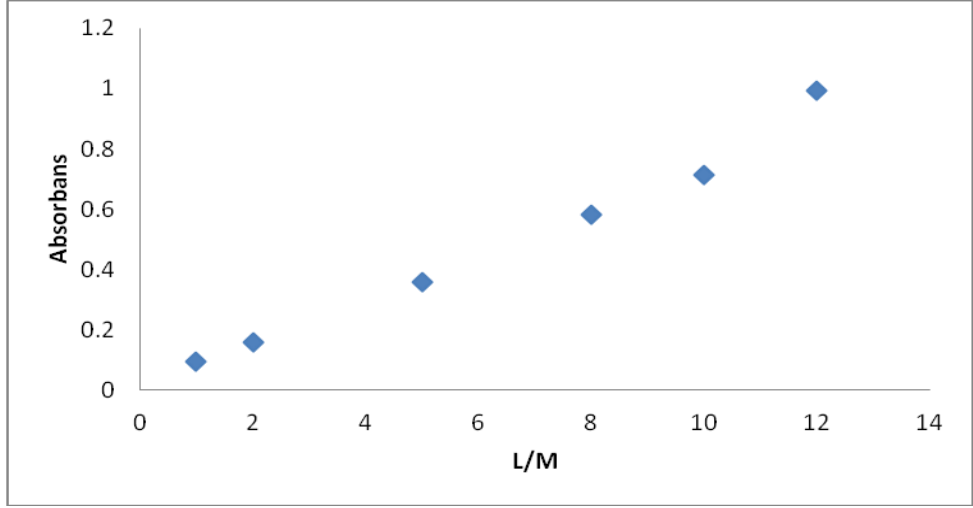
Fe³⁺- ECR, Al³⁺ - ECR ve Cu²⁺ - ECR komplekslerinin oluşumu için en uygun optimum şartlar belirlendikten sonra, kemometrik kalibrasyonların Fe³⁺- ECR , Al³⁺ - ECR ve Cu²⁺ - ECR komplekslerinin analizi için üç farklı kemometrik yöntem geliştirildi. Bunlar PCA, PCR ve PLS kalibrasyon yöntemleridir. Kemometrik yöntemlerin uygulaması için spektral koşullar optimizasyonu ve optimal kalibrasyon setinin hazırlanması için ön çalışmalar yapıldı.

Saptanan spektral koşullarda kalibrasyon setinin ve numunelerin 400-600 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı ve kemometrik kalibrasyonlar 510-560 nm dalga boyu bölgesindeki bütün absorbans değerlerinin vektörel ölçümleri kullanılarak elde edildi. Kemometrik algoritmalarla hesaplanan PCA, PCR ve PLS kalibrasyonları yapay ve doğal su numunesinin analizine uygulandı.

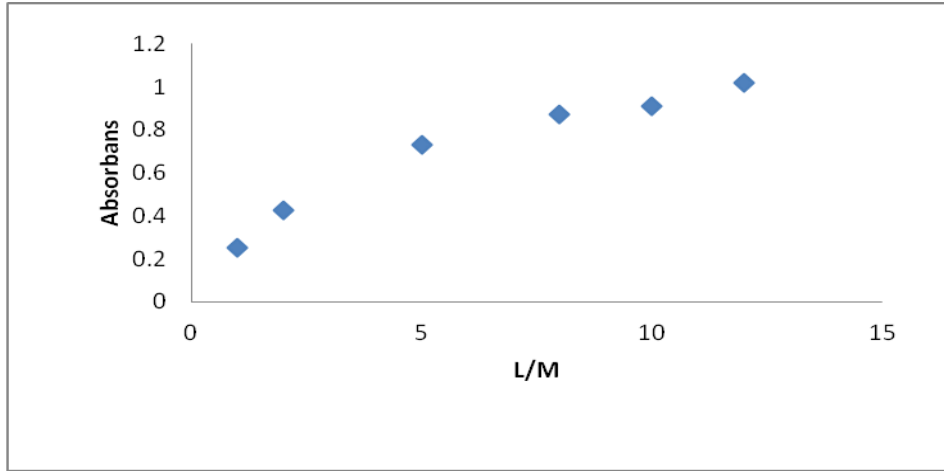
4.1. Komplekslerin Oluşumu İçin Optimum Şartlar

4.1.1. Ligand miktarı

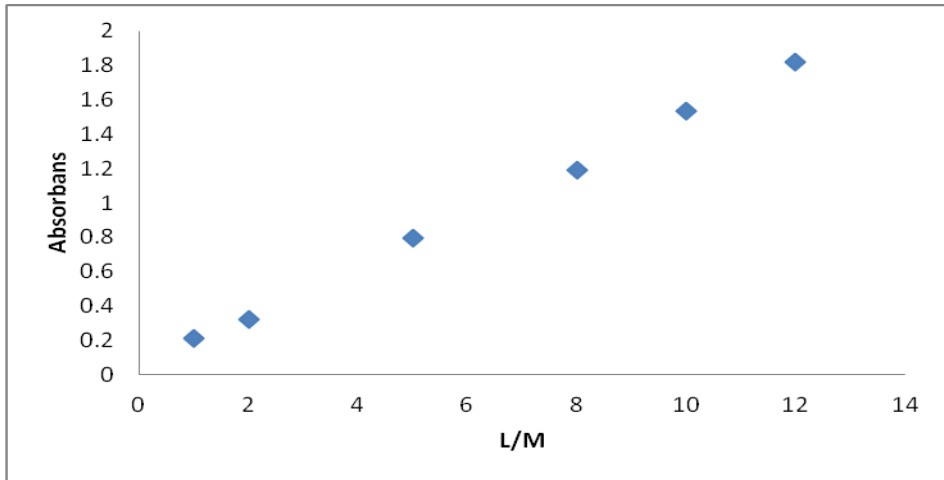
Çalışmada iki farklı ligand alizarin kırmızısı (AR) ve eriochrome siyanin R (ECR) denenmiş, bunlardan ECR ile daha doğru sonuçlar elde edildiğinden çalışmalara ECR ile devam edilmiştir. Fe³⁺- ECR, Al³⁺- ECR ve Cu²⁺ - ECR komplekslerinin oluşumu için en uygun ligand miktarının bulunması için Bölüm 3.5.1'de anlatıldığı şekilde çalışılarak Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'de görülen sonuçlara ulaşıldı. Şekillerden de görüldüğü üzere 12 kat ligand fazlasında en yüksek absorbans elde edilmektedir. Bu sonuçlara göre komplekslerin oluşumunda en uygun ligand miktarı 12 kat olarak seçildi.



Şekil 4.1. Fe³⁺-ECR kompleksinin oluşumuna ligand miktarının etkisi



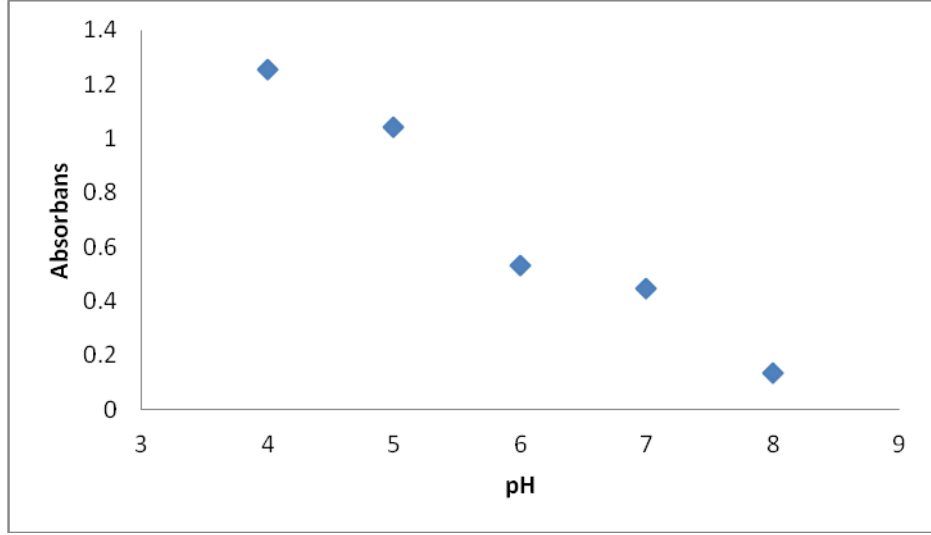
Şekil 4.2. Al³⁺-ECR kompleksinin oluşumuna ligand miktarının etkisi



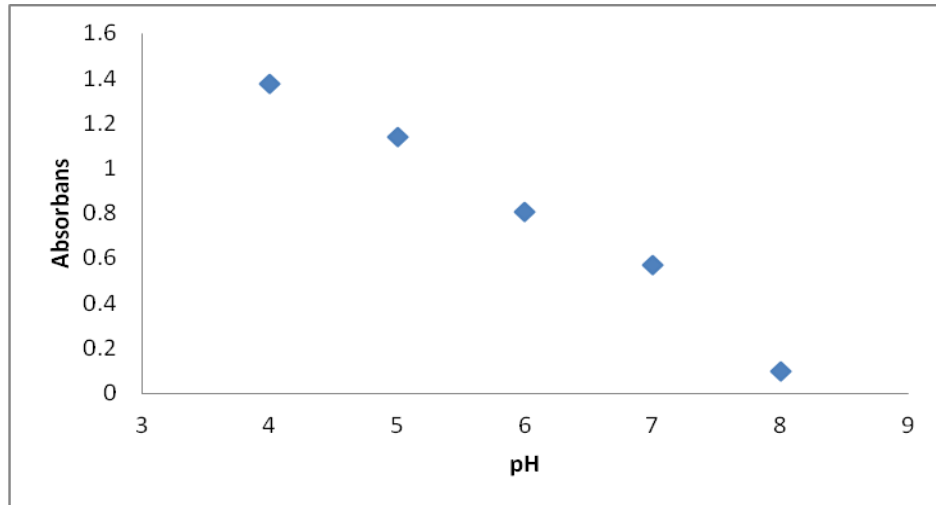
Şekil 4.3. Cu²⁺-ECR kompleksinin oluşumuna ligand miktarının etkisi

