

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KADMİYUM VE BAKIRIN YENİLİKÇİ SIVI FAZ
MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ SONRASI YARIKLI
KUVARS TÜP DESTEKLİ ALEVLİ ATOMİK ABSORPSİYON
SPEKTROFOTOMETRE SİSTEMİNDE ESER SEVİYELERDE
TAYİNLERİ**

Gözde ÖZZEYBEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Programı

Danışman
Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Temmuz, 2021

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KADMİYUM VE BAKIRIN YENİLİKÇİ SIVI FAZ
MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ SONRASI YARIKLI
KUVARS TÜP DESTEKLİ ALEVLİ ATOMİK ABSORPSİYON
SPEKTROFOTOMETRE SİSTEMİNDE ESER SEVİYELERDE
TAYİNLERİ

Gözde ÖZZEYBEK tarafından hazırlanan tez çalışması 12.07.2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE, Danışman

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Yusuf DİLGİN, Üye

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Doç. Dr. Fatma TURAK, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Kadmiyum ve Bakırın Yenilikçi Sıvı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemleri Sonrası Yarıklı Kuvars Tüp Destekli Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre Sisteminde Eser Seviyelerde Tayinleri başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerin eve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Gözde ÖZZEYBEK

İmza



Kaybettiğim
Anneannem, Dedem
ve
Ablam'a

TEŞEKKÜR

Öncelikle, lisans hayatımdan bu yana hem bilimsel hem de kişisel olarak gelişmemde katkısı olan, bilgisini, sabrını ve anlayışını her daim hissettiğim Danışmanım Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE'ye,

Lisans hayatımın en başından beri devam eden dostluğu ve her konudaki eşsiz çalışma arkadaşlığı ile hayatımın önemli bir parçası olan Sezin ERARPAT'a,

Beni dünyanın en şanslı insanı yapan annem Selma ÖZPAK, ablam Müge ÖZZEYBEK, yeğenim Rüzgar Efe YILMAZ ve daima kalbimde olacak olan ablam, anneannem ve dedem, Özge ÖZZEYBEK, Malike ve Sırrı ÖZPAK'a,

Destegi ve sevgisini her zaman hissettiğim, hayatıma olduğu kadar akademik çalışmalarına da dahil olan sevgili yol arkadaşım Hasan İlker KAYA'ya,

Bilgisiyle ve dostluğuyla her alanda bana destek olan, enejiyle güven veren, tanımış olmaktan gurur duyduğum Dr. Dotse Selali CHORMEY'e,

Tezimin deneysel kısmında beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum İpek ŞAHİN ve Tülay BORAHAN başta olmak üzere tüm Bakırdere Araştırma Grubu'na,

Tez yazım sürecinde dahil olduğum ve akademik olarak bana desteklerini esirgemeyen, başta Test Analiz Departmanı olmak üzere ELSO KİMYA Sanayi ve Ticaret A.Ş. ailesine sonsuz minnet, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Gözde ÖZZEYBEK

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvi
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	3
2 LİTERATÜR ÖZETİ	5
2.1 Kadmiyum	5
2.2 Bakır	6
2.3 Mikroekstraksiyon Yöntemleri	8
2.4 Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAAS)	12
2.4.1 Alev	13
2.4.2 Nebulizer sistemi (Sisleştirici)	14
2.5 Yeşil Kimyaya Uygunluk	15
2.6 Validasyon	17
2.7 Literatürde Yapılan Çalışmalar	19
3 MATERYALLER VE METOTLAR	21
3.1 Kimyasallar ve Reaktifler	21
3.2 Cihazlar	21
3.3 DeneySEL Prosedürler	22
3.3.1 TF-DSSME Yöntemi	22
3.3.2 EZK-DSSME Yöntemi	23
3.3.3 Verbenon-Hidrazon Ligand Sentezi	23
3.4 Gerçek Örnekler	24

3.4.1 Cd-TF-DSSME-YKT-AAAS metodunun balık yağı şurubuna uygulanması	24
3.4.2 Cu-EZK-DSSME-YKT-AAAS metodunun klimalardan elde edilen atık su numunelerine uygulanması.....	24
4 SONUÇ VE ÖNERİLER	25
4.1 Ters Faz Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon-Yarıklı Kuvars Tüp-Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (TF-DSSME-YKT-AAAS) Yöntemi Kullanarak Balık Yağı Örneklerinde Eser Miktarda Kadmiyum Tayini	25
4.1.1 Dağıtıcı Çözücü Türü ve Hacmi Optimizasyonu.....	25
4.1.2 Ekstraksiyon Çözücü Hacmi Optimizasyonu.....	27
4.1.3 Karıştırma Türü ve Periyodu Optimizasyonu.....	28
4.1.4 Isıtma Etkisi.....	30
4.1.5 Başlangıç Miktarı Optimizasyonu.....	31
4.1.6 Mikroekstraksiyon Sonrası Sulu Faz Hacmi Optimizasyonu.....	32
4.1.7 Santrifüj Periyodu Optimizasyonu.....	33
4.1.8 AAS ve YKT-AAAS Sistem Optimizasyonları.....	34
4.1.9 Sistem Analitik Performansının Belirlenmesi.....	38
4.1.10 Geri Kazanım Çalışmaları.....	42
4.1.11 Yeşil Kimya Değerlendirmesi.....	42
4.2 Eş Zamanlı Kompleksleşme-Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon- Yarıklı Kuvars Tüp-Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (EZK-DSSME-YKT-AAAS) Yöntemi Kullanılarak Klimalardan Elde Edilen Atık Sularda Eser Miktarda Bakır Tayini	43
4.2.1 Tampon Çözelti Türü ve Hacmi Optimizasyonu.....	44
4.2.2 Verbenon-Hidrazon Ligandının Hazırlandığı Çözücü Hacmi Optimizasyonu	45
4.2.3 Dağıtıcı Çözücü Türü ve Hacmi.....	47
4.2.4 Organik Fazın Buharlaştırılma Sıcaklığının Optimizasyonu.....	49
4.2.5 Karıştırma Türü ve Periyodu Optimizasyonu.....	50
4.2.6 Elüent Hacmi Optimizasyonu.....	52

4.2.7 AAAS ve YKT-AAAS Sistem Optimizasyonları.....	53
4.2.8 Analitik Performans.....	55
4.2.9 Geri Kazanım Çalışmaları.....	59
4.3 Sonuçlar	60
KAYNAKÇA	62
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	69



SİMGE LİSTESİ

dak	Dakika
rpm	Dakikadaki dönüş sayısı
D2	Döteryum
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
sa	Saat
s	Saniye
°C	Santigrat
n	Tekrarlanan numune sayısı
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

AAAS	Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
AFS	Atomik Floresans Spektrometresi
AS-SFME	Akıllı Solvent Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
BSS	Bağıl Standart Sapma
CHL	Kloroform
DSSME	Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon
ETAAS	Elektro-Termal Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
EtOH	Etanol
EZK-DSSME	Eş Zamanlı Kompleksleşme-Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon
GFAAAS	Grafit Fırınli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
IEP-KS	İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
IEP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi
IPA	2-Propanol
GL	Gözlenebilme Limiti
TL	Tayin Limiti
MeOH	Metanol
SFME	Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
SPE	Katı Faz Ekstraksiyon
SPME	Katı Faz Mikroekstraksiyon
SSE	Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon
TDME	Tek Damla Mikroekstraksiyon
UD-DSSME	Ultrasonik Ses Destekli Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon
VD-DSSME	Vorteks Destekli Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon
YKODME	Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyon
YKT	Yarıklı Kuvars Tüp

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) yöntemi gösterimi [81]	10
Şekil 2.2	Eş zamanlı kompleksleşme dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (EZK-DSSME) yöntemi gösterimi.	11
Şekil 2.3	Ters faz dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (TF-DSSME) yöntemi.	12
Şekil 2.4	Alevli atomik absorpsiyon spektrofotometre sistemi [50].....	13
Şekil 2.5	AAAS sisteminde kullanılan alev ve bölgeleri [53].....	14
Şekil 2.6	YKT sistemi (A) YKT takılmasından önce ve (B) YKT takılması sonrasında alevin hareket yolu [50].....	15
Şekil 2.7	Yeşil analitik kimya metodu açısından analitik prosedürlerin önemli bileşenleri [59].....	16
Şekil 2.8	Validasyon basamakları.....	18
Şekil 3.1	Verbenon-Hidrazon ligandının molekül yapısı [67].....	24
Şekil 4.1	Dağıtıcı çözücü türü optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, dağıtıcı çözücü miktarı 2,0 mL, karıştırma türü/periodyu vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C)	26
Şekil 4.2	Dağıtıcı çözücü hacmi optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, dağıtıcı çözücü türü 2-propanol, karıştırma türü/periodyu vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C)	27
Şekil 4.3	Ekstraksiyon çözücü hacmi optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, dağıtıcı türü ve çözücü miktarı 2-propanol ve 2,0 mL, karıştırma türü/periodyu sırasıyla vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C)	28
Şekil 4.4	Karıştırma türü optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, ekstraksiyon çözücü hacmi 300 µL, dağıtıcı türü ve çözücü miktarı 2-propanol ve 2,0 mL, karıştırma periyodu sırasıyla 15 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C).....	29
Şekil 4.5	Karıştırma periyodu optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, ekstraksiyon çözücü hacmi 300 µL, dağıtıcı türü ve çözücü miktarı 2-propanol ve 2,0 mL, karıştırma türü vorteks, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C).....	30
Şekil 4.6	Isıtma etkisi optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, ekstraksiyon çözücü hacmi 300 µL, dağıtıcı türü ve çözücü miktarı 2-propanol ve 2,0 mL, karıştırma türü/periodyu sırasıyla vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm))	31

Şekil 4.7	Başlangıç miktarı optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler: ekstraksiyon çözücü hacmi 300 µL, dağıtıcı türü ve çözücü miktarı 2-propanol ve 2,0 mL, karıştırma türü/periodyu sırasıyla vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C) 32
Şekil 4.8	Sulu faz hacmi optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, ekstraksiyon çözücü hacmi 300 µL, dağıtıcı çözücü türü/miktarı 2-propanol/2,0 mL, karıştırma türü/periodyu vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C) 33
Şekil 4.9	Santrifüj periyodu optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, ekstraksiyon çözücü hacmi 300 µL, dağıtıcı türü/çözücü miktarı 2-propanol/2,0 mL, karıştırma türü/periodyu vorteks/45 s, örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C ve sulu faz hacmi 100 µL) 34
Şekil 4.10	AAAS sistemi için yakıt akış hızı optimizasyonu..... 35
Şekil 4.11	AAAS sisteminde kullanılan yarıklı kuvars tüp (YKT) gösterimi. 36
Şekil 4.12	YKT-AAAS sistemi için yakıt akış hızı optimizasyonu. 36
Şekil 4.13	YKT-AAAS sistemi için YKT yüksekliği optimizasyonu. 37
Şekil 4.14	AAAS sistemi için kalibrasyon doğrusu (n=3)..... 39
Şekil 4.15	YKT-AAAS sistemi için kalibrasyon doğrusu (n=3)..... 39
Şekil 4.16	TF-DSSME-AAAS sistemi için kalibrasyon doğrusu (n=6)..... 40
Şekil 4.17	TF-DSSME-YKT-AAAS sistemi için kalibrasyon doğrusu (n=6)..... 40
Şekil 4.18	Tampon çözelti türü optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler: tampon çözelti 1,0 mL, karıştırma vorteks/15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL)..... 44
Şekil 4.19	Tampon çözelti hacmi optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9, karıştırma vorteks/15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL) 45
Şekil 4.20	Verbenon-hidrazon ligand hacmi optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/15s, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL)..... 47
Şekil 4.21	Dağıtıcı çözücü türü optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü 2,0 mL) 48
Şekil 4.22	Dağıtıcı çözücü hacmi optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol) 49
Şekil 4.23	Organik fazın buharlaştırma sıcaklığı optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL) 50

Şekil 4.24	Karıştırma türü optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma 15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL, faz buharlaştırma sıcaklığı oda sıcaklığı (25°C))	51
Şekil 4.25	Karıştırma periyodu optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler; tampon .çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/45s, ekstraksiyon çözücü ve ligand .çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL, faz .buharlaştırma sıcaklığı oda sıcaklığı (25°C))	52
Şekil 4.26	Elüent hacmi optimizasyonu. (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/45s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL, faz buharlaştırma sıcaklığı oda sıcaklığı (25°C))	53
Şekil 4.27	AAAS sistemi için yakıt akış hızı optimizasyonu.....	54
Şekil 4.28	YKT-AAAS sistemi için yakıt akış hızı optimizasyonu.	54
Şekil 4.29	AAAS sisteminin kalibrasyon doğrusu.....	56
Şekil 4.30	YKT-AAAS sisteminin kalibrasyon doğrusu.....	56
Şekil 4.31	EZK-DSSME-AAAS sisteminin kalibrasyon doğrusu.	57
Şekil 4.32	EZK-DSSME-YKT-AAAS sisteminin kalibrasyon doğrusu.	57

TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1	TF-DSSME, AAAS ve YKT-AAAS sistemlerine ait optimum koşullar	38
Tablo 4.2	Geliştirilen yöntemlere ait sistem analitik performans değerlerinin literatür ile kıyaslanması.....	41
Tablo 4.3	Balık yağı örnekleri için yüzde geri kazanım çalışmaları sonuçları	42
Tablo 4.4	Optimizasyon sonuçları.....	55
Tablo 4.5	Geliştirilen yöntemlere ait sistem analitik performans değerleri ve literatür ile kıyaslanması.....	58
Tablo 4.6	Yüzde geri kazanım sonuçları	60



Kadmiyum ve Bakırın Yenilikçi Sıvı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemleri Sonrası Yarıkli Kuvars Tüp Destekli Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre Sisteminde Eser Seviyelerde Tayinleri

Gözde ÖZZEYBEK

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Ağır metaller eser seviyelerde bile canlı organizmalar için toksik elementlerdir. Bu metaller insan vücudunun farklı bölümlerine zarar verirler. Bu nedenle kadmiyum ve bakırın eser seviyelerde tayini için duyarlı analitik yöntem geliştirme önemli bir ihtiyaçtır. Bu tez kapsamında eser seviyede kadmiyum ve bakır sıvı faz esaslı mikroekstraksiyon yöntemleri sonrasında yarıkli kuvars tüp-atomik absorpsiyon spektrofotometresi (YKT-AAAS) ile tayin edilmiştir. AAAS'nin duyarlılığı mikroekstraksiyon yöntemleri ve YKT kullanımı ile arttırılmıştır.

Balık yağı örneklerinde bulunan eser seviyedeki kadmiyum tayini için ters faz sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (TF-DSSME) yöntemi YKT-AAAS sistemi ile birleştirilmiştir. Mikroekstraksiyon parametreleri tek değişkenli yaklaşım kullanılarak optimize edilmiştir. Optimize edilen TF-DSSME-YKT-AAAS yönteminin gözlenebilme limiti (GL) ve tayin limiti (TL) sırasıyla 0,74 ve 2,48 µg/kg olarak hesaplanmıştır. AAAS sistemine göre, YKT-AAAS sistemi 2,89 kat, TF-DSSME-AAAS sistemi 15,71 kat ve TF-DSSME-YKT-AAAS sistemi 40 kat daha hassas olduğu tespit edilmiştir.

Matriks eşleme kalibrasyon yöntemi balık yağı örneklerindeki matriks etkisini ortadan kaldırmak için kullanılmıştır. Balık yağı örnekleri için geri kazanım değerleri %96 ve %106 arasında elde edilmiştir.

Eş zamanlı kompleksleşme dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon-yarıklı kuvars tüp-alevli atomik absorpsiyon spektrofotometri (EZK-DSSME-YKT-AAAS) yöntemi klima atık suyunda eser seviyede bulunan bakırın tayini için geliştirilmiştir. Verbenon-hidrazon ligandı bakır kompleksi elde etmek için kullanılmıştır. Yüksek sinyal/gürültü oranı elde etmek amacıyla pH ve tampon çözelti hacmi, ligand hacmi, dağıtıcı çözücü türü ve hacmi, karıştırma türü ve periyodu, elüent hacmi ve buharlaşma sıcaklığı optimize edilmiştir. Bu yöntemde GL ve TL değerleri sırasıyla 6,0 ve 20 µg/L olarak bulunmuştur. AAAS sistemine göre, YKT-AAAS sisteminin 2,2 kat, EZK-DSSME-AAAS sisteminin 19,7 kat ve EZK-DSSME-YKT-AAAS sisteminin 50 kat daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Geliştirilen bu yöntem, gerçek örnek olarak klimalardan elde edilen atık su örneklerine uygulanmış ve %97-123 arasında yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bakır, kadmiyum, AAAS, mikroekstraksiyon, yeşil kimya

Determination of Cadmium and Copper at Trace Levels by Slotted Quartz Tube Assisted Flame Atomic Absorption Spectrophotometry After Novel Liquid Phase Microextraction Methods

Gözde ÖZZEYBEK

Department of Chemistry

Master of Science Thesis

Advisor: Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Heavy metals are toxic elements for organisms even at trace levels. These metals can damage different parts of human bodies. Hence, it is an essential need to develop sensitive analytical methods for the determination of cadmium and copper at trace levels. In the scope of this thesis, cadmium and copper were determined at trace levels by slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrophotometry (SQT-FAAS) after liquid phase based microextraction methods. Sensitivity of FAAS system was improved via microextraction methods and SQT usage.

Reverse phase dispersive liquid-liquid microextraction (RP-DLLME) method was combined with SQT-FAAS system for the determination of cadmium at trace levels in fish oil samples. Microextraction parameters were optimized by univariate approach. Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) for the optimized RP-DLLME-SQT-FAAS method were calculated as 0.74 and 2.48 µg/kg, respectively.

The SQT-FAAS, RP-DLLME-FAAS and RP-DLLME-SQT-FAAS systems were 2.89, 15.71 times and 40 times more sensitive than FAAS system, respectively. Matrix matching calibration method was employed to eliminate matrix effects in fish oil samples. Percent recovery results for fish oil samples were obtained between 96 and 106%.

Simultaneous complexation dispersive liquid-liquid microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrophotometry (SC-DLLME-SQT-FAAS) method was developed for the determination of copper at trace levels in air conditioner effluent. Verbenone-hydrazone ligand was used to obtain copper complex. In order to achieve high signal/noise ratios, pH and buffer solution volume, ligand volume, dispersive solvent type and volume, mixing type and period, eluent volume and evaporation temperature were optimized. In this method, LOD and LOQ values were found to be 6.0 and 20 µg/L, respectively. It was observed that SQT-FAAS, RP-DLLME-FAAS and RP-DLLME-SQT-FAAS systems were 2.2, 19.7 and 50 times more sensitive than FAAS system. The developed method was applied to effluent obtained from air conditioners and high recovery results between 97-123% were obtained.

Keywords: Copper, cadmium, microextraction, green chemistry, FAAS

1.1 Literatür Özeti

Son yıllarda, balık yağı takviyelerinin tüketimi her yaştan insan hatta hamile kadınlar arasında popüler hale gelmiştir. Bunun nedeni ise omega-3 yağ asidinin önemli bir kaynağı olmasıdır [1], [2]. Omega-3 yağ asitleri, α -linolenik asitler gibi bazı temel bileşikler içerir [2]. Son zamanlarda yapılan araştırmalar, balık yağı takviyesi almanın depresyondan korunma [3], felç [4], kardiyovasküler hastalıklar ve yüksek tansiyon [5] rahatsızlıklarını önleme gibi sayısız faydası olduğunu göstermiştir.

Balıktaki toksik ağır metal içeriğinin, mevcut omega-3 yağ asitlerinin olumlu etkilerini ortadan kaldıracı olduğu rapor edilmiştir [6]. Yüzyıllardır Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak kullanılan bir diğer yağ ise zeytinyağıdır [7]. Bu bakımdan zeytinyağlarının kalitesi uzun yıllar önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Zeytinyağının hem kalitesini hem de güvenliğini belirlemek için, tüketicileri ağır metal maruziyetinden korumak için kadmiyum, cıva ve kurşun gibi ağır metallerin kantitatif tespiti oldukça önemlidir [8].

İlk olarak çinko karbonatın bir safsızlığı olarak keşfedilen kadmiyum (Cd), toksik bir IIB elementidir [9].

İnsanlar, bitkiler ve diğer canlı organizmalar için son derece zehirlidir [10]–[12]. Bu nedenlerden dolayı eser seviyelerde kadmiyum tayini için analitik stratejiler geliştirmek son derece önemlidir. Benzer şekilde bakır metalinin de sağlık üzerine olan olumsuz etkileri literatürde rapor edilmiştir [13].

Kimya endüstrileri gibi endüstrilerin hızlı gelişimi ve son birkaç on yılda çeşitli endüstriyel ve kentsel atık suların çevreye boşaltılması, yüzey ve yeraltı su kaynaklarının kirlenmesine ve çeşitli çevresel sorunların ortaya çıkmasına neden olmuş, geçtiğimiz birkaç yıl içinde çeşitli insan faaliyetlerine tepki olarak, bu önemli

kaynakların su kalitesi değişmiş ve su kirliliğinin zararlı etkileri yavaş yavaş gün yüzüne çıkarmıştır [14]. Günümüzde, insan kaynaklı faaliyetlerden kaynaklanan ağır metaller sıklıkla nehir/göl tortullarında ve sucul ortamlarda tespit edilmekte ve bu durum dünyadaki nehirlerin/göllerin önemli bir kısmının ciddi şekilde kirlenmesine neden olmaktadır [15]. Bu nedenle, sucul ekosistemlerde ağır metal seviyelerinin belirlenmesi, canlı organizmaların, özellikle de insanların sağlığında önemli bir rol oynayabilir [14].

1.2 Tezin Amacı

Günümüzde, çevre kirliliğinde önemli bir yeri olan ağır metal kirliliği sorununun tespit ve çözümüne yönelik olarak duyarlı analitik yöntemler geliştirilmesi oldukça önemlidir. Bu tez kapsamında eser seviyelerde bulunan kadmiyum ve bakır tayinleri için duyarlı, doğru ve çevreci analitik yöntemler geliştirilmesi hedeflenmiştir.

AAAS eser seviyelerde metal tayini için yeterli duyarlılığa sahip değildir. Bu nedenle tez kapsamında farklı önderiştirme yöntemlerine başvurulmuş, YKT-AAAS sistemi kullanarak atomların ışın yolunda kalma süresi arttırılıp daha duyarlı tayinler yapılması amaçlanmıştır.

Bu doğrultuda, eser seviyelerde tespit ve tayin yapabilmek üzere TF-DSSME ve EZK-DSSME yöntemleri sırasıyla kadmiyum ve bakır metallerinin önderiştirilmesi amacıyla geliştirilmiştir.

Çalışmalar boyunca özel olarak tasarlanmış yarıklı kuvars tüp (YKT) ile alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAAS) birleştirilerek tespit ve tayin limitlerinin azaltılması amaçlanmıştır.

Geliştirilen bu yöntemlerin önemli parametrelerinin optimizasyon çalışmaları gerçekteştirilerek analite ait sinyal/gürültü oranı arttırılmaya gayret edilmiştir. Sistem analitik performans çalışmaları ve geri kazanım çalışmaları ile yöntemler doğruluk, kesinlik, duyarlılık bakımından incelenmiştir.

1.3 Hipotez

Günümüzde ağır metallerin çevre kirliliği üzerine etkisi her geçen gün artmaktadır. Ağır metallerin çevresel kaynaklardan insan ve hayvanların metabolizmalarına katılması çeşitli tahribatlara ve hastalıklara sebep olmaktadır.

Ancak ağır metaller birçok endüstriyel alanda sıklıkla kullanılmaktadır. Çevreye yayılan ağır metaller eser seviyelerde dahi canlılara zarar vermektedir [13]. Bu nedenle, ağır metallerin düşük seviyelerde tayin edilmesi çevre ve toplum sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Ağır metal tayininde sıklıkla kullanılan bazı yöntemler bulunmaktadır. Bunlar arasında alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (AAAS) [16], indüktif olarak eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) [17], indüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS) [18], grafit fırın alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (GFAAS) [19]. Sıklıkla bilim insanları tarafından tercih edilmektedir.

