

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

**ÇAY ÖRNEKLERİNDE DİSPERSİF SIVI-SIVI MİKROEKSTRAKSİYON
YÖNTEMİ İLE BAKIR TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Sabine BAL

Anabilim Dalı: Gıda Mühendisliği

DANIŞMAN
Doç. Dr. Olcay KAPLAN İNCE
TUNCELİ-2018

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇAY ÖRNEKLERİNDE DİSPERSİF SIVI-SIVI MİKROEKSTRAKSİYON
YÖNTEMİ İLE BAKIR TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Sabine BAL
(10874555)

Anabilim Dalı: Gıda Mühendisliği

DANIŞMAN
Doç. Dr. Olcay KAPLAN İNCE

TUNCELİ-2018

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇAY ÖRNEKLERİNDE DİSPERSİF SIVI-SIVI MİKROEKSTRAKSİYON
YÖNTEMİ İLE BAKIR TAYİNİ

Sabine BAL
YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez / / 2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği/oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

İmza:.....

İmza:.....

Doç. Dr. Olcay KAPLAN
İNCE (Munzur
Üniversitesi)

Doç. Dr.
(Munzur Üniversitesi)

Doç. Dr.
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

ÜYE

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Numan YILDIRIM
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Bu çalışmada ligand olarak 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) kullanılarak dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) yöntemi ile kuru çay örneklerinde bakır zenginleştirilerek, alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (FAAS) ile tayin edildi. Cevap yüzey metodu (CYM) ile kombine kullanılan merkezi kompozit tasarım (MKT) ile yeni bir metot geliştirildi. Cevap yüzey metodu kullanılarak optimum deneysel koşullar (pH, ekstraksiyon çözücü miktarı, dispersif çözücü miktarı, vorteks süresi ve santrifüj süresi) belirlendi ve geliştirilen DSSME yönteminin Cu^{2+} iyonlarının gerçek örneklerde tayini için uygulanabilirliği araştırıldı. Bu amaçla, öncelikle sentetik Cu^{2+} iyonu içeren farklı derişimdeki çözeltiler kullanılarak kompleks oluşumu ve ekstraksiyon verimi için çalışma koşulları (pH, ekstraksiyon çözücü miktarı, dispersif çözücü miktarı, vorteks süresi ve santrifüj süresi) optimize edildi. Elde edilen veriler, optimize edilen deneysel koşulların ve geliştirilen yöntemin farklı kuru çay örneklerinde Cu^{2+} iyonlarının tayini için analitik amaçlı uygulanabileceğini gösterdi. Geliştirilen ve optimize edilen yöntemin doğruluğu ve geçerliliği sertifikalı standart referans madde (NIST SRM 1547 Peach leaves) kullanılarak kontrol edildi ve elde edilen verilerin sertifikalı değerler ile uyumlu olduğu tespit edildi. Optimize edilen koşullar altında geliştirilen DSSME yönteminin SRM'ye uygulanmasıyla elde edilen geri kazanım değerleri %98 olarak elde edildi.

Anahtar Kelimeler: Çay, Bakır, Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon, Cevap Yüzey Metodu

ABSTRACT

Determination Of Copper From Tea Samples By Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Method

In this study, copper was enriched in dry tea samples by dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) method using 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) as ligand and determined by flame atomic absorption spectrophotometer (FAAS). A new method has been developed using central composite design (CCD) which combined with response surface methodology (RSM). The optimum experimental conditions (pH, extraction solvent amount, dispersive solvent amount, vortex time and centrifugation time) were determined using the RSM and applicability of the developed DLLME method to the determination of Cu^{2+} ions in real samples was investigated. For this purpose, the conditions for the formation of complex and extraction yields (pH, extraction solvent amount, dispersive solvent amount, vortex time and centrifugation time) were optimized by using different concentrations of solutions containing synthetic Cu^{2+} ion. The obtained data showed that the optimized experimental conditions and the developed method could be applied analytically for the determination of Cu^{2+} ions in different dry tea samples. The validity and accuracy of the developed and optimized method was checked using a certified standard reference material (NIST SRM 1547 peach leaves) and the data obtained were found to be consistent with the certified values. The recovery values obtained by applying the DLLME method developed under the optimized conditions to SRM found as 98%.

Key Words: Tea, Copper, Dispersive Liquid-Liquid Microextraction, Response Surface Methodology

TEŞEKKÜRLER

Tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde bilgi ve tecrübesiyle bana ışık tutan danışman hocam Doç. Dr. Olcay KAPLAN İNCE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım süresince bilgi ve desteğini esirgemeyen, deneysel çalışmanın tasarlanmasına ve sonuçlarının yorumlanmasına katkı sunan değerli hocam Doç. Dr. Muharrem İNCE'ye teşekkür ederim. Örnek analizlerinin gerçekleştirilmesinde emeği geçen Gıda Mühendisi Ali ÖNAL'a teşekkür ederim. Ayrıca yardımlarından dolayı Prof. Dr. Fulya BENZER, Dr. Öğr. Üyesi Gülben TORGUT, Dr. Öğr. Üyesi Mehtap TANYOL'a ayrıca desteğini esirgemeyen ve hep yanımda olan Melika BAL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Sabine BAL
Tunceli-2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜRLER	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
RESİMLER LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Çay.....	2
1.2. Ağır Metaller	2
1.2.1. Bakır	3
1.3. Ekstraksiyon Yöntemleri	4
1.3.1. Klasik Ekstraksiyon Yöntemleri	4
1.3.1.1. Birlikte Çöktürme Ekstraksiyonu	5
1.3.1.2. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu	5
1.3.1.3. Elektrolitik Biriktirme Ekstraksiyonu	6
1.3.1.4. İyon Değiştirme Ekstraksiyonu	6
1.3.1.5. Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu	7
1.3.1.6. Uçurma Ekstraksiyonu	7
1.3.1.7. Katı Faz Ekstraksiyonu.....	7
1.3.2. Mikroekstraksiyon Teknikleri	8
1.3.2.1. Katı Faz Mikroekstraksiyon (KFME)	9
1.3.2.2. Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (SFME).....	9
1.3.2.2.1. Tek Damla Mikroekstraksiyon (TDME)	10
1.3.2.2.2. Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (OF-SFME).....	11
1.3.2.2.3. Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyon (YKODME).....	11
1.3.2.2.4. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DSSME)	12
1.3.2.2.4.1. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon Prensipleri.....	14
1.3.2.2.4.2. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyona Dispersif Çözücü Hacminin ve Türünün Etkisi	14
1.3.2.2.4.3. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyona Kompleksleştirici Reaktifin Etkisi....	15
1.3.2.2.4.4. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyona pH'ın Etkisi.....	15
1.3.2.2.4.5. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyona İyonik Şiddetin Etkisi	15
1.3.2.2.4.6. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyona Ekstraksiyon Süresinin Etkisi	16
1.4. Cevap Yüzey Metodu	16
1.4.1. Merkezi Kompozit Tasarım (MKT)	18
1.5. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi.....	20
1.5.1. Atomik Absorpsiyon Spektrometresinin Kısımları	21
1.5.1.1. Işın Kaynakları	21
1.5.1.2. Atomlaştırıcılar	22
1.5.1.3. Monokromatör	22
1.5.1.4. Dedektör	23
1.5.1.5. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Meydana Gelen Girişimler	23
1.5.1.5.1. Fiziksel Girişimler	23
1.5.1.5.2. Spektral Girişimler.....	24

1.5.1.5.3. Kimyasal Girişimler	24
1.5.1.5.4. İyonlaşma Girişimler	25
1.5.1.5.5. Zemin Girişimleri	25
2. MATERYAL VE METOT	26
2.1. Materyal.....	26
2.1.1. Kullanılan Reaktifler	26
2.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	27
2.2. Metot.....	27
2.2.1. Deneyin Yapılışı	27
2.2.2. Deneysel Dizayn ve İstatistiksel Analiz	30
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	31
3.1. Bakırın Optimizasyonu ve Deneysel Doğrulama	46
3.2. Kuru Çay Örneklerinin Analize Hazırlanması	49
3.3. Optimize Edilen Yöntemin Gerçek Örneklerle Uygulanması	49
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	67

SEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Katı faz mikroekstraksiyon enjektörü ve sistemi	9
Şekil 1.2. Tek damla mikroekstraksiyon enjektörü ve sistemi	10
Şekil 1.3. Oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon (OF-SFME) ve ‘U’ şeklinde OF-SFME sistemi	11
Şekil 1.4. Yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon sistemi	12
Şekil 1.5. Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon sistemi	13
Şekil 1.6. Merkezi kompozit tasarımın kısımları	20
Şekil 1.7. (a) İki değişkenli merkezi kompozit tasarımın analitik düzlemde gösterimi, (b) üç değişkenli merkezi kompozit tasarımın analitik düzlemde gösterimi	20
Şekil 1.8. Atomik absorpsiyon spektrometresinin bileşenleri	21
Şekil 2.1. 1-(2-pidilazo)-2-naftol (PAN) kimyasal formülü	26
Şekil 2.2. Cu-1-(2-piridilazo)-2-naftol kompleksinin kimyasal formülü	26
Şekil 3.1. Cu ²⁺ miktarı için modelden tahminlenen değerlere karşı deneysel veri değerleri	34
Şekil 3.2. Ekstraksiyon çözücü hacminin ve pH’nın Cu ²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafığı b) Kontur grafığı	35
Şekil 3.3. Dispersif çözücü hacmi ve pH’nın Cu ²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafığı b) Kontur grafığı	36
Şekil 3.4. Vorteks süresi ve pH’nın Cu ²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafığı b) Kontur grafığı	37
Şekil 3.5. Santrifüj süresi ve pH’nın Cu ²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafığı b) Kontur grafığı	39
Şekil 3.6. Dispersif çözücü hacmi ve ekstraksiyon çözücüsü hacminin Cu ²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafığı b) Kontur grafığı	40
Şekil 3.7. Vorteks süresi ve ekstraksiyon çözücüsü hacminin Cu ²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafığı b) Kontur grafığı	41
Şekil 3.8. Santrifüj süresi ve ekstraksiyon çözücüsü hacminin Cu ²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafığı b) Kontur grafığı	42
Şekil 3.9. Dispersif çözücü hacmi ve vorteks süresinin Cu ²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafığı b) Kontur grafığı	43
Şekil 3.10. Dispersif çözücü hacmi ve ekstraksiyon çözücüsü hacminin Cu ²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafığı b) Kontur grafığı	44
Şekil 3.11. Santrifüj süresi ve vorteks süresinin Cu ²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafığı b) Kontur grafığı	45

TABLolar LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Optimizasyonda kullanılan deneysel tasarım.....	28
Tablo 2.2. Bakırın optimizasyonu için değişkenler ve seviyeleri.....	30
Tablo 3.1. Deneysel tasarımın bileşenleri	32
Tablo 3.2. Cevap yüzey metodunda kuadratik model için tek yönlü varyans analizi (ANOVA)	33
Tablo 3.3. Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler	34
Tablo 3.4. Bakırın kuru çay örnekleri için istenilirlik fonksiyonu ile belirlenen optimum nokta çözümleri	46
Tablo 3.5. Mikrodalga çözünürleştirme basamakları	49
Tablo 3.6. Çeşitli kuru çay örneklerinin Cu ²⁺ miktarları.....	50

RESİMLER LİSTESİ

Sayfa No

Resim 2.1. pH 2'deki ekstraksiyon işlemi sonrası oluşan faz ayrımı.....	29
Resim 2.2. pH 5'teki ekstraksiyon işlemi sonrası oluşan faz ayrımı	29
Resim 2.3. pH 8'deki ekstraksiyon işlemi sonrası oluşan faz ayrımı	29



KISALTMALAR LİSTESİ

AAS	: Atomik absorpsiyon spektrometresi
FAAS	: Alevli atomik absorpsiyon spektrometresi
GFAAS	: Grafit fırın atomik absorpsiyon spektrofotometresi
ppb	: Milyarda bir
ppm	: Milyonda bir
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
ICP-OES	: İndüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi
ICP-MS	: İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi
JECFA	: Birleşik Gıda Katkıları Uzman Komitesi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
KFE	: Katı faz ekstraksiyon
CV	: Kristalviyole
GC	: Gaz kromatografisi
SFME	: Sıvı faz mikroekstraksiyon
TDME	: Tek damla mikroekstraksiyon
YODME	: Yüzen organik damla mikroekstraksiyon
OF-SFME	: Oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon
DSSME	: Dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon
ADME	: Asılı damla mikroekstraksiyon
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
YKODME	: Yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon
CYM	: Cevap yüzey metodu
MKT	: Merkezi kompozit tasarım
PAN	: 1-(2-piridilazo)-2-naftol
PTC	: 1-feniltiyosemikarbazit
SFODME	: Katılaştırılmış yüzen organik damla mikroekstraksiyon

1. GİRİŞ

Son yıllarda endüstrileşme ve nüfusta yaşanan hızlı artışa paralel olarak üretim ve tüketim atıklarının artması çevreyi kirletmekte, doğal kaynaklar hızla tükenmektedir. Dolayısıyla, insan sağlığını olumsuz etkileyen çevre kirliliği, günümüzde önemli bir problem haline gelmiştir. Hızlı endüstrileşme ile ağır metallerin toprak, hava ve su ortamlarında birikmesi tüm canlıların yaşamını olumsuz etkilemektedir (Gündüz, 2008). Özellikle, maden yatakları ve işletmeciliği, motorlu araçların egzoz dumanları, endüstriyel işlemler, tarımda kullanılan ilaçlar, suni gübreler, volkanik hareketlenmeler ile birlikte kentsel atıklardaki artışla birlikte çevrede biriken ağır metal miktarı da artmaktadır (Stresty ve Madhava, 1999).

Ağır metaller, organizmada enzim inhibitörü olmanın yanısıra metabolik olarak toksik etki gösterirler. Beslenme, solunum gibi faaliyetlerle canlı dokularında birikerek zamanla toksik değerlere ulaşmaktadır. İnsanlarda ağır metal birikimi kalıcı beyin tahribatına ve çeşitli zihinsel bozukluklara neden olmaktadır. Biyolojik bozunma ile organik kirleticiler etkisiz hale gelmelerine rağmen metaller çevrede bozunmadan kalmaktadır (Reed ve ark., 1993). Çözünmüş bakır bileşikler, tarım alanlarında yoğun kullanımından dolayı insan sağlığı için tehdit oluşturan boyutlara ulaşırken, havadaki bakır konsantrasyonunun düşük olmasından dolayı soluma ile bakıra maruz kalma oranı nispeten düşüktür. Bu tür bir etkilenme daha çok bakır cevherini işleyen işletmelerde çalışanlarda meydana gelmektedir. Bakır, korozyona uğramış boru sisteminden içme suyuna geçebildiği için su şebeke sistemi bakır olan evlerdeki insanların bakıra maruziyeti daha fazladır (Ercan, 2008). Bu nedenlerden dolayı, ağır metallerin özellikle de bakırın eser düzeydeki tayinin hızlı, duyarlı ve güvenilir olarak gerçekleştirmek büyük bir öneme sahiptir. Bu amaçla tercih edilen dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) çeşitli örneklerde organik ve inorganik bileşiklerin zenginleştirilmesi ve tayini için yüksek derecede seçici, etkin ve güçlü bir metottur (Naseri ve ark., 2008).