4.1.2. Optimum pH

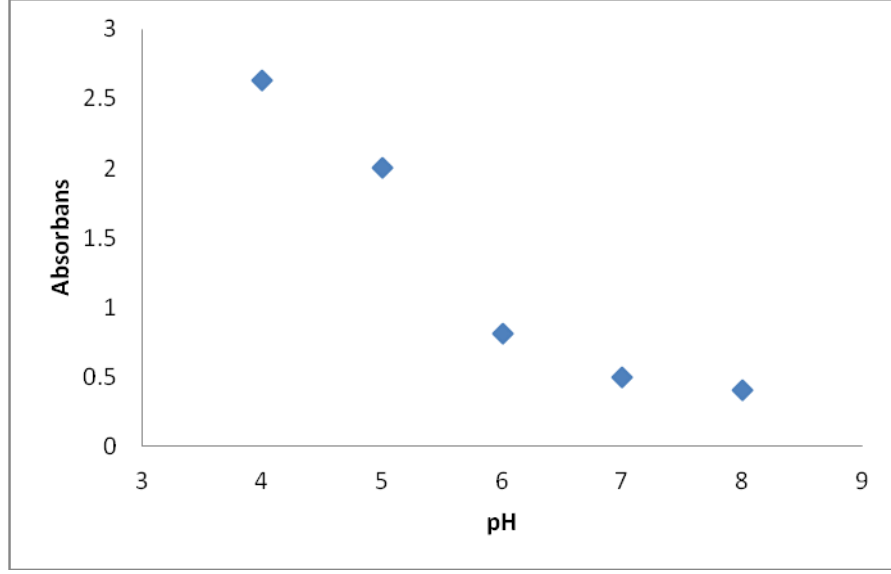
Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} metal katyonlarının ECR komplekslerinin oluşumuna pH'ın etkisini incelemek amacıyla, her bir metal kompleksine pH 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 ve 8,0 olacak şekilde spektrumları alındı. Alınan spektrumlardan elde edilen değerler grafiğe geçirilerek Şekil 4.4 , 4.5 ve 4.6'da görülen şekiller elde edildi. Şekiller incelendiğinde kompleks oluşumunun pH=4' de en yüksek değere ulaştığı saptandı. Bu sebeple çalışmanın bütün aşamalarında pH=4 tamponu ile çalışıldı.



Şekil 4.4. Fe^{3+} -ECR kompleksinin oluşumuna pH'nın etkisi



Şekil 4.5. Al^{3+} -ECR kompleksinin oluşumuna pH'nın etkisi



Şekil 4.6. Cu^{2+} -ECR kompleksinin oluşumuna pH'nın etkisi

4.1.3. Bekletme süresi

10 ppm'lik Al(III) çözeltisinin 0,2 mL'sine $7,4 \cdot 10^{-4}$ M ECR çözeltisinden 1,2 mL ve 10 ppm'lik Fe(III) çözeltisinin 0,5 mL' sine $8,9 \cdot 10^{-4}$ M ECR çözeltisinden 1,2 mL ve 10 ppm'lik Cu(II) çözeltisinin 0,8 mL sine 1,2 mL eklenip hacimleri pH=4 asetat tamponu ile 10 mL'ye tamamlandı. Oda sıcaklığında 5'er dakika aralıklarla absorbansları ölçülmüş, yapılan ölçümler neticesinde bekletme süresinin fazla bir etkisi olmadığı, süre ilerledikçe metal-ligand kompleksinin verdiği absorbanslarda düşme gözlemlendiği saptandı. Bu sebeple metal-ligand etkileşimini deney hazırlanır hazırlanmaz spektrofotometrede okunmasına karar verildi ve bir sonraki aşamaya geçildi.

4.1.4. Yabancı iyon etkisi

Çalışılacak olan su numunelerinde eser miktarda da olsa bulunma olasılığı olan mangan, krom, stronsiyum, kadmiyum, kurşun, kalsiyum, magnezyum ve

baryum iyonları ile ECR ligandının optimum koşullar altında absorbans oluşumuna etki edebilecek herhangi bir girişim yapmadığı saptandı.

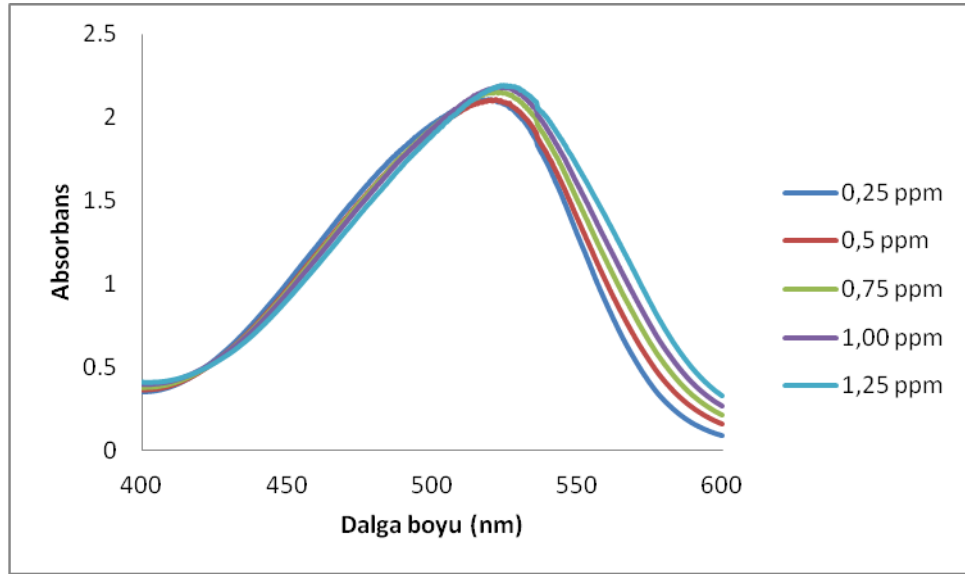
4.1.5. Metal derişimi - absorbans ilişkisi

Önce her bir metalin saf halde 100 ppm standart çözeltileri hazırlandı. Daha sonra 0,1-1,25 ppm arasında saf maddeler stoklardan alınarak üzerlerine optimum koşullar sağlanacak şekilde ECR ligandı eklendi ve tampon çözeltiyle ortam pH' 4 yapıldı. Son hacmin 10 ml'ye tamamlanmasından sonra hazırlanan çözeltilerin spektrumları alındı. Bu işlem sonrası absorbanslar ölçülerek kaydedildi. Çizelge 4.1'de gösterildiği her bir kompleksin maksimum absorbans yaptığı dalga boyu, molar absorpsiyon katsayısı, kalibrasyon denklemi ve korelasyon katsayısı hesaplandı. Tablodaki korelasyon katsayılarından da görüldüğü üzere oluşan komplekslerin derişimleri ile ölçülen absorbanslar arasında yeterli bir doğruluk vardır.

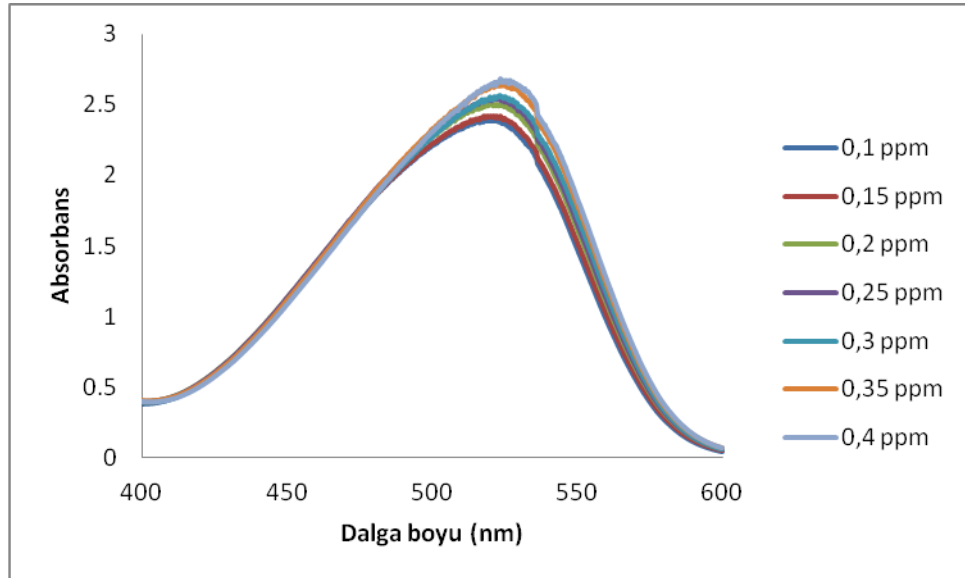
Çizelge 4.1. Çalışılan metal komplekslerinin spektroskopik özellikleri

Metal Kompleksi	Maksimum Absorbans	Molar Abs. Katsayısı	Kalibrasyon denklemleri	Korelasyon katsayısı
Fe³⁺-ECR	526,8 nm	1,25.10 ⁴	y=0,21025x+0,137	0,9791
Al³⁺-ECR	532,6 nm	3,75.10 ⁴	y=1,0243x+2,2754	0,9863
Cu²⁺-ECR	519 nm	7,6.10 ⁴	y=0,426x+1,862	0,9975