İşletim maliyeti ve kullanım kolaylığı açısından AAAS diğer cihazlara kıyasla önemli bir üstünlüğe sahip olmasına rağmen metal tayinlerinde eser seviyelerde duyarlılığa sahip değildir. Bu nedenle AAAS'nin duyarlılığını arttırmak amacıyla tez kapsamında farklı önderiştirme yöntemleri ve yarıklı kuvars tüp kullanılmıştır.

Ağır metallerin önderiştirilmesinde çeşitli mikroekstraksiyon yöntemleri literatürde mevcuttur. Bu yöntemler ile analitin karmaşık örnek matriksinden ekstraksiyonu yapılırken örnek matriksinden gelebilecek girişimler de önlenmiş olur.

Tez kapsamında dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon temelli yöntemler olan TF-DSSME ve EZK-DSSME yöntemleri kullanılarak analitlerin matriks etkilerinden uzak yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tayinlerinin yapılması hedeflenmiştir.

Balık yağı şurubunda eser seviyede kadmiyum tayini amacıyla ters faz dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon-yarıklı kuvars tüp alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (TF-DSSME-YKT-AAAS) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde yağ matriksinde bulunan eser seviyelerdeki kadmiyum su fazı içerisine ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Aynı zamanda toksik kimyasal kullanımı oldukça azaltılmış olması sayesinde günümüzde yaygınlaşan “yeşil kimya” tanımına uygun bir analitik yöntem geliştirilmiştir.

Soluduğumuz havanın yapısında bulunan olası ağır metaller insan sağlığı açısından tehlikeli sonuçlar doğurma potansiyeline sahiptir.

Klima suyunda bu metallerin tayin edilmesi ortamda bulunan metal kirliliğinin ortaya konulması bakımından önem taşımaktadır. Klima atık suyunda eser seviye bakır tayini amacıyla eşzamanlı kompleksleşme dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon-yarıklı kuvars tüp-atomik absorpsiyon spektrofotometresi (EZK-DSSME-YKT-AAAS) yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde kullanılan Verbenone hidrazon molekülünün literatürde ilk kez kompleksleşme işlemi için ligand olarak kullanılması ve ligandın ekstraksiyon çözücüsü (kloroform) içerisinde çözdürülmesi ile ön deriştirme ve kompleksleşme işlem basamaklarının eş zamanlı olarak gerçekleştirilmesi açısından literatüre katkı sağlanacaktır. Düşük miktarda çözücü kullanımı ve kompleksleşme basamağının ekstraksiyon aşamasıyla birlikte yapılması ile çevreci ve hızlı bir alternatif yöntem geliştirilmiştir.

2.1 Kadmiyum

İlk olarak çinko karbonatın bir safsızlığı olarak keşfedilen kadmiyum (Cd) bir grup IIB elementidir [9], [10]. İnsanlar, bitkiler ve diğer canlı organizmalar için son derece zehirlidir. Yerkabuğunda 0,15 mg/kg bolluğu ve denizde $1,1 \times 10^{-4}$ mg/L bolluğu ile nadir bir elementtir [10]. Kadmiyum nispeten kararsız olması bakımından doğada genellikle çinko sülfütlü bileşikler olarak bulunur. Bu sayede, büyük bir kısmı pil üretiminde (%83) kullanılır [10].

Diğer kullanım alanları ise alaşımlar [10], nükleer santrallerde nötron emici, kaplamalar [10], uçaklar için antikorozyon madde, pigmentler, plastikler için stabilizatör [10] olarak sıralanabilir. Kadmiyumun biyojeokimyasal döngüsü, metalin çevreye insan kaynaklı faaliyetleri sonucu salındığını gösterirken, volkanik faaliyetler, kayaların ayrışması ve toprak erozyonu gibi doğal kaynaklardan da çevreye yayılımı bilinmektedir [9].

Doğal kaynaklardaki kadmiyum seviyeleri, ticari ürünlerde yaygın kullanımı ve antropolojik aktiviteler nedeniyle artmıştır; bu nedenle, maruziyet yollarını ve toksisiteyi anlama ihtiyacı büyük önem taşımaktadır [9].

Birincil metal endüstrilerinde istihdam ve bütün ürünleri tüketimi dahil olmak üzere, kadmiyuma maruziyetinin birkaç kaynağı vardır [20]. Yüksek Cd maruziyeti genellikle böbrek yetmezliği, osteal bozukluklar, nörolojik bozukluklar, anosmi, erkek üreme sistemi sorunları ve hatta kanser gibi çeşitli sağlık sorunlarına neden olabileceği literatürde rapor edilmiştir [21].

Bu nedenlerden dolayı eser seviyelerde kadmiyum tayini için analitik stratejiler geliştirmek büyük önem taşımaktadır [22].

Kadmiyum birçok farklı spektrofotometrik yöntemle tayin edilebilir. Bu yöntemlerden bazıları alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAAS) [23],

grafit fırın atomik absorpsiyon spektrofotometresi (GFAAS) [19], indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) [17] olarak bilinmektedir.

Bunun yanı sıra, indüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS) [18], yüksek çözünürlüklü-indüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (HR-ICP-MS) [24] gibi duyarlılığı gelişmiş yüksek analitik cihazlar da kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler oldukça maliyetlidir. Bunun yerine birçok laboratuvarında bulunan AAAS yöntemi birçok araştırmacı tarafından tercih edilmektedir. Ancak AAAS ile metaller için eser seviyede tayin limitlerine ulaşılması oldukça güçtür. Bu nedenle literatürde farklı analitik yöntemler geliştirilmiştir [25].

AAAS'nin tayin limitini düşürmeye yönelik hidrür oluşturma [26] ve YKT [22] gibi yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır. Tayin limitini düşürmeye yönelik diğer bir yöntem önderiştirmediir. Literatürde kadmiyumun önderiştirilmesi için kullanılan dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon [22], katı yüzen organik damla mikroekstraksiyon [23], ters faz- dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon [27] gibi birçok mikroekstraksiyon yöntemi bulunmaktadır. Bu yöntemlerin esası eser seviyelerde bulunan kadmiyumun önderiştirilerek tayin ve gözlenebilme limitinin düşürülmesidir.

2.2 Bakır

Bakır, kaya, toprak, su, tortu ve düşük seviyelerde havada doğal olarak oluşan kırmızımsı bir metaldir. Düşük alım seviyelerinde insanlar ve diğer hayvanlar dahil olmak üzere bilinen tüm canlı organizmalar için temel bir elementtir.

Çok daha yüksek seviyelerde toksik etkiler ortaya çıkabilir [28]. Atom ağırlığı 63,54, atom numarası 29 ve yoğunluk 8,94 g/cm³'tür. Erime noktası 1083 °C ve kaynama noktası 2595 °C'dir.

Bakırın ⁶³Cu ve ⁶⁵Cu olmak üzere iki kararlı izotopu vardır ve sırasıyla % 69,2 ve 30,8 doğal bollukları vardır. Bakır çok karardır, ancak sülfürik ve nitrik asitler gibi asitlerde çözünebilir. Bakır(I) iyonu oksitleyici ortamda kararsızdır.

Bakır(II), hidrofilik ve oksitleyici ortamlarda en bol oksidasyon halidir ve iyon çoğu ortamda kararlıdır. Bakır(III) çok kararsızdır ve biyolojik olarak önemsizdir[29].

Bakır, geçiş elementlerinden biri olup platin, gümüş ve altına benzer ayırt edici özellikler gösterir. Bakırın biyo-işlevselliğinin yanı sıra Bakır ve bileşikleri, yaşamın farklı alanlarında (örneğin, metal endüstrisi, tarım, tıp, gıda endüstrisi ve hatta kozmetik) kullanıma sahiptir. Metalik bakırın sünekliği ve işlenebilirliği sayesinde boru, vana, bozuk para, çatı kaplama ve yağmurlukların üretiminde kullanılmaktadır.

Bronz, pirinç, yeni gümüş veya bakır-nikel olarak üretilen bir ürünün sertliği, işlenebilirliği ve dayanıklılığı sayesinde geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir. Metalik bakır, elektrik kabloları, elektromıknatıslar ve entegre devrelerin üretiminde yaygın olarak kullanılan mükemmel bir elektrik iletkenidir [30]. Çözünürlüğü nikel, çinko, kalay ve alüminyum gibi diğer elementlere göre daha yüksektir [31].

Ağır metallerden biri olan bakır yaşam için önemlidir, ancak diğer yandan alger, mantarlar ve birçok bakteri veya virüs gibi organizmalar için oldukça toksiktir. Bakır sülfat bir mantar ilacı, yosun öldürücü ve besin takviyesi olarak kullanılır [28]. İçme suyunda bakır konsantrasyonları, dağıtım sistemindeki pH, sertlik gibi su özelliklerindeki değişikliklerin bir sonucu olarak büyük ölçüde değişir [28].

Literatürde bakır elementini tayin etmek amacıyla atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) [32], indüktif olarak eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) [17], yüksek çözünürlüklü-indüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (HR-ICP-MS) [24] gibi analitik cihazlar kullanılmaktadır.

Bakırın önderiştirilmesi amacıyla kullanılan bazı mikroekstraksiyon yöntemleri ise dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) [33], katı faz ekstraksiyon (KFE) [34], eş zamanlı kompleksleşme dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (EZK-DSSME) [35], akıllı çözücü destekli sıvı faz mikroekstraksiyon (AÇD-SFME) [36], şırınga yardımcı pipet ucu dağıtıcı katı faz ekstraksiyonu (ŞYPU-KFE) [37] olarak sıralanabilmektedir.

2.3 Mikroekstraksiyon Yöntemleri

Sıvı-sıvı ekstraksiyon (SSE) ve katı-faz ekstraksiyon (KFE) yöntemleri, uzun yıllardır kullanılan yöntemlerdir. Ancak bu yöntemlerin uzun ekstraksiyon süreleri, yüksek miktarlarda toksik çözücü kullanımı, çoklu ekstraksiyon adımları, yüksek numune miktarları ve oluşan yüksek miktarda atıklar gibi bazı dezavantajlara sahip olması nedeniyle, SSE ve KFE yöntemleri prensiplerine uygun olarak daha az kimyasal kullanılarak uygulanabilen mikroekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir [38].

Mikroekstraksiyon yöntemlerinin avantajları arasında,

- Hızlı analiz,
- Düşük maliyet,
- Düşük numune miktarı,
- Yüksek ekstraksiyon verimi,
- Yüksek analit geri kazanımı ve otomasyon

gibi avantajları sayesinde geleneksel yöntemlerde karşılaşılan birçok dezavantaj büyük oranda elimine edilmiştir [38], [39].

Mikroekstraksiyon yöntemleri, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin temel prensipleri dayandığından katı faz mikroekstraksiyon (KFME) ve sıvı faz mikroekstraksiyon (SFME) olmak üzere iki ana grupta sınıflandırılabilir [39].

KFME ilk olarak 1989 yılında Pawliszyn ve arkadaşları tarafından literatüre sunulmuştur [40]. Bu yöntemde uygun bir adsorbanın bir fiber üzerine kaplanması ve bu fiberin örnek çözeltisine daldırılarak analit(ler)in ekstraksiyonu gerçekleştirilir.

Kütle transferini arttırmak amacıyla bu işlem sırasında karıştırma işlemi de yapılabilir. Ancak bu yöntemin birçok dezavantajı bulunmaktadır.

KFME fiberinin aynı kalınlık ve homojenlikte hazırlanamaması, kullanılan adsorbanın zamanla kaybı veya kararsızlığı, zaman alıcı olması gibi dezavantajlara sahiptir [41].

SSE analit(ler)in sulu faz ile organik faz arasındaki dağılımına göre gerçekleşir. Analitin daha fazla çözünürlüğü olduğu organik çözücü içerisinde ekstraksiyonu gerçekleştirilerek yüksek ekstraksiyon verimi elde edilebilir.

SSME yöntemi bu prensibe dayanıp daha az çözücü ile gerçekleştirilen bir önderiştirme yöntemidir [42].

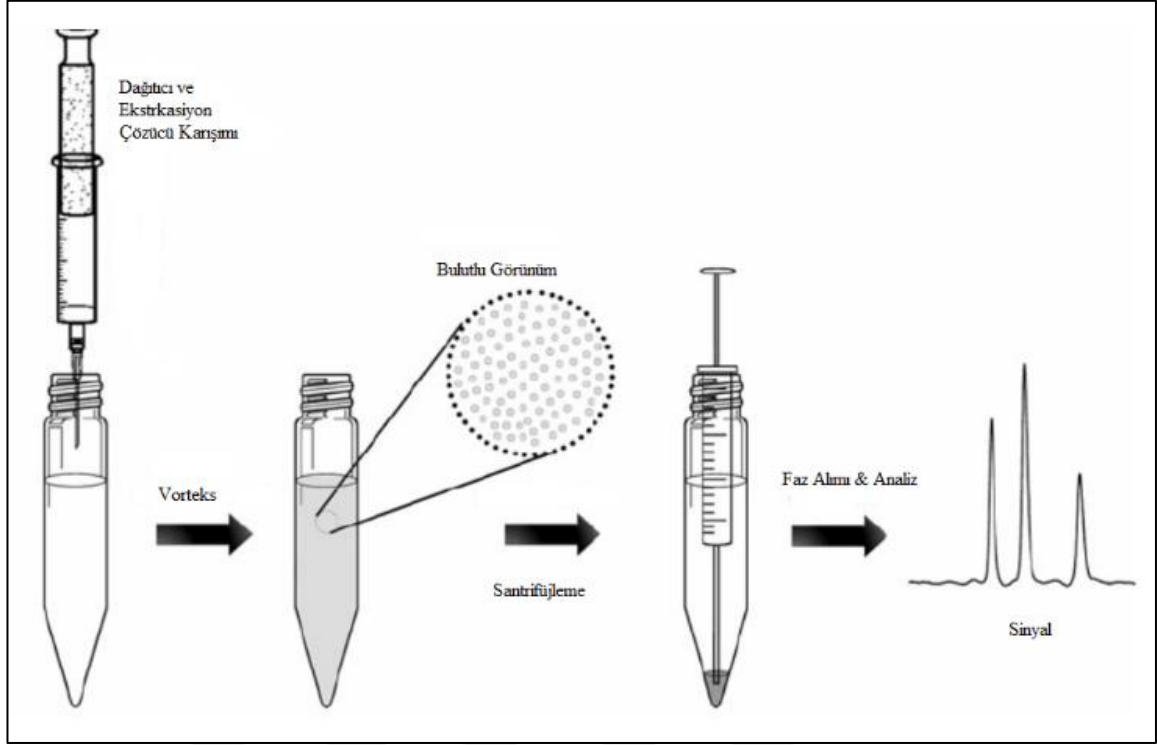
Literatürde, organik ve inorganik analitlere uygulanmak üzere, dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) [16], ters faz dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (TF-DSSME) [27], dağıtıcı çözücü destekli eş zamanlı kompleksleşme ve ekstraksiyon stratejisi [43], akıllı çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon (AÇ-SFME) [44], yüzen katı organik damla sıvı faz mikroekstraksiyon [23], ikili çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon [45] gibi birçok mikroekstraksiyon teknikleri geliştirilmiştir.

DSSME literatürde ilk olarak Rezaee ve ark. tarafından gaz kromatografisi alev iyonizasyon dedektörü (GC-FID) ile su numunelerindeki on altı polisiklik aromatik hidrokarbonun belirlenmesi için kullanılmıştır [46].

Bu yöntemin yeniliği, ekstraksiyon çözücülerinin sulu çözelti içerisinde dağılımını arttırmak için dağıtıcı çözücülerin kullanılmasıdır.

Ekstraksiyon çözücüsü kloroform gibi su ile karışmayan özelliğe sahip çözücülerdir. Sudan daha yüksek yoğunluğa sahip çözücüler organik fazın uçuculuğunun azaltılması amacıyla tercih edilir. Dağıtıcı çözücüler hem seçilen ekstraksiyon çözücüsü hem de sulu fazda çözünür olmalıdır. Analitlerin ekstraksiyon verimi, ekstraksiyon çözücüsü ile sulu faz arasındaki etkileşimi arttıran dağıtıcı çözücü yardımıyla arttırılabilir.

Bu yöntem temel olarak, Şekil 2.1’de gösterildiği gibi, analit içeren sulu çözelti içerisinde, ekstraksiyon-dağıtıcı çözücü karışımı enjekte edilir ve bulutlu görünüm oluşur. Ardından oluşan organik faz, sulu fazdan ayrılır ve analiz edilir [33], [46]. DSSME yöntemi inorganik analit tayininde kullanılırken genel olarak bir ligand yardımı ile metal kompleksi haline dönüştürülür.



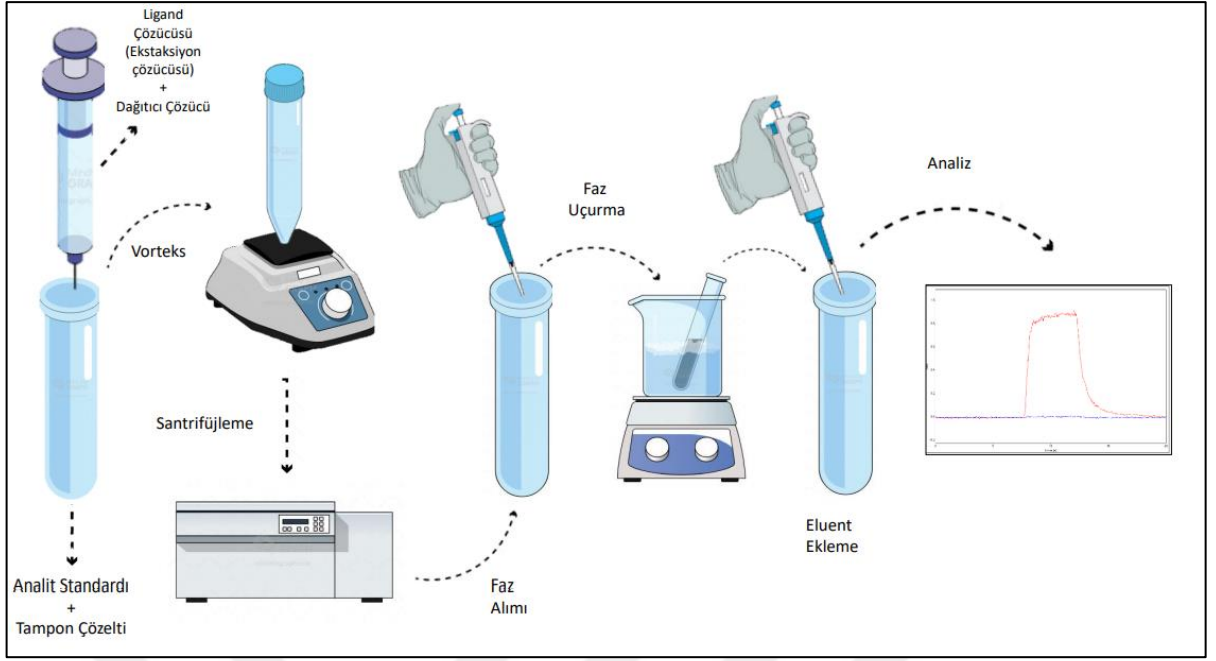
Şekil 2.1 Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) yöntemi gösterimi [81]

Genellikle katı formda olan kompleksleştirici ajan bir çözücü yardımı ile çözülerek ekstraksiyon işleminden önce kullanılır. Bu durumda, uygulanan deneysel işlemlerdeki çözücü miktarı da artmaktadır [22].

Eş zamanlı kompleksleşme dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (EZK-DSSME) stratejisinin yenilikçi yönü, kompleksleştirici ajan olarak kullanılan ligandın ekstraksiyon çözücüsü içerisinde çözülmesidir.

Bu ligand çözeltisi, dağıtıcı çözücü ile karıştırılarak, sulu faz içerisinde enjekte edilir.

Şekil 2.2’de gösterilen deneysel prosedüre göre, inorganik analit içeren sulu faz içerisine, dağıtıcı çözücüsü ve ekstraksiyon çözücüsü karışımı içeren karışım bu faza enjekte edilir. Ekstraksiyon çözücüsü metalin kompleks oluşturacağı ligandı da içermektedir. Oluşan bulutlu çözelti sonrasında organik fazda toplanan analit tayin edilir.



Şekil 2.2 Eş zamanlı kompleksleşme dağıtıcı sıvı-sıvı mikroeekstraksiyon (EZK-DSSME) yöntemi gösterimi

Bu yöntem kompleksleşme için ayrı bir aşama ve ayrı bir çözütü kullanımı gerektirmemesi sayesinde geleneksel DSSME yöntemine göre daha hızlı, çevre dostu ve pratik bir yöntem olmaktadır [43].

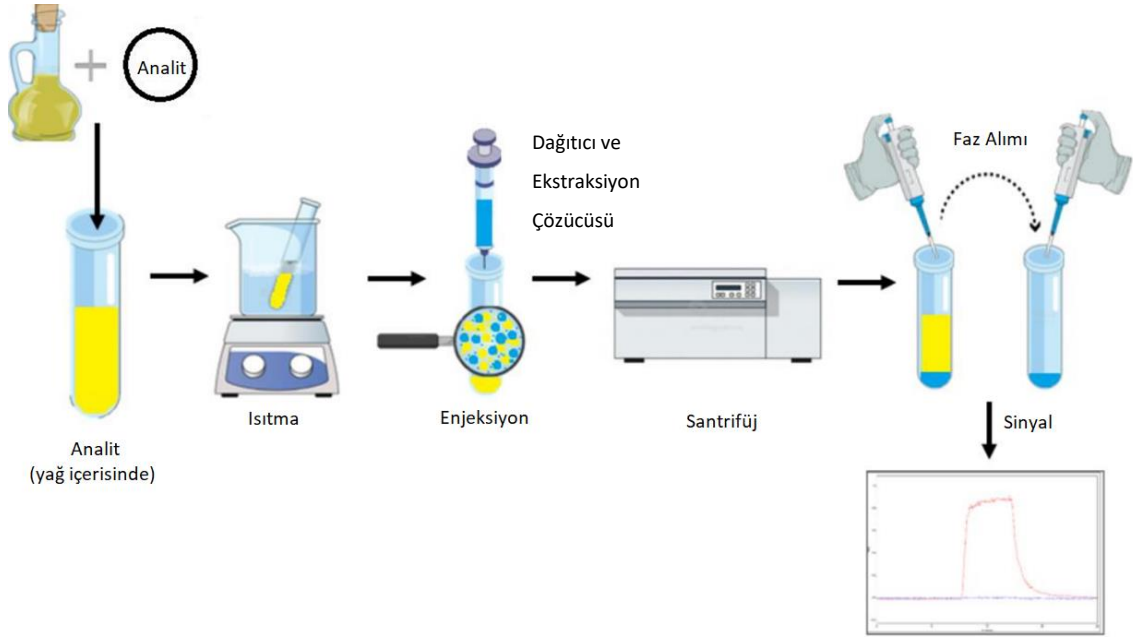
Ters faz dağıtıcı sıvı – sıvı mikroeekstraksiyon (TF-DSSME) literatürde ilk olarak 2010 yılında Hashemi ve ark. tarafından, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile oleropin tayini için geliştirilmiş bir yöntemde bulunmaktadır [47].

Deneyisel prosedüründe dikkat çeken önemli noktalar;

- Analitin organik fazdan ekstraksiyonu
- Ekstraksiyon çözütüsünün su olması,
- Bilinen DSSME prosedürlerine göre analitin ekstraksiyon işleminin sulu fazdan organik faza değil organik fazdan sulu faza gerçekleştirilmesi,
- Analitlerin sulu faz içerisine toplanması,
- Bilinen yöntemlerden daha ucuz, hızlı ve basit olması

olarak sıralanabilir [46], [48], [49].

Şekil 2.3'te gösterilen prosedüre göre bu yöntem organik faz içerisinde (yağ fazında) bulunan analitlerin enjekte edilen su fazına ekstraksiyonunu ve santrifüj işlemi sonrası sulu fazın tüpün dibinde toplanmasını kapsar [27].