Bu çalışmada; düşük maliyetli, yüksek doğruluk ve kesinliğe sahip hızlı bir yöntem olan DSSME ile kuru çay örneklerinde bakır iyonu önderiştirilmesi gerçekleştirilerek bakır konsantrasyonunun alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi (FAAS) ile tayin edilmesi hedeflenmiştir.

1.1. ay

ay M.Ö. 2737 yılında, çay yapraklarının kaynayan suya düşmesi sonucunda keşfedilmiştir. Kaynayan suda farklı renkteki karışımların meydana gelmesiyle oluşan tat ve hoş kokunun güzel bulunması, önce Çin'e daha sonra tüm dünyaya yayılmıştır (Araç, 2014). Diffuz olarak dünyada tüketilen içeceklerden birisi olan çayın tıbbi özelliklerinin de olduğu bilinmektedir (Mello ve ark., 2005; Vyas ve Kumar, 2005; Zhu ve ark., 2006). ay dünyada yaklaşık olarak 40 ülkede yetiştirilmektedir (Demir, 2002). Latince adıyla *Camellia sinensis*, sudan sonra dünyada en çok tüketilen iecedir. Çayın büyük bir kısmı başta Tayvan olmak üzere Sri Lanka, Çin, Japonya ve Hindistan olmak üzere yaklaşık 30 ülkede üretilmektedir (Henning ve ark., 2003; Cooper ve ark., 2005). Ülkemizde ise başta Rize olmak üzere Doğu Karadeniz Bölgesi'nde çay yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bu bölgemiz günümüzde Türkiye'nin ihtiyacını karşılamakla birlikte, ihracat için de üretim yapmaktadır. 2015 yılı sonunda Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre Türkiye'de 1.327.934 ton çay elde edilmiştir. Türkiye'de 821.079 hektarda çay üretilmekte ve kişi başına tüketilen çay miktarı 14 kg'dır. Türkiye'de 27.971 ton çayın ithalatı ve 18.969 ton çayın ihracatı yapılabilmektedir (URL-1).

Flavonoid bakımından zengin olan çay, çeşitli kanser türleri ve koroner kalp damar hastalıklarına karşı koruyucudur. Flavonoidler polifenolik maddeler olup *in vitro* ve *in vivo* alışmalar ile güçlü antioksidan özellik gösterdikleri tespit edilmiştir (Weisburger ve Chung, 2002; Luczaj ve Skrzydlewska, 2005). Hem siyah çayın hemde yeşil çayın hazırlanması ile ilgili ortak bir yöntem dünyada yoktur. Siyah aya İngiltere'de belirli oranda süt eklenmesi yapılırken, Japonya'da yeşil çay 2-3 dakika demlenir. Türkiye'de ise siyah çay daha yoğun bir şekilde tüketilmektedir. Bunlara ek olarak batı toplumlarında çay genellikle; tek kullanımlık bir poşet çay (1.8-2.4 g çay) 200-250 mL sıcak suda 3-5 dakika bekletilmesi ile tüketilmektedir (Araç, 2014).

1.2. Ağır Metaller

Bakır, kadmiyum, kurşun, çinko, krom, kobalt, civa, demir, nikel gibi metaller yoğunluğu 5 g cm⁻³'ten büyük olduğundan ağır metaller olarak sınıflandırılmışlardır. Doğaları gereği ağır metaller, genellikle yerkürede oksit, karbonat, sülfür ve silikat halinde silikatlar içinde veya kararlı bileşikler halinde bulunurlar (Oehmen ve ark., 2013). Toksik

etkileri ağır metallerin; formuna, metalin konsantrasyonuna, etki süresine, bulunduğu yere ve türe bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir (Okcu ve ark., 2009).

Dünya üzerinde ağır metal kirliliği biyosfere tesir etmektedir (Cunningham ve ark., 1997; Meagher, 2000; Raskin ve Ensley, 2000). Topraktaki ağır metal kirliliği günümüzde önemli çevresel problemlerdendir. Toprakta ağır metal birikimi ekosistem fonksiyonlarının yanısıra besin zinciri yoluyla insan ve hayvan sağlığı üzerinde de oldukça etkilidir. Bitkilerdeki ağır metal birikimi verimliliği düşürmekte, fizyolojik aktiviteyi engellemekte, bunun sonucu olarak da ürün miktarı ve kalitede düşüşlere neden olmaktadır. Ağır metal toksisitesine karşı bitkilerin toleransları element türüne, bitki türüne, strese maruz kalan doku ve stres süresine veya organın yapısındaki farklılığa bağlı olarak değişmektedir (Öktüren ve Sönmez, 2007). Çevreye ağır metallerin yayılmasındaki en önemli faktörlerin başında; metalik madenlerin üretimi, endüstriyel faaliyetler başta olmak üzere termik santraller, cam üretimi, demir çelik sanayi, çöp ve atık çamur yakma tesisleri, çimento üretimi gelmektedir. Endüstriyel faaliyetler sonucunda meydana gelen ağır metaller, bitkiler ve besin zinciri vasıtasıyla insanlara ve hayvanlara kadar ulaşmaktadır. Sanayinin yoğun olduğu alanlarda insanlar ve hayvanlar tarafından havadan toz halinde veya aerosol olarak solunabilmektedir (URL-2).

Endüstrileşme, ekolojik dengeyi önemli oranda etkilemekte ve ağır metal kirliliğinin önlenmesi büyük önem taşımaktadır (URL-3). Ağır metal kirliliğinin önlenmesinde, atık suların endüstriyel kuruluşlar tarafından kimyasal, biyolojik ve fiziksel yöntemlerle arıtıldıktan sonra çevreye boşaltılmaları gerekmektedir. Fiziksel arıtmada, yüzebilen tanecikler ayrılmakta veya flotasyon ve çöktürme işlemleriyle çökmektedir. Kimyasal arıtmada çözünmüş veya kolloidal tanecikler pıhtılaştırılıp yumaklaştırılarak çökebilmektedir. Biyolojik kütlelerin bir araya gelerek oluşturduğu çözünmüş maddeler biyolojik arıtmada kolay çökebilen yumaklara, stabilize olmuş son ürünlere ve kısmen de mikroorganizmaların enerji ihtiyaçları için yaptıkları solunum sırasında çıkan gazlara dönüştürülmektedir (Artan, 2007).

1.2.1. Bakır

Ağır metal ailesinin bir üyesi olan bakırın atmosferden diğer ekosistemlere antropojenik kaynaklardan dağılan miktarının 56 bin ton olduğu belirtilmektedir (Çepel, 1997). Uluslararası standartlar 1963 ve 1971 yıllarında yayınlanmış, 1958 yılında bakır

iyonu Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından içme sularındaki derişimi için izin verilen ve kabul edilen en yüksek değer 1.5 mg L^{-1} olarak bildirilmiştir. Ancak İçme Suyu Kalite Yönetmelikleri'nin 1984 yılında yayınlanmış olan birinci baskısında içme sularındaki renklendirici ve kirleticiliğinden dolayı bakır iyonu derişimini 1 mg L^{-1} 'ye indirilmiştir. Birleşik Gıda Katkıları Uzman Komitesi (JECFA-Joint Experts Committie on Food Additives) tarafından yayınlanmış yönetmeliklerde üst sınır olarak kabul edilen bakır iyonu derişimi (2 mg L^{-1}), 1993 yılında köpekler üzerinde yapılan çalışmalara dayanarak belirlenmiş, bakırın yetişkin ve bebeklerin metabolizmaları üzerindeki etkileri dikkate alınmamıştır. İçme Suyu Kalite Yönetmelikleri'nde 1998 yılında içme sularındaki bakır iyonu derişimi için geçici değer 2 mg L^{-1} olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar ile geçici değil belirgin bir değerin gerekliliği vurgulanmış ve yönetmelikte yer alan 2 mg L^{-1} değeri geçici değer olmaktan çıkmıştır. Literatürdeki çalışmalarda, günlük bakır alımının 10 mg 'ı aşmaması gerektiği vurgulanmıştır. Bu değer aşıldığında bağırsak ve mide rahatsızlıklarının ortaya çıkabileceği belirtilmiştir. Ayrıca bakır iyonu 5 mg L^{-1} 'nin üzerindeki derişimlerde suyun tadında problemlere yol açtığı belirtilmiştir (Fawell ve ark., 2004; Fawell ve ark., 2006; Schmoll ve ark., 2006).

1.3. Ekstraksiyon Yöntemleri

1.3.1. Klasik Ekstraksiyon Yöntemleri

Katı ya da sıvı fazda bulunan bir veya birden fazla bileşiğin farklı çözünürlük özellikleri kullanılarak diğer bir sıvı faza alınması işlemine ekstraksiyon denir. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sulu bir çözelti ve organik bir çözücüden oluşan iki sıvı fazın kullanıldığı teknik olarak bilinir. Ekstraksiyon işleminde, maddenin iki faz içerisinde yeterince dağılabilmesi için, kullanılan su ve organik fazın birbirini içerisinde yeterince karışması gerekmektedir. Bu aşamada karışımın şiddetli çalkalanması ve etkileşimin hızlanması bileşenlerin istenilen çözücüye daha çabuk geçmesine olanak sağlar. İstenilen bileşiği ayırımın tamamen sağlanabilmesi için ekstraksiyon işlemi birkaç defa tekrarlanmasına ihtiyaç duyulabilir (Ulutürk, 2016).

Eser element zenginleştirme amacıyla kullanılan ekstraksiyon yöntemleri;

- Birlikte Çöktürme Ekstraksiyonu
- Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu

- Elektrolitik Biriktirme Ekstraksiyonu
- İyon Değişirme Ekstraksiyonu
- Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu
- Uçurma Ekstraksiyonu
- Katı Faz Ekstraksiyonu (Bayrak, 2014).

1.3.1.1. Birlikte Çöktürme Ekstraksiyonu

Birlikte çöktürme, analitin oluşan çökelek üzerinde safsızlık halinde toplanması esasına dayanır. Birlikte çöktürme, eser elementlerin tek başına ayrılmasında veya ana bileşenlerin eser bileşenlerden ayrılması için de kullanılabilen bir ekstraksiyon yöntemidir. Birlikte çöktürme, tayini planlanan element derişimlerinin çöktürme için çok düşük seviyelerde olması veya miktarlarının tayin için çok düşük seviyelerde olduğu durumlarda direk çöktürmeyle ayrılamadığı durumlarda başvurulanan bir ekstraksiyon türüdür. Bu mekanizmada yüzey her zaman bir elektriksel yük taşıdığından zıt yüklü iyonların yüzey üzerinde tutunarak birlikte çökmesi sağlanmaktadır (Gülmez, 2010).

1.3.1.2. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu, uygun bir çözücü içinde çözülmüş maddelerin bir başka faz içerisine alınmasına dayanan bir önderiştirme yöntemidir. İşlemin hızlı ve basit oluşu bu yöntemi cazip hale getirmektedir. Özellikle FAAS ve benzeri metotların kullanıldığı eser elementlerin tayinlerinin yapılması amacıyla sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Bu amaçla başvurulanan uygulamalarda tercih edilen fazlardan birisi genelde su, diğeri ise su ile karışmayan organik çözücülerdir. Birbirleriyle karışmayan iki çözücü arasında, sabit sıcaklıkta her iki fazdaki çözünenin konsantrasyonu arasındaki oran denge halindedir. Bu oran $k = C_0/C_w$ şeklinde formülize edilebilir (k dağılma sabiti, C_0 organik fazda çözünen maddenin konsantrasyonu, C_w ise sulu fazda çözünen madde miktarını temsil etmektedir). Sıvı-sıvı ekstraksiyonu eser elementlerin analizlerinde iki farklı şekilde kullanılabilir. Ya ana bileşenler ortamdan uzaklaştırılırken eser elementler sulu fazda bırakılır ya da sulu fazdaki eser elementler şelatları ya da değişik iyon kompleksleri şeklinde organik faza geçirilir. Eser elementlerin zenginleştirilmesi amacıyla daha çok tercih edilen yöntem sulu fazdaki eser elementler şelatları ya da değişik iyon kompleksleri şeklinde organik faza

alınması işlemidir (Gülmez, 2010; Wei ve ark., 2014). Yöntemin amacı bir sıvıda bulunan maddelerin safsızlıklardan arındırılması veya istenmeyen maddelerden uzaklaştırılmasıdır (Açıkgöz, 2014).

1.3.1.3. Elektrolitik Biriktirme Ekstraksiyonu

Çeşitli elektrolit çözeltilerden eser veya ultraeser düzeydeki ağır metallerin ayrılması için uygun olan bu yöntem, katı bir çalışma elektrodu üzerinde elektrolizle eser miktardaki ağır metallerin biriktirilerek, sonra küçük hacim içerisine sıyrılarak yapılan bir zenginleştirme yöntemini esasına dayanır. Bir metalin elektrolitik biriktirilmesine; elektrot türü ve şekli, elektrolit ve örneğin bileşimi, elektroliz hücresi ve diğer deneysel değişkenler büyük ölçüde etki eder. Ayrıca eser elementlerin zenginleştirilmesi amacıyla elektroliz yönteminin yanı sıra sıyırma yöntemleri de sıklıkla kullanılmaktadır (Melek, 2006).