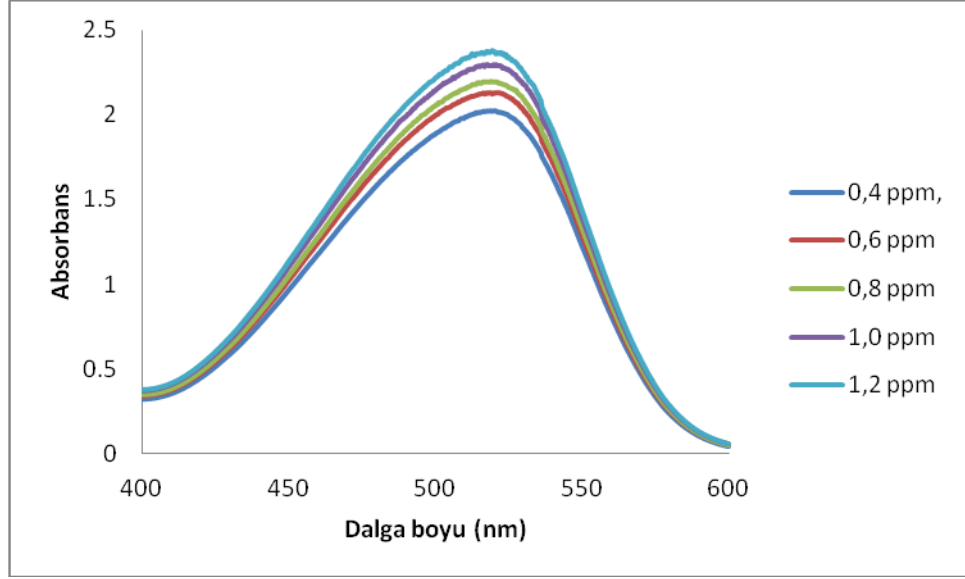
Her bir oluşan kompleksin önce tek tek spektrumları alındı. Bu spektrumlar alınırken derişim aralıkları Fe³⁺-ECR kompleksleri için 0,25– 1,25 ppm, Al³⁺-ECR kompleksleri için 0,1– 0,4 ppm ve Cu²⁺ - ECR kompleksleri için ise bu değerler 0,4 - 1,2 ppm arasındadır. Bu derişim aralıkları tayini yapılan her bir kompleks için lineer doğrusallığın olduğu bölgelerdir. Bu çalışma sonucu elde edilen grafikler Şekil 4.7, 4.8 ve 4.9'da gösterildi.



Şekil 4.7. Fe³⁺-ECR komplekslerinin absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.8. Al³⁺-ECR komplekslerinin absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.9. Cu^{2+} -ECR komplekslerinin absorpsiyon spektrumları

Fe^{3+} -ECR, Al^{3+} -ECR ve Cu^{2+} -ECR kompleksleri Çizelge 4.1’de de görüldüğü üzere ayrı dalga boylarında maksimum absorbans vermektedirler. Bu özellikten yararlanılarak bir sonraki aşamada bu iki kompleksin sentetik karışımları hazırlanmış ve bunlar birbiri yanında herhangi bir ön ayırma işlemi yapmaksızın tayin edilmişlerdir. Fe^{3+} -ECR, Al^{3+} -ECR ve Cu^{2+} - ECR kompleksleri sürekli spektrum göstermekte ve üst üste örtüşen spektrumlar gözlenmektedir.

Kemometrik kalibrasyonların Fe^{3+} -ECR, Al^{3+} -ECR ve Cu^{2+} - ECR komplekslerinin analizine uygulamasında üç farklı kemometrik yöntem geliştirildi. Bunlar PCA, PCR ve PLS kalibrasyon yöntemleridir. Kemometrik yöntemlerin uygulaması için spektral koşullar optimizasyonu ve optimal kalibrasyon setinin hazırlanması için ön çalışmalar yapıldı.

Saptanan spektral koşullarda kalibrasyon setinin ve numunelerin 400-600 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı ve kemometrik kalibrasyonlar 510-560 nm dalga boyu bölgesindeki absorbans değerlerinin 5,0 nanometrelik vektörel ölçümleri kullanılarak elde edildi. Kemometrik

algoritmalarla hesaplanan PCA, PCR ve PLS kalibrasyonları yapay ve doğal su numunesinin analizine uygulandı.

4.2. Kalibrasyon Setinin Hazırlanması

Kemometrik kalibrasyonlar için hidroklorik asit içerisinde Fe^{3+} -ECR için 0,50-1,25 $\mu\text{g/mL}$, Al^{3+} -ECR için 0,10-0,50 $\mu\text{g/mL}$ ve Cu^{2+} - ECR için ise 0,40 - 1,20 $\mu\text{g/mL}$ derişim aralığında her iki bileşği içeren 15 değişik kompozisyonda simetrik bir kalibrasyon seti hazırlandı. Çizelge 4.2. de hazırlanan kalibrasyon seti sunulmaktadır.

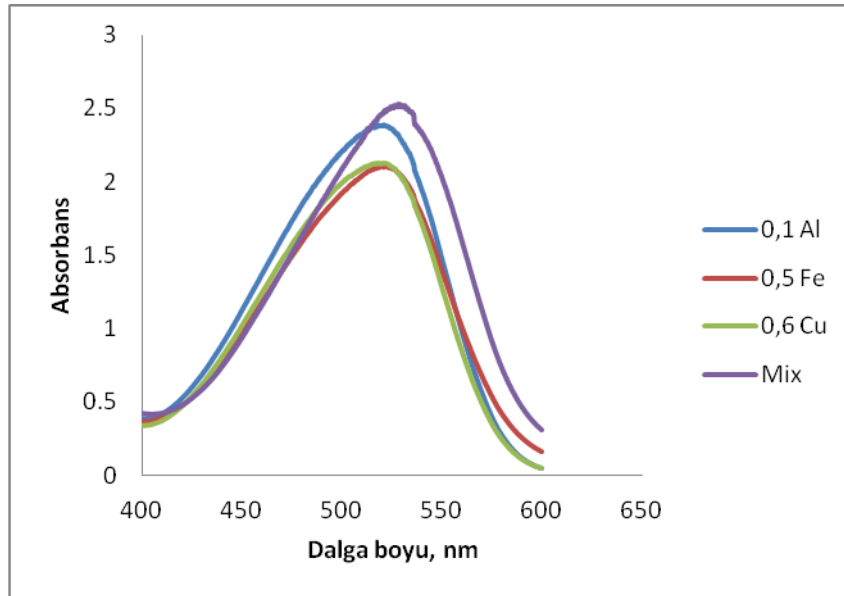
Çizelge 4.2. Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} analizi için kalibrasyon seti

Kalibrasyon Seti			
No	Derişim ($\mu\text{g/mL}$)		
	Fe^{3+}	Al^{3+}	Cu^{2+}
1	0,50	0,10	0,60
2	0,50	0,20	0,60
3	0,50	0,30	0,60
4	0,50	0,40	0,60
5	0,50	0,50	0,60
6	0,50	0,20	0,40
7	0,50	0,20	0,60
8	0,50	0,20	0,80
9	0,50	0,20	1,00
10	0,50	0,20	1,20
11	0,25	0,20	0,60
12	0,50	0,20	0,60
13	0,75	0,20	0,60
14	1,00	0,20	0,60
15	1,25	0,20	0,60

Kalibrasyonlar için rastgele kalibrasyon seti yerine simetrik kalibrasyon seti tercih edilmiştir. Bunun sebebi analiz esnasında meydana gelebilecek kalibrasyon hatalarını minimize etmektir.

4.3. Spektral Koşulların Optimizasyonu

Spektrofotometrik çalışmalarda Fe^{3+} -ECR, Al^{3+} -ECR ve Cu^{2+} -ECR için $1,10^{-3}$ M HCl çözücüsünün uygun çözücü olduğu saptandı. $1,10^{-3}$ M HCl içerisinde Fe^{3+} -ECR, Al^{3+} -ECR ve Cu^{2+} -ECR kompleksleri ile buna karşılık gelen karışımının 400-600 nm dalga boyu aralığında spektrumları alındı (Şekil 4.4.). Şekil 4.4. den de görüldüğü gibi her üç bileşik aynı dalga boyu aralığında girişim yapmaktadır. Bu nedenle klasik spektroskopik yaklaşımlarla her iki bileşiğin aynı anda miktar tayinleri mümkün değildir.

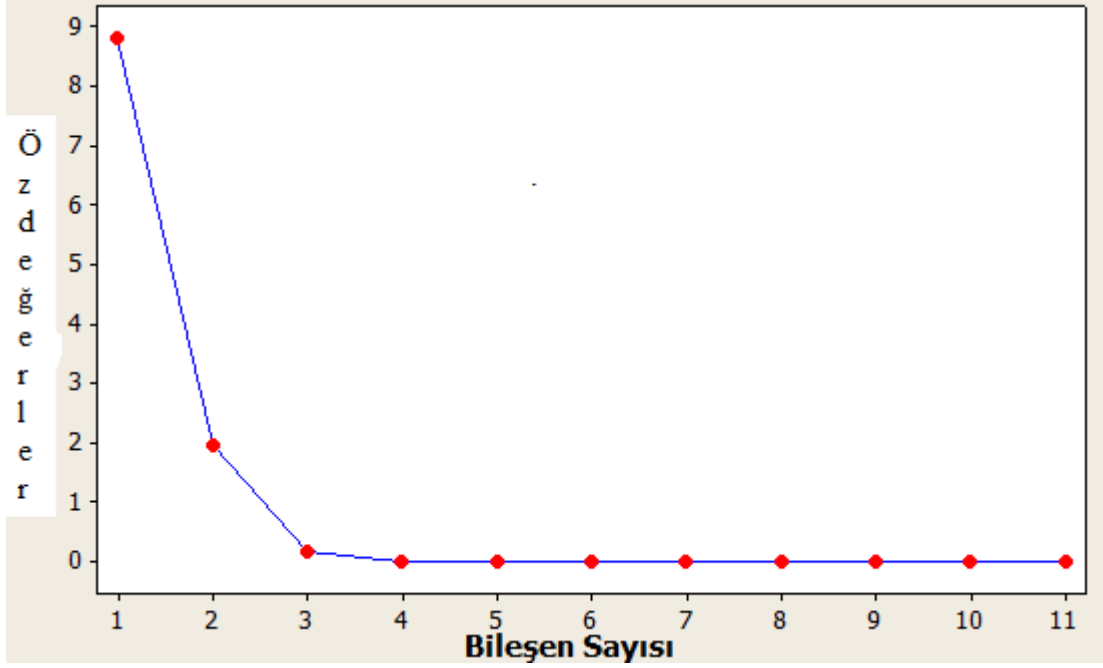


Şekil 4.10. Fe^{3+} ($0,5 \mu\text{g}/\text{mL}$), Al^{3+} ($0,1 \mu\text{g}/\text{mL}$) ve Cu^{2+} ($0,6 \mu\text{g}/\text{mL}$) ile üç bileşiğe karşılık gelen karışımın absorpsiyon spektrumları ($1,10^{-3}$ M HCl içerisinde).