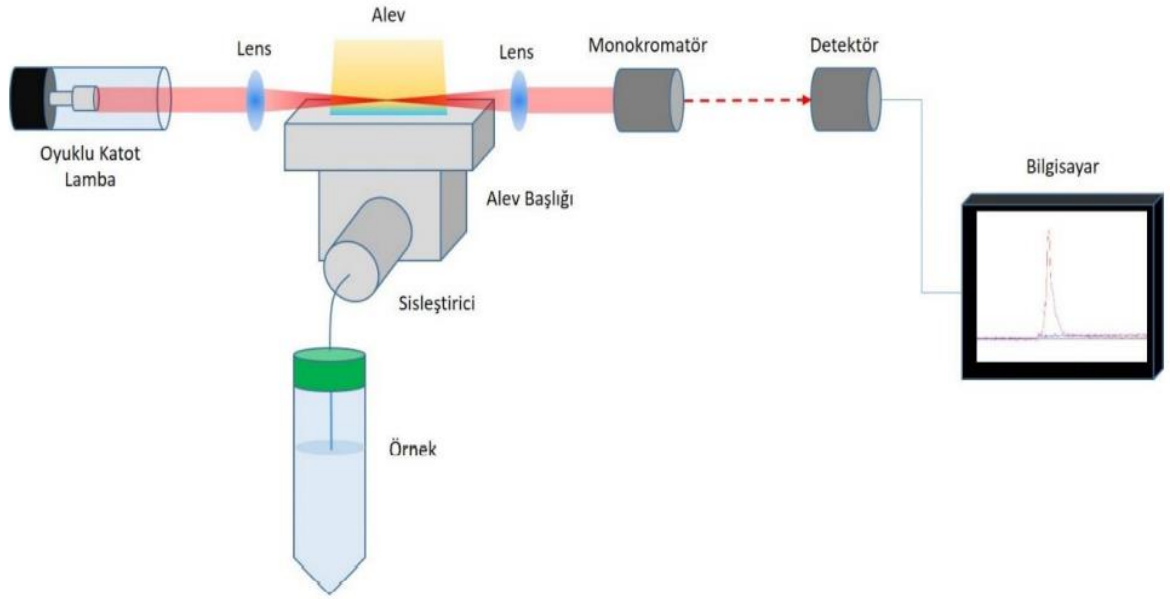


Şekil 2.3 Ters faz dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (TF-DSSME) yöntemi

2.4 Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAAS)

Alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi sırasıyla bir ışık kaynağı, sisleştirci, atomlaştırıcı, monokromatör ve detektörden oluşmaktadır. Şekil 2.4'de AAAS sistemini oluşturan önemli bölümler gösterilmiştir. Işık kaynağından çıkan emisyon ışığı atomlaştırıcıdan geçer ve monokromatörde analitin absorpsiyon yaptığı dalga boyuna ait ışın ayırılarak detektöre yönlendirilir [50].

Analitin derişimi (c) ve ışık yolu uzunluğu (b) ile orantısallığı Lambert-Beer Yasası ile nicel olarak ifade edilir. Işık kaynağından gelen ışığın yoğunluğu uyarılmış olan analitler tarafından absorbe edildiğinde azalır. Işın yolu uzunluğu ve analit derişimi arttıkça absorpsiyon miktarında artış gözlenir [51].



Şekil 2.4 Alevli atomik absorpsiyon spektrofotometre sistemi [50]

Lambert Beer yasasına göre absorbans değeri, ışık kaynağından çıkan ışığın (P_0), yol boyunca devam ederek, detektöre ulaştığında (P) azalmasına göre elde edilen P değerlerinin oranının logaritma değeri olarak belirlenir.

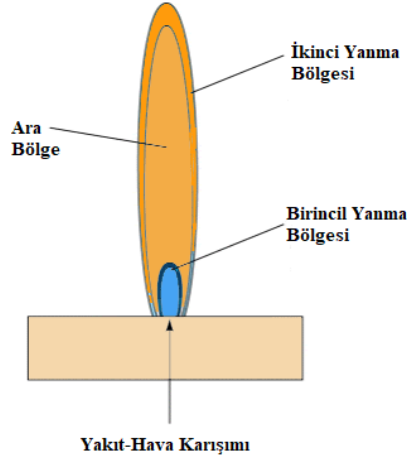
$$A = -\log \frac{P}{P_0} = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (2.1)$$

Lambert Beer denkleminde göre (Denklem 2.1), ışın yolu ve molar absorptivite sabit iken, absorbans ve derişim değeri doğru orantılıdır [52].

2.4.1 Alev

Bir oksidan (oksijen, hava veya nitroz oksit) ve yakıtın (doğalgaz, asetilen, hidrojen) karışımı sıcaklığa göre üç bölgeye ayrılan alevi üretir: Birincil yanma bölgesi, ikincil yanma bölgesi ve ara bölge. İdeal bir alev Şekil 2.5'te gösterilmiştir.

Şekilde görülen mavi renk ile gösterilen bölge (birinci yanma bölgesi) alevin en sıcak olduğu ve atomlaşma işleminin büyük kısmının gerçekleştiği bölgedir [51].



Şekil 2.5 AAAS sisteminde kullanılan alev ve bölgeleri [53]

2.4.2 Nebulizer sistemi (Sisleştirici)

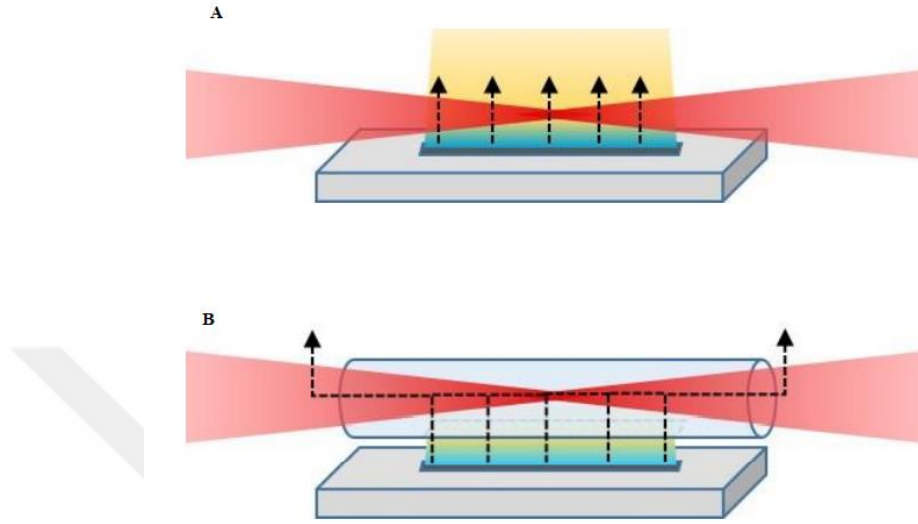
AAAS sistemindeki nebulizör ünitesi, numune çözeltisini yakıt-oksidan gaz karışımı (hava ve yakıt gazı) ile karıştırılan ince bir sis veya damlacıklara dönüştürür. Numune çözeltisi vakumla çekilir ve homojen numune dağıtımını artıran bir spreya veya aerosol şeklinde küçük damlacıklar halinde dağıtılır.

Sadece oksidan hava ile taşınabilen en ince ve en hafif damlacıklar aleve ulaşır ve bu damlacıklar emilen numunenin yalnızca yaklaşık %10'unu oluşturur ve diğer %90'lık kısmı atık olarak atılır [54].

AAAS sisteminin düşük duyarlılığı, aspire edilen numunedeki bu %90'lık kayıptan kaynaklanmaktadır [55]. Bu düşük duyarlılık probleminden dolayı AAAS sistemi için, önderiştirme yöntemlerine ek olarak geliştirilen ve duyarlılığı arttıran sistemler geliştirmiştir.

Yarıklı kuvars tüp (YKT) [16], hidrür oluşturma [56], UV ışık kaynağı destekli foto-kimyasal buhar oluşturma [57] gibi sistemler örnek verilebilir.

Bu tez kapsamında AAAS sistemini geliştirmek için kullanılan şekil 2.6’da gösterilen YKT sistemi, AAAS sisteminin atomlaştırıcı kısmında milisaniye kadar kısa sürede kalan atomların bu bölgede kalma süresini arttırarak daha fazla atom-ışık etkileşiminin gerçekleşmesini sağlar [50].



şekil 2.6 YKT sistemi (A) YKT takılmasından önce ve (B) YKT takılması sonrasında alevin hareket yolu [50]

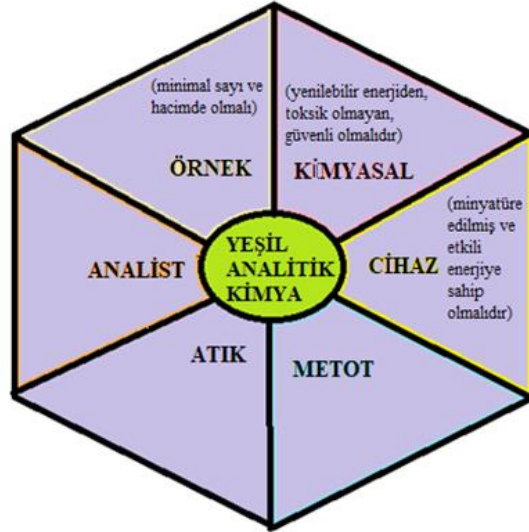
Bu sistemde, alev üzerine yerleştirilen YKT nedeniyle maksimum absorpsiyon bölgesinde (birincil bölgede) kayma olur. Bu nedenle, ışık yolunun tekrar ayarlanması ve YKT’nin alev başlığına olan uzaklığı önem taşımaktadır [50].

2.5 Yeşil Kimyaya Uygunluk

Yeşil kimya fikrinin kökleri sürdürülebilir gelişmeye dayanır. Kimyagerler tarafından sürdürülebilirlik için üstlenilen ilk faaliyetler, Anastas tarafından önerilen en yaygın yeşil kimya tanımında açıkça belirtildiği üzere, çoğunlukla endüstriyel ölçekli süreçlere ve ürünlere odaklanmış [58] ve günümüzde bu faaliyetler kimyasal analizleri de kapsamaktadır [59].

şekil 2.7’de görüldüğü gibi, bir kimyasal analiz, birbirini etkileyen bira adımdan oluşan bir süreç olsa da yeşil analitik kimya ilkeleri için kritik olan altı konu bulunmaktadır.

Burada, operatörün (analistin) güvenliği esas alınan, otomatik, tehlikesiz, türleştirme içermeyen bir yöntemle sahip, az enerjiyle etkili analiz yapılabilecek cihazlarla, yenilebilir kaynaklardan elde edilmiş, toksik olmayan kimyasallar içeren, az hacimde ve sayıda örnekler içeren yöntemler olması istenir [59].



Şekil 2.7 Yeşil analitik kimya metodu açısından analitik prosedürlerin önemli bileşenleri [59]

Yeşil analitik kimya yönteminin 12 prensibi aşağıda listelenmiştir [59].

1. Örneğe uygulanacak ön işlemlerden kaçınmak için doğrudan analitik yöntemler uygulanmalıdır.
2. Minimum örnek miktarı ve minimum örnek sayısı hedeflenir.
3. Yerinde ölçümler yapılmalıdır.
4. Analitik süreçlerin ve işlemlerin birbirine entegrasyonu, enerji tasarrufu sağlar ve reaktiflerin kullanımını azaltır.
5. Otomatikleştirilmiş ve minyatürleştirilmiş yöntemler seçilmelidir.
6. Türleştirmeden kaçınılmalıdır.
7. Büyük miktarda atığın oluşmasından kaçınılmalı ve atığın uygun şekilde yönetilmesi sağlanmalıdır.

8. Tek analit için kullanılan yöntemlere göre çok analitli veya çok parametrelili yöntemler tercih edilmelidir.

9. Enerji kullanımı en aza indirilmelidir.

10. Yenilenebilir kaynaklardan elde edilen reaktifler tercih edilmelidir.

11. Toksik reaktifler ortadan kaldırılmalı veya değiştirilmelidir.

12. Operatörün/analistin güvenliği artırılmalıdır.

Geliştirilen bir yöntemin yeşil kimyaya uygunluğunun denetlenmesi amacıyla bir hesaplama geliştirilmiştir. Bu hesaba göre yöntemde kullanılan kimyasallar ve cihazlara ait belirli ceza puanları yer alır. Bu puanların toplamı 100'den çıkarılarak yöntemin yeşil kimyaya uygunluğu tespit edilebilir [60].

Hesaplanan puan;

> 75 mükemmel yeşil analizi temsil eder,

> 50 kabul edilebilir yeşil analizi temsil eder,

<50 yetersiz yeşil analizi temsil eder [60].

2.6 Validasyon

Analitik yöntemlerin doğru, kesin ve güvenilir sonuçlar vermesi beklenir. Validasyon, bir yöntem veya teknikte elde edilen sonuçların tutarlılığını, güvenilirliğini ve kalitesini belirleyerek bu amaca ulaşmak için kullanılır.

Şekil 2.8'de gösterildiği gibi analitik bir yöntem, doğrusal aralık, tespit ve tayin limitleri, geri kazanım çalışmaları, duyarlılık, uygulanabilirlik, kesinlik, doğruluk ve seçicilik gibi parametrelere göre değerlendirilmelidir [61].



Şekil 2.8 Validasyon basamakları

Lineer aralık, doğrusallık gösteren en düşük ve en yüksek derişimler arasındaki aralığı temsil eder ve derişim arttıkça, sinyal şiddeti artmaktadır [61].

Gözlenebilme limiti (GL), bir cihaz tarafından tespit edilebilen en düşük analit miktarı, olarak adlandırılır. Tayin limiti (TL), gözlenebilme limitinin yaklaşık 3 katıdır ve bir cihaz tarafından kesin ve doğru bir şekilde ölçülebilen en düşük derişimi temsil eder.

Geri kazanım, geliştirilen yöntemin matriksi değişik/belirsiz numunelere uygulanarak yöntemin doğruluğunu ve uygulanabilirliğini test edilme çalışmasıdır. Matriks etkisi sinyallerde artışa veya azalmaya neden olabilir [61]. Bu durumda “matriks eşleştirme” ve “standart ekleme” metotları, matriks etkilerinin üstesinden gelmek için kullanılan iki kantitatif yöntemdir [36].

Matriks eşleştirme, analitik yanıtı etkileyen matriks etkilerini telafi etmek için kullanılır.

Kalibrasyon doğrusu oluşturmak için hazırlanan standartlar örnek matriksi kullanılarak hazırlanır ve elde edilen doğrusal denklemden yararlanarak derişim hesabı yapıp geri kazanım sonuçları belirlenir [62].

2.7 Literatürde Yapılan Çalışmalar

Doner ve Ege tarafından, AAAS ve birlikte çöktürme tekniğinin avantajlarından yararlanılarak, sulu çözeltiler, deniz suyu ve maden suyu örneklerinde kadmiyum, bakır ve kurşunun ayrılması/önderiştirilmesi için bir analitik yöntem geliştirilmiştir. Bu çalışmada, incelenen elementlerin tayini ve geri kazanım çalışmaları üzerine, pH, taşıyıcı element ve Na₂CO₃ miktarı, matriks iyonları, çöktürme süresi gibi çeşitli analitik parametrelerin etkisi tartışılmıştır. Kadmiyum, bakır, kurşun için GL değerleri sırasıyla 6,0, 3,0 ve 16 ng/mL olarak bulunmuştur [63].

Çökeltelerde bakırın belirlenmesi çok önemlidir çünkü balıklar, su bitkileri ve omurgasızlar gibi suda yaşayan organizmalar, özellikle düşük tuzluluk ve düşük pH ile karakterize edilen rezervuarlarda bulunan bakır iyonlarına karşı oldukça hassastır [34]. Bağda ve ark. tarafından yapılan çalışmada, sediment örneklerinden bakırın ekstraksiyonu için etkili bir ekstraksiyon yöntemi önerilmiştir. Prosedür için etkili bir ekstraksiyon çözücüsü olarak oksalik asit-kolin klorür bazlı derin ötektik solvent (DÖS) kullanılmıştır. Geliştirilen yonteme ait GL ve TL değerleri sırasıyla 1,2 ve 3,97 µg/L olarak bulunmuştur.

Önerilen yöntem aynı zamanda Serpincik, Çelttek, Kızılırmak'tan toplanan nehir ve göl sediment örneklerine de uygulanmıştır [64].

Supong tarafından, AAAS kullanarak sentetik atık sudaki bakır konsantrasyonunu belirlemek için güvenilir bir yöntem tasarlamıştır.

Önerilen yöntemin güvenilir ve bakır-amonyak kompleksi formundaki bakır iyonlarının ölçümü için uygun olduğunu doğrulamak için kimyasal metroloji uygulanmıştır [65].

Babayeva ve ark. tarafından, bakır(II) iyonunun bir metanol-su ortamında bir kromojenik ajan ile spektrofotometrik izlenmesi için yeni, oldukça hassas, basit ve uygulanabilir bir yöntem önerilmiştir.

Kromojenik ajan miktarı, bir arada bulunan iyonlarının etkisi, pH'ın etkisi, Beer yasasının uygulanabilirlik aralıkları ve bakırın spektrofotometrik tayini ve gözlenebilme limiti gibi parametreler dikkate alınmıştır. GL ve TL değerleri 6,38 ve 21,27 µg/L olarak hesaplanmıştır. Yöntem bakır (II) analitinin, su numunelerine ve referans malzemelere (C12X3500 ve SPS-WW1 (atık su)) başarıyla uygulanmıştır [66].

Milne ve ekibi tarafından hazırlanan bir çalışmada, ticari olarak temin edilebilen Toyopearl AF-Chelate 650M şelatlama reçinesini kullanarak deniz suyundaki sekiz eser metalin (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb) eş zamanlı belirlenmesi için bir yöntem geliştirilmiştir. İzotop seyreltme (ID) Fe, Ni, Cu, Zn, Cd ve Pb'nin belirlenmesi için kullanılırken, mono-izotopik Mn ve Co için standart ekleme yöntemi kullanılmıştır [24].

Korn ve arkadaşlarının 2010 yılında yayınladığı çalışmada, GFAAS kullanılarak yunusların dokusunda (*Sotalia guianensis* ve *Stenella clymene*) Cd ve Pb tayini için alternatif bir yöntem geliştirilmiştir. HNO₃ ve H₂O₂ kullanılarak asit yardımcı mikrodalga (MW) ile çözünme işlemi yapılmıştır. Ekstraktlardaki Cd ve Pb analitleri, GFAAAS ile tayin edilmiştir. Kadmiyum ve kurşun için GL değeri 0,82 ve 0,50 ng/g olarak hesaplanmıştır [19].

MATERYALLER VE METOTLAR

3.1 Kimyasallar ve Reaktifler

Deneyisel çalışmalarda kullanılan tüm kimyasallar/reaktifler yüksek saflıktadır. Çalışmalar boyunca kullanılan standart kadmiyum ve bakır çözeltileri High Purity Standards (Almanya) firmasından alınan 1000 mg/L kadmiyum ve bakır standart çözeltilerinden hazırlanmıştır.

TF-DSSME çalışmasında kullanılan kadmiyum standart çözeltileri etanol (ISOLAB Chemicals, Almanya) içerisinde hazırlanmıştır. Yöntemi geliştirmek için kullanılan işlenmemiş zeytinyağı İstanbul’ da yerel bir pazardan satın alınmıştır. Deneyler boyunca kullanılan 2-propanol, etil asetat ve toluen Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Nitrik asit (%65) ise Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından satın alınmıştır.

EZK-DSSME çalışmasında kullanılan kloroform, hidroklorik asit (%37), Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Sodyum tetraborat dekahidrat ve nitrik asit (%65) Sigma Aldrich (Almanya) firmasından satın alınmıştır. Çalışmada kullanılan etanol ISOLAB Chemicals (Almanya) firmasından alınmıştır. Kompleksleşme aşamasında kullanılan verbenon hidrazon ligandı (0,01, w/v) kloroform içerisinde çözülmüştür. Tampon çözelti (pH 9,0) 0,025 M sodyum tetraborat dekahidrat ve 0,10 M hidroklorik asit çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır.

3.2 Cihazlar

Kadmiyum tayini için geliştirilen TF-DSSME-YKT-AAAS yöntemi optimizasyonları ve AAAS sisteminin analitik performans çalışmalarında Analytic Jena marka Novaa300 alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAAS) kullanılmıştır.

Yarıklı kuvars tüp-alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (YKT-AAAS) optimizasyonları, diğer analitik performans çalışmaları ve geri kazanım çalışmalarında ATI UNICAM 929 AA AAAS kullanılmıştır.

Asetilen-hava karışımı tüm AAAS sistemlerinde alev oluşturmak amacıyla kullanılmıştır. Kadmiyum oyuk katot lambası (228,8 nm çalışma dalga boyu) ve zemin düzeltmesi için döteryum lamba (D₂) kullanılmıştır. Yarıklı kuvars tüp (YKT) 15 mm iç çap, 18 mm dış çap, 14 cm uzunluk, 6,5 cm giriş aralığı ve üç adet yuvarlak şekilli çıkış yuvası olacak şekilde tasarlanmıştır. Hava bıçakları YKT'den çıkan boynuz şeklindeki alevden cihazın korunması için kullanılmıştır.

Bakır tayini için geliştirilen EZK-DSSME-YKT-AAAS yönteminde çoklu oyuk katot lamba (Cu, Ni, Cr, Fe, Mn, Co) kullanılmıştır. Bakır elementi için dalga boyu 324,8 nm, monokromatör spektral bant genişliği 0,50 nm ve çalışma akımı 6,0 mA olarak ayarlanmıştır. Bu çalışmada kullanılan YKT 13 cm uzunluğunda, yuvarlak şekilli dört çıkış deliği olan, iç çap 1,0 cm, dış çap 1,4 cm ve giriş aralığı 5,5 cm olacak şekilde hazırlanmıştır.

Çalışmalar boyunca standart/örnek çözeltilerin hazırlanmasında ve temizleme aşamasında kullanılan saf su Milli-Q® Referans Ultra Saf Su Arıtma Sistemi'nden (18,2 MΩcm direnç) temin edilmiştir. Vorteks (ISOLAB, Eschau, Almanya), ultrasonik banyo (HAPA M-100), mekanik karıştırıcı (Kermanlab-51, İstanbul, Türkiye) çözeltilerin karıştırılması için kullanılmıştır. Santrifüj (Hettich- EBA 20), ısıtıcı (IKA RCT, Almanya) ve hassas terazi (Ohaus PA214C) çalışmalar boyunca kullanılan diğer cihazlardır.

3.3 DeneySEL Prosedürler

3.3.1 TF-DSSME Yöntemi

Etanol içerisinde hazırlanmış kadmiyum standart çözeltisi kullanılarak zeytinyağı içerisine belirli derişimlerde kadmiyum ilave edilerek zeytinyağı içerisinde standart çözelti hazırlanmıştır. 3,0 g zeytinyağı içerisinde hazırlanmış standart çözelti hassas terazide plastik bir santrifüj tüpü içerisine tartılmış, hazırlanan çözelti yaklaşık 60-70 °C'de hazırlanmış su banyosu yardımı ile 4,0 dakika boyunca ısıtılmıştır.

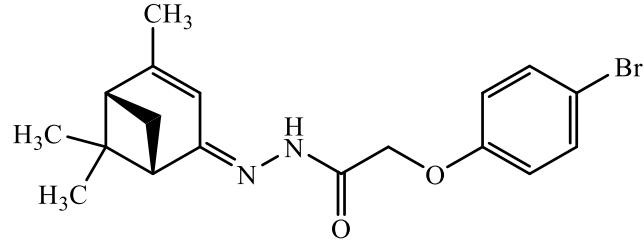
Başka bir santrifüj tüpünde 300 µL 2-propanol ve 150 µL saf su eklenmiş ve ısıtılan yağ çözeltisi içerisine şırınga yardımı ile enjekte edilmiştir. Enjeksiyon işleminin ardından 15 saniye vorteks işlemi yapılarak çözeltinin homojen şekilde karışması sağlanmıştır. 5,0 dakika, 6000 rpm ile santrifüj işlemi uygulanarak sulu faz ile organik faz birbirinden ayrılmıştır. Santrifüj işlemi sonrasında tüpün alt kısmına toplanmış olan su fazından 100 µL alınarak YKT-AAAS sistemine gönderilmiştir.