1.3.1.4. İyon Değiştirme Ekstraksiyonu

İyon değiştirme işlemi eser elementlerin zenginleştirilmesine sıklıkla uygulanan bir işlem olup bu amaçla iyon değiştirici reçinelerden eser düzeyde metal iyonları içeren çözeltiler geçirilerek reçinelerde tutunmaları esasına dayanır. Eser veya ultraeser düzeydeki metal iyonlarının reçineye tutunarak bu iyonların daha küçük hacimdeki bir çözücü ile reçineden geri alınarak zenginleştirme işlemi gerçekleştirilir. Çözelti ortamında çözünmeyen büyük moleküllü doğal veya yapay maddeler (organik ve inorganik karakterli) reçine olarak tercih edilmektedir. Bu amaçla zeolitler, killer uzun zamandan beri kullanılan inorganik iyon değiştiricilerdir. Organik karakterli iyon değiştiriciler katyonik ve anyonik değiştiriciler olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar. İyon değiştiriciler suda çözünmemeli, iyonlaşabilir fonksiyonel gruplar içermeli ve gözenekli yapıda olmalıdır. Eser element analizinde kullanılacak iyon değiştirici seçiminde ayrıca reçinenin seçimliliğine, iyon değiştirme kapasitesine, iyon değiştirme hızına, iyon değişim işleminin tersinirliğine, fiziksel inertliğe ve su ile şişmemesine dikkat edilmelidir (Mizuike, 1983; Gülmez, 2010).

1.3.1.5. Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu

Bulutlanma noktası ekstraksiyonu, tayini gerçekleştirilecek metal tayininde yüzey aktif madde, analit çözeltisine ilave edildikten ve şelatlaştırıcı reaktifin çözeltisi eklendikten sonra karışımın bulutlanma noktasının üzerine kadar ısıtılması esasına dayanan analitik bir yöntemdir. Bulutlanma noktası ekstraksiyonunda kullanılan yüzey aktif maddeler genellikle iyoniktir. İyonik yüzey aktif maddelerin bulutlanma noktaları yüksek olduğu için hem deneysel şartlar zorlaşır hem de metal-ligant kompleksinin tekrar bozunmasına neden olduğu için tercih edilmemektedir (Bezerra ve ark., 2005; Baig ve ark., 2009). Bu metotta faz ayrımını hızlandırmak için santrifüjleme işlemi uygulanır ve sulu faz bir enjektör veya pipetle ayrıldıktan sonra geriye kalan yüzey aktif madde bakımından zengin faz, uygun bir çözücü ile seyreltilerek analize hazır hale getirilir.

1.3.1.6. Uçurma Ekstraksiyonu

Bu yöntem, matriks ile eser element arasındaki uçuculuk farkının büyük olması esasına dayanır. Uçurma ile zenginleştirme işlemi, kolay uçucu ve kolaylıkla uçucu bileşiklerine dönüştürülen bazı elementler için son derece uygundur. Uçurma ile ayırma işlemi matriksin uçurulması ya da eser elementin uçurulması ile yapılır. Prensip olarak hangisi daha uçucu ise o uçurulur. Ancak inorganik eser analizinde, metallerin uçurma ile zenginleştirilmeleri yaygın değildir (Aksu, 2005).

1.3.1.7. Katı Faz Ekstraksiyonu

Katı faz ekstraksiyon metodu sıvı fazda bulunan analitin katı bir faz üzerinde toplanması ve toplanan bu analitin daha küçük bir çözelti hacmine alma esasına dayanır. Katı faz ekstraksiyonu 1970'lerin ortalarında sıvı-sıvı ekstraksiyonuna alternatif bir yöntem olarak kullanılmaya başlanmıştır. İşlemin kolay ve katı faz olarak kullanılan materyal aralığının geniş olmasından dolayı bu teknik eser zenginleştirme amacıyla sıkça tercih edilmektedir. Günümüzde düşük derişimdeki analitlerin zenginleştirilmesinde yaygın olarak kullanılan katı faz ekstraksiyonu yöntemi, sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemine göre daha az çözücü ile daha hızlı ve kolay bir şekilde uygulanmaktadır. Düşük derişimdeki eser veya ultraeser elementlerin katı faz üzerine tutunması iyon değiştirme,

fiziksel veya kimyasal adsorpsiyon ve kompleks oluşumu gibi çeşitli parametrelere bağlıdır. Bu parametreler katı faz karakterine ve eser elementin kimyasal formuna bağlı olarak tutunma mekanizmalarını etkiler. Katı faz ekstraksiyon tekniği çoğunlukla iyon değiştirme ve adsorpsiyon olaylarına bağlıdır. Katyon ve anyon değiştirici reçineler kullanıldığı gibi şelatlaştırıcı iyon değiştiriciler de kullanılmaktadır ve bu yöntem çevre, gıda, klinik, ilaç ve endüstride uygulanabilen etkin bir ayırma-zenginleştirme yöntemidir (Liska, 2000; Bhaskar ve ark., 2004). Ayrıca kolon tekniği de katı faz ekstraksiyon yönteminde yaygın olarak kullanılmaktadır.

1.3.2. Mikroekstraksiyon Teknikleri

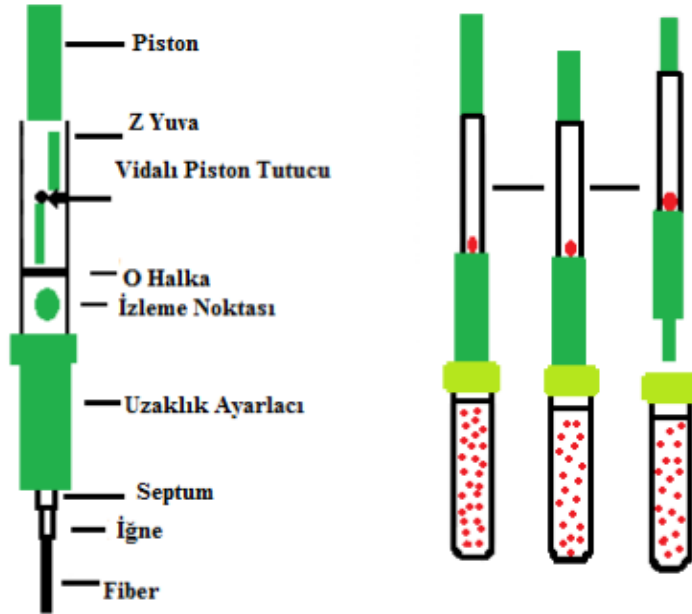
Çevresel örneklerin kalitatif ve kantitatif analizinde doğru, hızlı ve hassas yöntemlerin geliştirilmesi önemli bir konu haline gelmiştir. Çevresel ve biyolojik numunelerde eser düzeyde bulunan analitlerin tayininde yüksek hassasiyetli analitik cihazlar olmasına rağmen, bu cihazlar çoğunlukla matriks girişimlerinin olduğu ortamlarda direkt tayinlerde yeterli olmamaktadır. Bu nedenle matriks ortamından analitleri ayırmak ve deriştirmek için ön işlemlere gerek duyulmaktadır. Bu amaçla ekstraksiyon, en yaygın kullanılan yöntemlerden birisidir. Ekstraksiyon yöntemleri genellikle katı, sıvı-sıvı ve katı-sıvı faz ekstraksiyonu olarak uygulanırlar. Yalnız bu yöntemler zaman alıcı ve fazla miktarda örnek ve çözücü gerektiren işlemlerdir. Bu dezavantajlar ekstraksiyon basamaklarını basitleştiren, organik çözücü tüketimini minimize eden ve iyi zenginleştirme sağlayan mikroekstraksiyon yöntemlerine olan ilgiyi arttırmıştır (Bahadır, 2015).

Mikroekstraksiyon yöntemleri;

- Klasik (sıvı-katı ve sıvı-sıvı) ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılan pahalı ve toksik özellikteki ekstraksiyon sıvılarının mikrolitre seviyelerine düşürülmesi,
- Ekstraksiyon sonrasında alınan örneğin doğrudan enstrümental cihazlara enjekte edilmesine olanak sağlaması,
- Yüksek zenginleştirme oranı,
- Ekstraksiyon ve zenginleştirmenin yanısıra ayırma işleminin de yapılabilmesi,
- Buharlaştırma, saflaştırma gibi işlemlere gerek duyulmaması,
- Otomasyonun yapılabilmesi gibi avantajlarından dolayı son zamanlarda klasik ekstraksiyon yöntemlerinin yerlerini almaya başlamıştır (Dadfarnia ve Shabani, 2010).

1.3.2.1. Katı Faz Mikroekstraksiyon

Katı faz mikroekstraksiyon, çeşitli ürünlerden uçucu ve yarı uçucu bileşenlerin kalitatif ve kantitatif analizi için tek basamakta örnekten maddeyi zenginleştirme, matrinden ayırma ve tayin etme işlemidir. Bu yöntem, genel olarak belirli sıcaklıklarda buharlaşmayı sağlayarak oluşan buharın adsorpsiyon işleminden sonra gaz kromatografisinde ayrışması esasına dayanır. Klasik örnek hazırlama yöntemleriyle karşılaştırıldığında katı faz mikroekstraksiyonunun, yeni, hızlı, basit ve ekonomik bir yöntem olması ve çözücü gerektirmemesi gibi avantajları vardır. Bu yöntem analitleri ayırma ve analizde, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanımına uygun bir yöntemdir (Dietz ve ark., 2006; Kumar ve ark., 2008). Şekil 1.1’de katı faz mikroekstraksiyon enjektörü ve sistemi görülmektedir.



Şekil 1.1. Katı faz mikroekstraksiyon enjektörü ve sistemi (Bahadır, 2015)

1.3.2.2. Sıvı Faz Mikroekstraksiyon

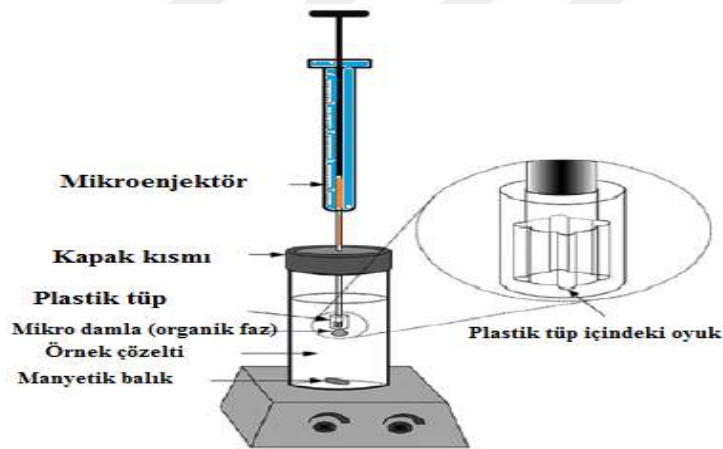
Sıvı faz mikroekstraksiyon (SFME) yöntemlerinin klasik ekstraksiyon yöntemlerinden en belirgin farkı, ekstraksiyon sıvısının mikro düzeylere indirilmesidir. Sıvı faz mikroekstraksiyon yönteminde analitler genellikle sulu faz içerisinde ve su ile

karışmayan organik çözücüler analit iyonlarının taşındığı alıcı faz olarak kullanılır. Sıvı faz mikroekstraksiyon şu yöntemlerle uygulanır;

- Tek Damla Mikroekstraksiyon (TDME)
- Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (OF-SFME)
- Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyon (YKODME)
- Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DSSME) (Bahadır, 2015).

1.3.2.2.1. Tek Damla Mikroekstraksiyon

Tek damla mikroekstraksiyon yönteminde, ekstraksiyon ortamı tek damladır. Yaklaşık 1–10 μL ekstraksiyon çözücüsü kullanılarak işlem yapılır (Dadfarnia ve Shabani, 2010). Belirli bir süre sonrasında analitler/analit pasif difüzyon ile tek damla içerisine ekstrakte edilir. Ekstraksiyon fazındaki analitin tayini HPLC ve GC ile gerçekleştirilir (Pedersen-Bjergaard ve Rasmussen, 2008). Şekil 1.2’de tek damla mikroekstraksiyon enjektörü ve sistemi görülmektedir.

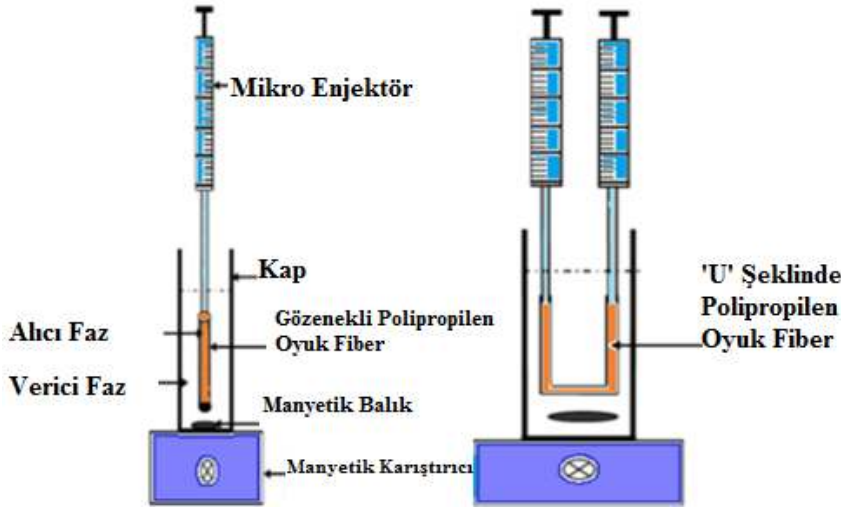


Şekil 1.2. Tek damla mikroekstraksiyon enjektörü ve sistemi (Bahadır, 2015)

Uygulaması kolay, mikro düzeyde organik çözücü kullanılan TDME, hızlı bir ekstraksiyon tekniği ve düşük maliyetli olmasına karşın damlanın enjektör ucunda yüksek karıştırma hızlarında kararsız olması, damlanın düşük yüzey alanına sahip olması ve ekstraksiyon kinetiğinin yavaş olması gibi dezavantajları vardır (Dadfarnia ve Shabani, 2010).

1.3.2.2.2. Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon

Bu yöntemde ekstrakte etme işleminde çözelti içerisindeki hedef maddeler gözenekli yapıdaki polipropilen oyuk fiberin duvarlarına emdirilmiş organik çözücü kullanılarak ekstrakte edilir. Yöntem basit, hızlı, ucuz ve yüksek zenginleştirme faktörüne sahip olması nedeniyle tercih edilir. Ancak bu yöntemde alıcı faz ile verici faz arasındaki ekstraksiyon etkinliğinin azalması, analizlerinde matriksin (kan, plazma, atıksu) fiber üzerindeki gözenekleri tıkayabilmesi ve ekstraksiyon süresinin uzaması ile tekrarlanabilirliğin azalması gibi dezavantajlara da sahiptir (Khalili ve ark., 2007; Sarafraz-Yazdi ve Amiri 2010). Şekil 1.3'te oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon sistemi gösterilmiştir.