4.3.1. Temel bileşen analizi (PCA)

Sentetik çözeltilerde hesap yaparken programın kendi içinde ilk yaptığı işlem temel bileşen analizi yapmaktır. Temel bileşen analizi uygulanmasının amaçları, bir orijinal değişkeni temsil eden n sayıda orijinal aksı (doğruyu) yeni akslar haline dönüştürmektir. Bu dönüşüm işleminde yeni akslar, verilerin maksimum varyans yönelimleri boyunca uzanır ve yeni aksların özelliği, ortogonal olmalarıdır ve bu yeni değişkenler arasında korelasyon yoktur. Numune verilerinin varyansının çoğunu açıklamak için ihtiyaç olan yeni değişkenlerin sayısı (p), n sayıdaki orijinal akslardan daha azdır. Temel bileşen analizi, çok değişkenli verilerin boyutunu indirgemek veya verileri azaltmak için bir yöntem olarak kabul edilir. Aynı zamanda değişkenlerin doğrusal bileşenlerini ortaya çıkarır.

Bu işleme bakıldığında programa yüklediğimiz verilerden birinci temel aks ve ikinci temel aks üzerinden doğrusal bileşenler bulunmuştur. İşlemlerin doğruluğu ölçüsünde doğrusal bileşenler elde edilmiştir. Bu grafik varyans-kovaryans matrisinin elemanlarının orijinin merkezine olan büyük aks birinci temel bileşeni (C1) ve bu bileşene 45° lik açı ile ikinci temel bileşen (C2) uzanmaktadır. Bir kare matris için, varyans-kovaryans matrisinin elemanları koordinat sisteminin orijini boyunca uzanır. Büyük aksın eğimi, birinci temel bileşen ile birleştirilmiş özvektör (eigenvector)dür. Özdeğerlerin simetrik bir veri matrisinden çıkarılması kısmi en küçük kareler yöntemi ve temel bileşen analizi için önemlidir. Özdeğerler ve özvektörler elde edildikten sonra yapılacak işlem diğer kemometrik hesaplamalara geçiştir. Temel bileşen analizi ile elde edilen temel bileşenler yardımıyla oluşturulan korelasyon matrisi diğer kemometrik regresyonlara (PLS, PCR...) ışık tutmaktadır.



Şekil 4.11. Kemometrik verilerden elde edilen özdeğerlerin grafiği

Şekil 4.11. de belirgin bir şekilde görüldüğü gibi özdeğerler 1. değerden 2. değere doğru düşmüştür. İlk iki faktör, toplam varyansın % 99'undan daha fazla güvenilirdir.

4.3.2. Temel bileşen regresyonu yöntemi (PCR)

PCR yöntemi kalibrasyon seti için ölçülen absorbanans matrisinin parçalanmasıyla elde edilen temel bileşen regresyonuna dayalı bir yöntemdir. Yöntemin algoritması Bölüm 1.4.1.2. de ayrıntılı olarak verilmiştir.

PCR kalibrasyon için hazırlanan kalibrasyon setinin 510 – 560 nm dalga boyu aralığında $\Delta\lambda = 5,0$ nm aralıklarla absorbanans değerleri okundu. Bölüm 1.4.1.2. de açıklanan PCR algoritmasına göre kalibrasyon setinin absorbanans ve derişim değerlerinin varyans-kovaryans matrisleri hesaplandı. Kalibrasyon seti için

absorbansların varyans-kovaryans matrisinin dekompozisyon işlemine tabi tutulmasından sonra derişimleri arasındaki matematiksel ilişkiye dayalı PCR kalibrasyonu kuruldu. Kompleksleri içeren karışımların yukarıda belirtilen dalga boylarındaki absorbans değerleri okunarak PCR kalibrasyonunda bu kompleks maddelerin miktar tayinleri gerçekleştirildi. PCR kalibrasyonu için Minitab 16 programında ilk olarak PCA değerleri hesaplanarak aşağıdaki çıktı elde edildi.

Korelasyon Matrisinin Özdeğerleri

Özdeğer	8,8397	1,9561	0,1703	0,0199	0,0106	0,0022	0,0008	0,0003
Oran	0,804	0,178	0,015	0,002	0,001	0,000	0,000	0,000
Toplam	0,804	0,981	0,997	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000
Özdeğer	0,0001	0,0000	0,0000					
Oran	0,000	0,000	0,000					
Toplam	1,000	1,000	1,000					

Değişken	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
C4	0,175	-0,605	-0,206	-0,520	-0,015	0,076	0,058	0,292	0,121
C5	0,251	-0,465	-0,255	0,413	-0,609	0,007	-0,095	-0,140	-0,018
C6	0,299	-0,317	-0,127	0,481	0,743	0,022	0,009	-0,045	-0,083
C7	0,326	-0,151	0,252	-0,397	0,086	-0,591	0,131	-0,350	-0,233
C8	0,332	-0,024	0,338	-0,259	0,070	0,725	-0,203	-0,168	0,049
C9	0,329	0,077	0,410	0,150	-0,085	-0,290	-0,652	0,323	0,133
C10	0,331	0,111	0,232	0,157	-0,073	-0,051	0,579	0,078	0,663
C11	0,326	0,172	0,099	0,082	-0,141	0,123	0,363	0,518	-0,639
C12	0,317	0,236	-0,093	0,042	-0,151	0,103	0,025	-0,588	-0,170
C13	0,305	0,286	-0,335	-0,080	-0,003	-0,037	-0,046	0,054	0,099
C14	0,287	0,329	-0,588	-0,200	0,100	-0,068	-0,185	0,126	0,129
Değişken	PC10	PC11							
C4	-0,315	0,285							
C5	0,216	-0,198							
C6	-0,014	0,029							
C7	0,244	-0,199							
C8	0,247	-0,208							
C9	-0,203	0,124							
C10	-0,079	-0,070							
C11	-0,049	-0,042							

C12	-0,567	0,321
C13	0,581	0,594
C14	-0,156	-0,563

Bu çizelge ilk üç esas bileşenin absorbandsadaki değişiminin %99,99 kadarından sorumlu olduğunu göstermektedir. Bu nedenle regresyon işlemi bu üç bileşen esas alınarak yapılabilir. Ancak yaptığımız bu çalışmada diğer bileşenleri de işin içine katarak bir regresyon eşitliği türetilmiş ve türetilen regresyon eşitlikleri aşağıda verilmiştir.

$$C_{Fe^{3+}} = 14,5737 - 81,4995 C4 + 49,1675 C5 - 10,2984 C6 + 27,7378 C7 + 29,6097 C8 - 11,1126 C9 + 19,3873 C10 + 4,0016 C11 - 26,1718 C12 - 84,0839 C13 + 72,5721 C14$$

$$C_{Al^{3+}} = -7,97389 + 35,5191 C4 - 19,8868 C5 + 4,04633 C6 - 17,075 C7 - 11,8299 C8 + 8,11323 C9 - 4,66215 C10 - 0,279601 C11 + 13,4033 C12 + 8,46699 C13 - 8,15174 C14$$

$$C_{Cu^{2+}} = 64,1456 - 266,698 C4 + 143,806 C5 - 1,1393 C6 + 130,174 C7 + 84,6884 C8 - 67,3875 C9 - 20,0663 C10 - 17,4795 C11 - 105,86 C12 + 76,7468 C13 - 5,15572 C14$$

4.3.2.1. Kalibrasyon yönteminin validasyonu

PCR yöntemini valide etmek için Fe^{3+} -ECR için 0,25-1,25 $\mu g/mL$, Al^{3+} -ECR için 0,10-0,50 $\mu g/mL$ ve Cu^{2+} -ECR için ise 0,40-1,20 $\mu g/mL$ çalışma aralığı içinde olacak şekilde farklı derişimlerde 15 adet yapay karışım çözeltilisinden ibaret olan bir set hazırlandı. Hazırlanan bu validasyon seti (Çizelge 4.1.) kullanılarak kurulan PCR kalibrasyonunun kesinlik ve doğruluğu test edildi. Geri kazanım (GK) değerleri; Fe^{3+} -ECR için % 135,10; Al^{3+} -ECR için % 99,68 ve Cu^{2+} -ECR için ise % 101,52 olarak bulundu. Standart sapma değerleri Fe^{3+} -ECR için 13,60; Al^{3+} -ECR için 8,38 ve Cu^{2+} -ECR için ise 14,74 olarak hesaplandı. PCR kalibrasyon yönteminin sentetik karışımlara uygulanması ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2. de gösterildi.