3.3.2 EZK-DSSME Yöntemi

Bakır stok çözeltisi (1000 mg/L) kullanılarak saf su içerisinde hazırlanmış standart çözeltiden 8,0 mL alınarak plastik bir santrifüj tüpüne eklenmiştir. Bu tüpün üzerine 0,50 mL pH 9,0 tamponu eklenmiş, ayrı bir tüp içerisinde 2,0 mL etanol ve kloroform içerisinde hazırlanan verbenon hidrazon ligand çözeltisinden (%0,01 (a/h)) 0,60 mL ilave edilmiştir. Hazırlanan çözelti standart çözelti içerisine enjekte edilmiştir. Vorteks işlemi 45 s boyunca gerçekleştirilmiş ve 2,0 dk 6000 rpm santrifüj işlemi yapılmıştır. Oluşan organik fazdan ayrı bir tüpe alınarak oda sıcaklığında organik çözücünün buharlaşması sağlanmıştır. Bu işlemin ardından 100 µL derişik nitrik asit ilave edilip YKT-AAAS sistemine gönderilmiştir.

3.3.3 Verbenon-Hidrazon Ligand Sentezi

Verbenon hidrazon ligandı (2- (4-bromofenoksi) -N ' - [4, 6, 6 trimetilbisiklo [3.1.1] hept-3-en-2-yliden] asetohidrazid), Dr. Nesterkiina ve ekibi tarafından, 2- (4 bromofenoksi) asetohidrazid ile verbenon maddelerinin kondenzasyon reaksiyonu ile sentezlenmiştir [67]. Sentezlenen bu yapı hidrojen nükleer manyetik rezonans (¹H-NMR) ve karbon 13 nükleer manyetik rezonans (¹³C-NMR), Raman ve Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FT-IR), elektosprey iyonizasyon (ESI) ve hızlı atom bombardımanı (FAB) kütle spektroskopisi ile incelenmiştir. Sentezlenen bu ligandın moleküler yapısı Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Verbenon-Hidrazon ligandının molekül yapısı [67]

3.4 Gerçek Örnekler

3.4.1 Cd-TF-DSSME-YKT-AAAS metodunun balık yağı şurubuna uygulanması

Gerçek örnek olarak kullanılan balık yağı, İstanbul’da bir eczaneden satın alınmıştır. Balık yağı örnekleri kapalı bir şişede serin ve karanlık bir ortamda muhafaza edilmiştir. Geri kazanım çalışmalarında balık yağı örneklerinde gözlemlenen negatif girişim etkilerini azaltmak amacıyla matriks eşleme kalibrasyon stratejisi uygulanmıştır.

3.4.2 Cu-EZK-DSSME-YKT-AAAS metodunun klimalardan elde edilen atık su numunelerine uygulanması

Geliştirilen EZK-DSSME-YKT-AAAS yöntemi İstanbul’da rastgele seçilmiş bir evsel klimaların atık suyuna uygulanmıştır. Klima atık suyu polipropilen şişeler içerisinde +4,0 °C’de saklanmıştır. Matriks eşleme kalibrasyon stratejisi kullanılarak geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

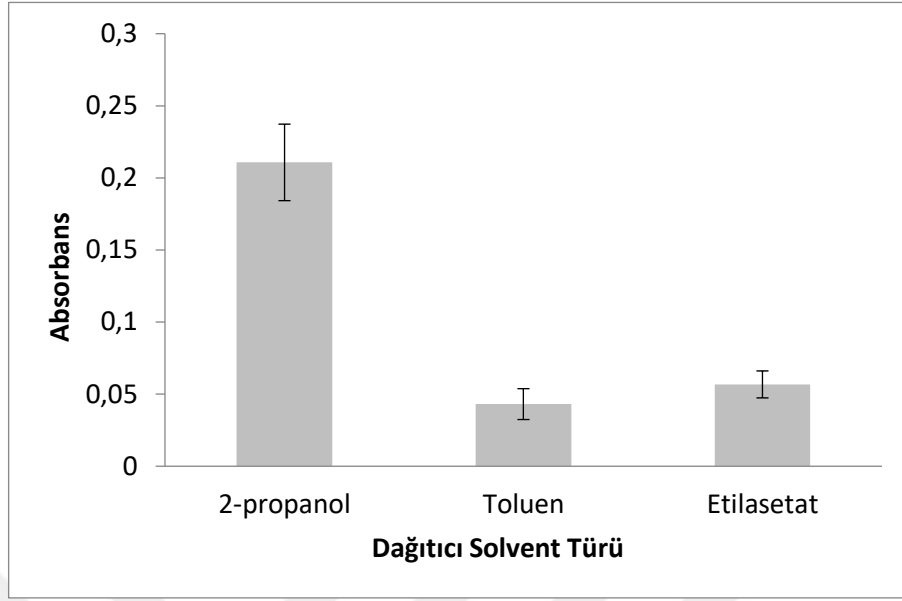
Bu çalışma kapsamında kadmiyum ve bakırın eser seviyelerde tayini amacı ile sırasıyla ters faz-dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon-yarıklı kuvars tüp-alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (TF-DSSME-YKT-AAAS) ve eş zamanlı kompleksleşme-dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon-yarıklı kuvars tüp-alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (EZK-DSSME-YKT-AAAS) yöntemleri geliştirilmiştir. İki yöntemin optimizasyon çalışmaları optimizasyonu gerçekleştirilecek parametre dışındaki tüm parametrelerin sabit tutulması ile yapılmıştır. Deneysel çalışmalar üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

4.1 Ters Faz Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon-Yarıklı Kuvars Tüp-Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (TF-DSSME-YKT-AAAS) Yöntemi Kullanarak Balık Yağı Örneklerinde Eser Miktarda Kadmiyum Tayini

Bu çalışmada optimizasyonlar boyunca örnek akış hızı 6,44 mL/dk olarak kullanılmıştır. Optimizasyonlar sırasında kullanılan zeytinyağı içerisinde hazırlanan kadmiyum standart çözeltisinin derişimi 233 µg/kg'dır.

4.1.1 Dağıtıcı Çözücü Türü ve Hacmi Optimizasyonu

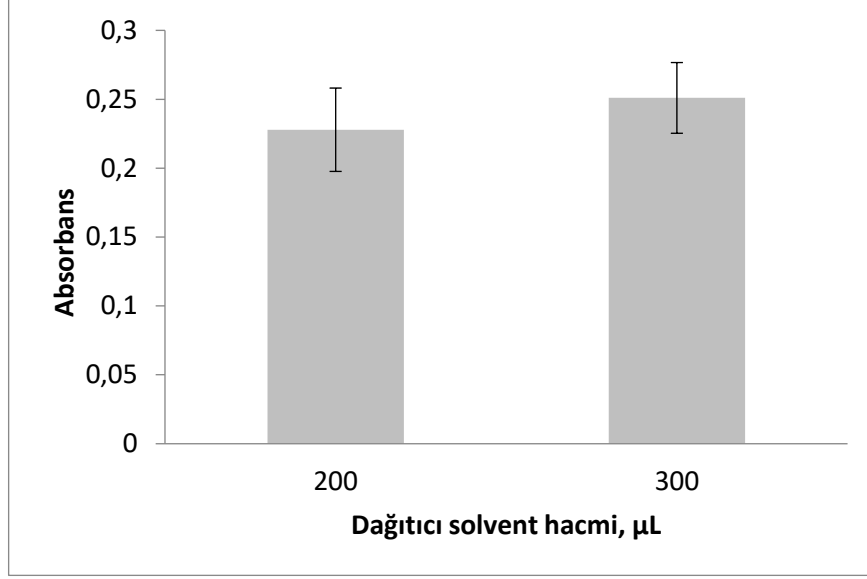
Dağıtıcı çözücü hem sulu faz hem organik faz içerisinde çözünür olmalıdır. Bu çalışmada örnek matriksi yağ ve ekstraksiyon çözücüsü saf su olması bakımından ekstraksiyon çözücüsünün yağ içerisinde dağılmasını sağlamak amacıyla uygun bir dağıtıcı çözücünün seçilmesi önemlidir. Bu amaçla 2-propanol, toluen ve etil asetat çözücüleri test edilmiştir. Şekil 4.1'de görüldüğü üzere en yüksek absorbans değeri 2-propanolün dağıtıcı çözücü olarak kullanılması ile elde edilmiştir.



Şekil 4.1 Dağıtıcı çözücü türü optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, dağıtıcı çözücü miktarı 2,0 mL, karıştırma türü/periodyu vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C)

TF-DSSME yönteminde dağıtıcı çözücünün hacmi diğer bir önemli parametredir. Dağıtıcı çözücünün ekstraksiyon çözücüsünü organik faz içerisinde etkili bir biçimde dağıtması açısından bu çözücünün hacmi önemlidir.

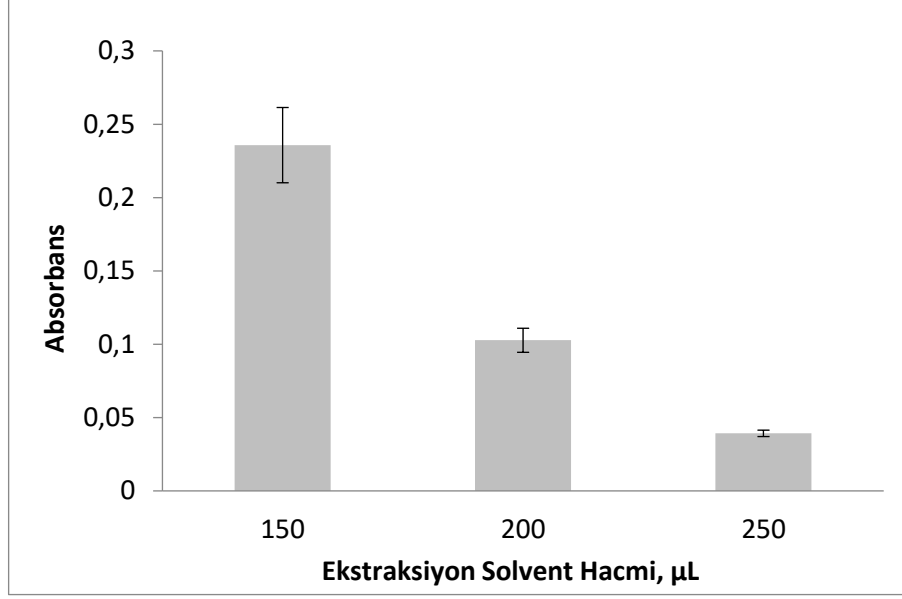
Ayrıca mikroeekstraksiyon yönteminin uygulanmasının ardından oluşacak analitçe zengin fazın hacmi üzerinde de dağıtıcı çözücü hacminin etkisi bulunmaktadır [22]. Bu nedenlerden dolayı, dağıtıcı çözücü hacmi 75, 100, 200 ve 300 μ L 2-propanol kullanılarak test edilmiştir. Deneyler sırasında 150 μ L ekstraksiyon çözücüsü kullanılmıştır. 75 ve 100 μ L 2-propanol kullanılan örneklerde faz oluşumu gözlenmemiştir. Şekil 4.2'deki grafiğe göre, en yüksek absorbans değerine 300 μ L 2-propanol kullanılan örnekler ile ulaşılmıştır.



Şekil 4.2 Dağıtıcı çözücü hacmi optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, dağıtıcı çözücü türü 2-propanol, karıştırma türü/periodyu vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C)

4.1.2 Ekstraksiyon Çözücü Hacmi Optimizasyonu

Geliştirilen TF-DSSME yönteminde yağ matrislerinden bulunan kadmiyumun ekstraksiyonu amacı ile ultra saf su ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmıştır. Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi analitin zenginleştirilmesini büyük ölçüde etkilemektedir [33]. Bu amaçla, 100, 150, 200 ve 250 µL ekstraksiyon çözücüsü hacimleri test edilerek yüksek önderiştirme faktörlerine ulaşılması hedeflenmiştir. Çalışmalar sonucunda 100 µL ekstraksiyon çözücüsünde faz gözlenmemiştir ve en yüksek sinyaller Şekil 4.3'te görüldüğü üzere 150 µL ekstraksiyon çözücüsü kullanılan örneklerde gözlenmiştir. Daha yüksek hacimlerde gözlemlenen absorbans değerindeki azalma ise mikroekstraksiyon sonucu elde edilen sulu fazın miktarının artışı nedeniyle önderiştirme faktörünün azalmasıdır. Bu nedenle optimum değer 150 µL olarak seçilmiştir.

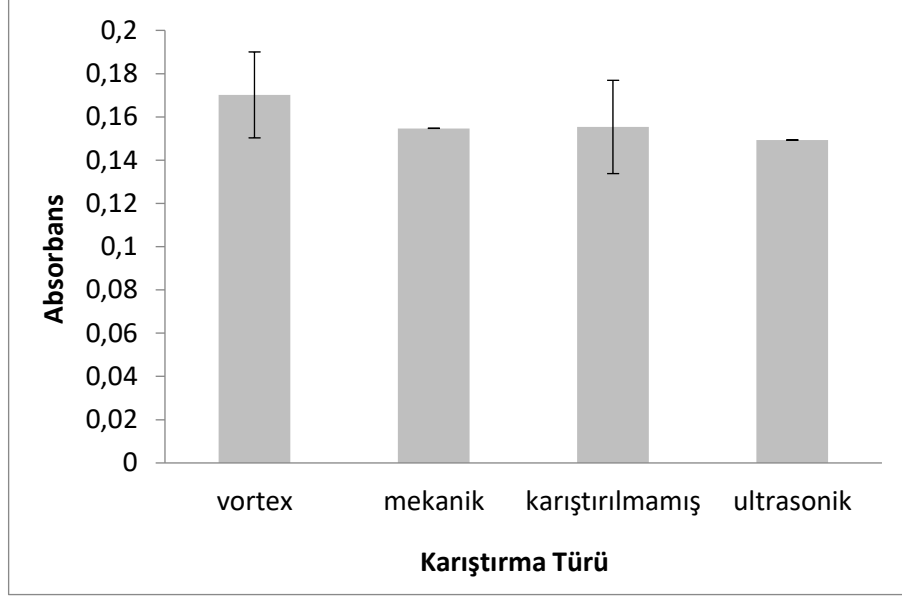


Şekil 4.3 Ekstraksiyon çözücü hacmi optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g,, dağıtıcı türü ve çözücü miktarı 2-propanol ve 2,0 mL, karıştırma türü/periodyu sırasıyla vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C)

4.1.3 Karıştırma Türü ve Periyodu Optimizasyonu

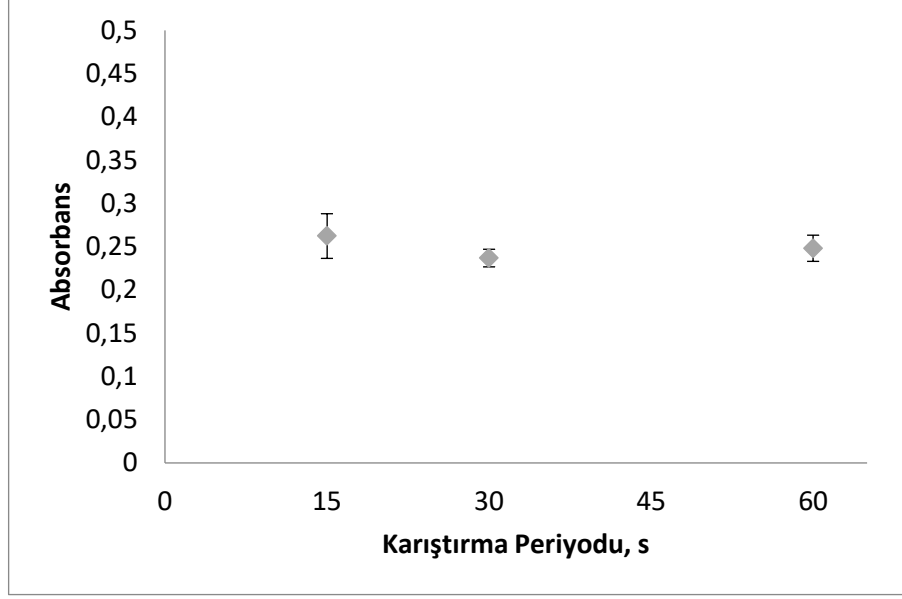
Ekstraksiyon ve dağıtıcı çözücünün enjeksiyonundan sonra ekstraksiyon çözücüsünün etkin bir biçimde yağ matriksi içerisinde dağılmasını sağlamak amacı ile karıştırma işlemi uygulanmıştır. Vorteks, mekanik karıştırıcı ve ultrasonikasyon karıştırma işlemleri denenmiştir. Bu denemelerde karıştırma periyodu 15 s'dir.

Bunun yanı sıra, herhangi bir karıştırma işlemi uygulanmayan numuneler test edilmiştir. Şekil 4.4'te görüldüğü gibi optimizasyon sonucunda maksimum absorbans değeri vorteks ile karıştırılan örnekler için elde edilmiştir. Bu nedenle vorteks ile karıştırma optimum karıştırma türü olarak seçilmiştir.



Şekil 4.4 Karıştırma türü optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, ekstraksiyon çözücü hacmi 300 μ L, dağıtıcı türü ve çözücü miktarı 2-propanol ve 2,0 mL, karıştırma periyodu sırasıyla 15 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 $^{\circ}$ C)

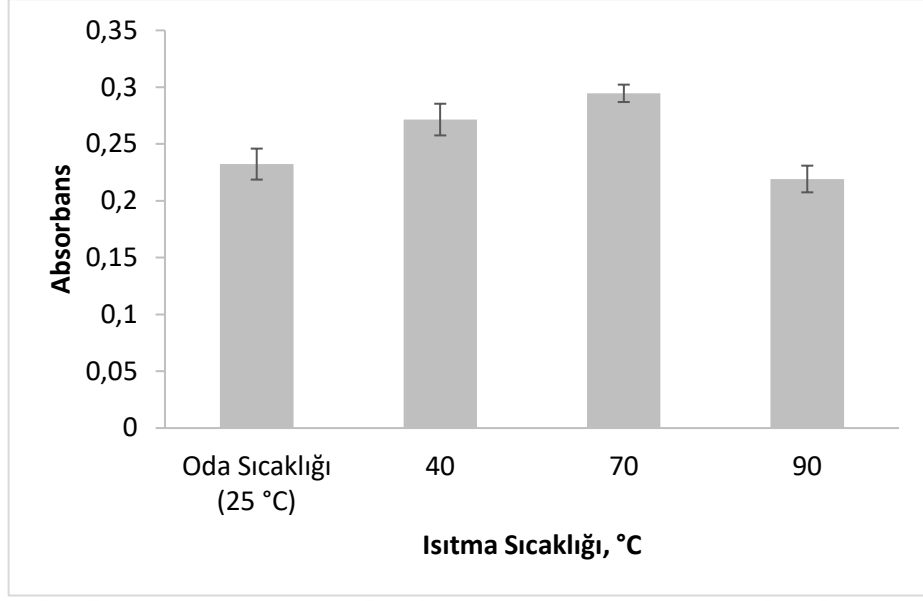
Karıştırma türü seçildikten sonra, karıştırma periyodunun önerilen analitik yöntem üzerindeki etkisini gözlemlemek amacıyla optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu optimizasyonda 15, 30 ve 60 s vorteks ile karıştırılarak denemeler yapılmıştır. Şekil 4.5'teki sonuçlara göre, maksimum absorbans değerleri 15 s vorteks periyodu ile ulaşılmış ve 15 s optimum değer olarak seçilmiştir. Bu değerden yüksek periyotlarda yakın absorbans değerleri elde edilmiştir. Bu nedenle daha uzun periyotlar optimum değer olarak seçilmemiştir.



Şekil 4.5 Karıştırma periyodu optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, ekstraksiyon çözücü hacmi 300 μ L, dağıtıcı türü ve çözücü miktarı 2-propanol ve 2,0 mL, karıştırma türü vorteks, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 °C)

4.1.4 Isıtma Etkisi

Isıtma işlemi, ekstraksiyon çözücüsü ve dağıtıcı çözücünün zeytinyağı içerisinde homojen olarak dağılmasını etkileyen önemli bir parametredir. Isıtma işlemi ile yağ matriksinin viskozitesini azaltılarak ekstraksiyon verimi artırılabilir [68]. Isıtma etkisini test etmek amacıyla 40, 70 ve 90 °C su banyolarında ayrı ayrı ısıtılan örnekler ve oda sıcaklığındaki örnek incelenmiştir. 90 °C'de ısıtılan örnekler ile oda sıcaklığındaki örnekler arasında önemli bir fark görülmemiştir. Şekil 4.6'da görüldüğü üzere en yüksek sinyal şiddetine 70 °C'de ulaşılarak, yağ matriksi ile ekstraksiyon çözücüsü arasında yüksek bir etkileşim sağlanmıştır.

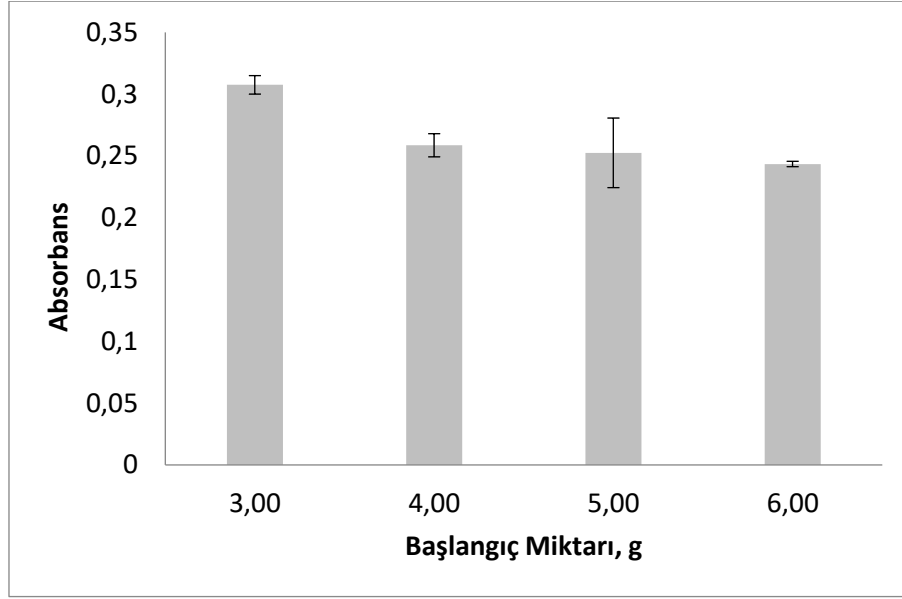


Şekil 4.6 Isıtma etkisi optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, ekstraksiyon çözücü hacmi 300 μ L, dağıtıcı türü ve çözücü miktarı 2-propanol ve 2,0 mL, karıştırma türü/periodyu sırasıyla vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm))

4.1.5 Başlangıç Miktarı Optimizasyonu

Geliştirilen analitik yöntemin ekstraksiyon verimindeki diğer bir önemli faktör çalışılan yağ örneğinin başlangıç miktarıdır. Bu sebeple, 3,0, 4,0, 5,0 ve 6,0 g toplamda aynı miktar kadmiyum içeren zeytinyağı numuneleri tartılmıştır.

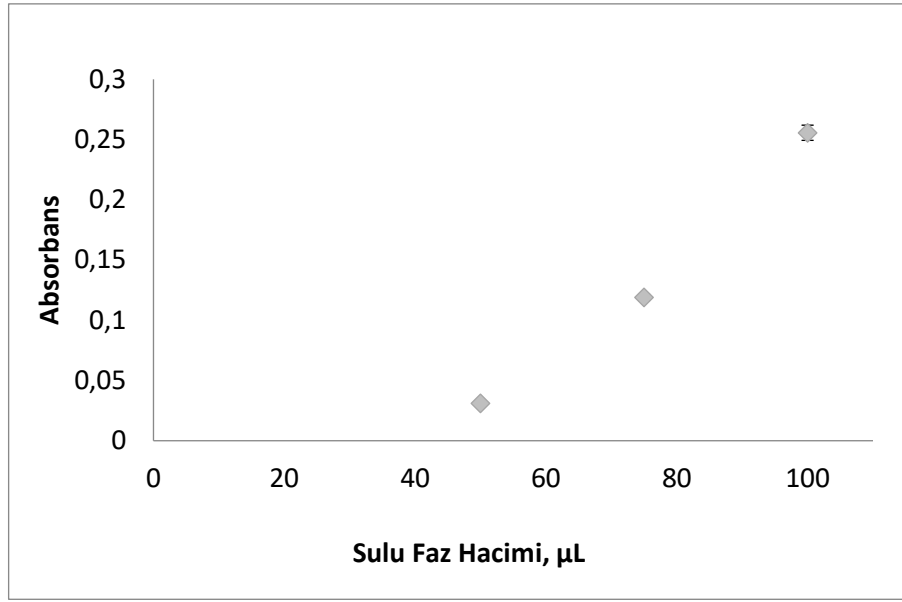
Diğer parametreler sabit tutularak, bu numunelere TF-DSSME yöntemi uygulanmış ve AAAS sistemi ile ölçülmüştür. Belirlenmiş ısıtma süresi ve ekstraksiyon parametreleri doğrultusunda, en yüksek absorpsiyon değeri 3,0 g örneklerden elde edilmiştir. Bu optimizasyon işlemi sonucunda elde edilen grafik, Şekil 4.7’de gösterilmiştir.