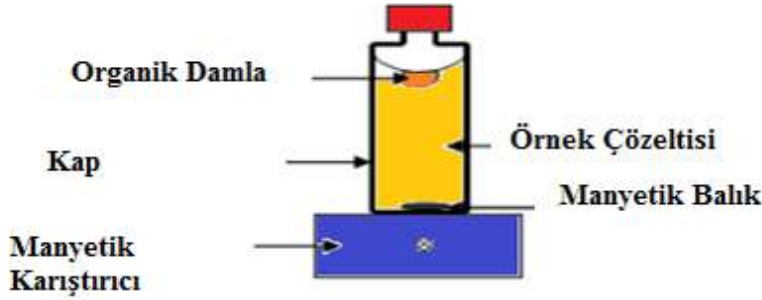
Şekil 1.3. Oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon (OF-SFME) ve 'U' şeklinde OF-SFME sistemi (Bahadır, 2015)

Alıcı fazdaki maddelerin tayini HPLC ve GC gibi analitik cihazlarla gerçekleştirilir (Pedersen-Bjergaard ve Rasmussen, 1999; De Jager ve Andrews, 2001).

1.3.2.2.3. Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyon

Bu yöntemde, sulu örnek bir manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak ısıtılır. Karıştırma sırasında 1-dekanol ve undekanol gibi ekstraksiyon çözücüleri kullanılır. Bu çözücülerin yoğunluğu suyun yoğunluğundan daha düşük olduğundan su ile karışmayan bir faz oluştururlar. Karışma sırasında kütle transferi ile su fazındaki analit/analitler bu

ekstraksiyon fazına geçerler. Ekstraksiyon işleminin sonunda sistem soğutulur ve donarak katılaştıran mikrodamla alınır, uygun çözücüyle çözülür. Bu analiz işleminde GC ve HPLC sistemleri kullanılır (Kenanoğlu, 2014). Yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon sistemi Şekil 1.4’te verilmiştir.

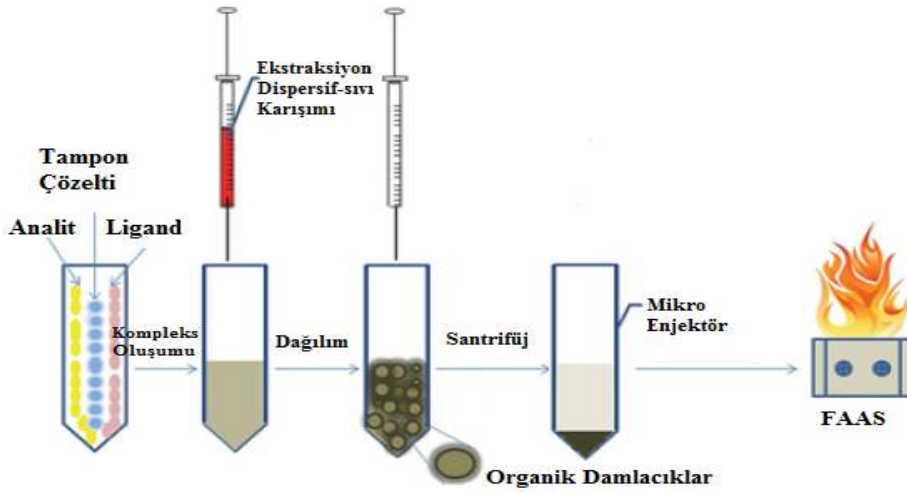


Şekil 1.4. Yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon sistemi (Bahadır, 2015)

Yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon yönteminin avantajları; yüksek doğruluk, kesinlik, düşük maliyet ve düşük ekstraksiyon zamanı, basitlik, basit malzemelere gerek duyulması ve organik çözücü tüketiminin minimum düzeyde olmasıdır. Ancak uygun çözücü seçimindeki sınırlamalar, en önemlisi tekniğin orta veya yüksek derecede hidrofobik özelliğe sahip analitler için doğru değerler verirken, yüksek nötral veya hidrofilik özelliğe sahip analitler için geçerli olmaması ve ekstraksiyon çözücüsünün dondurulması yöntemin dezavantajları olarak sayılabilir (Demirci ve Özçimder, 2008).

1.3.2.2.4. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon

Mikro hacimde ekstraksiyon çözücüsünün kullanıldığı, organik ve inorganik türlerin zenginleştirilmesinde yeni bir yaklaşım olan DSSME yöntemi geliştirilmiştir. Yöntem ilk yıllarda organik maddelerin tayininde kullanılmış daha sonra metal iyonlarının çevresel numunelerden zenginleştirilmesine de imkân sağlamıştır (Rezaee ve ark., 2010; Khani ve ark., 2011). Yöntem; örnek çözelti, ekstraksiyon çözücüsü ve dispersif çözücü içeren üçlü bileşen sistemine dayanmaktadır. Kullanılacak ekstraksiyon çözücüsü sulu fazla karışmayacak, dispersif çözücü ise hem sulu faz hemde ekstraksiyon çözücüsü ile karışabilecek özellikte olmalıdır. Dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon yöntemi, tayini yapılacak maddeleri içeren sulu faz içerisine ekstraksiyon çözücüsü ve dispersif çözücüyü içeren karışımın hızlı bir şekilde enjeksiyonu prensibine dayanır. Şekil 1.5’te DSSME tekniğinin sistematik bileşenleri gösterilmiştir (Bahadır, 2015).



Şekil 1.5. Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon sistemi (Bahadır, 2015)

Yöntemin basamakları şu şekildedir; analiti içeren sulu ortamdaki örnek çözeltisi santrifüj tüpüne alınır. Bu örnek çözeltisinin içerisine dispersif ve ekstraksiyon çözelti karışımı şırınga veya mikropipet ile hızlı bir şekilde enjekte edilir. Ekstraksiyon çözücüsü toplam çözelti hacminin %1–3’nü oluşturur. Karışım (dispersif çözücü/su/ekstraksiyon çözücüsü) çalkalanır ve bulutumsu bir çözelti elde edilir. Örnek içerisinde ekstraksiyon çözücüsünün küçük damla formları oluşur. Analit bu sırada sulu fazdan ekstraksiyon çözücü fazına ekstrete olur. Ardından santrifüjlenerek, ekstraksiyon çözücüsü ve sulu faz birbirinden ayrılır. Dipte toplanan ekstraksiyon çözücüsü, mikro enjektör ile alınarak en uygun enstrümantal yöntem ile tayini yapılır (Yılmaz ve Soylak 2014; Zeid ve ark., 2013).

Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu faz oranları oldukça küçültülerek modifiye edilmiş bir çözücü ekstraksiyon yöntemidir. Ekstraksiyon çözücüsü olarak bu yöntemde yoğunluğu sudan büyük olan kloroform ($d=1.48 \text{ g mL}^{-1}$), tetraklorometan ($d=1.60 \text{ g mL}^{-1}$), karbondisülfür ($d=1.26 \text{ g mL}^{-1}$), klorobenzen ($d=1.11 \text{ g mL}^{-1}$) gibi organik çözücüler kullanılırken aynı zamanda sikloheksan ($d=0.81 \text{ g mL}^{-1}$), toluen ($d=0.87 \text{ g mL}^{-1}$), n-hekzan ($d=0.66 \text{ g mL}^{-1}$) ve dibütil eter ($d=0.77 \text{ g mL}^{-1}$) gibi yoğunluğu suyun yoğunluğundan daha düşük olan organik çözücülerde kullanılabilir. Dispersif çözücü olarak ise hem ekstraksiyon çözücüsü hem de sulu fazla iyi karışabilen metanol, etanol, asetonitril ya da aseton gibi çözücüler kullanılabilir. Bu yöntemin avantajları, çalışma kolaylığı ve hızlılığı, örnek hazırlama süresinin kısa olması, düşük maliyet, yüksek geri kazanım veya yüksek önderiştirme faktörü olarak sıralanabilir. Ayrıca bu metotta şırınga, ekstraksiyon süresince damla tutucu olarak değil, ekstraktant fazın eklenmesi ve toplanması amacıyla kullanılır.

Bu nedenle damla kaybetme gibi problemlerle karşılaşılmaz. Birden fazla çözücü kullanılması yöntemin sahip olduğu bir dezavantajdır (Xiao-Huan ve ark., 2009; Livia ve ark., 2012).

1.3.2.2.4.1. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonun Prensipleri

Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu, klasik sıvı-sıvı ekstraksiyonun aksine organik çözücülerin mikrolitre seviyelerine düşürülerek uygulanan bir zenginleştirme metodudur. Bu metotdaki en önemli basamak, ekstraksiyon sıvısının sulu çözelti içinde dağıtılmasıdır. Bu amaçla analit iyonlarını içeren sulu çözelti içine ekstraksiyon ve dispersif sıvı içeren karışım enjekte edilir. Bu işlemde sulu örnek ve ekstraksiyon çözücüsü arasında büyük bir yüzey alanı elde edilir. Denge durumuna çabucak ulaşılır ve analit iyonları ekstraksiyon sıvısı içinde zenginleştirilir. Ekstraksiyon verimliliğini etkileyen faktörler arasında;

- Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi ve türü,
- Dispersif çözücünün hacmi ve türü,
- Çözeltinin pH değeri,
- İyonik şiddet sayılabilir (Bahadır, 2015).

1.3.2.2.4.2. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyona Dispersif Çözücü Hacminin ve Türünün Etkisi

Gerçekleşen ekstraksiyon sırasında dispersif çözücü, ekstraksiyon çözücüsünün içerisinde çözünmüş olur ve ekstraksiyon reaktifini damlalar halinde disperse etmede önemli rol oynar. Bu yüzden dispersif çözücü, ekstraksiyon çözücüsü içerisinde çözünebilir ve su ile karışabilir olmalıdır. Dispersif çözücüsü olarak genelde metanol, etanol, asetonitril, aseton ve tetrahidrofuran gibi çözücüler kullanılır. Dispersif çözücü hacmi, bulutlu çözelti oluşumunu doğrudan etkilemektedir. Sulu faz içerisindeki ekstraksiyon çözücüsünün dispersif derecesi ekstraksiyonu etkiler. Genellikle 0.5-1.5 mL hacim aralığında dispersiyon çözücüsü kullanılmaktadır (Zang ve ark., 2009).

1.3.2.2.4.3. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyona Kompleksleştirici Reaktifin Etkisi

Polar analitin sulu fazdan apolar organik faza ekstraksiyonunun sağlanması, analitin polaritesi düşük ya da apolar bir kompleks haline getirilebilmesine bağlıdır. Bunun için seçilecek kompleksleştirici, ekstrakte edilmek istenen metal iyonu ile hidrofobik bir kompleks oluşturacak yapıda olmalıdır. Kullanılacak kompleksleştirici miktarı, ekstraksiyon verimini etkileyen önemli etkenlerden biridir. Yetersiz kompleksleştirici miktarı, örnekte bulunan bütün metal iyonlarına yeterli gelmeyeceğinden, ekstraksiyon verimini düşürür. Ortamda çok yoğun kompleksleştirici bulunması durumunda ise, sadece kompleksleştiricinin ekstraksiyonu gerçekleşip organik fazın doyması ve metal iyonlarının tamamının ekstraksiyon fazına geçememesi söz konusudur. Bu nedenlerle uygun kompleksleştirici miktarının belirlenmesi büyük bir öneme sahiptir (Kenanoğlu, 2014).

1.3.2.2.4.4. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyona pH'ın Etkisi

Metal komplekslerin oluşmasında ve bu oluşan komplekslerin apolar ekstraksiyon fazına ekstrakte edilmesi ortamın pH değerine bağlıdır. Bu yüzden pH etkisi birçok literatür çalışmasında önemli görülmüş ve optimizasyon basamaklarında ilk sırada yer almıştır (Yılmaz ve Soylak, 2014; Khan ve ark., 2013). Çok düşük pH değerlerinde çözelti içindeki hidronyum iyonları ligant için protonasyona neden olur ve kompleks oluşumunu olumsuz etkiler. Aynı şekilde pH değerinin çok yüksek (bazı bölge) olması metal iyonlarını hidroksitleri şeklinde çöktürerek ekstraksiyon veriminin düşmesine neden olur. Maksimum ekstraksiyon verimi için gerekli olan ideal pH değerinin belirlenmesi bu yüzden ekstraksiyon verimini etkileyen önemli bir parametredir (Karaca, 2014).

1.3.2.2.4.5. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyona İyonik Şiddetin Etkisi

Polar olmayan veya su ile çok az karışabilen organik çözücülerin ekstraksiyon işlemlerinde kullanılması en önemli sınırlama dielektrik sabitlerinin düşük olmasıdır. Çünkü bu durumda polar veya yüklü iyonların ekstraksiyonu işlemlerinde bu organik çözücüler yetersiz kalabilmektedirler. Ortama tuz ilavesi ekstraksiyon verimini arttırırken tayin sınırını da düşürmektedir. İşlemden iyonik şiddetin etkisi iki şekilde incelenebilir.

Birincisi, ortama NaCl ve KNO₃ gibi tuzlar ilave edildiğinde çöken organik fazın hacminde artış gözlenir. Bunun nedeni ise ekstraksiyon çözücüsünün sulu çözeltideki çözünürlüğünün tuz etkisi ile azalmasıdır. Böylece ekstraksiyon verimi artacağından zenginleştirme faktörü de artacaktır. Analizi yapılacak tür hidrofilik olduğu zaman ortama tuz ilavesi genellikle ekstraksiyon verimini arttıracak gibi bazen de tam tersi etki yapabilmektedir. Diğer bir sınırlama ise yüksek tuz konsantrasyonlarında santrifüj sonunda faz ayrımının zorlaşmasıdır (Bahadır, 2015).

1.3.2.2.4.6. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyona Ekstraksiyon Süresinin Etkisi

Sulu çözeltilerden analitlerin organik faz içine taşınması zamana bağlı olarak gerçekleşir. Bu yüzden maksimum ekstraksiyon verimi elde etmek için ekstraksiyon süresinin optimizasyonu büyük önem taşır. Sıvı faz mikroekstraksiyon işlemlerinde ekstraksiyon süresi en önemli faktörlerden biri olarak ortaya çıkmaktadır. Ekstraksiyon süresi DSSME işlemlerinde ekstraksiyon sıvısı ve dispersif sıvı karışımının çözeltiye ilave edilmesi ile santrifüj işlemine geçilmeden önceki aralık olarak tanımlanır. Yapılan çalışmalarda DSSME yöntemi için ekstraksiyon veriminin ekstraksiyon süresinden bağımsız olduğu ortaya çıkmıştır ki bu özellik mikroekstraksiyon yönteminin en önemli özelliğidir (Assadi ve ark., 2012).