Çizelge 4.3. Fe³⁺-ECR, Al³⁺-ECR ve Cu²⁺-ECR sentetik karışımlarına PCR validasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri

Karışım (µg/mL)			Bulunan (µg/mL)			Geri kazanım (%)		
Fe ³⁺	Al ³⁺	Cu ²⁺	Fe ³⁺	Al ³⁺	Cu ²⁺	Fe ³⁺	Al ³⁺	Cu ²⁺
0,50	0,10	0,60	0,67	0,08	0,68	134,69	81,97	114,56
0,50	0,20	0,60	0,68	0,20	0,53	137,91	104,95	89,86
0,50	0,30	0,60	0,68	0,32	0,48	137,17	108,59	90,95
0,50	0,40	0,60	0,68	0,41	0,54	136,80	102,84	129,89
0,50	0,50	0,60	0,66	0,46	0,77	133,47	92,49	124,82
0,50	0,20	0,40	0,66	0,18	0,49	133,72	90,84	113,57
0,50	0,20	0,60	0,67	0,18	0,68	134,85	91,50	91,21
0,50	0,20	0,80	0,68	0,21	0,72	137,34	106,92	99,10
0,50	0,20	1,00	0,67	0,20	0,99	134,94	102,60	89,65
0,50	0,20	1,20	0,69	0,22	1,07	138,80	111,59	85,38
0,25	0,20	0,60	0,44	0,21	0,51	176,21	108,02	113,57
0,50	0,20	0,60	0,67	0,18	0,68	134,85	91,50	102,70
0,75	0,20	0,60	0,93	0,19	0,61	124,02	97,96	101,39
1,00	0,20	0,60	1,16	0,20	0,60	116,35	103,53	95,59
1,25	0,20	0,60	1,44	0,19	0,57	115,40	99,86	80,58
Ortalama						135,10	99,68	101,52
SD^a						13,60	8,38	14,74

a: Standart Sapma

4.3.2.2. PCR yöntemi için ANOVA testi

PCR kalibrasyon yönteminin doğruluk ve kesinliğini valide etmek amacıyla elde edilen sonuçlara ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1, grup içi serbestlik derecesi=28, % 95 güven aralığında F-tablo değeri 4,19 olmasına karşılık demir için hesaplanan F-test değeri 4,08 ve p-değeri 0,05; alüminyum için hesaplanan F-test değeri $1,08 \cdot 10^{-7}$ ve p-değeri 0,99 ve bakır için ise F-test değeri $1,79 \cdot 10^{-5}$ ve p-değeri de 0,99 olarak bulunmuştur.

ANOVA testinde $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p > 0,05$ olduğu için % 95 güven aralığında elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Varyans analizinde iki serbestlik derecesi kullanılır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1 Grup içi serbestlik derecesi=36. $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p > 0,05$ olduğu için bu kalibrasyon modeli ticari numunenin incelenmesinde kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir.

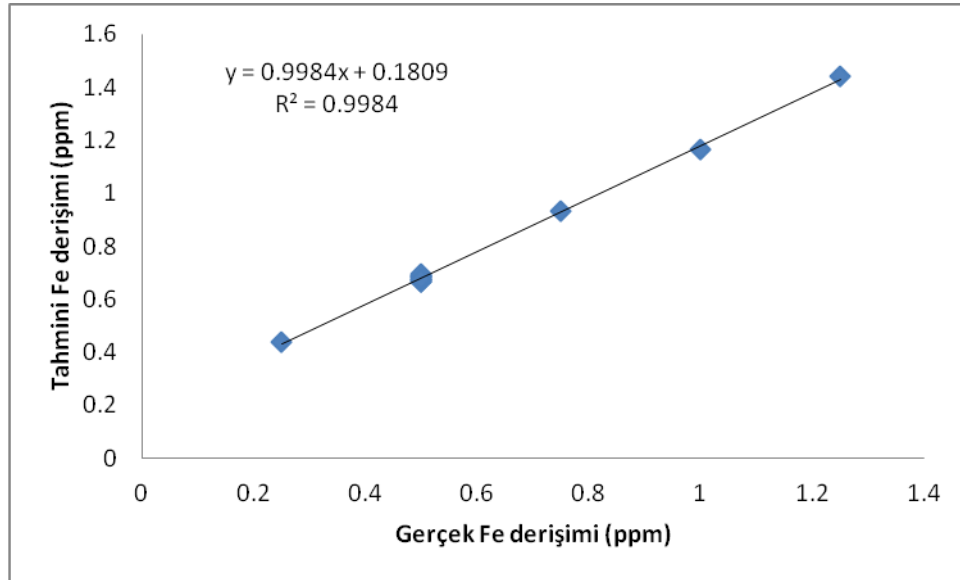
4.3.2.3. PCR yönteminde istatistiksel analiz

4.3.2.3.1. Kalibrasyonun standart hatası

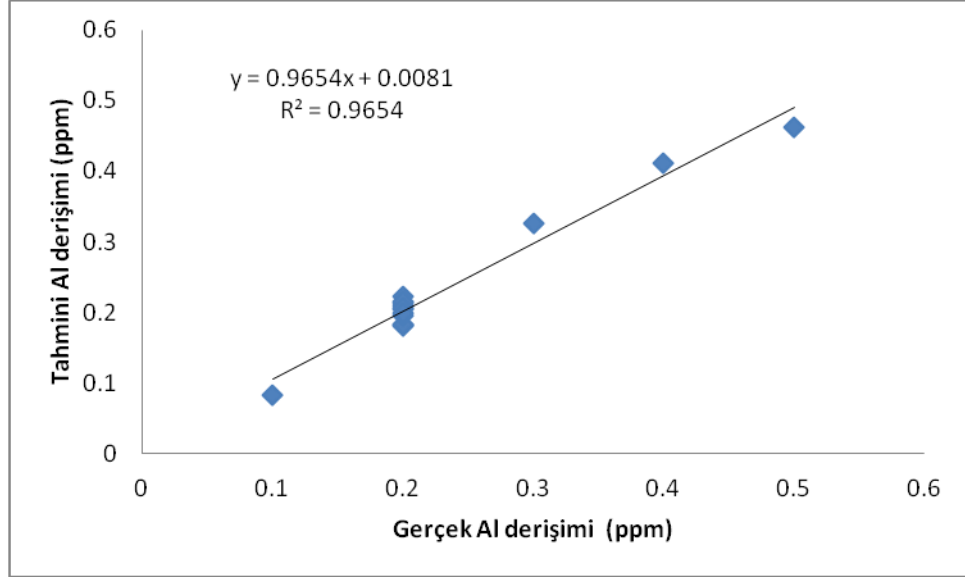
Fe^{3+} -ECR, Al^{3+} -ECR ve Cu^{2+} -ECR içeren karışımlarda bu maddelerin miktar tayini için PCR kalibrasyonunun kurulmasında çapraz validasyon işleminde tahmin edilen hataların karelerinin toplamının (Predicted Residual Error Some of Squares → PRESS) minimal değerleri elde edilmiştir. Kurulan PCR kalibrasyonunda PRESS değeri Fe^{3+} -ECR, Al^{3+} -ECR ve Cu^{2+} -ECR için sırasıyla 0,4872 ; 0,0046 ve 0,1123 olarak hesaplanmıştır. PRESS değerinin sıfıra yakın

olması doğruluk derecesini arttırmaktadır. Elde edilen PRESS değerleri yeterince küçüktür.

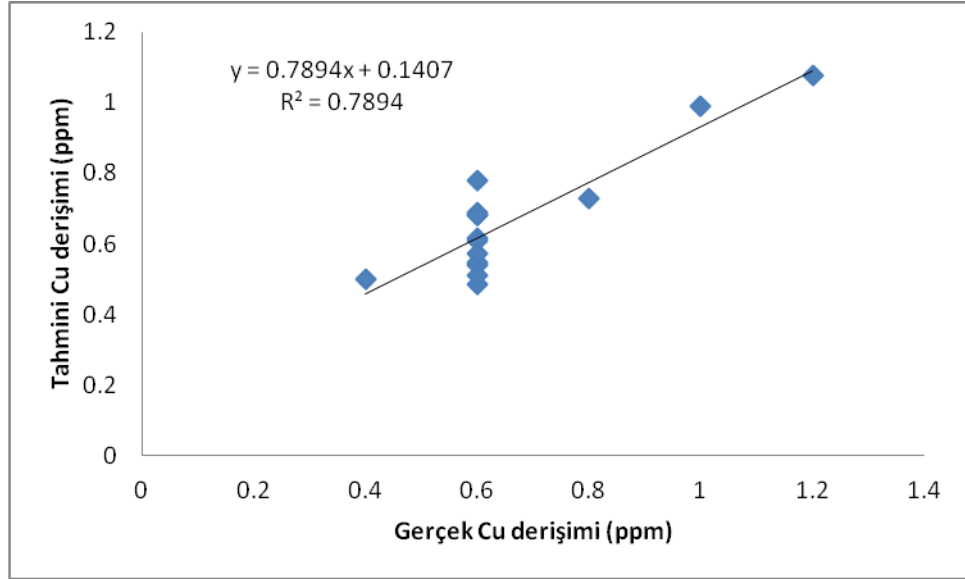
Kalibrasyonun standart hatası (Standard error of calibration →SEC), gerçek ve tahmin edilen derişimler arasındaki ilişkiye dayalı olarak hesaplandı ve Fe³⁺-ECR, Al³⁺-ECR ve Cu²⁺-ECR için sırasıyla 0,1802 ; 0,0175 ve 0,0865 olarak bulundu. Gerçek ve tahmin edilen derişim için lineer regresyon analiz sonuçları Fe³⁺-ECR, Al³⁺-ECR ve Cu²⁺-ECR için sırasıyla Şekil 4.12; 4.13 ve 4.14'de verilmiştir.



Şekil 4.12. PCR kalibrasyon basamağında Fe³⁺-ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar.