Şekil 4.7 Başlangıç miktarı optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler: ekstraksiyon çözücü hacmi 300 μ L, dağıtıcı türü ve çözücü miktarı 2-propanol ve 2,0 mL, karıştırma türü/periodyu sırasıyla vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 $^{\circ}$ C)

4.1.6 Mikroekstraksiyon Sonrası Sulu Faz Hacmi Optimizasyonu

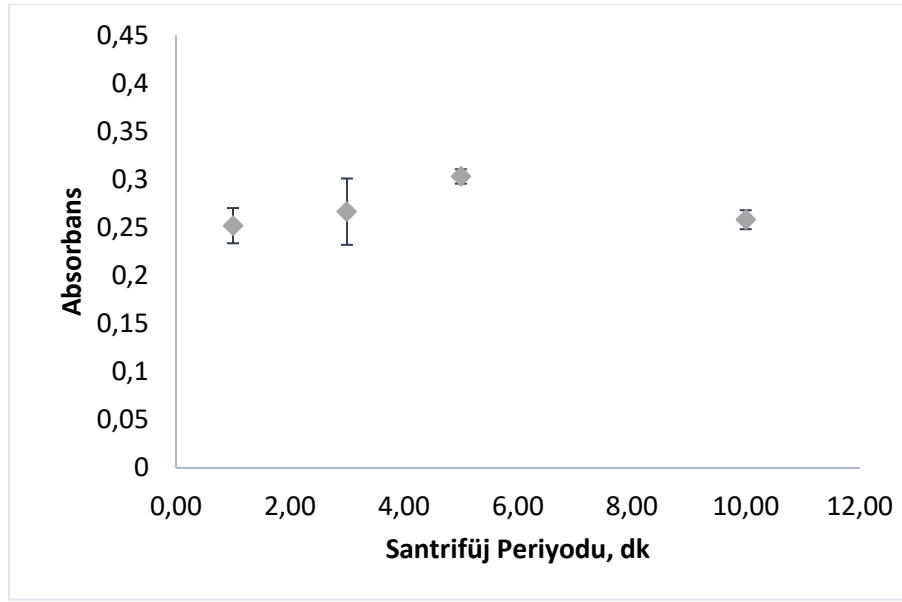
Geliştirilen TF-DSSME yönteminin sonucunda elde edilen analit bakımından zengin sulu fazın YKT-AAAS sistemine gönderilen hacminin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ekstraksiyon sonucu oluşan su fazdan 50, 75 ve 100 μ L alınarak denemeler gerçekleştirilmiştir. Ek olarak 100 μ L'den daha yüksek hacimlerde sulu faz elde edilemediği için bu hacimden daha yüksek hacimler denenememiştir. Şekil 4.8'de görüldüğü üzere 100 μ L sulu faz alınan örneklerden en yüksek absorbans değerleri elde edilmiştir.



Şekil 4.8 Sulu faz hacmi optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, ekstraksiyon çözücü hacmi 300 μL , dağıtıcı çözücü türü/miktarı 2-propanol/2,0 mL, karıştırma türü/periodyu vorteks/45 s, santrifüj süresi 5,0 dk (6000 rpm), örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 $^{\circ}\text{C}$)

4.1.7 Santrifüj Periyodu Optimizasyonu

TF-DSSME yönteminde analitin tamamen organik fazdan toplanması ve su fazının yağ fazından tamamen ayrılması için santrifüj periyodu optimize edilmelidir [27]. Bu nedenle geliştirilen yöntem için santrifüj periyodu, farklı periyotlarda (1,0, 3,0, 5,0 ve 10 dk) uygulanarak optimize edilmiştir. Bu denemelerin AAAS sisteminde ölçülmesi sonucu elde edilen sinyallere göre oluşturulmuş grafik Şekil 4.9 da gösterildiği gibidir. Bu grafiğe göre optimum santrifüj periyodu 5,0 dakika olarak seçilmiştir. Bu periyottan az yapılan santrifüj işlemlerinden elde edilen sinyallerde azalma gözlenmektedir.



Şekil 4.9 Santrifüj periyodu optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler: başlangıç hacmi 3,0 g, ekstraksiyon çözücü hacmi 300 μ L, dağıtıcı türü/çözücü miktarı 2-propanol/2,0 mL, karıştırma türü/periodyu vorteks/45 s, örnek tüp ısıtma sıcaklığı 70 $^{\circ}$ C ve sulu faz hacmi 100 μ L)

4.1.8 AAS ve YKT-AAAS Sistem Optimizasyonları

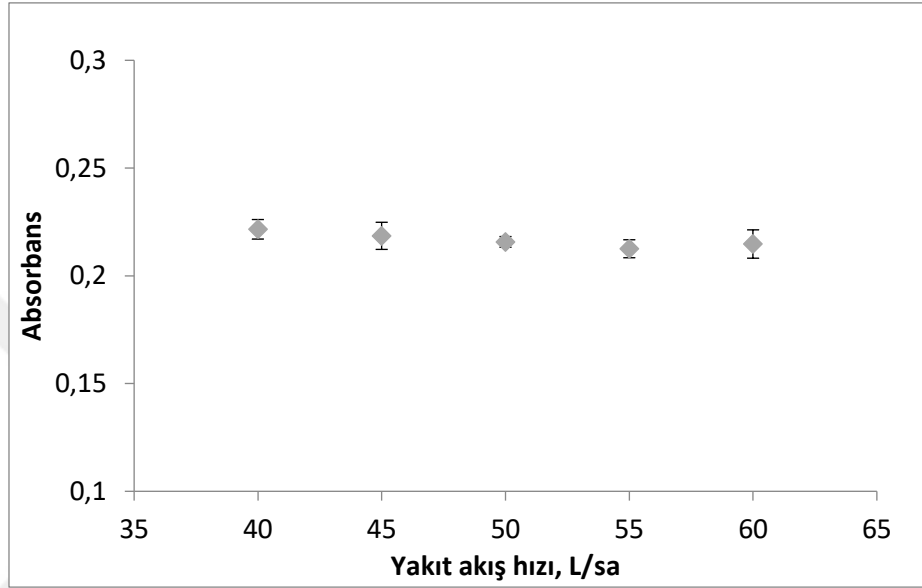
TF-DSSME yönteminin optimizasyonları tamamlandıktan sonra AAAS ve YKT-AAAS sistemleri optimize edilmiştir. Bu optimizasyonlarda kullanılan örnek akış hızı 6,44 mL/dk olarak ölçülmüştür. AAAS ve YKT-AAAS sistemlerinin optimizasyon çalışmalarında sırasıyla saf su içerisinde hazırlanan 1,0 ve 0,50 mg/kg kadmiyum standardı kullanılmıştır.

- AAAS Sistemi için Yakıt Akış Hızı Optimizasyonu

AAAS sisteminin bir parçası olan sisleştirci içerisinde aerosol haline gelen örnek çözeltisi, alev başlığındaki yaklaşık 2300 $^{\circ}$ C sıcaklığa sahip asetilen alevinde içerdiği atom ve moleküllerin kinetik enerjileri artması sonucu atomlaşmaktadır. Fakat her elementin atomlaşması için gereken enerjinin farklı olması nedeniyle uygun sıcaklıkta alev elde etmek amacıyla asetilen akış hızının optimize edilmesi

gerekmektedir [51]. Bu nedenle çalışma boyunca yakıt olarak kullanılan asetilen gazının akış hızı 40-60 L/sa aralığında test edilmiştir.

Ancak asetilen akış hızı arttıkça absorbands değerinde anlamlı bir artış görülmemiştir. Bu nedenle 40 L/sa asetilen akış hızı optimum değer olarak seçilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 AAAS sistemi için yakıt akış hızı optimizasyonu

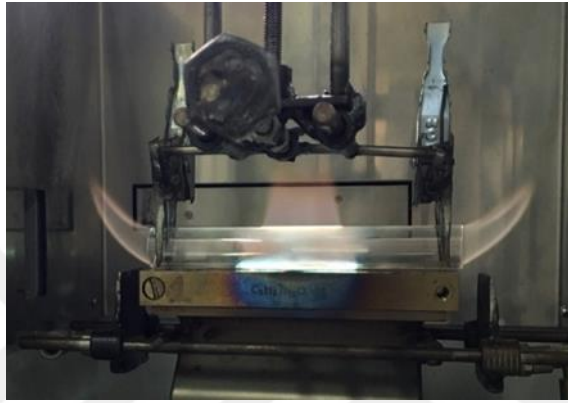
- YKT-AAAS Sistemi için Yakıt Akış Hızı Optimizasyonu

AAAS sisteminde sisleştirci kısmı örneklerin analizi sırasında verimini düşüren bir dezavantajdır [69]. Alev başlığına paralel olarak yerleştirilen YKT ile atomlaşma sırasında atomların ışık yolunda kalma süresi arttırılmaktadır. YKT kullanımı ile her element için duyarlılıktaki artış farklı olabilmektedir. Duyarlılıktaki artış ortalama olarak 2-5 kat aralığında olduğu literatürde rapor edilmiştir [25].

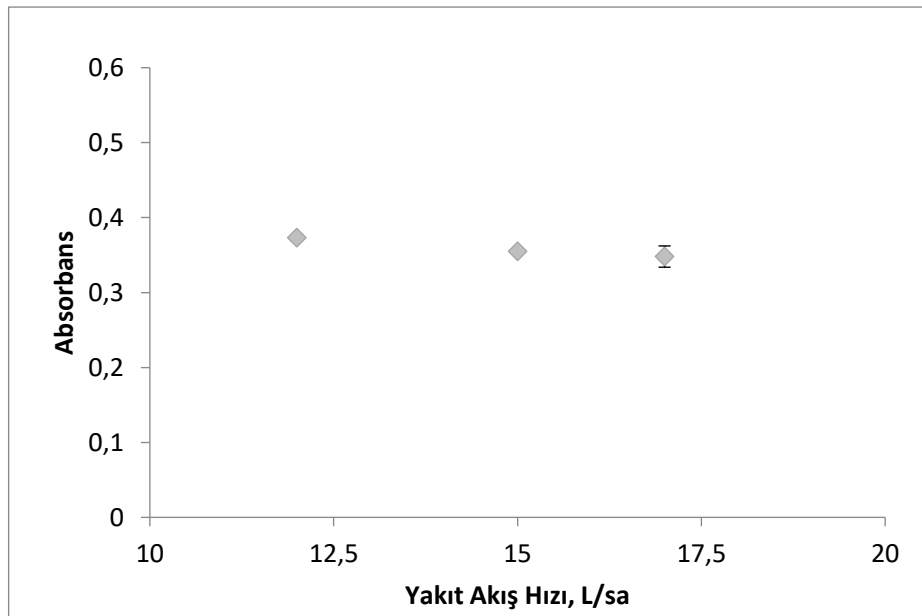
YKT kullanımı sırasında dikkat edilmesi gereken önemli bir durum vardır. YKT'nin yan kısımlarında çıkan alevin boynuz şeklinde olması nedeniyle kuvars pencerelere yakın pozisyonda bulunan cihazın elektronik bileşenlerine zarar verebilmesi mümkündür. Şekil 4.11'de gösterildiği gibi geniş boynuz şeklinde bir alev istenmemektedir.

Bu nedenle, yakıt akış hızı optimizasyonun yapılması gerekmektedir. Ayrıca kadmiyumun etkin biçimde atomlaşmasını sağlamak amacıyla da asetilen akış hızı optimizasyonu önemlidir.

Yapılan YKT-AAAS optimizasyon çalışmaları sırasında ATI UNICAM 929 AA AAAS sistemi kullanılmıştır. Şekil 4.12’de gösterildiği gibi en yüksek absorbens değerleri 12 L/sa yakıt akış hızında elde edilmiştir.



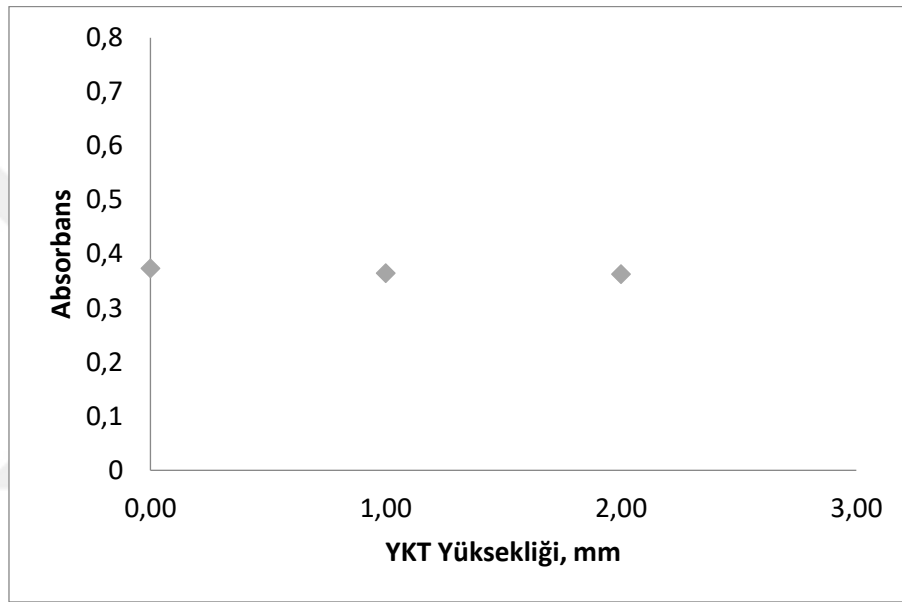
Şekil 4.11 AAAS sisteminde kullanılan yarıklı kuvars tüp (YKT) gösterimi



Şekil 4.12 YKT-AAAS sistemi için yakıt akış hızı optimizasyonu

- YKT-AAAS Sistemi için YKT Yüksekliği Optimizasyonu

YKT yüksekliği YKT ile alev başlığı arasındaki uzaklıktır ve sistemin duyarlılığını etkileyen bir diğer parametre olarak optimize edilmiştir. Alev başlığının ayarlanması ile YKT'nin alev başlığından yüksekliği sırasıyla 0,0, 1,0 ve 2,0 mm olarak ayarlanmış ve absorbans değerleri kaydedilmiştir. Elde edilen absorbans değerleri arasında önemli bir fark gözlenmemesi nedeniyle optimum değer 0,0 mm olarak seçilmiştir. Optimizasyona ait sonuçlar Şekil 4.13'te verilmiştir.



Şekil 4.13 YKT-AAAS sistemi için YKT yüksekliği optimizasyonu

TF-DSSME, AAAS ve YKT-AAAS sistemlerine ait optimum deneysel koşullar Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1 TF-DSSME, AAAS ve YKT-AAAS sistemlerine ait optimum koşullar

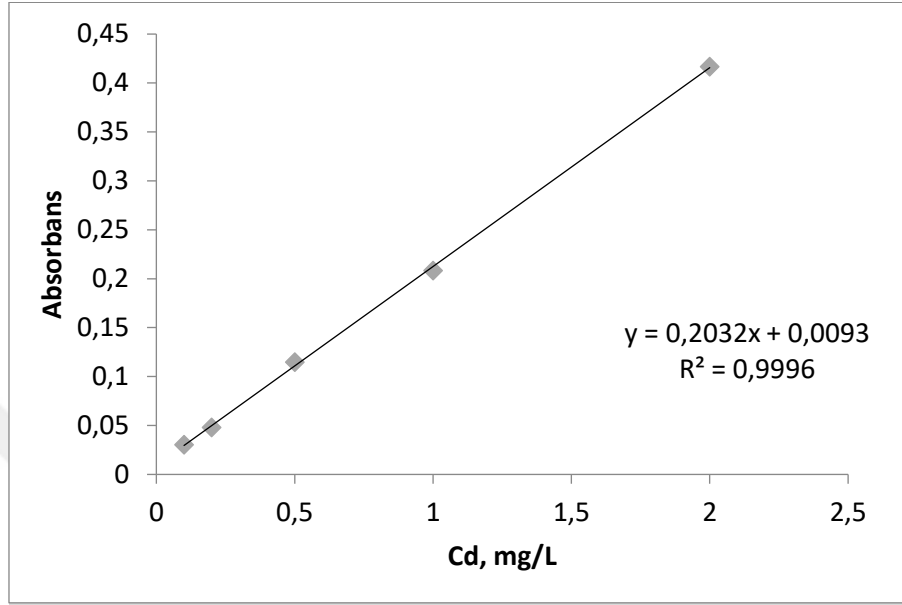
Parametre	Optimum Değer
Örnek miktarı	3,0 g
Sıcaklık	70 °C
Dağıtıcı çözücü/hacmi	2-Propanol/300 µL
Ekstraksiyon çözücüsü/hacmi	Ultra saf su/150 µL
Karıştırma türü/periody	Vorteks/15 s
Santrifüj periyodu	5,0 dk
Sıvı faz hacmi	100 µL
Yakıt akış hızı (AAAS)	40 L/sa.
Yakıt akış hızı (YKT-AAAS)	12,5 L/sa.
YKT yüksekliği	0,0 mm

4.1.9 Sistem Analitik Performansının Belirlenmesi

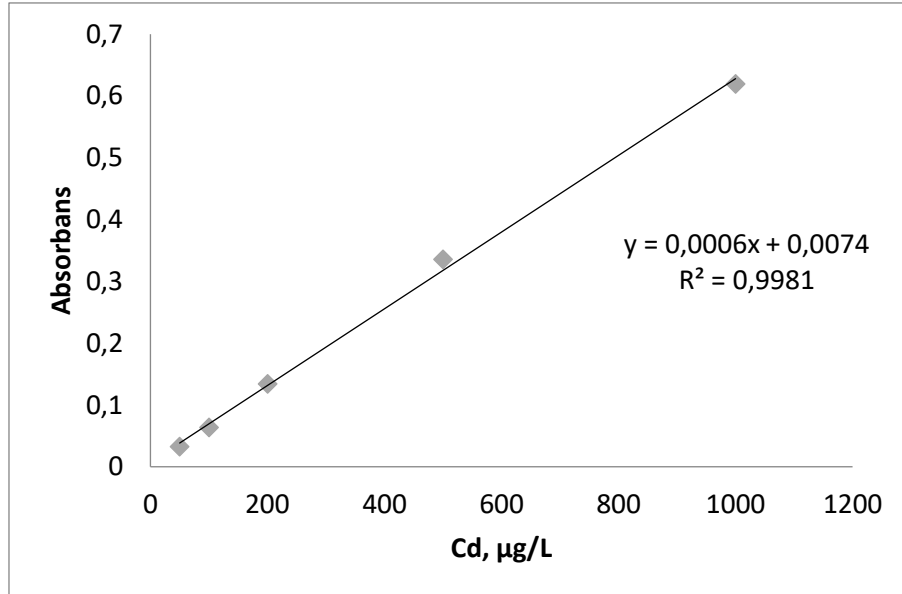
Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda elde edilen optimum koşullar altında AAAS, YKT-AAAS, TF-DSSME-AAAS ve TF-DSSME-YKT-AAAS sistemlerinin analitik performansı doğrusal aralık, gözlenebilme limiti (GL) ve tayin limiti (TL) değerleri ile belirlenmiştir. Sistemlere ait elde edilen kalibrasyon doğruları sırasıyla Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17’de gösterilmiştir. Geliştirilen TF-DSSME-YKT-AAAS sisteminin analitik performans çalışmalarından elde edilen GL ve TL değerleri sırasıyla, 0,74 ve 2,48 µg/kg olarak hesaplanmıştır. Diğer sistemlere ait GL, TL ve doğrusal aralık değerleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Gözlenebilme limitindeki iyileştirme incelenen sistemin GL değerinin AAAS sisteminin GL değerine bölünmesi ile hesaplanmıştır.

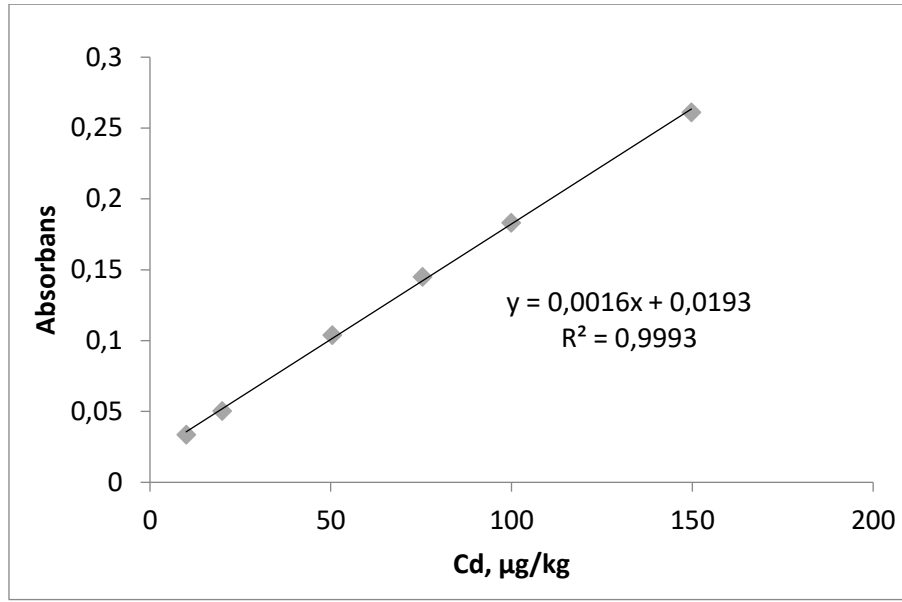
Buna göre AAAS sistemi ile kıyaslandığında YKT-AAAS sistemi ile 2,89 kat, TF-DSSME-AAAS sistemi ile 15,71 kat ve TF-DSSME-YKT-AAAS sistemi ile 40 kat gözlenebilme limitinde iyileştirme elde edilmiştir.



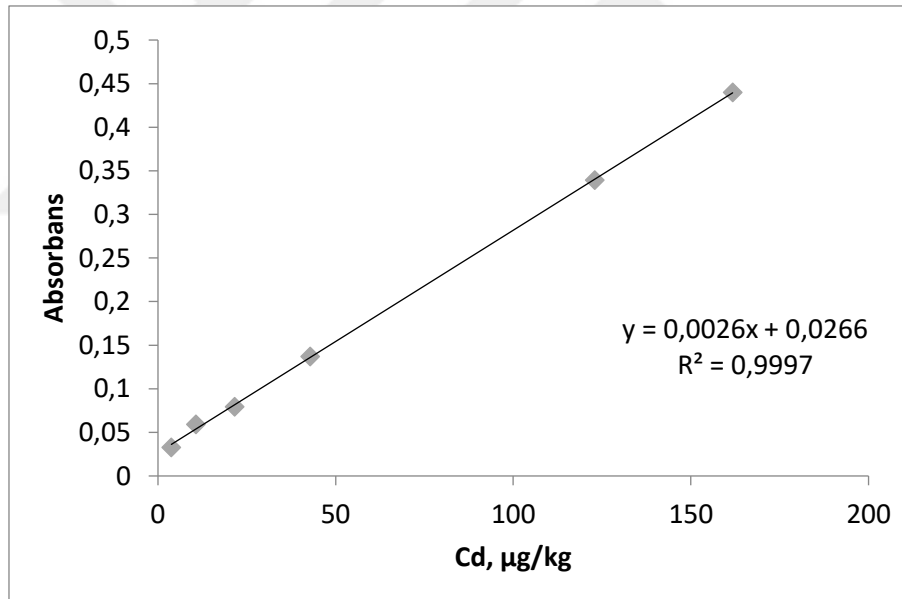
Şekil 4.14 AAAS sistemi için kalibrasyon doğrusu (n=3)



Şekil 4.15 YKT-AAAS sistemi için kalibrasyon doğrusu (n=3)



Şekil 4.16 TF-DSSME-AAAS sistemi için kalibrasyon doğrusu (n=6)



Şekil 4.17 TF-DSSME-YKT-AAAS sistemi için kalibrasyon doğrusu (n=6)

Geliştirilen TF-DSSME-YKT-AAAS sisteminin literatürde yer alan kadmiyum tayinini için geliştirilen analitik yöntemlerle karşılaştırılması açısından GL, TL ve doğrusal aralık değerleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Katı faz ekstraksiyon-alevli atomik absorpsiyon spektrofotometrisi (KFE-AAAS) [70], vorteks destekli-iyonik sıvı esaslı

sıvı-sıvı mikroekstraksiyon-alevli atomik absorpsiyon spektrofotometrisi (VD-İS-SSME-AAAS) [71] ve alkol yakıtlı alevli atomik absorpsiyon spektrofotometrisi (AY-AAAS) [72] yöntemleri ile karşılaştırıldığında daha düşük GL ve TL değerleri elde edilmiştir.