1.4. Cevap Yüzey Metodu

Optimizasyon, prosesin belirlenen hedefler (cevaplar) doğrultusunda, bağımsız değişkenlerin hedefe (cevaba) olan etkilerinin ve bağımsız değişkenlerin birbirleriyle olan etkileşimlerinin göz önünde bulundurularak uygulanmasıdır. Genel olarak optimizasyon hedef fonksiyonu adı verilen önceden tanımlanmış kriterleri minimize veya maksimize etmek için bağımsız değişkenler olarak tanımlanan, belirlenen koşulların değiştirilmesi işlemidir. Cevap yüzey metodu (CYM) deneme setlerinden türetilen basit deneysel modellerin kullanıldığı bir optimizasyon tekniğidir (Koç ve Kaymak, 2009). Geleneksel deney tasarım yöntemlerinde her bir parametrenin sistem performansı üzerine etkisi araştırılırken diğer bütün parametreler sabit tutulur. Aynı anda sistem performansına etki eden tüm değişkenlerin farklı seviyelerinin etkisinin incelenmesi mümkün değildir.

Kaynakların verimli kullanılması, deney sayısının azaltılması, zamandan ve maliyetten tasarruf, en önemlisi araştırma ve geliştirme faaliyetlerinin hızlandırılması için deneysel tasarımın yapılması büyük bir avantajdır (Aygün, 2012).

Cevap yüzey metodu, cevap yüzeyi Y ile $X_1, X_2, \dots, X_k$ şeklinde gösterilen bir grup değişken arasında yeterli bir fonksiyonel ilişki geliştirmek için matematiksel ve istatistiksel tekniklerin birlikte kullanıldığı bir yöntemdir. Deneysel planlama dahilinde, prosese etki eden faktörler için ön deneyler yapılarak sınırlar araştırılır. Araştırılan sınırlar belirlendikten sonra programın ön gördüğü düzende deneysel çalışmalar tamamlanır ve program yardımıyla değerlendirilerek prosesin uygun koşulları belirlenir (Aygün, 2012). Cevap yüzey metodu uygulamalarında bir dizi matematiksel ve istatistiksel teknikler birbiri ardına uygulanmaktadır. Her aşamada elde edilen veriler bir sonraki aşamada kullanılmaktadır. İlk aşamada, bir takım sistemi karakterize edebilecek performans ölçütleri ve bunlar üzerine etkili olabilecek faktörlerin ve değişkenlerin belirlenmesi gerekmektedir. Bu faktörler çoğu proseste oldukça fazladır. Bu nedenle ön denemeler yapılarak faktörlerin istatistiksel olarak önemlileri seçilebilir. Bu denemelere eleme denir. Araştırmanın ilerleyen aşamalarında daha az deneme yapılarak zaman ve maliyet açısından önemli avantajlar sağlanır. Cevap yüzey metodunun ikinci aşamasında amaç, bağımsız değişkenlerin deneme bölgesi içerisinde belirlenen seviyelerinin sistemin hedefinde oluşturdukları değerin, ideal noktaya yakın sonuçları verip vermediğinin belirlenmesidir. Cevap yüzeydeki eğrilik ideal noktaya yaklaştıkça daha belirgin hale gelmektedir. Dolayısıyla, CYM'nin ikinci aşaması birinci dereceden modeller kullanılarak eğriliğin test edilmesini içermektedir. Birinci derece modeller sistemin yanıtını belirlemede yeterli olursa seçilen deneme bölgesinin sistemin optimum performansından uzakta olduğu belirlenir. Deneme bölgesi seçilerek faktör ayarlamaları yapılır. Bu işlem cevap yüzeydeki eğriliğin önemli olduğu bölgeler tespit edilinceye kadar devam eder. Üçüncü aşama, işlem optimum noktaya ulaşıldığında başlamaktadır. Bu noktada araştırmacı, optimum nokta çevresinde doğru ve hassas bir şekilde yanıt fonksiyonunu tahmin etmektedir. Gerçek cevap fonksiyonu, optimum nokta çevresinde önemli değişiklikler göstermektedir. Bu eğriliğin tahmin edilmesinde genellikle ikinci dereceden modeller kullanılır. Bu modelde eğriliğin tahmin edilmesinde bir önceki aşamada uygulanan deneysel tasarıma ek olarak deneysel noktaların eklenmesi gerekmektedir. Uygun bir model elde edildiğinde, bu model optimum noktaların araştırılmasında kullanılır (Sabuncu, 2014).

Ancak araştırmacının bir takım fiziksel kısıtlamaları, dizayn değişkenlerinin belirli aralıklar içerisinde incelemesini gerektirmektedir. Başka bir deyişle, işletme bölgesi ve deneme bölgesi aynıdır. Bu nedenlerden dolayı, bölge taramasının yapılması gerekmemektedir. Ayrıca, araştırmaı proses hakkında detaylı bilgiye sahip olduğunda, bu aşamalardan birkaçını kullanmayabilir. Bu sayede maliyet ve zaman açısından önemli kazançlar elde edilebilmektedir. Cevap yüzey metodunu başlıca aşamaları, denemelerin dizayn edilmesi, varyans analizi (ANOVA), model geliştirilmesi (regresyon analizi), ve optimizasyondur (Eren, 2004).

Cevap yüzey metodunun avantajları:

- Daha az deney ile daha fazla bilgiye ulaşılabilir.
- Bağımsız değişkenlerin etkilerini beraber inceleme olanağı tanımaktadır.
- Matematiksel bir model ile sistemin tanımlanması, dolayısıyla bağımlı ve bağımsız değişken arasındaki ilişkinin bu model vasıtasıyla ifade edilebilmesidir (Ürküt, 2007; Uzunoğulları, 2010).

Dezavantajları:

- Hiperbolik ya da an eğrisi şeklinde simetrik olmayan fonksiyonlar ile modellenememesi, elde edilen biyokimyasal süreçler gibi doğrusal olmayan sistemlerin modellenmesinde başarılı olamamasıdır (Myers ve Montgomery, 1995; Uzunoğulları, 2010).

1.4.1. Merkezi Kompozit Tasarım (MKT)

Cevap yüzey metodunun çeşitli dizaynları bulunmaktadır. En çok kullanılan iki dizaynı, ‘Box-Behnken’ ve ‘merkezi kompozit’ dizaynlarıdır. Merkezi kompozit tasarım, genişletilmiş merkez noktaları içeren, grafik meydana getirmeyi sağlayan, deneysel tasarım metodudur (Turan ve Altundoğan, 2011). Merkezi kompozit tasarım, herbir faktörün beş seviyesini kullanmakta iken, Box-Behnken dizaynı her bir faktörün  seviyesini kullanmaktadır. Merkezi kompozit tasarım, birkaç yıldız nokta ve merkezi noktası eklemek yoluyla meydana gelmektedir. rnek olarak, bir faktörün beş seviyesi kullanıldığında bu seviyeler ($-\alpha$, -1, 0, 1 ve α olarak kodlanmakta $-\alpha$ ve α minimum ve maksimum noktaları, -1, 1 düşük ve yüksek seviyeyi, 0 ise orta seviyeyi ifade etmektedir. Buna ek olarak, Box-Behnken dizaynları, merkezi kompozit tasarımlarından, sadece üç seviye kullanması ve daha az deneme noktası olması yönüyle farklılık göstermektedir (Dündar, 2011). Her bir

faktör için merkez noktadan uzaklık yıldız noktalar için faktöriyel noktaların ötesinde $\pm\alpha$ birim, faktöriyel noktalar için ± 1 birim olmaktadır. α değeri, tasarım ve incelenen faktör sayısı için talep edilen bazı özelliklere bağlı olmaktadır. Merkezi kompozit tasarımın en önemli avantajı, küp noktalar olan ana tasarım noktalarının dışında da deneysel tasarıma imkan tanımasıdır. Buna ilaveten bu noktaların mevcudiyeti merkezi kompozit tasarım ile tasarlanmış bir çalışmaya döndürebilirlik kazandırmaktadır. Bu model genelde bir araştırma esnasında matematiksel olarak doğrusal modellerin yetersiz kaldığı hallerde dizaynda ve ikinci dereceden model denklemlerinin açıklamasında kullanılmaktadır. Merkezi kompozit tasarımın kullanılması durumunda, matematiksel model ikinci dereceden bir polinom formuna dönüşebilmektedir. Dolayısıyla yanıt değerleri ikinci dereceden ve doğrusal modeller vasıtasıyla seçilen faktörlere bağlı olarak hesaplanır (Turan ve Altundoğan, 2011).

Box ve Wilson 3^k faktöriyel tasarımlara alternatif olarak merkezi kompozit tasarımını teklif etmiştir. Önemli istatistiksel özelliklere sahip (döndürülebilirlik ve ortogonallik) merkezi kompozit tasarım, ikinci dereceden bir cevap düzeyi modelinin meydana getirilmesi için en popüler yöntemlerden biridir (Subaşı, 2010; Aygün, 2012).

Merkezi kompozit tasarım üç bölümden meydana gelmektedir:

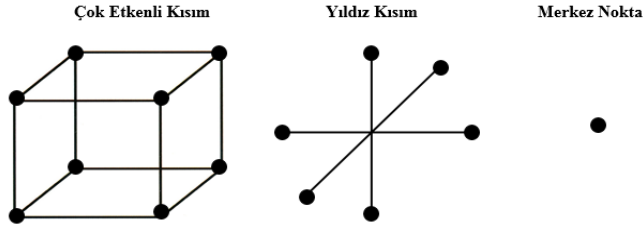
- k faktör sayısı olmak üzere 2^k faktöriyel veya 2^{k-m} kesirli faktöriyel tasarımıdır, burada faktör seviyeleri $-1, +1$ değerleri ile kodlanır. Buna tasarımın faktöriyel parçası denilir.
- n_0 adet merkez noktası ($n_0 \geq 1$).
- Her bir tasarım değişkeninin eksen üzerinde, tasarım merkezine uzaklığı α olan iki yıldız (veya eksen) noktası. Bu kısım eksen parçası veya yıldız parçası olarak da isimlendirilir (Subaşı, 2010; Aygün, 2012).

Merkezi kompozit tasarım kısımları Şekil 1.6'da gösterilmektedir. Burada, toplam tasarım sayısı $N=2^k+2k+n_0$ olmaktadır. Meydana getirilecek olan ikinci dereceden modelin ana etkileri ve birinci dereceden interaksiyon etkileri 2^k denemesinden elde edilirken, merkez noktalar vasıtasıyla sistemin eğriselliği test edilmektedir (Subaşı, 2010; Aygün, 2012).

Merkezi kompozit tasarım metoduyla:

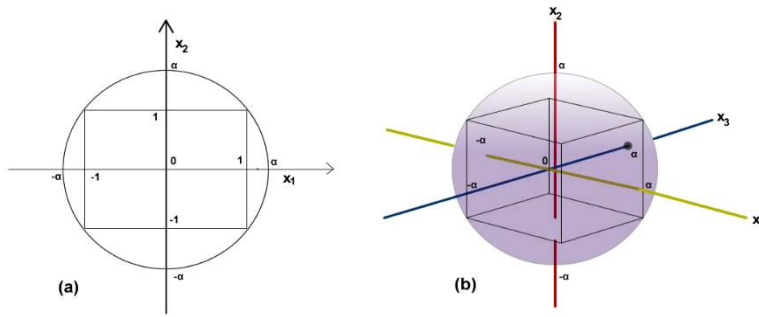
- Faktörlerin doğrusal etkisi incelenebilir.
- Faktörlerin parabolik etkileri ve faktörler arasındaki etkileşim ve karesel ilişki incelenebilir.

- Optimum koşullar tespit edilebilir.
- Deneysel hata olup olmadığı kontrol edilebilir (Oba, 2012).



Şekil 1.6. Merkezi kompozit tasarımının kısımları (Subaşı, 2010; Aygün, 2012)

Aşağıdaki şekillerde iki değişkenli merkezi karmaşık tasarımın (Şekil 1.7 (a)) ve üç değişkenli merkezi kompozit tasarımın (Şekil 1.7 (b)) analitik düzlemde gösterimi verilmektedir.



Şekil 1.7. (a) İki değişkenli merkezi kompozit tasarımının analitik düzlemde gösterimi, (b) üç değişkenli merkezi kompozit tasarımının analitik düzlemde gösterimi (Oba, 2012)

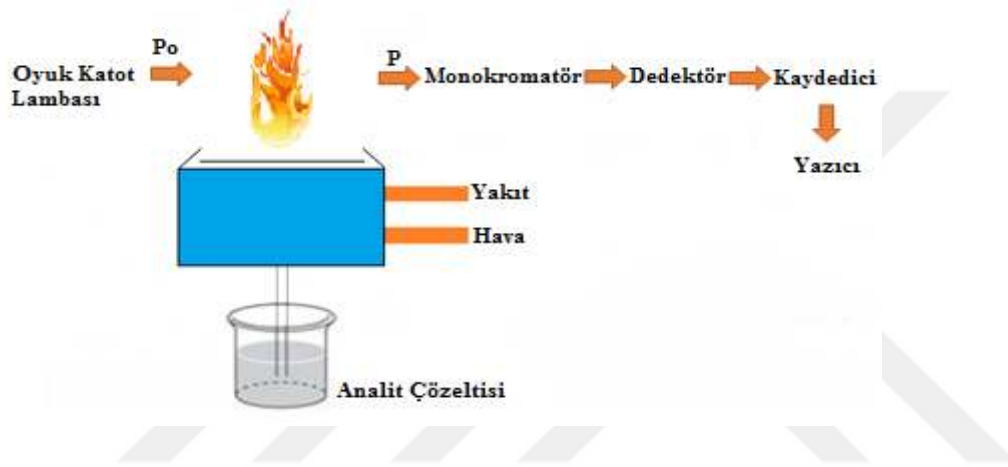
1.5. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

1950'li yıllarda Milatz ve Walsh, analitik amaçlarla ilk atomik absorpsiyon spektrofotometresini (AAS) geliştirmiş ve kullanmışlardır. Yapılan bilimsel çalışmalar sonucu AAS'nin kimyasal analize uygun bir yöntem olduğu bulunmuştur. 1960 yılında ilk ticari AAS cihazı piyasaya sürülmüş ve günümüze kadar değişik marka ve modellerde geliştirilmişlerdir. Bu yöntem, yüksek sıcaklıkta gaz halinde bulunan element atomlarının elektromanyetik ışınları absorplaması ilkesine dayanır. Yöntemde element atomlarının uyarılması sırasında enerji seviyeleri arasındaki geçişler için gereken enerji miktarları, her element için farklıdır ve AAS bu farklılıklardan yararlanır (Çolak, 2013).