Şekil 4.13. PCR kalibrasyon basamağında Al^{3+} -ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçlar.



Şekil 4.14. PCR kalibrasyon basamağında Cu^{2+} -ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçlar.

4.3.3. Kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS)

Bölüm 1.4.1.3'de ayrıntılı olarak algoritması verilen kısmi en küçük kareler yönteminde Çizelge 4.2'ye göre hazırlanan kalibrasyon seti kullanılmıştır. Ölçümler 400–600 nm arasında yapılmıştır. Daha sonra aralık kalibrasyon seti için ve kullanılacak olan istatistik programı doğrultusunda dalga boyu aralığı 510 – 560 nm olarak daraltılmıştır. Her 5 nm de bir olmak üzere bu noktalara karşılık gelen 11 noktada absorbans okunmuştur. Kullanılan istatistik program ile kalibrasyon setinin absorbans ve derişim değerlerinin varyans-kovaryans matrisleri hesaplanmıştır. Derişimler arasındaki matematiksel ilişkiye dayalı PLS kalibrasyonu kurulmuştur. Doğal su numunesindeki kompleksleri içeren su numuneleri de yukarıda belirtilen dalga boylarındaki absorbans değerleri okunarak PLS kalibrasyonunda bu maddelerinin miktar tayinleri gerçekleştirilmiştir.

4.3.3.1. Kalibrasyon yönteminin validasyonu

PLS yöntemini valide etmek için Fe^{3+} -ECR için 0,25-1,25 $\mu g/mL$, Al^{3+} -ECR için 0,10 - 0,50 $\mu g/mL$ ve Cu^{2+} -ECR için ise 0,40-1,20 $\mu g/mL$ çalışma aralığı içinde olacak şekilde farklı derişimlerde 15 adet yapay karışım çözeltisinden ibaret olan bir set hazırlandı. Hazırlanan bu validasyon seti (çizelge 4.2.) kullanılarak kurulan PLS kalibrasyonun kesinlik ve doğruluğu test edildi. Geri kazanım (GK) değerleri; Fe^{3+} -ECR için % 100,23; Al^{3+} -ECR için % 100,44 ve Cu^{2+} -ECR için ise % 101,48 olarak bulundu. Standart sapma değerleri Fe^{3+} -ECR için 2,53; Al^{3+} -ECR için 9,21 ve Cu^{2+} -ECR için ise 14,77 olarak hesaplandı. PLS kalibrasyon yönteminin sentetik karışımlara uygulanması ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4. de gösterildi.

Çizelge 4.4. Fe³⁺-ECR, Al³⁺- ECR ve Cu²⁺ - ECR sentetik karışımlarına PLS kalibrasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri

Karışım (µg/mL)			Bulunan (µg/mL)			Geri kazanım (%)		
Fe ³⁺	Al ³⁺	Cu ²⁺	Fe ³⁺	Al ³⁺	Cu ²⁺	Fe ³⁺	Al ³⁺	Cu ²⁺
0,50	0,10	0,60	0,48	0,10	0,69	97,80	104,44	116,35
0,50	0,20	0,60	0,50	0,23	0,55	100,81	118,83	92,08
0,50	0,30	0,60	0,50	0,33	0,48	100,71	112,42	81,48
0,50	0,40	0,60	0,50	0,42	0,55	100,23	106,42	92,07
0,50	0,50	0,60	0,49	0,44	0,76	98,26	88,57	128,24
0,50	0,20	0,40	0,48	0,18	0,49	97,72	90,84	124,75
0,50	0,20	0,60	0,49	0,18	0,68	98,58	94,97	114,09
0,50	0,20	0,80	0,50	0,20	0,72	101,52	104,60	90,89
0,50	0,20	1,00	0,49	0,20	0,99	98,83	104,03	99,21
0,50	0,20	1,20	0,51	0,21	1,07	102,95	109,73	89,47
0,25	0,20	0,60	0,26	0,17	0,49	107,52	87,18	81,93
0,50	0,20	0,60	0,49	0,18	0,68	98,58	94,97	114,09
0,75	0,20	0,60	0,75	0,18	0,61	100,31	92,50	101,76
1,00	0,20	0,60	0,98	0,19	0,60	98,54	98,63	100,54
1,25	0,20	0,60	1,26	0,19	0,57	101,05	98,52	95,32
Ortalama						100,23	100,44	101,48
SD^a						2,53	9,21	14,77

a: Standart Sapma

4.3.3.2. PLS yöntemi için ANOVA testi

PLS kalibrasyon yönteminin doğruluk ve kesinliğini valide etmek amacıyla elde edilen sonuçlara ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1, grup içi serbestlik derecesi=28 % 95 güven aralığında F-tablo değeri 4,19 olmasına karşılık Fe³⁺-ECR için hesaplanan F-test değeri 3,71.10⁻⁵ ve p-değeri 0,99, Al³⁺-ECR için hesaplanan F-test değeri 0,11 ve p-değeri 1,00 ve Cu²⁺-ECR için hesaplanan F-test değeri 1,3.10⁻¹⁴ ve p-değeri 0,98 olarak bulunmuştur.

ANOVA testinde $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p\text{-değeri} > p=0,05$ olduğu için % 95 güven aralığında elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Varyans analizinde iki serbestlik derecesi kullanılır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1 Grup içi serbestlik derecesi=28. $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p\text{-değeri} > p=0,05$ olduğu için bu kalibrasyon modeli ticari numunenin incelenmesinde kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir.

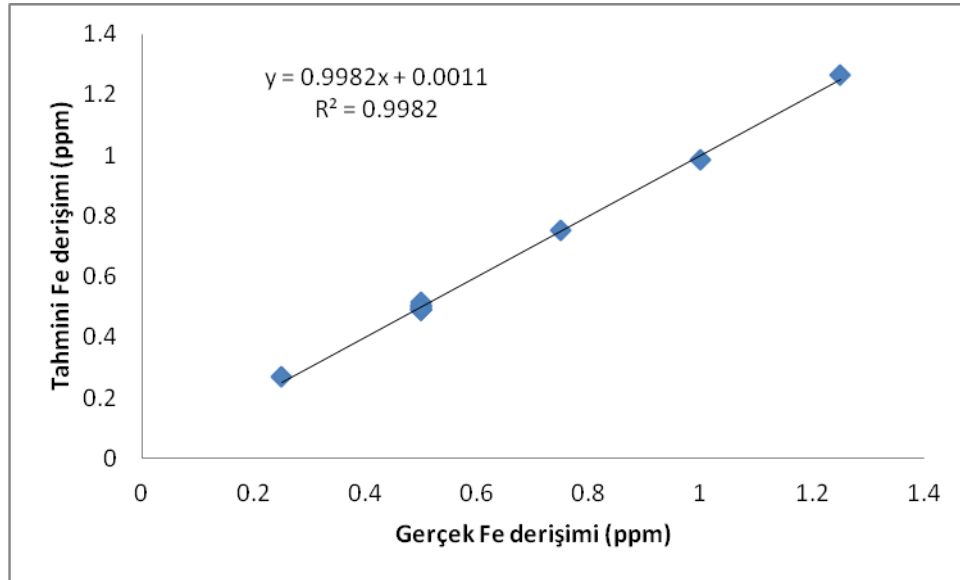
4.3.3.3. PLS yönteminde istatistiksel analiz

4.3.3.3.1. Kalibrasyonun standart hatası

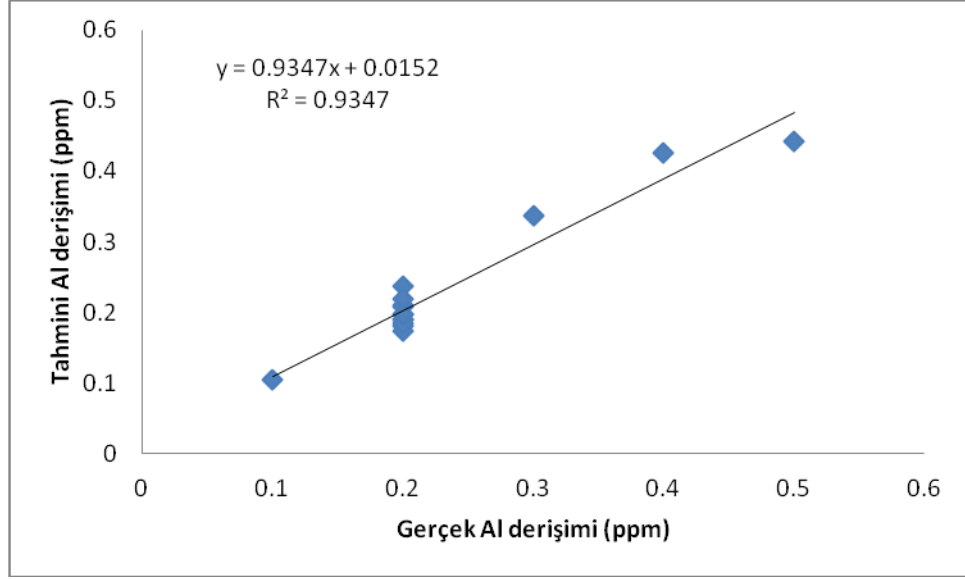
Fe³⁺-ECR, Al³⁺-ECR ve Cu²⁺-ECR içeren karışımlarda bu maddelerin miktar tayini için PLS kalibrasyonun kurulmasında çapraz validasyon işleminde tahmin edilen hataların karelerinin toplamının (Predicted Residual Error Some of Squares→ PRESS) minimal değerleri elde edilmiştir. Kurulan PLS kalibrasyonunda PRESS değeri Fe³⁺-ECR , Al³⁺-ECR ve Cu²⁺-ECR için sırasıyla 0,0015 ; 0,0087 ve 0,1133 olarak hesaplanmıştır. PRESS değerinin sıfıra yakın

olması doğruluk derecesini arttırmaktadır. Elde edilen PRESS değerleri yeterince küçüktür.