Tablo 4.2 Geliştirilen yöntemlere ait sistem analitik performans değerlerinin literatür ile kıyaslanması

Sistemler	Gözlenebilme Limiti	Tayin Limiti	Doğrusal Aralık	Referans
AAAS	30,1 µg/L	100,3 µg/L	100-2000 µg/L	Bu Çalışma Sonuçları
YKT-AAAS	10,4 µg/L	34,6 µg/L	50-1000 µg/L	
TF-DSSME-AAAS	1,91 µg/kg	6,36 µg/kg	10-150 µg/kg	
TF-DSSME-YKT-AAAS	0,75 µg/kg	2,48 µg/kg	3,77-162 µg/kg	
KFE-AAAS	1,4 µg/L	6,6 µg/L	-	[70]
HR-CS GFAAS	0,10 µg/L	0,30 µg/L	-	[73]
KFE-AAAS	1,44 µg/L	4,32 µg/L	-	[74]
VD-İS-SSME-AAAS	2,9 µg/L	-	10-250 µg/L	[71]
AY-AAAS	5,5 µg/L	-	5- 150 µg/L	[72]

4.1.10 Geri Kazanım Çalışmaları

Geliştirilen TF-DSSME-YKT-AAAS sisteminin doğruluğunun ve uygulanabilirliğinin test edilmesi amacıyla balık yağı şurubunda geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Optimum TF-DSSME-YKT-AAAS koşulları altında, balık yağı şurubu kullanılarak hazırlanan kör örneklerdeki kadmiyum derişimi tayin limitinin altında olduğu tespit edilmiştir. Matriks etkisini ortadan kaldırmak amacıyla matriks eşleme kalibrasyon stratejisi uygulanmıştır. Matriks eşleme kalibrasyon doğrusu 25-128 µg/kg aralığında çizilmiştir. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklem yardımıyla 25, 51 ve 97 µg/kg kadmiyum eklenmiş balık yağı örneklerinden elde edilen geri kazanım sonuçları ve % bağıl standart sapma (% BSS) değerleri Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3 Balık yağı örnekleri için yüzde geri kazanım çalışmaları sonuçları

Eklenen derişim, µg/kg	% Geri Kazanım	% BSS
25	105,7	8,7
76	95,6	7,9
97	99,8	8,2

Elde edilen yüzde geri kazanım değerleri (%95,6-105,7) geliştirilen TF-DSSME-YKT-AAAS yönteminin balık yağı örneklerine uygulanabilirliğini kanıtlamaktadır. Ayrıca sonuçları %100'e yakın olması ve %BSS değerlerinin %10'dan küçük olması yöntemin iyi bir doğruluğa ve kesinliğe sahip olduğunu göstermektedir.

4.1.11 Yeşil Kimya Değerlendirmesi

Günümüzde bilim insanları organik ve inorganik kirleticilerin tespiti ve tayini için yeşil analitik yöntemler geliştirmeye yönelik araştırmalar yapmaktadır. Çevrenin korunması ve halk sağlığı için toksik çözücü kullanımını azaltmak, enerji tüketimini azaltmak ve atık üretimini en aza indirmek önemlidir.

Gałuszka ve çalışma arkadaşları, analitik yöntemlerin yeşil kimyaya uyumluluğunu değerlendirmek için geliştirdikleri bir testi literatüre sunmuşlardır [59].

Bazı reaktifler, analitik uygulamalar ve cihazlar yeşil konsept ile tutarsızlığını gösteren bir ceza puanına sahiptir. Yöntemin sahip olduğu toplam ceza puanı 100'den çıkartılır. 75'ten yüksek puan, yöntemin çevre dostu olarak değerlendirilebileceği anlamına gelir [75]. Bu çalışmada söz konusu teste göre geliştirilen yöntem 91 puana sahiptir. Bu nedenle, TF-DSSME-YKT-AAAS yöntemi yeşil bir analitik yöntem olarak değerlendirilebilmektedir.

4.2 Eş Zamanlı Kompleksleşme-Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon- Yarıklı Kuvars Tüp-Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (EZK-DSSME-YKT-AAAS) Yöntemi Kullanılarak Klimalardan Elde Edilen Atık Sularda Eser Miktarında Bakır Tayini

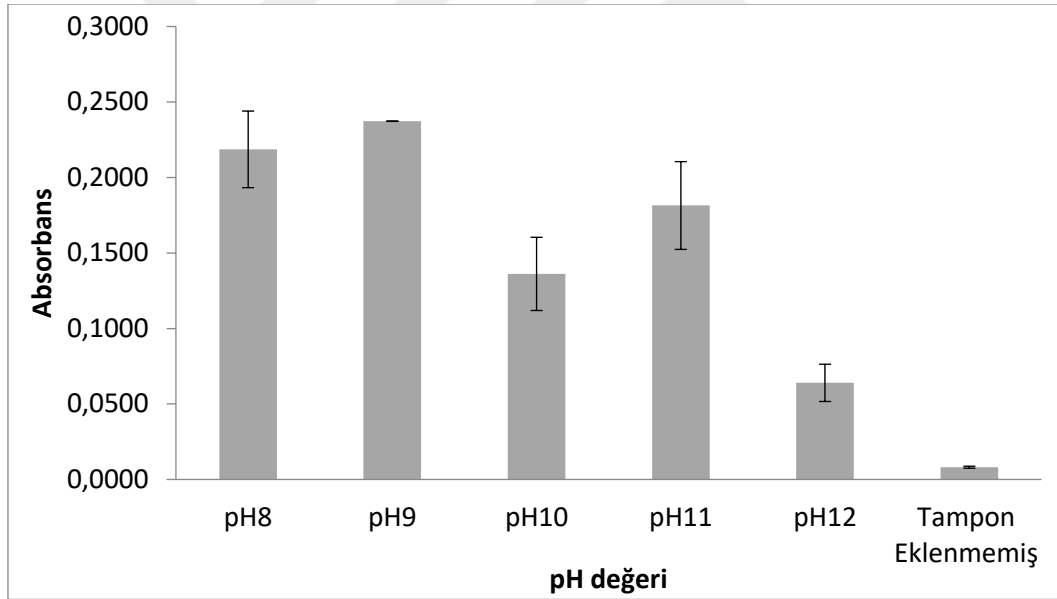
Bu çalışma kapsamında klima atık suyunda bulunan eser miktarda bakırın önderiştirilmesi ve tayinine yönelik eş zamanlı kompleksleşme-dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon-yarıklı kuvars tüp-alevli atomik absorpsiyon spektrofotometri (EZK-DSSME-YKT-AAAS) yöntemi geliştirilmiştir.

Eser seviyede bakırın kompleksleştirilmesi amacı ile verbenon hidrazon ligandı kullanılmıştır. Sentezlenen ligandın kloroform içerisinde çözünmesi sayesinde hem mikroekstraksiyon hem kompleksleşme aşaması eş zamanlı olarak tek basamakta gerçekleştirilmiştir. Yöntemin optimizasyon çalışmaları sırasında deneyler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

Tampon çözelti türü ve hacmi, ligandın hacmi, dağıtıcı çözücü türü ve hacmi, sulu fazın buharlaştırılması, karıştırma türü ve periyodu, elüent hacmi tek değişkenli optimizasyon yaklaşımı ile optimize edilmiştir.

4.2.1 Tampon Çözelti Türü ve Hacmi Optimizasyonu

Verimli bir kompleks oluşumu elde etmek amacıyla kullanılan tampon çözeltinin türü optimize edilmiştir. Asidik ve nötr pH değerlerinde (<8,0) yapılan denemeler sonucunda sinyal elde edilemediği görülmüştür. Bu nedenle optimizasyon çalışmaları bazik pH değerlerinde yapılmıştır. pH 8,0, 9,0, 10, 11 ve 12 tampon çözeltileri içeren örnekler denenmiştir. Ek olarak, tampon çözelti eklenmemiş örnekler de hazırlanmıştır. Şekil 4.18'de görüldüğü gibi, pH 9,0 tampon çözeltisi eklenen örneklerden elde edilen absorbans değeri bu değere en yakın absorbansa sahip pH 8,0'den yaklaşık %10 daha yüksek absorbansa sahiptir. Bu nedenle pH 9,0 tampon çözeltisi optimum olarak seçilmiştir. Tampon çözelti ilavesi olmayan örnek ise, diğer bazik pH değerlerine göre daha asidik bir pH değerine sahip olması nedeniyle bu örneklerden sinyal elde edilememiştir.

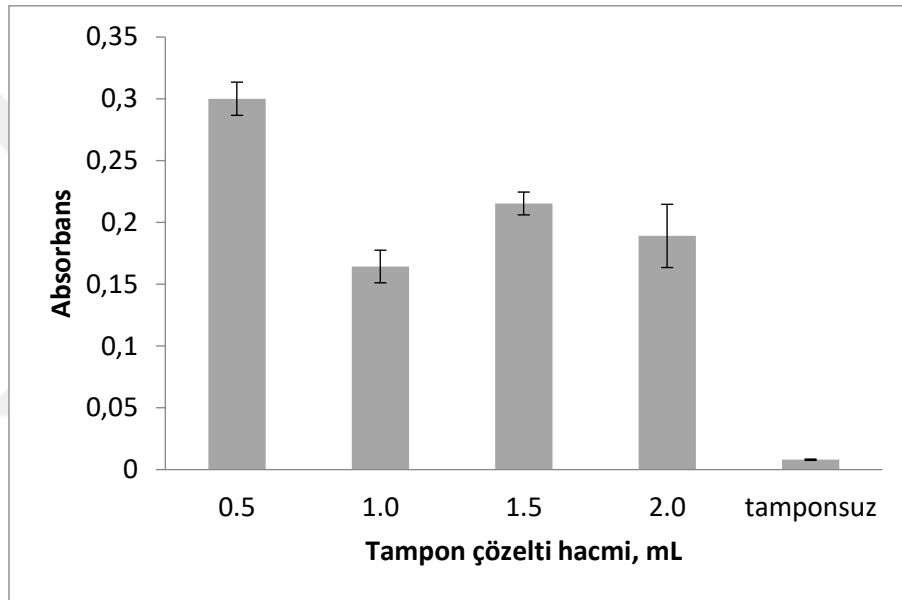


Şekil 4.18 Tampon çözelti türü optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler: tampon çözelti 1,0 mL, karıştırma vorteks/15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL)

Çalışmalar sırasında ayrıca tampon çözeltinin hacminin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Yüksek tampon çözelti hacmi sulu çözeltinin aşırı seyrelmesine neden olabilmekte, az miktarda kullanımı pH değerinin sabit tutulmasında yetersiz kalabilmektedir.

Bu nedenle seçilen pH 9,0 tampon çözeltisinin hacmi optimize edilmiştir. Bu amaçla 1,0, 1,5, 2,0 mL pH 9,0 tampon çözeltisi test edilmiştir.

Maksimum absorbans değerleri 0,5 mL pH 9,0 tampon çözeltisi ile elde edilmiştir ve bu sonuçlar Şekil 4.19’da gösterilmiştir.



Şekil 4.19 Tampon çözelti hacmi optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9, karıştırma vorteks/15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL)

4.2.2 Verbenon-Hidrazon Ligandının Hazırlanmış Çözücü Hacmi Optimizasyonu

Verbenon-hidrazon ligandının kloroform içerisinde çözünmesi sayesinde geliştirilen mikroekstraksiyon yönteminde kloroform hem ekstraksiyon çözücüsü olarak hem de ligand için uygun bir çözücü olarak kullanılmıştır.

Böylelikle kompleksleşme ve mikroekstraksiyon işlemleri tek basamakta gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen yöntemde ligand çözeltisinin hacmi en kritik parametrelerdendir.

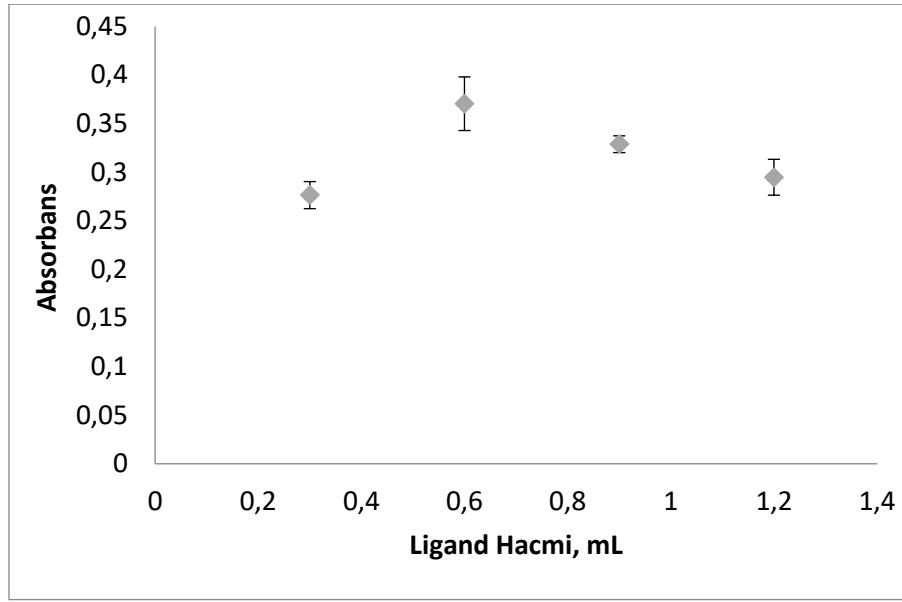
Çünkü analitin kompleksleşmesi ve ekstraksiyonu doğrudan kloroform içerisinde çözünmüş ligand çözeltisinin hacmine bağlıdır.

Yüksek önderiştirme faktörü ve dolayısıyla yüksek kompleksleşme verimi elde edilmesi kullanılan ligand çözeltisinin hazırlandığı çözücü hacmine bağlıdır [43].

Eş zamanlı olarak ekstraksiyon çözücüsü görevi de gören kloroform içerisinde hazırlanan %0,01 verbenon hidrazon ligand çözeltisi çalışmalar boyunca kullanılmıştır.

Hazırlanan bu çözeltinin 0,30, 0,60, 0,90 ve 1,2 mL hacim değerleri test edilerek optimum değer bulunması amaçlanmıştır. Sonuçlara göre, en yüksek sinyal/gürültü oranı 0,60 mL ile elde edilmiştir.

Bunun yanında 0,30 mL ligand çözeltisi eklemesi yeterli kompleks oluşumunu sağlamazken, 0,90 ve 1,2 mL organik fazda ekstra bir seyreltmeye yol açtığından absorbans değerleri 0,60 mL'ye göre düşüktür. Bu nedenle optimum hacim 0,60 mL ligand çözeltisi olarak belirlenmiştir. Bu optimizasyon sonucu Şekil 4.20'de gösterilmiştir.



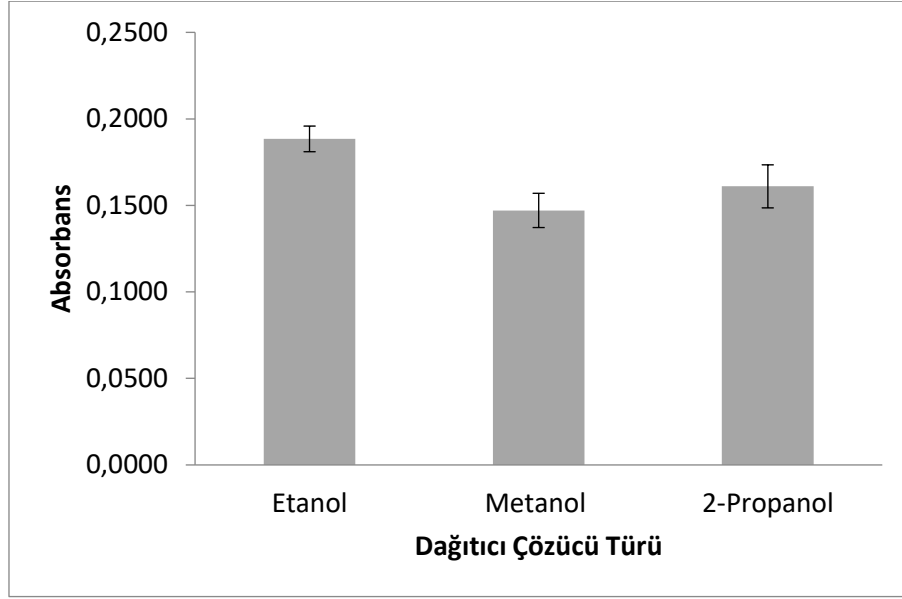
Şekil 4.20 Verbenon-hidrazon ligand hacmi optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/15s, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL)

4.2.3 Dağıtıcı Çözücü Türü ve Hacmi

DSSME yönteminde ekstraksiyon çözücüsünün verimli bir şekilde dağıtılmasını sağlamak için hem sulu fazda hem de organik fazda çözünen dağıtıcı çözümler kullanılır [76]. Bu çalışmada, dağıtıcı çözücü de ekstraksiyon ve kompleks oluşturma verimini artırmak için kullanılmıştır.

Bu nedenle dağıtıcı çözücünün türü ve hacmi optimize edilmiştir. Burada, sulu faz ve kloroform ile karışabilen üç çözücü (etanol, metanol ve 2-propanol) seçilerek, dağıtıcı verimlilikleri açısından test edilmiştir.

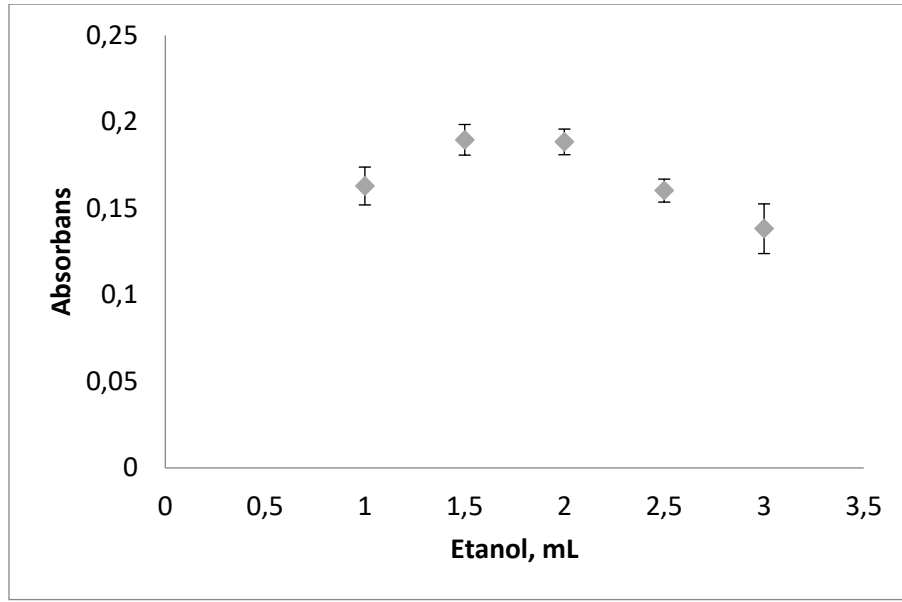
DeneySEL çalışmalar sonucunda Şekil 4.21’de görüldüğü üzere etanol çözücüsü diğer dağıtıcı çözümlere göre daha yüksek absorbans değerlerine sahiptir. Bu nedenle bir sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere optimum dağıtıcı çözücü olarak etanol seçilmiştir.



Şekil 4.21 Dağıtıcı çözücü türü optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü 2,0 mL)

Ek olarak, dağıtıcı çözücünün fazla veya yetersiz hacmi, ekstraksiyon çözücüsünün verimsiz dağılmasına yol açabileceğinden, seçilen dağıtıcı çözücünün hacmi optimize edilmelidir [43].

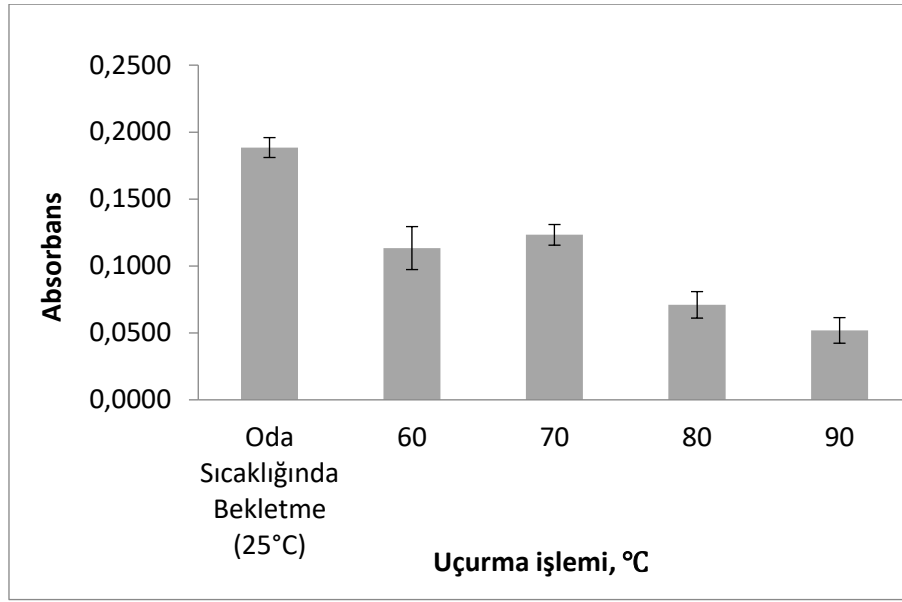
Bu optimizasyonda, 1,0 ile 3,0 mL arasında farklı hacimlerde etanol miktarları denenmiş ve 2,0 mL etanol hacmi optimum değer olarak belirlenmiştir. Optimizasyon sonuçları Şekil 4.22'de gösterilmektedir.