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, seçici, basit ve pratik bir yöntemdir. Birçok eser metal analizlerinde, AAS sıklıkla kullanılmaktadır (Alothman ve ark., 2013).

1.5.1. Atomik Absorpsiyon Spektrometresinin Kısımları

Atomik absorpsiyon spektrometleri atomlaştırıcı, monokromatör, ışık kaynağı ve dedektör gibi bileşenlerden oluşmaktadır. Atomik absorpsiyon spektrometresinin bileşenleri Şekil 1.8’de görülmektedir.



Şekil 1.8. Atomik absorpsiyon spektrometresinin bileşenleri (Bahadır, 2015)

1.5.1.1. Işık Kaynakları

Analitik yöntemler atomik absorpsiyonu esas almaktadır. Elektronik geçiş enerjilerinin her elemente özgü ve atomik absorpsiyon çizgilerinin önemli derecede dar olması sebebiyle (0.002–0.005 nm) analitik yöntemler oldukça spesifiktir. Işık kaynağının bant genişliğinin bir absorpsiyon pikinden daha dar olması, analitik sinyal (absorbans) ve derişim arasında doğrusal bir ilişkinin olması için gereklidir (Kaplan, 2008).

Atomik absorpsiyon spektrofotometresinde kullanılan başlıca ışık kaynakları:

- 1) Elektrotsuz boşalım lambaları
- 2) Oyuk katot lambaları
- 3) Sürekli ışık kaynakları
- 4) Yüksek ışımalı lambalar (Ergün, 2009; Şentürk, 2013).

1.5.1.2. Atomlaştırıcılar

Atomik absorpsiyon spektrofotometresinin önemli kısımlarından biri, analit atomlarının oluştuğu ve ışın absoplanmasının gerçekleştiği atomlaştırıcılarıdır. Analizin doğruluğu ve duyarlılığı yüksek derecede atomlaştırma derecesine bağlıdır (Bahadır, 2015). Atomlaştırıcılar 5'e ayrılır:

1. Alevli atomlaştırıcı
2. Alevsiz atomlaştırıcı
3. Hidrür atomlaştırma
4. Akkor boşalımlı atomlaştırma
5. Soğuk-buhar atomlaştırma (Güneri, 2012).

Alevli atomlaştırıcılarda çözelti haline getirilmiş örnek bir kapilerle yanıcı ve yakıcı gaz karışımıyla birlikte aleve püskürtölür. Çözücünün buharlaşma hızı, damlacık büyüklüğu ve çözücünün cinsine bağlıdır. Damlacık halindeki örneğin sis haline gelmesi sonucunda çözücü alevde buharlaşır. Tayin edilen elementin moleküler gazı tuzu halindeyken alevin daha sıcak bölgelerine ulaştığında atomlarına ayrılır. Atomlaştırmada her elemente özđu farklı miktarlarda ve karışımlarda yanıcı ve yakıcı gazlar kullanılır (Lajunen, 1992). Alevde kalma süresi ve alevin yanma hızı da verimi etkileyen diğer faktörlerdir. Yüksek atomlaşma verimi için yanıcı ve yükseltgen gazın karışımı iyi seçilmeli, gaz karışımı atomlaşma verimini düşürecek reaksiyonlar vermemelidir (Mercimek, 2009).

Alevsiz (elektrotermal) atomlaştırıcılar daha hassastır. Çünkü numunenin büyük bir kısmı çok kısa zamanda atom haline getirilir. Bunun sonucu hem optik yol üzerindeki atomların sayısı hem de optik yol üzerindeki kalma süreleri artırılır. Elektrotermal atomlaştırıcılarda mikrolitre düzeyinde numune kullanılır (Cantle, 1982).

1.5.1.3. Monokromatör

Atomik absorpsiyon spektrofotometresinde monokromatör olarak prizmadan yapılmış düzenekler kullanılır. Farklı dalga boylarındaki ışığın prizmaya girişte ve çıkışta farklı miktarlarda kırılması, prizmalarda dalga boyunun seçilmesini sağlar. Prizmanın ışık kaynağına göre döndürölmesiyle çeşitli dalga boyu değerlerine sahip ışık bir aralıktan geçerek madde ile etkileşimi sağlanır. Prizma içinde kırılmaya uğrayan ışık, Cornu tipi

prizmalarda prizmanın öteki yüzünden çıkarak çeşitli dalga boylarına dağılır. Littrow prizmasının ise bir yüzü alüminyum aynayla kaplı olduğundan prizmaya giren ışık aynı yüzeyden çeşitli dalga boylarına ayrılarak prizmayı terkeder (İnce, 2005).

1.5.1.4. Dedektör

Atomik absorpsiyon spektrofotometresinde ışın şiddetini elektrik enerjisine çevirebilen aletlere dedektör denir. Bu sistemlerde dedektör olarak fotoçoğaltıcılar kullanılır. Fotoçoğaltıcı tüplerde fotokatot yüzeyinden foton çarpması ile fırlatılan elektronlar dinot denilen yüzeylere doğru elektriksel alanda hızlandırılır ve dinoda çarpan her elektron, dinot yüzeyinden 3-5 elektron daha koparır. Böylece sayıları giderek artan elektronlar en sonunda bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir (İnce, 2005). Fotoçoğaltıcılar ultraviyole ve görünür ışık (UV-GB) ve yakın-infrared spektroskopisi (NIR) bölgesinde duyarlıdır. Fotoçoğaltıcılarda görünür bölge için ise Se, UV-GB kısa dalga boylarında Cs-Sb katot olarak kullanılır. Kuartz pencereler de dedektör olarak kullanılmaya başlanmıştır (Welz ve Sperling, 1999).

1.5.1.5. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Meydana Gelen Girişimler

Bir analitin sinyalinde sistematik bir sapma sonucunda hatalı sonuçların çıkmasına neden olan etkiler girişim olarak ifade edilir. Girişimler, kaynaklarına göre fiziksel, kimyasal, zemin, iyonlaşma ve spektral girişimler olarak sınıflandırılır. Zemin ve spektral girişimler doğrudan sinyali etkilerken, kimyasal ve fiziksel girişimler temel haldeki atom sayısını etkiler. Girişimler negatif veya pozitif hataya yol açabilir (Şentürk, 2013).

1.5.1.5.1. Fiziksel Girişimler

Fiziksel girişimler, analizi yapılacak maddenin ve referans maddesinin viskozite, yüzey gerilimi, yoğunluk gibi fiziksel özelliklerinin farklılığından dolayı oluşur. Çözeltilerin sisleşme verimi; yoğunluk, viskozite ve yüzey gerilimine bağlıdır. Bu özellik damlacık boyutunu belirler. Eğer bir çözeltinin viskozitesi ve özgül kütlesi fazla miktarda tuz eklenmesiyle artarsa daha az örnek emilir ve damlacıklar büyür. Dolayısıyla bunun doğal bir sonucu olarak da alev ulaşılan örnek miktarı azalır (Tanrıverdi, 2012). Fiziksel

girişimler örnek ve standardın fiziksel özelliklerinin (viskozite, yüzey gerilimi vb) birbirine benzetilmesiyle giderilebilir.

1.5.1.5.2. Spektral Girişimler

Atomlaştırıcıdaki iki elementin veya bir element ile çok atomlu bir türün aynı dalga boyundaki ışığı absorplaması veya ışığı yayması sonucu spektral girişimler oluşur. Analizi yapılacak analitin absorpsiyon hatları ile örnekte bulunan başka bir elementin absorpsiyon hatlarının çakışması sonucu meydana gelen girişimlerdir. Bu durumun önlenmesi için zeeman etkisi ile zemin düzeltilmesi ya da analitin ikinci bir hattı varsa o hatta ölçüm yapılır (Skoog ve ark., 1998).

1.5.1.5.3. Kimyasal Girişimler

Elementin nicel olarak atomlaşmasını önleyen herhangi bir bileşik oluşumu, kimyasal girişim olarak tanımlanır. Kimyasal girişimler, zor eriyen veya buharlaşan tuz oluşumu ya da oluşan moleküllerin tam olarak ayrışmaması veya serbest atomların ortamda bulunan diğer radikal veya atomlarla tepkimeye girerek absorpsiyon için uygunluklarını kaybetmesi sonucunda ortaya çıkar. Birçok kimyasal girişim, kimyasal çevrenin değiştirilmesi ya da alev sıcaklığının yükseltilmesi ile giderilir. Bu yöntemler istenmiyorsa ya da pratik değilse aşağıda belirtilen yöntemler uygulanabilir;

- Standart çözeltiye, girişim yapan iyon eklenerek standart çözeltiler ve örnek ortamı birbirine benzetilir,
- Örnek çözeltisine aşırı eklenen başka bir katyonla, girişim yapan anyon bağlanır,
- Ayırma metotlarının uygulanmasıyla, tayin edilecek element numune ortamından ayrılır,
- Standart ekleme metodu uygulanır.

Alevin özellikleri sebebiyle ortaya çıkan bazı kimyasal girişimler, indirgen ve inert bir ortama sahip olmalarından dolayı alevsiz atomlaştırıcılarda meydana gelmezler (Aydın, 2009).

1.5.1.5.4. İyonlaşma Girişimleri

Bazı elementlerin kolaylıkla iyonlaşması nedeniyle temel düzeyde bulunan atom sayısında azalma meydana gelebilir. Bundan dolayı analizlerde uygulanan sıcaklıkta atomların iyonlaşması istenmez. İyonlaşma girişimleri önlenmesi için örnek ve standartlara daha kolay iyonlaşabilen başka bir element ilave edilebilir ya da atomlaşma sıcaklığı düşürülebilir. Bunun için de ortama iyonlaşma potansiyelleri düşük ve kolaylıkla iyonlaşabilen metaller (stronsiyum, sodyum, rubidyum, potasyum, lityum ve sezyum gibi) eklenir ve ilave edilen metalin iyonlaşması sonucunda ortaya çıkan elektronlar analiz edilecek metalin iyonlaşmasını engeller (Skoog ve ark., 1998).

1.5.1.5.5. Zemin Girişimleri

Zemin girişimleri, örnek çözeltisinde çok atomlu türlerin ışığı absorplaması sonucu elde edilen değer olarak ifade edilir. Analiz elementinin ölçümü yapılan dalga boyunda atomlaştırıcıda bulunan molekül ve radikallerin, oyuk katot lambasından yayılan ışığın bir kısmını absorptamaları sonucunda meydana gelir. Bu şekilde gerçekleştirilen absorptans okumaları elde edilen değerlerde artışlara dolayısıyla analizlerin yanlış yapılmasına neden olur. Oksit molekülleri veya hidroksit radikalleri, matrikste bulunan element ile alev gazının etkileşimi sonucu oluşabilir. Moleküler absorpsiyon girişimi, incelenen element ile molekülün aynı dalga boyunda absorpsiyonu sonucu görülür. Parçacıkların difüzyonu yüksek tuz derişimli örnekler kullanılması durumunda ortaya çıkar. Bu duruma grafit fırın atomik absorpsiyon spektrofotometresinde (GFAAS) daha çok rastlanılır. Zemin düzeltme, bu nedenlerden dolayı GFAAS ile yapılan tayinlerde daha çok gereklidir ve bu girişimi önlemek için, gaz oranlarına ve dalga boyu seçimine dikkat edilmelidir (Weldon, 1999).

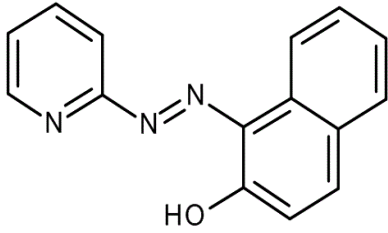
2. MATERİYAL VE METOT

2.1. Materyal

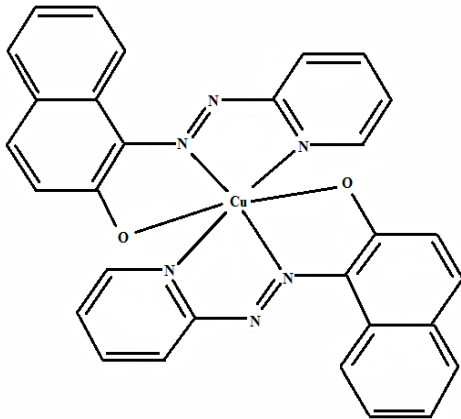
2.1.1. Kullanılan Reaktifler

Çalışmada analitik saflıkta sodyum hidroksit (Sigma Aldrich, 1310-73-2), hidroklorik asit (Sigma Aldrich, 7647-01-0), PAN (ROTH, KK12), kloroform (VWR, 83627), etanol (Sigma Aldrich, 64-17-5), Cu standardı (Sigma Aldrich, 38996), nitrik asit (Sigma Aldrich, 7697-37-2) kullanıldı.

Şekil 2.1’de kompleksleştirici PAN, Şekil 2.2’de Cu’nun PAN ile oluşturduğu kompleksin kimyasal formülü gösterilmiştir.



Şekil 2.1. 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) kimyasal formülü (Kıranarlıgiller, 2014)



Şekil 2.2. Cu-1-(2-piridilazo)-2-naftol kompleksinin kimyasal formülü (Kıranarlıgiller, 2014)

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Perkin Elmer Analyst 800)
- Vorteks (Jeio Tech, VM-96B)
- Analitik terazi (RADWAG AS220/C/2)
- Ultra saf su cihazı (Milipore Direct Q3)
- pH metre (Thermo Scientific, Orion3 Star)
- Santrifüj (Centurion Scientific K3 Series)

2.2. Metot

2.2.1. Deneyin Yapılışı

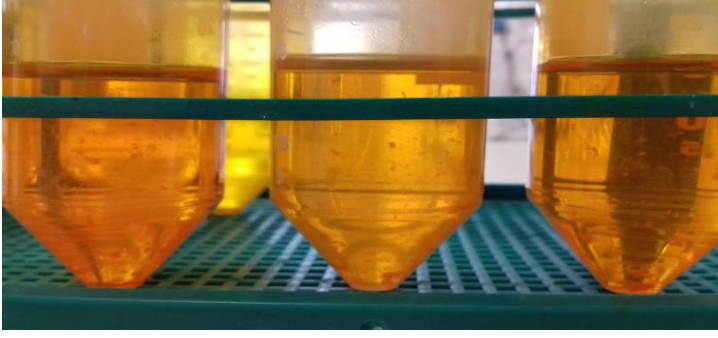
Bu çalışmada, eser düzeydeki bakırın FAAS ile tayini öncesi ortamdan ayrılması ve zenginleştirilmesi amacıyla DSSME yöntemi kullanıldı. Ekstraksiyon çözücüsü olarak kloroform, dispersif çözücü olarak da etanol kullanıldı. Cu^{2+} iyonlarının ekstraksiyon öncesi 1-(2-piridilazo)-2-naftol ile kompleksi oluşturuldu. Bu kompleksin kloroform ile etkileşimini arttırmak yani kloroformun su fazına dağılmasını sağlamak için karıştırma işlemi vorteks kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstraksiyon işlemi sonunda ekstraksiyon fazındaki Cu^{2+} derişimi FAAS ile belirlendi.