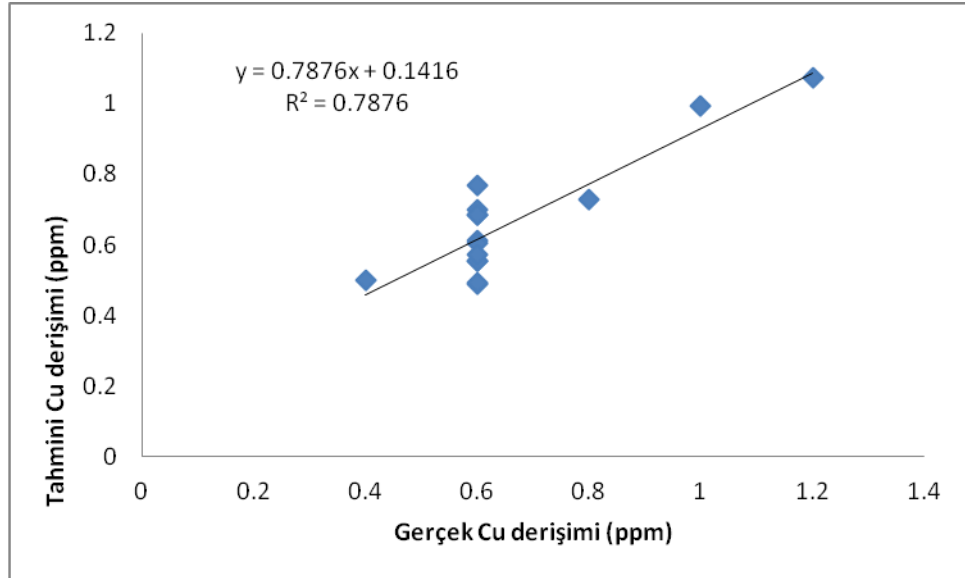
Kalibrasyonun standart hatası (Standard error of calibration →SEC), gerçek ve tahmin edilen derişimler arasındaki ilişkiye dayalı olarak hesaplandı ve Fe³⁺-ECR, Al³⁺-ECR ve Cu²⁺- ECR için sırasıyla 0,0100; 0,0241 ve 0,0869 olarak bulundu. Gerçek ve tahmin edilen derişim için lineer regresyon analiz sonuçları Fe³⁺-ECR için Şekil 4.15'de, Al³⁺-ECR için Şekil 4.16'da ve Cu²⁺-ECR için ise Şekil 4.17'de verilmiştir.



Şekil 4.15. PLS kalibrasyon basamağında Fe³⁺-ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar.



Şekil 4.16. PLS kalibrasyon basamağında Al^{3+} -ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçlar.

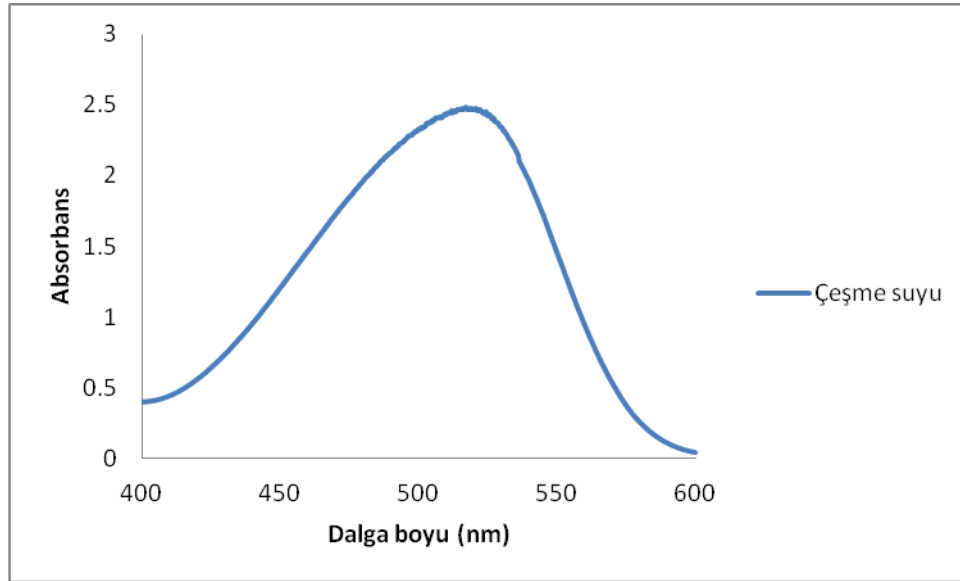


Şekil 4.17. PLS kalibrasyon basamağında Cu^{2+} -ECR için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçlar.

4.3.4. PLS ve PCR Validasyon Yönteminin Doğal Su Numunesine Uygulanması

Elde edilen veriler ışığında geliştirilen yöntemi doğal sularda Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} 'ın UV spektrofotometrik olarak tayini için öncelikle Süleyman Demirel Üniversitesi çeşme suyundan alınmıştır.

Örnek suyun, deneyin sonucunu etkilememesi adına doğal su numunesi iki defa filtreden geçirilmiş, daha sonra kompleks oluşumunda elde edilen optimum şartlar altında UV spektrofotometrede okunmuştur. Elde edilen grafik Şekil 4.18 de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Doğal su numunesinin absorpsiyon spektrumu (1.10⁻³ M HCl içerisinde).

Optimizasyon ve yöntem geliştirmenin doğrulanmış sonuçlarını doğal su numunesinde uygulanmıştır. Uygulama sonucunda geri kazanım değerleri Çizelge 4.5.'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar altı deneyin ortalamasıdır.

Çizelge 4.5. Doğal su numunesine PLS ve PCR validasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri

	PLS	PCR
\bar{X} Fe ³⁺ -ECR:	0,0174	0,0132
\bar{X} Al ³⁺ -ECR:	0,0050	0,0042
\bar{X} Cu ²⁺ -ECR:	0,0064	0,0056

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Türk standartlarına göre literatürden elde edilen değerler Çizelge 4.6'da verilmiştir. Elde edilen deney sonuçlarının da çizelgedeki sınırlar içinde olduğu görülmektedir. (Turkish Standard, 1997. Sular – icme ve kullanma sulari, TS 266 : 32, Ankara.) WHO, 1993. Guidelines for drinking – water quality, recommendations. World Health Organization, 2nd ed., 1, 188, Genova.

Çizelge 4.6. Dünya Sağlık Örgütü ve TS 266 değerleri

	WHO	TS 266
Fe	0,50	0,20
Al	0,10	0,20
Cu	2,00	3,00

Sonuç olarak kemometrik yöntemlerin Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺ karışımlarının analizinde uygun olduğu ve bu yöntemlerin tekrarlanabilirliğinin yüksek olup duyarlı ve doğru sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} in çeşitli ligandlarla en uygun kompleksleri oluşturulmuş ve optimum şartlar belirlenmiş ve daha sonra spektrofotometrik yöntemle bir arada analizi yapılmıştır.

Optimum şartlar oluşturulurken çeşitli parametreler göz önüne alınmıştır. Bunlardan ligand miktarı çalışmada 1,2; optimum pH 4 olarak tespit edilmiştir. Oluşan metal - ligand kompleksinin bekletme süresine etkisi olmadığı saptanmıştır. Metal derişimi-absorbans ilişkisinin saptandığı denemelerde Al^{3+} için 0,9863, Fe^{3+} için 0,9791 ve Cu^{2+} için ise 0,9975 R^2 değerlerine ulaşılmıştır. Bu sonuçlar bize metal-absorbans ilişkisinin en yüksek değerlerde olduğunu göstermektedir. Çalışmada ayrıca kadmiyum, kurşun ve mangan iyonlarının çalıştığımız her üç metalin absorpsiyonuna etki etmediği anlaşılmıştır.

Optimum şartlar sağlandıktan sonra çalıştığımız metallerin her birinin saf haldeki spektrumları alınmış ve aynı dalga boylarında absorbans vermelerinden yararlanarak bu metallerin sentetik karışımları hazırlanmıştır. Şekil 4' den de görüldüğü gibi her üç metal aynı dalga boyu aralığında girişim yapmaktadır bu durumda her üç metalin klasik spektroskopik yaklaşımlarla aynı anda miktar tayinlerinin mümkün olmadığı görülmüştür. Bu gibi hallerde kemometri bize yardımcı olduğundan bu metallerin bir arada tayinleri için PCR ve PLS kemometrik yöntemleri geliştirilmiştir. Hazırlanan validasyon seti (Çizelge 4.2) kullanılarak kurulan PCR ve PLS kalibrasyonun kesinlik ve doğruluğu test edilmiştir. PCR ile geri kazanım (GK) değerleri; Al^{3+} için % 99,68 ; Fe^{3+} için % 135,10 ve Cu^{2+} için % 101,52 olarak PLS ile ise Al^{3+} için % 100,44 ; Fe^{3+} için % 100,23 ve Cu^{2+} için % 101,48 bulunmuştur.

PCR ve PLS kalibrasyon yönteminin doğruluk ve kesinliğini doğrulamak amacıyla elde edilen sonuçlara ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1, grup içi serbestlik derecesi=28 % 95 güven aralığında F-tablo değeri 4,19 olmasına karşılık PCR için, Al³⁺ için hesaplanan F-test değeri 1,78.10⁻⁷ ve p-değeri 0,99, Fe³⁺ için hesaplanan F-test değeri 4,08 ve p-değeri 0,05 ve Cu²⁺ için ise hesaplanan F-test değeri 1,79.10⁻⁵ ve p değeri 0,99 olarak bulunmuştur. PLS için ise Al³⁺ için hesaplanan F-test değeri 0,11 ve p-değeri 1,00, Fe³⁺ için hesaplanan F-test değeri 3,7.10⁻⁵ ve p-değeri 0,99 ve Cu²⁺ için ise hesaplanan F-test değeri 1,30.10⁻¹⁴ ve p değeri 0,98 olarak bulunmuştur. ANOVA testinde $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p > 0,05$ olduğu için % 95 güven aralığında elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Varyans analizinde iki serbestlik derecesi kullanılmıştır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1 Grup içi serbestlik derecesi=28. $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p > 0,05$ olduğu için bu kalibrasyon modellerinden PLS' in bu metallerin karışımlarının analizinde PCR' ye karşı üstünlük kurduğunu bize göstermiştir.