Şekil 4.22 Dağıtıcı çözücü hacmi optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol)

4.2.4 Organik Fazın Buharlaştırılma Sıcaklığının Optimizasyonu

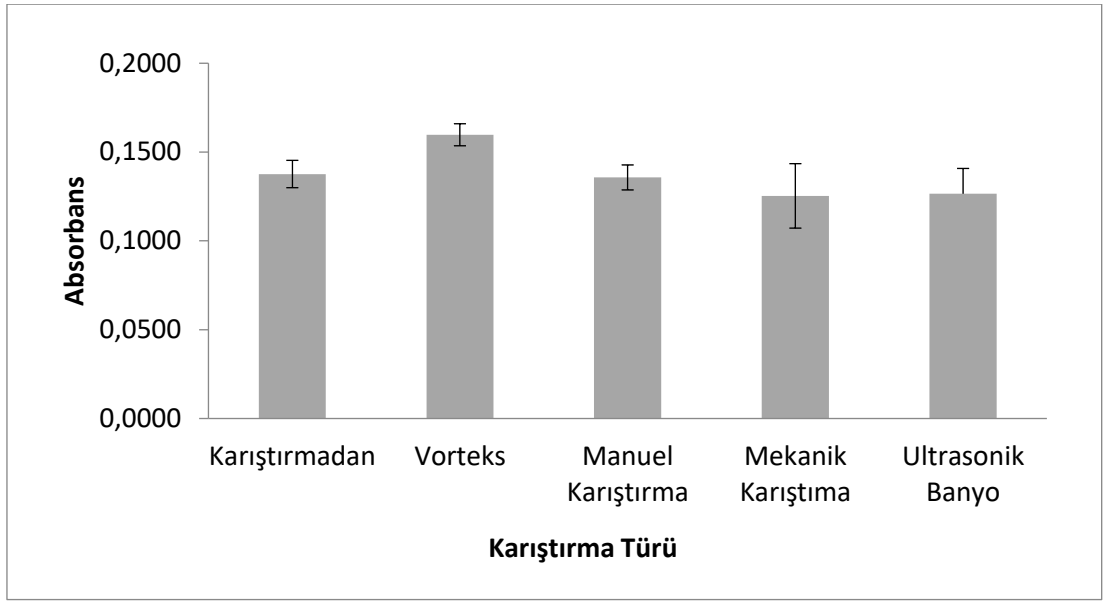
EZK-DSSME yönteminin uygulanmasının ardından santrifüj tüpünün dibinde toplanan organik fazın alınarak ısı işlem uygulanıp buharlaştırılması ile tüp dibinde katı partiküller tespit edilmiştir. Oluşan katılaşmanın eliminasyonu amacı ile organik fazın buharlaştırıldığı sıcaklık optimize edilmiştir. Bu amaçla EZK-DSSME sonucunda elde edilen organik fazlar oda sıcaklığında kendi halinde ve 63, 70, 80 ve 90 °C' de hazırlanan su banyoları içerisinde ayrı ayrı bekletilerek buharlaştırılmıştır. Aşağıdaki şekilde de görüldüğü üzere oda sıcaklığında bekletilen organik fazlar, diğer sıcaklıklara göre yaklaşık 2 kat daha yüksek absorbans değerine sahiptir. Bu nedenle bir sonraki deneylerde buharlaştırma oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23 Organik fazın buharlaştırma sıcaklığı optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL)

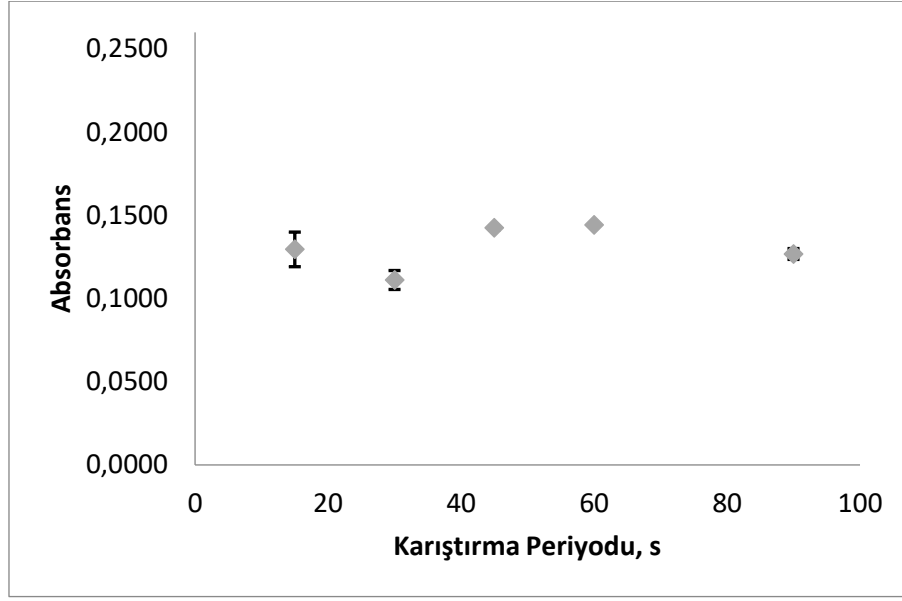
4.2.5 Karıştırma Türü ve Periyodu Optimizasyonu

Analitin etkili kompleks oluşumu ve ekstraksiyonunu sağlamak için ekstraksiyon-dağıtıcı çözücü karışımının enjeksiyonu sonrası karıştırma işlemi yapılmıştır. Yüksek ekstraksiyon verimine ulaşmak amacı ile karıştırma türü ve periyodu optimize edilmiştir. Ekstraksiyon ve dağıtıcı çözücü karışımı standarda enjekte edildikten sonra ultrasonikasyon, mekanik karıştırıcı, vorteks ve manuel karıştırma (elle çalkalama) işlemleri 15 saniye süreyle ayrı ayrı uygulanmıştır. Buna ek olarak, karıştırılma işlemi uygulanmadan da bir deney yapılarak karıştırma işleminin kompleks oluşumu ve önderiştirme işlemi üzerindeki etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Bu işlemler sonucunda, en düşük %BSS değeri ve aynı zamanda en yüksek absorbans değeri, vorteks ile karıştırma yapılan örneklerden elde edilmiştir. Şekil 4.24'te görüldüğü gibi, vorteks işlemi karıştırılma işlemi uygulanmayan örneklerle göre yaklaşık %14 daha yüksek absorbansa ve daha düşük %BSS değerine sahiptir.



Şekil 4.24 Karıştırma türü optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma 15s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL, faz buharlaştırma sıcaklığı oda sıcaklığı (25°C))

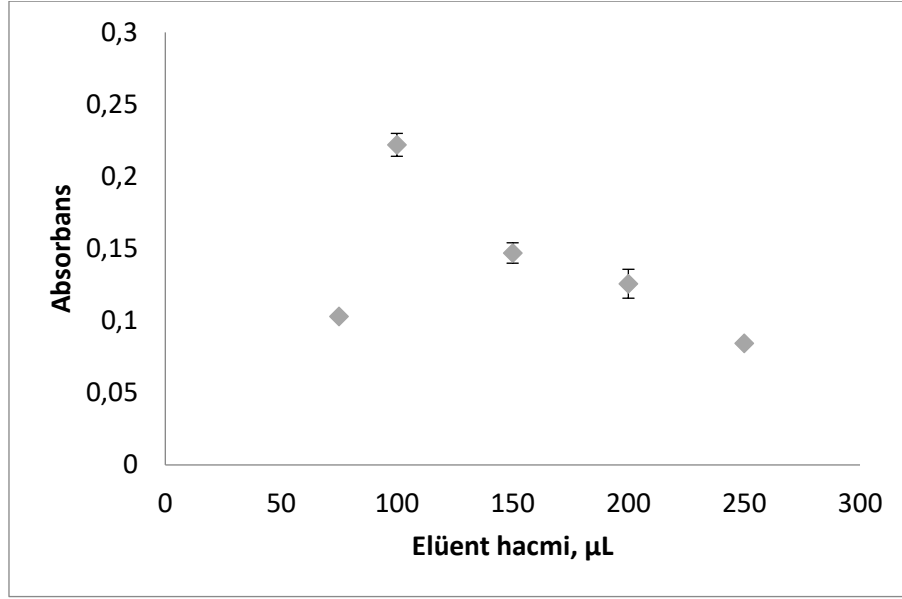
En uygun karıştırma türü olarak vorteks seçildikten sonra, karıştırma periyodu olarak 15, 30, 45, 60 ve 90 saniye karıştırma işlemleri uygulanarak optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Analitik ölçümlere göre 45 ve 60 s uygulanan örneklerden yüksek absorbans ve düşük %BSS değerleri elde edilmiştir. Buna göre, Şekil 4.25'te görüldüğü üzere 45 s optimum süre olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.25 Karıştırma periyodu optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/45s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL, faz buharlaştırma sıcaklığı oda sıcaklığı (25°C))

4.2.6 Elüent Hacmi Optimizasyonu

Derişik nitrik asit çözeltisinden 75 ve 250 μL aralığında hacimler optimum elüent hacmini bulmak amacıyla test edilmiştir. Şekil 4.26'da görüldüğü üzere 100 μL diğer hacimlere kıyasla daha yüksek absorbans değerine sahiptir. 150 ile 250 μL arasındaki elüent hacimlerinin analit açısından zengin fazın aşırı seyrelmesine bağlı olarak sinyal düşüşe neden olmuştur. Bu nedenlerden dolayı, 100 μL elüent optimum değer olarak belirlenmiştir.



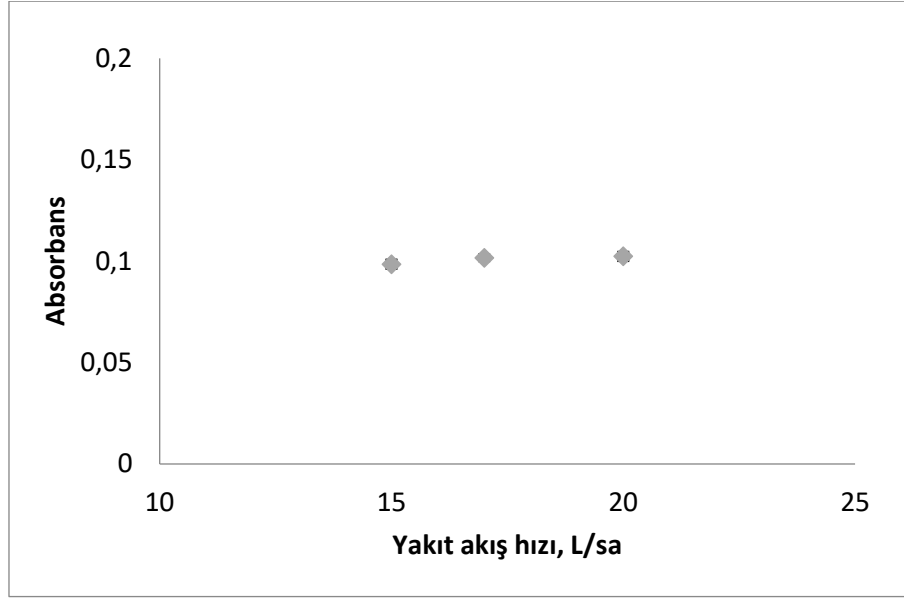
Şekil 4.26 Elüent hacmi optimizasyonu (Sabit tutulan parametreler; tampon çözelti pH9/0,5 mL, karıştırma vorteks/45s, ekstraksiyon çözücü ve ligand çözeltisi 0,6 mL/klorofom, dağıtıcı çözücü etanol/2,0 mL, faz buharlaştırma sıcaklığı oda sıcaklığı (25°C))

4.2.7 AAAS ve YKT-AAAS Sistem Optimizasyonları

Tayin sisteminin tüm değişken parametreleri optimize edilerek sistem analitik performansının artırılması hedeflenmiştir.

- AAAS Sistemi için Yakıt Akış Hızı Optimizasyonu

Bu optimizasyonda, zayıf, stokiyometrik ve zengin alev türlerinin duyarlılık üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu optimizasyonda, 15, 17 ve 20 L/sa asetilen-hava karışımından oluşan yakıt akış hızı değerleri test edilmiştir. Elde edilen absorbans ve %BSS değerlerine göre 20 L/sa yakıt akış hızı optimum değer olarak seçilmiştir. Optimizasyon sonucu Şekil 4.27’de gösterilmiştir.



Şekil 4.27 AAAS sistemi için yakıt akış hızı optimizasyonu

- YKT-AAAS Sistemi için Yakıt Akış Hızı Optimizasyonu

Geleneksel AAAS sistemine ek olarak, sisteme eklenen yarıkli kuvars tüp (YKT) alev başlığına 0,0 mm yüksekliğinde yerleştirilmiştir. Bu optimizasyonda 12, 15 ve 20 L/sa yakıt akış hızları denenmiştir. Şekil 4.28'e göre en yüksek absorbans değeri olan 15 L/sa optimum yakıt akış hızı olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.28 YKT-AAAS sistemi için yakıt akış hızı optimizasyonu

Geliştirilen EZK-DSSME-YKT-AAAS yöntemi için yapılmış olan mikroekstraksiyon ve sistem optimizasyonları sonucunda oluşturulan optimum değerler Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

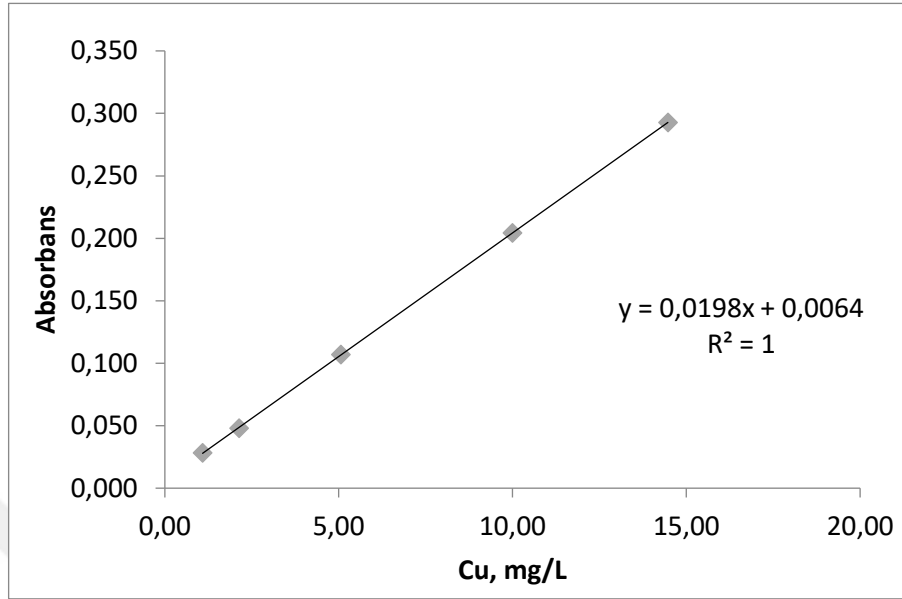
Tablo 4.4 Optimizasyon sonuçları

Parametre	Optimum Değer
Başlangıç hacmi	8,0 mL
Tampon Çözelti	9,0 / 0,5 mL
Ligand derişimi ve hacmi	%0,01/0,60 mL
Dağıtıcı çözücü türü ve hacmi	Etanol/2,0 mL
Karıştırma türü ve periyodu	Vorteks/45 s
Eluent derişimi ve hacmi	Derişik Nitrik Asit/0,10 mL
Buharlaştırma sıcaklığı	Oda Sıcaklığı (25 °C)
Yakıt akış hızı (AAAS)	20 L/sa
Yakıt akış hızı (YKT-AAAS)	15 L/sa
YKT yüksekliği	0,0 mm

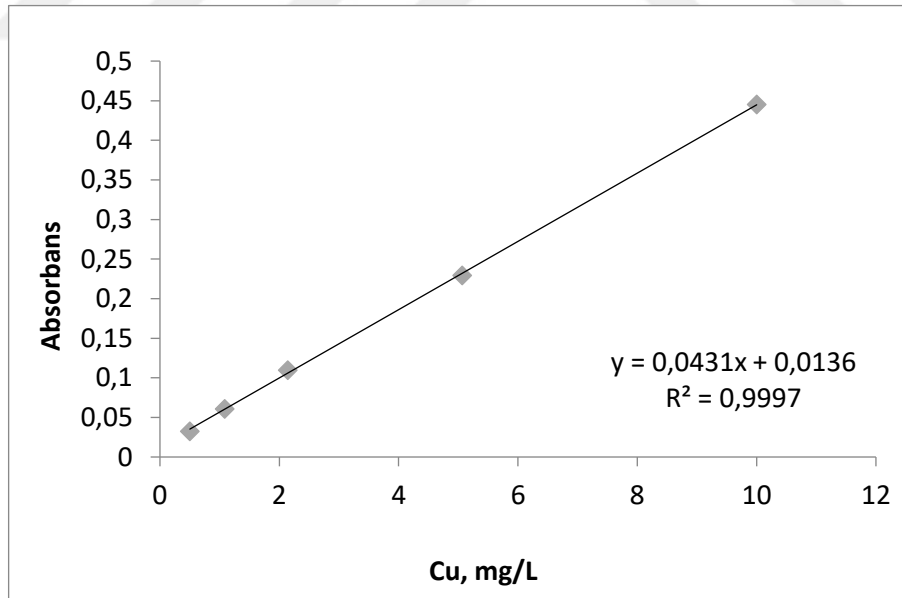
4.2.8 Analitik Performans

Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda, AAAS, YKT-AAAS, EZK-DSSME-AAAS ve EZK-DSSME-YKT-AAAS sistemlerinin elde edilen kalibrasyon doğruları sırasıyla Şekil 4.29, Şekil 4.30, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32'de gösterilmiştir. Elde edilen korelasyon katsayıları 1,0'e yakındır. Elde edilen GL, TL, doğrusal aralık ve kalibrasyon doğrusundaki en düşük derişimin %BSS değerleri Tablo 4.5'de görülmektedir. Geliştirilen EZK-DSSME-YKT-AAAS sistemine ait GL ve TL limitleri sırasıyla, 22 ve 250 µg/L olarak hesaplanmıştır.

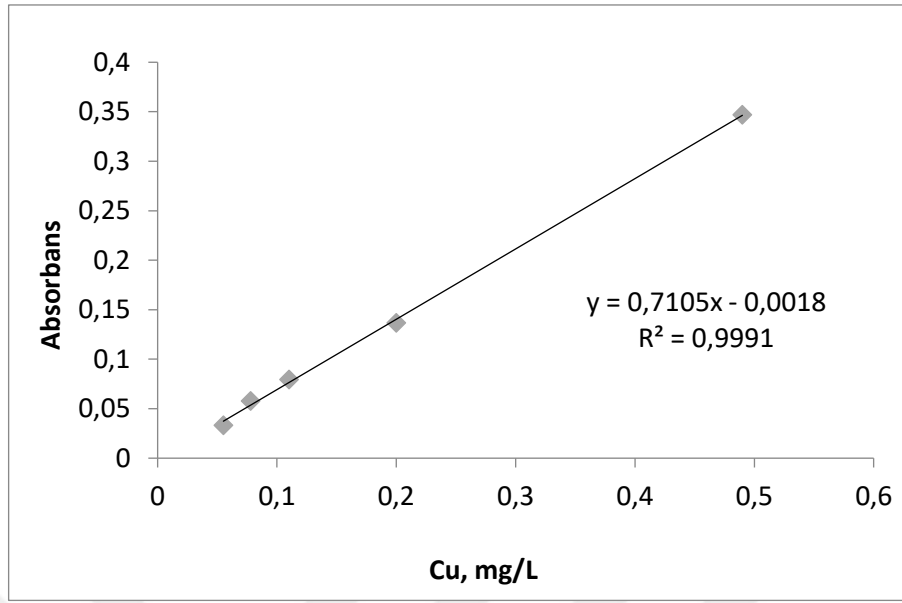
Klasik AAAS sisteminin GL değerine kıyasla, YKT-AAAS sistemi 2,2 kat, TF-DSSME-AAAS sistemi 19,7 kat ve TF-DSSME-YKT-AAAS sistemi 50 kat daha duyarlıdır.



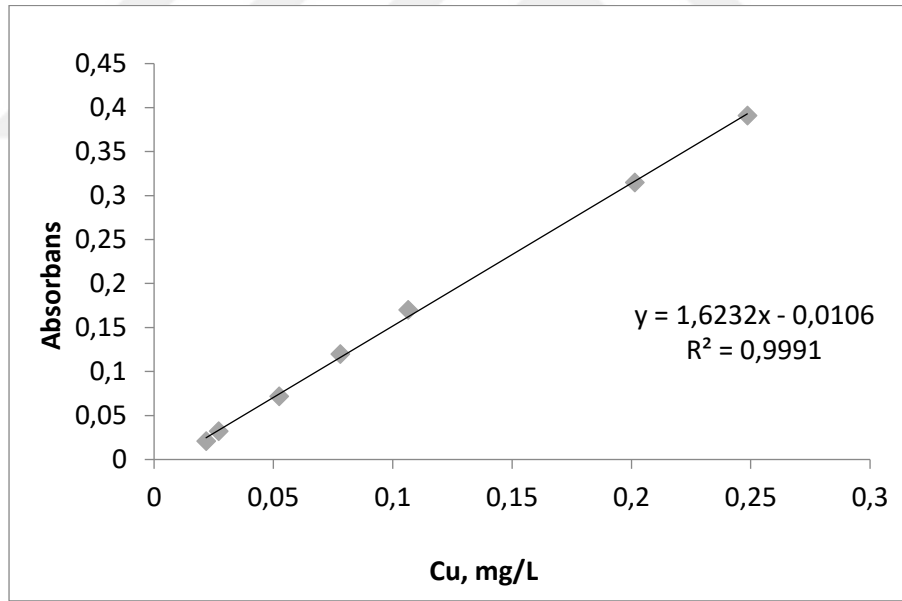
Şekil 4.29 AAAS sisteminin kalibrasyon doğrusu



Şekil 4.30 YKT-AAAS sisteminin kalibrasyon doğrusu



Şekil 4.31 EZK-DSSME-AAAS sisteminin kalibrasyon doğrusu



Şekil 4.32 EZK-DSSME-YKT-AAAS sisteminin kalibrasyon doğrusu

Literatürde yer alan bakır tayin yöntemlerine ait sistem analitik performans değerleri Tablo 4.5'te gösterilmiştir. Ultraviyole spektrofotometri [66], ligandsız ters faz akıllı çözücü sıvı-sıvı mikroekstraksiyon [77], deneysel tasarım-alevli atomik absorpsiyon spektrometri [78], yüksek rezolüsyon-devamlı kaynak-atomik absorpsiyon spektrometri [79], alevli atomik absorpsiyon spektrometri [80] yöntemleri ile elde edilen GL değerleri karşılaştırıldığında geliştirilen EZK-DSSME-YKT-AAAS sisteminin daha düşük GL değerine sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca geliştirilen yöntem düşük çözücü kullanımı ve kompleks oluşumu için ayrı bir aşama gerektirmemesi sayesinde diğer yöntemlere kıyasla daha çevreci ve hızlıdır.

Tablo 4.5 Geliştirilen yöntemlere ait sistem analitik performans değerleri ve literatür ile kıyaslanması

Sistemler	Gözlenebilme Limiti (µg/L)	Tayin Limiti (µg/L)	Lineer Aralığı (mg/L)	% BSS	Referans
AAAS	330	1090	1,1 - 30,1	6,9	Bu Çalışma Sonuçları
YKT-AAAS	140	450	0,50 - 10	5,9	
EZK-DSSME-AAAS	15	50	0,055 - 0,49	11,9	
EZK-DSSME-YKT-AAAS	6,0	20	0,022 - 0,25	10,4	
UV	6,4	21	-	0,62	[66]
RP-SHS-SSME-AAAS	6,9	23	-	4,7-9,4	[77]
DOE-FAAS	15	50	-	1,7 - 8,8	[78]
HR-CS-AAAS	120	400	-	5,0 - 8,0	[79]
AAAS	2000	-	30 -140	-	[80]

4.2.9 Geri Kazanım Çalışmaları

Önerilen yöntemin doğruluğunu ve uygulanabilirliğini değerlendirmek için klima cihazlarından tahliye edilen atık su için geri kazanım çalışması yapılmıştır. Örneğin kör (blank) ölçümlerinden sinyal elde edilmemiştir.

Örneklerde bakır tespit edilememesi nedeni ile su örneklerine beş farklı derişimde olacak şekilde standart çözelti eklenmiş ve geliştirilen EZK-DSSME-YKT-AAAS yöntemi ile analiz edilmiştir. Dış kalibrasyon tekniğı ile yapılan çalışmalarda yüzde geri kazanım değerleri %104,7-122,6 aralığında hesaplanmıştır. Matriks eşleştirme yöntemi kullanılarak yüzde geri kazanım sonuçlarının iyileştirilmesi hedeflenmiştir.

Bu amaçla analit içermeyen bir klima atık suyu kullanılarak elde edilen kalibrasyon doğrusu yardımı ile 73, 94 ve 145 µg/L derişimlerinde hazırlanan örneklerin yüzde geri kazanım değerleri hesaplanmış ve %96,8-108,2 aralığında tespit edilmiştir.

Geri kazanım çalışmaları ile ilgili değerler Tablo 4.6'da verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre klima atık suyu için hem dış kalibrasyon hem matriks eşleme tekniğı ile %100'e yakın sonuçlar kaydedilmiştir. Bu sonuçlar ile klima atık suyunda eser seviyelerde bulunan bakırın doğru tayini için yöntemin etkinliğı kanıtlanmıştır. Elde edilen düşük %BSS değerleri ise yöntemin kesinliğini göstermektedir.