Bakır iyonlarının ayrılması, zenginleştirilmesi ve analizi için öncelikle ön denemeler gerçekleştirildi. Bu veriler ışığında deneysel parametrelerin optimizasyonu için sınırlar belirlendi. Bu amaçla 5 mg L⁻¹'lik Cu^{2+} 'dan 0.25 mL alınarak üzerine 9.25 mL'lik saf su ilavesi yapıldı. Farklı derişimdeki 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl kullanılarak pH ayarlandı. Çözeltiye 0.5 mL 1.0×10⁻² M PAN ilave edildi. Hazırlanmış olan kloroform ve etanol karışımından farklı miktarlarda eklenerek vortekslendikten sonra ekstraksiyon fazı ile su fazını birbirinden ayırmak için bu karışım 3000 rpm'de santrifüjlendi. Alttaki ekstraksiyon sıvısı bir pipet yardımı ile 2 mL'lik deney tüplerine alınıp son hacmi etanol ile 500 µL'ye tamamlandı. Çözeltideki bakır derişimi FAAS ile belirlendi. Ekstraksiyon çözücüsü miktarı, pH, dispersif çözücü hacmi, vorteks süresi ve santrifüj süresi gibi deneysel parametreler CYM deneysel çalışma programında belirlenen değerler ile gerçekleştirildi (Tablo 2.1). Bu çalışmalar sırasında farklı pH'lardaki mikroekstraksiyon

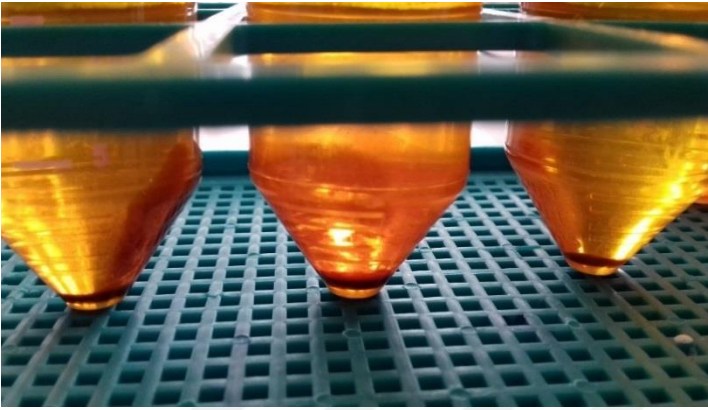
işlemi sonrası elde edilen farklı fazların ve bu fazların görünümü aşağıda sunulmuştur (Resim 2.1, Resim 2.2 ve Resim 2.3).

Tablo 2.1. Optimizasyonda kullanılan deneysel tasarım

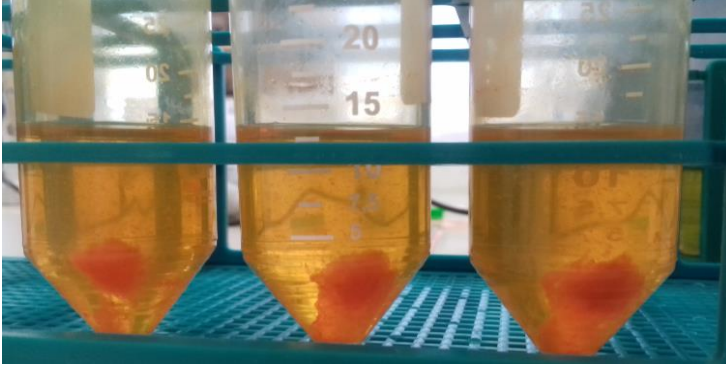
Deneme sırası	pH	Ekstraksiyon çözücü hacmi (µL)	Dispersif çözücü hacmi (mL)	Vorteks süresi (dk)	Santrifüj süresi (dk)
1	8	100	0.1	1	10
2	2	300	3	1	2
3	2	300	3	1	10
4	2	300	0.1	1	2
5	2	100	3	1	2
6	5	200	1.55	4	6
7	2	100	0.1	1	10
8	8	300	0.1	7	2
9	2	100	0.1	1	2
10	2	100	3	7	2
11	8	300	3	7	2
12	8	100	3	1	2
13	2	300	0.1	7	2
14	8	300	3	1	10
15	2	300	3	7	2
16	5	200	1.55	4	6
17	2	100	0.1	7	10
18	8	100	3	1	10
19	5	200	1.55	4	2
20	5	200	1.55	4	6
21	8	100	0.1	7	10
22	2	100	0.1	7	2
23	5	200	1.55	7	6
24	5	200	1.55	4	6
25	8	200	1.55	4	6
26	5	200	1.55	4	6
27	8	300	0.1	1	2
28	2	300	0.1	7	10
29	5	200	1.55	4	6
30	8	100	3	7	10
31	2	300	3	7	10
32	5	200	3	4	6
33	8	300	3	1	2
34	8	300	3	7	10
35	5	200	1.55	4	10
36	8	100	0.1	1	2
37	8	300	0.1	7	10
38	2	100	3	7	10
39	2	100	3	1	10
40	8	300	0.1	1	10
41	5	200	1.55	4	6
42	2	300	0.1	1	10
43	5	200	1.55	4	6
44	8	100	0.1	7	2
45	5	200	1.55	1	6
46	5	100	1.55	4	6
47	5	200	0.1	4	6
48	8	100	3	7	2
49	5	300	1.55	4	6
50	2	200	1.55	4	6



Resim 2.1. pH 2’de ekstraksiyon işlemi sonrası oluşan faz ayrımı



Resim 2.2. pH 5’te ekstraksiyon işlemi sonrası oluşan faz ayrımı



Resim 2.3. pH 8’de ekstraksiyon işlemi sonrası oluşan faz ayrımı

Cevap yüzey metodu kullanılarak optimize edilen değişkenler ve bu şekilde geliştirilen model Tunceli ilinde satışa sunulan 20 farklı kuru çay örneğine ve standart referans maddeye (NIST SRM 1547 Peach leaves) uygulandı.

2.2.2. Deneysel Dizayn ve İstatistiksel Analiz

Araştırmada gerçekleştirilen kuru çay örneklerinde bakır tayini için seçilen parametrelerin optimizasyonu CYM kullanılarak yapıldı. Cevaplar ile değişkenler arasındaki matematiksel modellerin geliştirilmesi için gerekli olan deneysel veriler MKT deneme planı izlenerek yapıldı.

Deneysel tasarımda kullanılacak olan parametreler (bağımsız değişkenler) ve bu parametrelerin seviyeleri ön denemeler sonucunda tespit edildi. Deneysel tasarımda kullanılan bağımsız değişkenler ve bunların seviyeleri Tablo 2.2’de gösterilmiştir. Çalışmada, 50 deneysel noktadan (8 merkez nokta) ve 5 değişken ile oluşturulan ‘merkezi tümleşik yüzey tasarım’ istatistiksel dizaynı ($\alpha=1$) kullanıldı. Design expert 10.0 programı kullanılarak oluşturulan deneme planı Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Bakırın optimizasyonu için değişkenler ve seviyeleri

Bağımsız değişkenler	Kodlanmış seviyeler		
	-1	0	+1
<i>A-pH</i>	2	5	8
<i>B-Ekstraksiyon çözücüsü hacmi (µL)</i>	100	200	300
<i>C-Dispersif çözücü hacmi (mL)</i>	0.1	1.55	3
<i>D-Vorteks süresi (dk)</i>	1	4	7
<i>E-Santrifüj süresi (dk)</i>	2	6	10

Bakırın optimizasyonu amacıyla kullanılacak olan pH, ekstraksiyon çözücüsü hacmi, dispersif çözücü hacmi, vorteks süresi ve santrifüj süresi (bağımsız değişken) parametrelerine cevap olarak bakır değerlerindeki değişimler saptandı.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, deney sonucuna etki eden bağımsız değişkenlerin birbirleriyle olan etkileşimleri MKT kullanılarak istatistiksel dizayn uygulaması ile belirlendi. Dizayn sonuçlarına göre pH, ekstraksiyon çözücüsü hacmi, dispersif çözücü hacmi, vorteksleme süresi ve santrifüjleme süresinin etkin parametreler olduğu belirlendi. Optimum şartları belirlemek amacıyla 50 deney noktasından oluşan tasarım oluşturuldu ve her nokta 3'er tekrar olarak çalışıldı. Ayrıca, incelenen değişkenlerin, sonuca ve birbirlerine olan etkileri de incelendi. Merkezi kompozit tasarım kullanılarak incelenen parametrelerin aralıkları ve elde edilen Cu değerleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tasarım, 8 merkez nokta olmak üzere toplam 50 deneysel noktadan oluşmaktadır. Design Expert 10.0.5 yazılımıyla deney sonuçları istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve ANOVA sonuçları Tablo 3.2'de sunulmuştur. F-testiyle, elde edilen lineer eşitliğin istatistiksel anlamı kontrol edilerek kuadratik modelin varyans analizi Tablo 3.2'de verilmiştir. Modelde 'Prob>F' (<0.0001) olarak ifade edilen t-testi için gözlenen önem değerinin 0.05'ten küçük olması, sonuçların anlamlı olabilmesi için gerekiyken, 0.10'den büyük olduğu durumlarda ise cevap değişkenleri için model anlamsız olmaktadır. Çok düşük 'Prob>F' (<0.0001) değeri ve F-değerinden anlaşıldığı üzere model anlamlıdır.

Tablo 3.1. Deneysel tasarımın bileşenleri

Deney Sıra No	A pH	B Ekstraksiyon çözücü hacmi (µL)	C Dispersif çözücü hacmi (mL)	D Vorteks süresi (dk)	E Santrifüj süresi (dk)	Bakır miktarı (mg L ⁻¹)
1	8	100	0.1	1	10	0.16
2	2	300	3	1	2	0.37
3	2	300	3	1	10	0.39
4	2	300	0.1	1	2	0.67
5	2	100	3	1	2	0
6	5	200	1.55	4	6	2.4
7	2	100	0.1	1	10	0
8	8	300	0.1	7	2	1.29
9	2	100	0.1	1	2	0.09
10	2	100	3	7	2	0
11	8	300	3	7	2	0.48
12	8	100	3	1	2	0.1
13	2	300	0.1	7	2	0.32
14	8	300	3	1	10	1.03
15	2	300	3	7	2	0.32
16	5	200	1.55	4	6	2.4
17	2	100	0.1	7	10	0
18	8	100	3	1	10	0
19	5	200	1.55	4	2	1.39
20	5	200	1.55	4	6	1.95
21	8	100	0.1	7	10	0
22	2	100	0.1	7	2	0
23	5	200	1.55	7	6	2.45
24	5	200	1.55	4	6	2.4
25	8	200	1.55	4	6	1.13
26	5	200	1.55	4	6	2.4
27	8	300	0.1	1	2	1.79
28	2	300	0.1	7	10	0.38
29	5	200	1.55	4	6	2.4
30	8	100	3	7	10	0
31	2	300	3	7	10	0.51
32	5	200	3	4	6	1.32
33	8	300	3	1	2	0.71
34	8	300	3	7	10	1.3
35	5	200	1.55	4	10	1.4
36	8	100	0.1	1	2	0.27
37	8	300	0.1	7	10	1.83
38	2	100	3	7	10	0
39	2	100	3	1	10	0
40	8	300	0.1	1	10	1.9
41	5	200	1.55	4	6	2.4
42	2	300	0.1	1	10	0.41
43	5	200	1.55	4	6	2.4
44	8	100	0.1	7	2	0.05
45	5	200	1.55	1	6	2.46
46	5	100	1.55	4	6	1.4
47	5	200	0.1	4	6	1.53
48	8	100	3	7	2	0
49	5	300	1.55	4	6	2.31
50	2	200	1.55	4	6	0.73

Tablo 3.2. Cevap yüzey metodunda kuadratik model için tek yönlü varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Ortalama kare	F-değeri	P-değeri P>F	Anlamlılık
Model	39.91	20	2.00	41.38	< 0.0001	Önemli
A-pH	1.61	1	1.61	33.39	< 0.0001	
B-Ekstraksiyon çözücü hacmi	6.09	1	6.09	126.27	< 0.0001	
C-Dispersif Çözücü hacmi	0.63	1	0.63	12.96	0.0012	
D-Vorteks süresi	0.028	1	0.028	0.57	0.4549	
E-Santrifüj süresi	0.030	1	0.030	0.62	0.4367	
AB	1.13	1	1.13	23.48	< 0.0001	
AC	0.27	1	0.27	5.60	0.0249	
AD	0.035	1	0.035	0.73	0.4005	
AE	0.13	1	0.13	2.75	0.1081	
BC	0.37	1	0.37	7.76	0.0093	Önemli değil
BD	1.013E-003	1	1.013E-003	0.021	0.8858	
BE	0.090	1	0.090	1.87	0.1817	
CD	0.030	1	0.030	0.62	0.4366	
CE	0.070	1	0.070	1.46	0.2370	
DE	0.047	1	0.047	0.96	0.3342	
A ²	2.58	1	2.58	53.49	< 0.0001	
B ²	0.023	1	0.023	0.48	0.4958	
C ²	0.69	1	0.69	14.21	0.0007	
D ²	0.63	1	0.63	13.01	0.0012	
E ²	0.77	1	0.77	15.87	0.0004	
Uyum eksikliği	1.22	22	0.056	2.19	0.1445	Önemli değil
Saf hata	0.18	7	0.025			
R ²	0.94					
Ayarlanmış R ²	0.90					
Tahmini R ²	0.96					

*p<0.01 çok önemli; 0.01<p<0.05 önemli; p>0.05 önemsiz

R²'nin değerine bakılarak, modelin uyum derecesi çoklu korelasyon katsayısı belirlendi. Önerilen bu kuadratik modelin cevap değişkenlerindeki değişimleri %94 gibi yüksek bir oranda tanımlayabildiği görüldü. Modele katkısı olmayan değişkenlerin daha gerçekçi düzeltilmiş ve modelin açıklayıcılığını daha iyi tanımlayan R² terimi %90 olarak elde edildi. Yeterli kesinlik (adequate precision) değeri, sinyal gürültü oranını temsil etmektedir ve bu değer 4'ün üstünde olması beklenir. Bu çalışmada, sinyal gürültü oranı 20.4 olarak belirlendi. Modelde cevap olarak kullanılan bakır değerleri deneysel veriyi hangi ölçüde karşıladığı R² (regresyon katsayısı), Adj-R² (düzeltilmiş regresyon katsayısı) ve C.V. (varyasyon katsayısı) hesaplanarak belirlendi. Tablo 3.3'te modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistik değerler verilmiştir. ANOVA analizi sonucunda elde edilen F-değeri önerilen modelin önemli olduğunu gösterdi. "p" değeri 0.05'ten küçük olan parametreler, istatistiksel olarak önemlidir. Ekstraksiyon çözücüsü hacmi, pH, dispersif çözücü hacmi, vorteks süresi ve santrifüj süresinin adsorpsiyon prosesinde önemli bir etkiye sahip olduğu modelde açıkça görülmektedir.