Al³⁺, Fe³⁺ ve Cu²⁺ içeren karışımlarda bu maddelerin miktar tayini için PCR ve PLS kalibrasyonun kurulmasında çapraz validasyon işleminde tahmin edilen hataların karelerinin toplamı (Predicted Residual Error Some of Squares → PRESS) değerleri de hesaplanmıştır. Kurulan PCR kalibrasyonunda PRESS değeri Al³⁺, Fe³⁺ ve Cu²⁺ için sırasıyla 0,0046 ; 0,4872 ve 0,1123 olarak ve PLS için ise PRESS değeri Al³⁺, Fe³⁺ ve Cu²⁺ için sırasıyla 0,0087; 0,0015 ve 0,1133 olarak hesaplanmıştır. PRESS değerinin sıfıra yakın olması doğruluk derecesini arttırmaktadır. Elde edilen PRESS değerleri PLS' de yeterince küçüktür ve bu da PLS yönteminin bu çalışmada PCR 'ye üstün olduğunu bize tekrar göstermektedir.

Sonuç olarak, geliştirilen kemometrik yöntemlerden PLS yönteminin Al³⁺, Fe³⁺ ve Cu²⁺ karışımlarının analizinde uygun olduğu ve bu yöntemin tekrarlanabilirliğinin yüksek olup duyarlı ve doğru sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Absalan, G., Nekoeinia, M., 2005. Simultaneous kinetic determination of Fe(II) and Fe(III) based on their reactions with NQT4S in micellar media by using PLS and PCR methods. *Analytica Chimica Acta*, 531(2), 293-298.
- Ahmed, M., J., Hossan, J., 1995. Spectrophotometric determination of aluminium by morin, *Talanta*, 42, 1135 – 1142
- Bulut, V. N., Arslan, D., Ozdes, D., Soylak, M., Tüfekçi, M., 2010. Preconcentration, separation and spectrophotometric determination of aluminium(III) in water samples and dialysis concentrates at trace levels with 8-hydroxyquinoline-cobalt(II) coprecipitation system. *Journal of Hazardous Materials*, 182, 331–336
- Chamsaz, M., Arbab, M.H., Hosseini, M.S., 2000. Flotation Spectrophotometric Determination of Aluminium with Alizarin. *Analytical Letters*, 33,8.
- Coscione, A., R., Andrade, J., C., , Poppi, R., J., Mello, C., Raij, B., Abreu, M., F., 2000. Multivariate calibration applied to a highly interfering chemical system The simultaneous spectrophotometric determination of aluminium and iron in plants using xylenol orange and partial least-squares regression. *Analytica Chimica Acta* 423, 31–40.
- Dinç,E., 2007. Kemometri Çok Değişkenli Kalibrasyon Yöntemleri, 27(1), 61-92.
- Dinç,E., 2009. Kemometrik İşlem ve Yöntemlerin Analitik Kimyadaki Tipik Uygulamaları, Uygulamalı Kemometri Yaz Okulu Notları, 1-5.
- Ghasemi, J. 2003.Spectrophotometric simutaneous determination of cobalt,, copper and nickel using nitrozo-R-salt in alloys by partial least squares. *Analytica Chimica Acta*, 510, 121-126.
- Ghasemi, J., Niazi, A. and Safavi, A. 2001. Simultaneous Catalytic Determination of Cobalt, Nickel and Copper Using Resazurine sulfide reaction and Partial Least Squares Calibration Method. *Analytical Letters*, 34 (8), 1389-1399.
- Ghasemi, J., Niazi, A., 2001. Simultaneous determination of cobalt and nickel. Comparison of prediction ability of PCR and PLS using original, first and second derivative spectra. *Microchemical Journal*, 68(1), 1-11.
- Gündüz, T., 2002. İnrümental Analiz. Gazi Kitapevi, 1343, Ankara.
- Holler, S.W., 1999. Analitik Kimya Temelleri. Çev. Kılıç, E., Köseoğlu, F. Bilim Yayınları 868s, Ankara.
- Kaya, B., 2007. Kombine Farmasotik Preparatlardan Telmisartan ve Hidroklorotiyazid' in Kemometrik Kalibrasyon Yöntemleriyle Aynı Anda

Tayini. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 104s, Ankara.

- Kendüzler, E., Türker, A. T., 2003. Atomic absorption spectrophotometric determination of trace copper in waters, aluminium foil and tea samples after preconcentration with 1-nitroso-2-naphthol-3,6-disulfonic acid on Amborsorb 572. *Analytica Chimica Acta* 480(2), 259 - 266.
- Kitiş F., 2011. İlaç numunelerinde kafein ve parasetamol'ün kemometrik yöntemlerle tayinleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 60s, Isparta.
- Martens, H., Naes, T. 1989. Multivariate Calibration. *Journal of Chemometrics*, 4 (6), 441-444.
- Martire, C., Hainberger, L., 2004. Sensitive and selective spectrophotometric determination of aluminium with Chrome Fast Pure Blue B and cetyltrimethylammoniumbromide. *Microchimica Acta*, 146, 73-78.
- Şener, M., 2006. İçme Sularında Kalsiyum ve Magnezyumun Spektrofotometrik Metotla Simultane Tayini ve Yapay Sinir Ağları İle Kemometrik Analizi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 49s, Isparta.
- Moneeb, M. S., 2006. Polagraphic chemometric determination of zinc and nickel in aqueous samples. *Talanta*, 70, 1035-1043.
- Niazi, A., 2006. Simultaneous spectrophotometric determination of Fe-II and Fe-III in pharmaceuticals by partial least squares with chromogenic mixed reagents, *Croatica Chemica Acta*, 79 (4), 573-578.
- Özdemir, H. İ., 1981. Genel Anorganik ve Teknik Kimya. Matbaa Teknisyenleri Basımevi, 848s, İstanbul.
- Rodríguez, G., Garcia, A.M.T., Povan, A.C., Ojeda, B.C., 1998. Simultaneous determination of iron, cobalt, nickel and copper by UV-visible spectrophotometry with multivariate calibration. *Talanta*, 47, 463-470.
- Safavi, H. Abdollahi, R. Mirzajani, 2006. Simultaneous spectrophotometric determination Fe(III), Al(III) and Cu(II) by partial least-squares calibration method. *Spectrochimica Acta Part A* 63, 196 - 199.
- Shingo Gotoh, Norio Teshima, Tadao Sakai, Kazunori Ida, Nobuo Ura, 2003. Flow-injection simultaneous determination of copper and iron in patient sera with 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(*N*-propyl-*N*-sulfopropylamino)aniline and its application to disease diagnosis. *Analytica Chimica Acta*, 499, 91-98.
- Şahin, S., Demir, C., Güçer, Ş., 2007. Simultaneous UV-vis spectrophotometric determination of disperse dyes in textile wastewater by partial least

squares and principal component regression. *Dyes and Pigments*. 73(3), 368-376.

Tataroğlu, C., 2007. Alüminyum ve demir iyonlarını içeren karışımları eriyokrom siyanin R kompleksleri halinde kısmi en küçük kareler yöntemi ile analizi, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi.

Tezcan, R., Tezcan, H., 2007. *Metaller Kimyası*. Nobel Kitabevi, s. 216, Ankara.

Türkish Standard, 1997. Sular – içme ve kullanma suları, TS 266 : 32, Ankara.

Uyanık, A., 2008. *Analitik Kimyacılar için İstatistik ve Kemometri*, 254-259.

Vandeginste B. M. G., Massart D. L., Buydens L. M. C., De Jong S., Lew_ P. J. And Smeyers-Verbeke. J. 1998. *Handbook Of Chemometrics And Qualimetrics Part B*, Elsevier, Amsterdam.

WHO, 1993. *Guidelines for drinking – water quality, recommendations*. World Health Organization, 2nd ed., 1, 188, Genova.

Zarei, K., Atabati, M., Malekshabani, Z. 2006. Simultaneous spectrophotometric determination of iron, nickel and cobalt in micellar media by using direct orthogonal signal correction-partial least squares method. *Analytica Chimica Acta*, Vol. 556; s.247–254.

Zhu Ying-Quan, Zhang Lin, Li Jun-Yi (1983). Spectrophotometric determination of aluminium with chlorophosphonazo I, *Talanta* , 30, 291 – 293.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ahmet KABA
Doğum Yeri ve Yılı : Denizli, 1988
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : hmtkb@yandex.com

Taranmış
Fotoğraf
(3.5cm x 3cm)

Eğitim Durumu

Lise : Denizli Anafartalar Lisesi, 2003
Lisans : SDÜ, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
Yüksek Lisans : SDÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya

Mesleki Deneyim

75. Yıl Tekstil Meslek Lisesi Ücretli Öğretmenlik Denizli, 2014-2015

Yayınları

1. Kaba A., Aktaş A.H., 2014. Çeşitli ligandları kullanarak Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} nin bir arada spektrofotometrik tayinleri için yöntem geliştirilmesi ve elde edilen verilerin en küçük kareler kalibrasyon yöntemi (PLS) ve temel bileşen regresyon (PCR) yöntemi ile değerlendirilmesi, SAÜ Fen Bilimleri Dergisi, 18(1), 71-79.