Tablo 4.6 Yüzde geri kazanım sonuçları

Kalibrasyon yöntemi	Eklenen derişim µg/L	Bulunan derişim µg/L	Geri Kazanım ± S.S. (%)
Matriks Eşleştirme	73	79	108,2 ± 8,8
	94	91	96,8 ± 5,4
	145	142	97,9 ± 3,1
Dış Kalibrasyon	73	89	122,6 ± 11,8
	94	101	107,9 ± 5,7
	145	152	104,7 ± 3,2
	203	214	105,2 ± 8,4

4.3 SONUÇLAR

Bu tez kapsamında sırası ile gıda ve çevre örneklerinde eser seviyelerde bulunan kadmiyum ve bakırın elementlerinin tayini için yeşil ve duyarlı analitik yöntemler geliştirilmiştir. Birçok laboratuvarda bulunan ve alım/işletim maliyeti düşük olan AAAS cihazının belirlenen analitlere karşı duyarlılığını geliştirmek amacıyla tez kapsamında farklı sıvı faz esaslı mikroekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir. AAAS cihazının duyarlılığını arttırmak amacıyla YKT çalışmalar boyunca kullanılmıştır. Geliştirilen yöntemler alt µg/L seviyelerde GL ve TL değerlerine sahip olup yüksek geri kazanım sonuçları seçilen örneklerdeki uygulanabilirliği ve doğruluğu kanıtlanmıştır.

İlk olarak balık yağı örneklerinde eser seviyede bulunan kadmiyumun tayini için TF-DSSME-YKT-AAAS yöntemi geliştirilmiştir. Önemli parametrelerin optimizasyonu sonucunda yöntemle ait GL, TL ve doğrusal aralık değerleri 0,75, 2,48 ve 3,77-162 µg/kg olarak hesaplanmıştır.

Balık yağı şurubu için yüksek geri kazanım sonuçları (%95,6-105,7) elde edilmiştir. Literatüre göre yapılan yeşil kimya değerlendirme hesaplamasına göre TF-DSSME-YKT-AAAS yönteminin yeşil bir analitik yöntem olduğu kanıtlanmıştır.

Diğer çalışmada ise klima atık suyunda eser seviyede bulunan bakırın tayini için analitik yöntem geliştirilmiştir. Geliştirilen EZK-DSSME-YKT-AAAS yöntemi için literatürde ilk kez bakır ile kompleksleşme reaksiyonu gerçekleştiren Verbenon-hidrazon ligandı sentezlenmiş ve çalışmalar boyunca kullanılmıştır. Optimum deneysel koşullar altında elde edilen GL, TL ve doğrusal aralık değerleri sırasıyla 6,0, 20, 22-250 µg/L olarak bulunmuştur. Klima atık suyunda yapılan geri kazanım çalışmalarında dış kalibrasyon ve matriks eşleme yöntemleri uygulanmıştır. Elde edilen yüzde geri kazanım değerleri %104,7-122,6 ve %96,8-108,2 aralığında bulunmuştur. Önerilen yöntemin klima atık suyu için uygulanabilir ve doğruluğun yüksek olduğu elde edilen %100'e yakın geri kazanım sonuçlarıyla kanıtlanmıştır.

Sonuç olarak geliştirilen iki analitik yöntem de oldukça etkili, hızlı, çevre dostu ve maliyeti düşüktür. Yöntemlerin doğruluğu ve duyarlılığı yüksek bulunmuş olup belirtilen matriksler için uygulanabilir olduğu tespit edilmiştir. Bu sayede günümüzde kullanılan alım ve işletim maliyeti yüksek ICP-MS, GFAAS gibi cihazların GL ve TL değerlerine ulaşılabilen analitik yöntemler geliştirilmiştir.

- [1] S. Hansen *et al.*, "Fish oil supplementation during pregnancy and allergic respiratory disease in the adult offspring," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 139, no. 1, pp. 104-111.e4, Jan. 2017.
- [2] D. Swanson, R. Block, and S. A. Mousa, "Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA: Health Benefits Throughout Life," *Adv. Nutr.*, vol. 3, no. 1, pp. 1-7, Jan. 2012.
- [3] N. Parletta *et al.*, "A Mediterranean-style dietary intervention supplemented with fish oil improves diet quality and mental health in people with depression: A randomized controlled trial (HELFIMED)," *Nutr. Neurosci.*, vol. 22, no. 7, pp. 474-487, Jul. 2019.
- [4] N. Blondeau, "The nutraceutical potential of omega-3 alpha-linolenic acid in reducing the consequences of stroke," *Biochimie*, vol. 120, pp. 49-55, Jan. 2016.
- [5] D. Kromhout, E. J. Giltay, and J. M. Geleijnse, "n-3 Fatty Acids and Cardiovascular Events after Myocardial Infarction," *N. Engl. J. Med.*, vol. 363, no. 21, pp. 2015-2026, Nov. 2010.
- [6] D. P. Briones and N. Lazaro-Llanos, "Omega-3 Fatty Acids versus Heavy Metals: A Quantitative Estimation of the Benefit-Risk Ratio for the Consumption of Commonly-Consumed Fish and Products in Metro Manila," *KIMIKA*, vol. 26, no. 2, pp. 39-50, Feb. 2016.
- [7] A. Foscolou, E. Critselis, and D. Panagiotakos, "Olive oil consumption and human health: A narrative review," *Maturitas*, vol. 118. Elsevier Ireland Ltd, pp. 60-66, 01-Dec-2018.
- [8] I. Gouveias *et al.*, "Trace Element Content of Monovarietal and Commercial Portuguese Olive Oils," *J. Oleo Sci.*, vol. 64, no. 10, pp. 1083-1093, Oct. 2015.
- [9] A. Sebastian and M. N. V. Prasad, "Cadmium minimization in rice. A review," *Agron. Sustain. Dev.*, vol. 34, no. 1, pp. 155-173, 2014.
- [10] H. Zhang and M. Reynolds, "Cadmium exposure in living organisms: A short review," *Sci. Total Environ.*, vol. 678, pp. 761-767, 2019.
- [11] L. Järup and A. Åkesson, "Current status of cadmium as an environmental health problem," *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 238, no. 3. Toxicol Appl Pharmacol, pp. 201-208, 01-Aug-2009.
- [12] R. P. Mason, *Trace Metals in Aquatic Systems*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2013.
- [13] S. Jiwan* and K. A. S, "Effects of Heavy Metals on Soil, Plants, Human Health and Aquatic Life," *Singh al. Int. J. Res. Chem. Env.*, vol. 1, no. 2, pp. 15-21, 2011.
- [14] M. Cheraghi, "Determination of Heavy Metals Concentration at Water Treatment Sites in Ahwaz and Mollasani Using Bioindicator," *ECOPERSIA*, vol. 1, pp. 55-66, 2018.

- [15] J. feng Peng, Y. hui Song, P. Yuan, X. yu Cui, and G. lei Qiu, "The remediation of heavy metals contaminated sediment," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 161, no. 2–3. J Hazard Mater, pp. 633–640, 30-Jan-2009.
- [16] S. Erarpat, G. Özzeybek, D. S. Chormey, and S. Bakırdere, "Determination of lead at trace levels in mussel and sea water samples using vortex assisted dispersive liquid-liquid microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry," *Chemosphere*, vol. 189, pp. 180–185, 2017.
- [17] A. Massadeh *et al.*, "Simultaneous determination of Cd, Pb, Cu, Zn, and Se in human blood of Jordanian smokers by ICP-OES," *Biol. Trace Elem. Res.*, vol. 133, no. 1, pp. 1–11, May 2010.
- [18] Y. Zhu and K. Chiba, "Determination of cadmium in food samples by ID-ICP-MS with solid phase extraction for eliminating spectral-interferences," *Talanta*, vol. 90, pp. 57–62, Feb. 2012.
- [19] M. G. A. Korn, G. L. dos Santos, S. M. Rosa, L. S. G. Teixeira, and P. V. de Oliveira, "Determination of cadmium and lead in cetacean Dolphinidae tissue from the coast of Bahia state in Brazil by GFAAS," *Microchem. J.*, vol. 96, no. 1, pp. 12–16, Sep. 2010.
- [20] M. P. Waalkes, "Cadmium carcinogenesis in review," *J. Inorg. Biochem.*, vol. 79, no. 1–4, pp. 241–244, 2000.
- [21] B. A. Peña-Ocaña *et al.*, "Changes in the concentration of trace elements and heavy metals in el chichón crater lake active volcano," *Polish J. Environ. Stud.*, vol. 30, no. 1, pp. 295–304, 2020.
- [22] M. Firat *et al.*, "Determination of trace amount of cadmium using dispersive liquid-liquid microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 129, pp. 37–41, Mar. 2017.
- [23] M. S. Fındıkoğlu, M. Firat, D. S. Chormey, F. Turak, Ç. Şahin, and S. Bakırdere, "Determination of Cadmium in Tap, Sea and Waste Water Samples by Vortex-Assisted Dispersive Liquid-Liquid-Solidified Floating Organic Drop Microextraction and Slotted Quartz Tube FAAS After Complexation with a Imidazole Based Ligand," *Water. Air. Soil Pollut.*, vol. 229, no. 2, Feb. 2018.
- [24] A. Milne, W. Landing, M. Bizimis, and P. Morton, "Determination of Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in seawater using high resolution magnetic sector inductively coupled mass spectrometry (HR-ICP-MS)," *Anal. Chim. Acta*, vol. 665, no. 2, pp. 200–207, Apr. 2010.
- [25] O. Y. Ataman, "Vapor generation and atom traps: Atomic absorption spectrometry at the ng/L level," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 63, no. 8, pp. 825–834, Aug. 2008.
- [26] Ç. Büyükpınar *et al.*, "Development of a sensitive closed batch vessel hydride generation atomic absorption spectrometry method for the determination of cadmium in aqueous samples," *Instrum. Sci. Technol.*, vol. 46, no. 6, pp. 645–655, Nov. 2018.

- [27] E. C. Lourenço, E. Eyng, P. R. S. Bittencourt, F. A. Duarte, R. S. Picoloto, and É. L. M. Flores, "A simple, rapid and low cost reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel," *Talanta*, vol. 199, pp. 1–7, Jul. 2019.
- [28] Atsdr, "TOXICOLOGICAL PROFILE FOR COPPER," 2004.
- [29] D. G. ELLINGSEN, N. HORN, and J. AASETH, "Copper," in *Handbook on the Toxicology of Metals*, Elsevier, 2007, pp. 529–546.
- [30] A. Tobiasz and S. Walas, "Solid-phase-extraction procedures for atomic spectrometry determination of copper," *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 62. Elsevier B.V., pp. 106–122, 01-Nov-2014.
- [31] "The Copper Advantage: A Guide to Working With Copper and Copper Alloys," 2013. [Online]. Available: https://www.academia.edu/8501490/THE_COPPER_ADVANTAGE_A_Guide_to_Working_With_Copper_and_Copper_Alloys. [Accessed: 22-Apr-2021].
- [32] R. Khani, F. Shemirani, and B. Majidi, "Combination of dispersive liquid-liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry for preconcentration and determination of copper in water samples," *Desalination*, vol. 266, no. 1–3, pp. 238–243, Jan. 2011.
- [33] G. Özzeybek *et al.*, "Sensitive determination of copper in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry," *Microchem. J.*, vol. 132, pp. 406–410, May 2017.
- [34] A. Tobiasz and S. Walas, "Solid-phase-extraction procedures for atomic spectrometry determination of copper," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 62, pp. 106–122, Nov. 2014.
- [35] G. Özzeybek, T. Borahan, M. Nesterkina, I. Kravchenko, and S. Bakırdere, "Simultaneous Complexation and Microextraction Using Verbenone Hydrazone as the Ligand with Slotted Quartz Tube-Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS) for the Sensitive Determination of Copper," *Anal. Lett.*, vol. 0, no. 0, pp. 1–11, 2020.
- [36] M. S. F. Ercan, M. F. Ayyıldız, D. S. Chormey, and S. Bakırdere, "Determination of copper in traditional coffee pot water samples by flame atomic absorption spectrometry and matrix matching calibration strategy after switchable solvent based liquid-phase microextraction," *Environ. Monit. Assess.*, vol. 193, no. 1, Jan. 2021.
- [37] C. Demir, M. Öner, S. Bodur, E. Ö. Er, and S. Bakırdere, "A Simple and Efficient Extraction Method for the Preconcentration of Copper in Tap Water and Linden Tea Samples Prior to FAAS Measurement," *ChemistrySelect*, vol. 6, no. 12, pp. 2906–2912, Mar. 2021.
- [38] F. Pena-Pereira, I. Lavilla, and C. Bendicho, "Liquid-phase microextraction techniques within the framework of green chemistry," in *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 29, no. 7, 2010, pp. 617–628.

- [39] D. S. Chormey, "Microextraction Techniques And Isotope Dilution For Sensitive Determination Of Some Endocrine Disruptor Compounds And Pesticides In Different Matrices By Gc-Mc, Wastewater Treatment And Bioaccessibility Studies," 2018.
- [40] R. P. Belardi and J. B. Pawliszyn, *The Application of Chemically Modified Fused Silica Fibers in the Extraction of Organics from Water Matrix Samples and their Rapid Transfer to Capillary Columns*, vol. 24, no. 1. 1989.
- [41] M. Ghorbani, M. Aghamohammadhassan, M. Chamsaz, H. Akhlaghi, and T. Pedramrad, "Dispersive solid phase microextraction," *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 118. Elsevier B.V., pp. 793–809, 01-Sep-2019.
- [42] D. S. Chormey and S. Bakirdere, "Principles and Recent Advancements in Microextraction Techniques," in *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. 81, Elsevier B.V., 2018, pp. 257–294.
- [43] G. Özzeybek, B. Alacakoç, M. Y. Kocabaş, E. G. Bakirdere, D. S. Chormey, and S. Bakirdere, "Trace determination of nickel in water samples by slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry after dispersive assisted simultaneous complexation and extraction strategy," *Environ. Monit. Assess.*, vol. 190, no. 9, 2018.
- [44] S. Erarpat *et al.*, "Accurate and simple determination of oxcarbazepine in human plasma and urine samples using switchable-hydrophilicity solvent in GC-MS," *Biomed. Chromatogr.*, vol. 34, no. 10, p. e4915, Oct. 2020.
- [45] V. Kiarostami, M. R. Rouini, R. Mohammadian, H. Lavasani, and M. Ghazaghi, "Binary Solvents Dispersive Liquid - Liquid Microextraction (BS-DLLME) Method for Determination of Tramadol in Urine Using High-Performance Liquid Chromatography," *DARU, J. Pharm. Sci.*, vol. 22, no. 1, pp. 1–8, Feb. 2014.
- [46] M. Rezaee, Y. Assadi, M. R. Milani Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, and S. Berijani, "Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction," *J. Chromatogr. A*, vol. 1116, no. 1–2, pp. 1–9, May 2006.
- [47] P. Hashemi, F. Raeisi, A. R. Ghiasvand, and A. Rahimi, "Reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction with central composite design optimization for preconcentration and HPLC determination of oleuropein," *Talanta*, vol. 80, no. 5, pp. 1926–1931, Mar. 2010.
- [48] G. Özzeybek, İ. Şahin, S. Erarpat, and S. Bakirdere, "Reverse phase dispersive liquid-liquid microextraction coupled to slotted quartz tube flame atomic absorption spectrometry as a new analytical strategy for trace determination of cadmium in fish and olive oil samples," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 90, 2020.
- [49] M. P. Godoy-Caballero, M. I. Acedo-Valenzuela, and T. Galeano-Díaz, "New reversed phase dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of phenolic compounds in virgin olive oil by rapid resolution liquid chromatography with ultraviolet-visible and mass spectrometry detection," *J. Chromatogr. A*, vol. 1313, pp. 291–301, Oct. 2013.

- [50] Ç. Büyükpınar, "Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre Cihaz Duyarlılığının Yarıkli Kuartz Tüp (Ykt) İle Arttırılması Ve Ykt İç Yüzeyinin Adsorpsiyon Özelliklerinin İncelenmesi," Yıldız Teknik Üniversitesi, 2017.
- [51] D. A. , H. F. J. , C. S. R. . Skoog, "Principles of Instrumental Analysis: Thomson Brooks/Cole," 2007.
- [52] S. R. C. Douglas A. Skoog, D. M. W., F. James Holler, "Fundamentals of Analytical Chemistry," in *Fundamentals of Environmental Chemistry, Second Edition*, 9th ed., CRC Press, 2004.
- [53] "Atomic Absorption Spectroscopy," 2021. [Online]. Available: http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/labmatters/instruments/aa/AAS_Instrument/AASInstruments.htm. [Accessed: 22-Apr-2021].
- [54] N. Njie, "Atom Trapping Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry For Inorganicarsenic Speciation Analysis," 2014.
- [55] J. Moffett, "Enhancement for Flame Atomic Absorption Spectrometry Using an Atom Concentrator Tube," 2010.
- [56] S. Bakırdere, D. S. Chormey, Ç. Büyükpınar, N. San, and S. Keyf, "Determination of Lead in Drinking and Wastewater by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry," *Anal. Lett.*, vol. 49, no. 12, pp. 1917–1925, Aug. 2016.
- [57] Ç. Büyükpınar, E. Maltepe, D. S. Chormey, N. San, and S. Bakırdere, "Determination of nickel in water and soil samples at trace levels using photochemical vapor generation-batch type ultrasonication assisted gas liquid separator-atomic absorption spectrometry," *Microchem. J.*, vol. 132, pp. 167–171, May 2017.
- [58] P. T. Anastas, "Green Chemistry and the role of analytical methodology development," *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 29, no. 3. CRC Press Inc, pp. 167–175, 1999.
- [59] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, and J. Namieśnik, "The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 50, pp. 78–84, 2013.
- [60] A. Gałuszka, Z. M. Migaszewski, P. Konieczka, and J. Namieśnik, "Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures," *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 37. Elsevier, pp. 61–72, 01-Jul-2012.
- [61] M. Thompson, S. L. R. Ellison, and R. Wood, "Resulting from the Symposium on Harmonization of Quality Assurance Systems for Analytical Laboratories," 2002.
- [62] A. K. Hewavitharana, "Matrix matching in liquid chromatography-mass spectrometry with stable isotope labelled internal standards-Is it necessary?," *J. Chromatogr. A*, vol. 1218, no. 2, pp. 359–361, Jan. 2011.

- [63] G. Doner and A. Ege, "Determination of copper, cadmium and lead in seawater and mineral water by flame atomic absorption spectrometry after coprecipitation with aluminum hydroxide," *Anal. Chim. Acta*, vol. 547, no. 1, pp. 14–17, Aug. 2005.
- [64] E. Bağda, H. Altundağ, M. Tüzen, and M. Soylak, "A Novel Selective Deep Eutectic Solvent Extraction Method for Versatile Determination of Copper in Sediment Samples by ICP-OES," *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 99, no. 2, pp. 264–269, Aug. 2017.
- [65] K. Supong and P. Usapein, "Reliable determination of copper complex ions in synthetic wastewater using flame atomic absorption spectrophotometry," *Water Sci. Technol.*, vol. 79, no. 5, pp. 833–841, Mar. 2019.
- [66] K. Babayeva, S. Demir, and M. Andac, "A novel spectrophotometric method for the determination of copper ion by using a salophen ligand, N,N'-disalicylidene-2,3-diaminopyridine," *J. Taibah Univ. Sci.*, vol. 11, no. 5, pp. 808–814, Sep. 2017.
- [67] M. Nesterkina, D. Barbalat, and I. Kravchenko, "Design, synthesis and pharmacological profile of (-)-verbenone hydrazones," *Open Chem.*, vol. 18, no. 1, pp. 943–950, Jan. 2020.
- [68] I. Efthymiopoulos *et al.*, "Influence of solvent selection and extraction temperature on yield and composition of lipids extracted from spent coffee grounds," *Ind. Crops Prod.*, vol. 119, pp. 49–56, Sep. 2018.
- [69] M. Yaman, "The improvement of sensitivity in lead and cadmium determinations using flame atomic absorption spectrometry," *Anal. Biochem.*, vol. 339, no. 1, pp. 1–8, Apr. 2005.
- [70] M. Ghaedi, A. Shokrollahi, K. Niknam, E. Niknam, A. Najibi, and M. Soylak, "Cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometric determination of cadmium(II), lead(II), palladium(II) and silver(I) in environmental samples," *J. Hazard. Mater.*, vol. 168, no. 2–3, pp. 1022–1027, Sep. 2009.
- [71] M. Chamsaz, A. Atarodi, M. Eftekhari, S. Asadpour, and M. Adibi, "Vortex-assisted ionic liquid microextraction coupled to flame atomic absorption spectrometry for determination of trace levels of cadmium in real samples," *J. Adv. Res.*, vol. 4, no. 1, pp. 35–41, Jan. 2013.
- [72] V. N. Alves *et al.*, "Determination of cadmium in alcohol fuel using *Moringa oleifera* seeds as a biosorbent in an on-line system coupled to FAAS," *Talanta*, vol. 80, no. 3, pp. 1133–1138, 2010.
- [73] H. R. Cadorim *et al.*, "Effective and High-Throughput Analytical Methodology for the Determination of Lead and Cadmium in Water Samples by Disposable Pipette Extraction Coupled with High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (HR-CS GF AAS)," *Anal. Lett.*, vol. 52, no. 13, pp. 2133–2149, Sep. 2019.

- [74] O. M. Kalfa, Ö. Yalçinkaya, and A. R. Türker, "Synthesis of nano B2O3/TiO2 composite material as a new solid phase extractor and its application to preconcentration and separation of cadmium," *J. Hazard. Mater.*, vol. 166, no. 1, pp. 455–461, Jul. 2009.
- [75] H. M. Mohamed and N. T. Lamie, "Analytical eco-scale for assessing the greenness of a developed RP-HPLC method used for simultaneous analysis of combined antihypertensive medications," *J. AOAC Int.*, vol. 99, no. 5, pp. 1260–1265, 2016.
- [76] S. Erarpat, S. Bodur, E. Öz, and S. Bakırdere, "Determination of butyltin compounds in fish and mussel samples at trace levels by vortex assisted dispersive liquid-liquid microextraction-gas chromatography mass spectrometry," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 82, Sep. 2019.
- [77] M. Hassan, Z. Erbas, U. Alshana, and M. Soylak, "Ligandless reversed-phase switchable-hydrophilicity solvent liquid-liquid microextraction combined with flame-atomic absorption spectrometry for the determination of copper in oil samples," *Microchem. J.*, vol. 156, p. 104868, Jul. 2020.
- [78] P. Pohl, "A revisited FAAS method for very simple and fast determination of total concentrations of Cu, Fe, Mn and Zn in grape juices with sample preparation developed by modeling experimental design and optimization," *Microchem. J.*, vol. 157, p. 104998, Sep. 2020.
- [79] L. S. Nunes *et al.*, "Multi-element determination of Cu, Fe, Ni and Zn content in vegetable oils samples by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry and microemulsion sample preparation," *Food Chem.*, vol. 127, no. 2, pp. 780–783, Jul. 2011.
- [80] N. Siddique, A. Majid, M. M. Chaudhry, and M. Tufail, "Determination of heavy metals in air conditioner dust using FAAS and INAA," *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, vol. 292, no. 1, pp. 219–227, Apr. 2012.
- [81] M. Saraji and M. K. Boroujeni, *Recent developments in dispersive liquid-liquid microextraction Microextraction Techniques*, vol. 406, no. 8. 2014.

Makaleler

1. G. Özzeybek, İ. Şahin, S. Erarpat ve S. Bakirdere, “Reverse phase dispersive liquid–liquid microextraction coupled to slotted quartz tube flame atomic absorption spectrometry as a new analytical strategy for trace determination of cadmium in fish and olive oil samples” Journal of Food Composition and Analysis, Volume 90, 103486, July 2020.

2. G. Özzeybek, T. Borahan, M. Nesterkina, I. Kravchenko ve S. Bakirdere, “Simultaneous Complexation and Microextraction Using Verbenone Hydrazone as the Ligand with Slotted Quartz Tube-Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS) for the Sensitive Determination of Copper” Analytical Letters, 1-11, 2020.