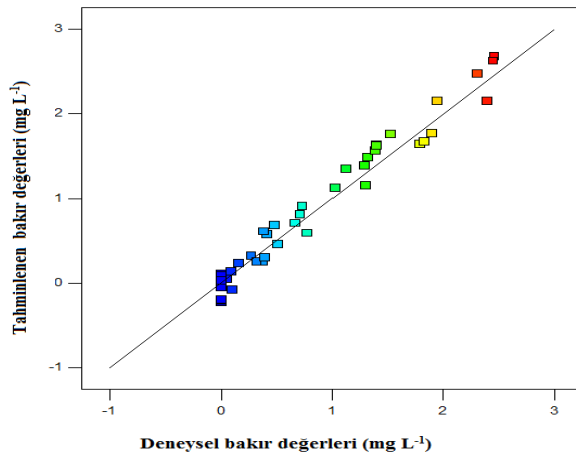
Tablo 3.3. Modelin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler

	Cu²⁺
R²	0.9661
Adj-R²	0.9428
Pred-R²	0.9034
PRESS	3.99
C.V.%	22.10
Adeq Precision	20.407

Uyumu istatistiksel olarak onaylanan modellerin istenilen cevaplar için matematiksel ifadeleri aşağıdaki denklemlerde gösterilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{Cu}^{2+} = & +2.15 + 0.22*A + 0.42*B - 0.14*C - 0.029*D + 0.030*E + 0.19*AB - 0.092*AC - \\ & 0.033*AD + 0.064*AE - 0.11*BC + 5.625E- \\ & 003*BD + 0.053*BE + 0.031*CD + 0.047*CE + 0.038*DE - 1.02*A^2 - 0.096*B^2 - \\ & 0.53*C^2 + 0.50*D^2 - 0.56*E^2 \end{aligned} \quad (1)$$

Bakır değeri için regresyon analizi sonucunda elde edilen birleşik polinimiyal model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 1’de verilmiştir (p <0.01). Eşitlik 1’den tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki uyum Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Kuru çay örneklerinin bakır değerleri için model tahminlerinin deneysel verilerle uyumlu olduğu belirlendi.

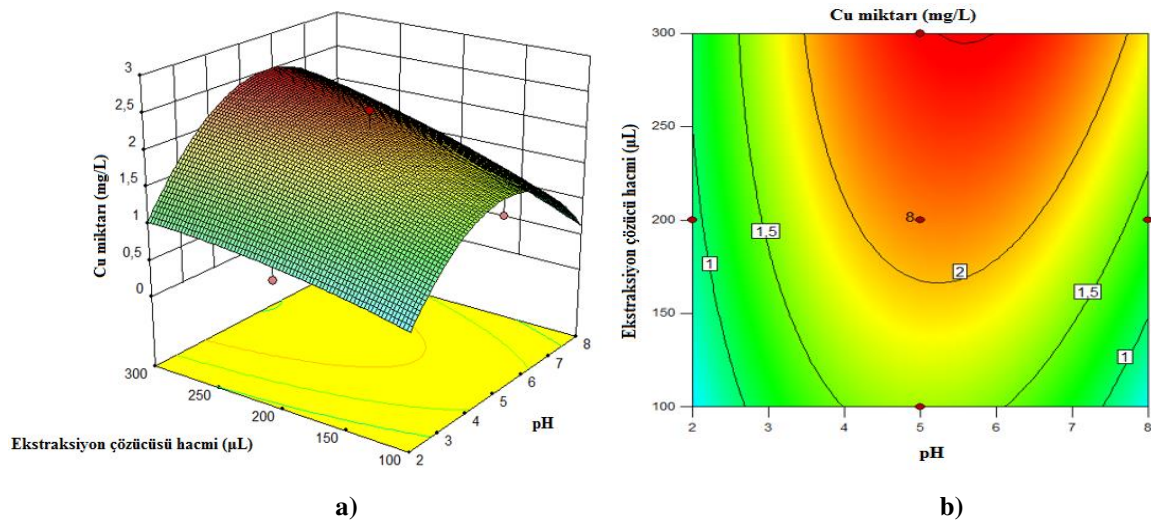


Şekil 3.1. Cu²⁺ miktarı için modelden tahminlenen değerlere karşı deneysel veri değerleri

Bakır verimi üzerine pH’ın, ekstraksiyon çözücüsü hacminin ve dispersif çözücü hacminin etkisinin istatistiki olarak çok önemli (p<0.01) olduğu tespit edildi. Bakır verimi

üzerine vorteks süresi ile santrifüj süresinin istatistiki olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) belirlendi. Ayrıca ekstraksiyon çözücüsü hacmi, pH ve dispersif çözücü hacmi değişkenlerinin model için önemli olduğu bu parametrelerde meydana gelecek değişimin bakır verimini önemli oranda değiştireceği tespit edildi. pH ve ekstraksiyon çözücüsü hacmi arasındaki etkileşimin istatistiki olarak çok önemli ($p<0.01$) olduğu, pH ile dispersif çözücü hacmi arasındaki etkileşimin ise istatistiki olarak önemli ($0.01<p<0.05$) olduğu belirlendi. pH-vorteks süresi ve pH-santrifüj süresi arasındaki etkileşimlerin istatistiki olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) belirlendi. Ekstraksiyon çözücüsü hacmi ile dispersif çözücü hacmi arasındaki etkileşimin istatistiki olarak çok önemli ($p<0.01$) olduğu ekstraksiyon çözücüsü hacmi-vorteks süresi ve ekstraksiyon çözücüsü hacmi-santrifüj süresi arasındaki etkileşimlerin istatistiki olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) belirlendi. Ayrıca dispersif çözücü hacmi-vorteks süresi ve dispersif çözücü hacmi-santrifüj süresi arasındaki etkileşimlerin istatistiki olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) tespit edildi. Vorteks süresi ile santrifüj süresi arasındaki etkileşimlerin istatistiki olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) ANOVA tablosunda sunulan bilgilerden elde edildi.

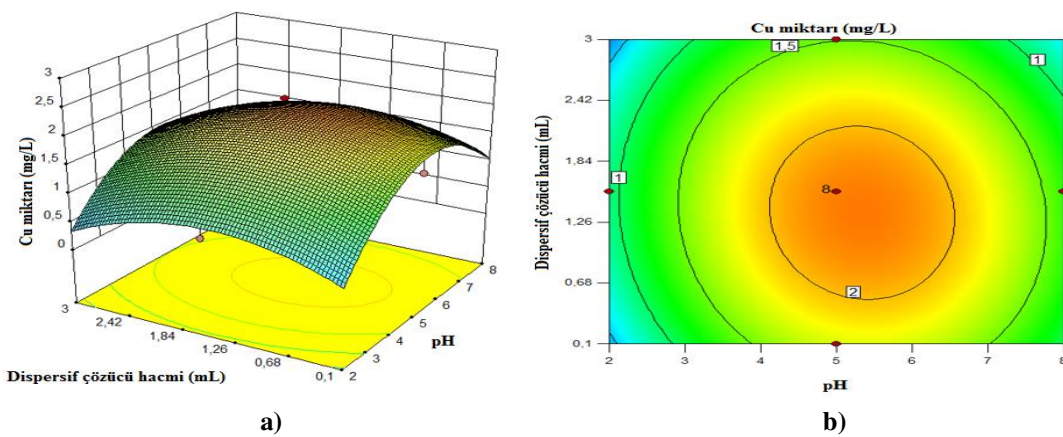
Şekil 3.2’de verilen üç boyutlu cevap yüzey ve iki boyutlu kontur grafikleri incelendiğinde, ideal pH’nın ve ekstraksiyon çözücüsü hacmi artıkça Cu^{2+} miktarının da buna bağlı olarak arttığı görüldü.



Şekil 3.2. Ekstraksiyon çözücü hacminin ve pH’nın Cu^{2+} miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafiği b) Kontur grafiği

Kartal (2012), ekstraksiyon çözücü seçiminin, DSSME yönteminin optimizasyonunda incelenen en önemli değişkenlerden biri olduğunu rapor etmiştir. Ekstraksiyon çözücüsü olarak sudan daha yüksek ekstraksiyon kapasitesine ve yüksek yoğunluğa sahip uygun sıvılar seçmiştir. Ekstraksiyon çözücüsü olarak halojenli hidrokarbonlar, klorobenzen, kloroform, karbon tetraklorür ve tetrakloroetilen kullanmıştır.

Altun (2013), yaptığı çalışmada eser düzeydeki Co^{2+} ve Cu^{2+} 'nın seçimli ekstraksiyonu ve tayini için DSSME yöntemini kullanmıştır. Analitlerini, mikro örneklemeli injeksiyon sistemli FAAS ile tayin etmiştir. Çalışmada DSSME'yi etkileyen ana değişkenler olarak ekstraksiyon çözücü türü ve hacmi, örnek çözeltisinin pH'ı, dispersif çözücü türünü ve hacimleri, ligand olarak kullanılan ditizon miktarını optimize etmiştir. Optimum koşullarında, ekstraksiyon çözücüsünü 250 μL CHCl_3 , örnek hacmini 5 mL, dispersif çözücüyü 1 mL aseton, ligadı 0.05 mg ditizon olarak belirlemiştir. Bu şartlar altında kantitatif geri kazanım değerini elde etmiştir. Deriştirme faktörünü 20 olarak bulmuştur. Co^{2+} ve Cu^{2+} DSSME için matriks iyon etkilerini incelemiştir. Optimizasyon sağlandıktan sonra, yöntemi katı örnek olarak kurutulmuş nane örneklerine ve çeşitli su örneklerine uygulamıştır. Yöntemin doğruluğunu endüstriyel atık su standart referans maddesi (BCR 715) ile kontrol etmiştir. Ortalama geri kazanım değerleri %99.1–100.2 aralığında değişirken bağıl standart sapma değeri %1.0–0.9 aralığında olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada DSSME-AAS gözlenebilirlik sınırları Co^{2+} ve Cu^{2+} için sırasıyla 1.23 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve 2.48 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.3. Dispersif çözücü hacmi ve pH'ın Cu^{2+} miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafiği b) Kontur grafiği

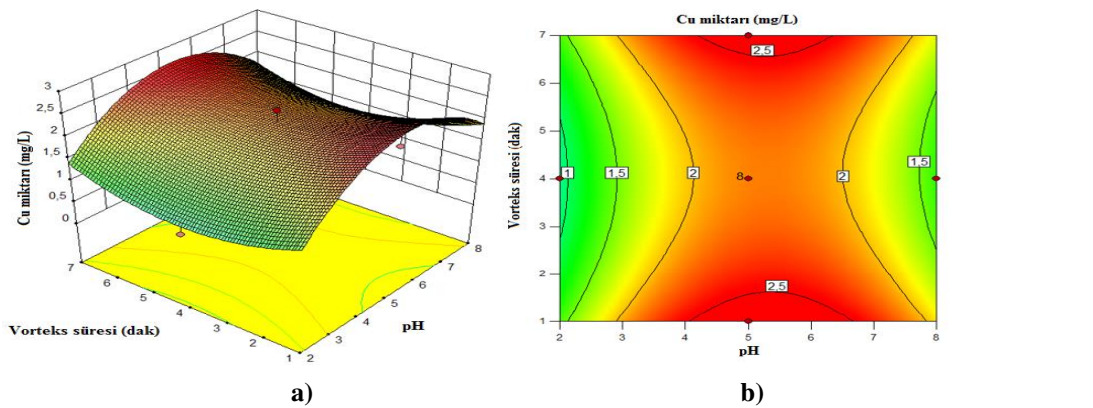
Şekil 3.3'te verilen üç boyutlu cevap yüzey ve iki boyutlu kontur grafikleri incelendiğinde maksimum Cu^{2+} miktarı için pH'ın 5 ve dispersif çözücü hacminin 1.56 mL

olduğu, artan pH ve dispersif çözücü hacmine bağlı olarak Cu miktarının azaldığı belirlendi.

Zang ve ark. (2009), DSSME yönteminde analitin bazik veya asidik karakterde olması halinde ekstraksiyon verimini etkilemede pH'ın önemli bir faktör olduğunu tespit etmişlerdir. Sulu fazın iyonik şiddeti analitlerin ekstraksiyon verimini etkilemiştir.

Kaya (2014), yeni bir yöntem olan YKODME mikroekstraksiyon yöntemini su örneklerinde eser miktardaki civa iyonlarının tayini için kullanmıştır. Hg^{2+} iyonunu FAAS ile tayin etmiştir. Hg^{2+} iyonları, karıştırma hızı, sıcaklık ve uygun pH'ın sağlandığı ortamda KI'den gelen $[I]^-$ iyonu ile $[HgI_4]^{2-}$ kompleksini oluşturarak ekstrakte edilmiş kristalviyole (CV) içeren 1-dodekanol tarafından ekstrakte edilmiştir. Organik çözücünün katılması için buzdolabına konulmuş ve daha sonra metanol ile katılaştırılmış damla seyreltilmiştir. Bu çalışmada optimum koşullar; örnek hacmi 100 mL, pH 4, ekstraksiyon çözücü miktarı 100 μ L, sıcaklık 26 ± 3 °C, ekstraksiyon süresi 45 dakika, KI derişimi 0.2 mol L^{-1} , karıştırma hızı 750 rpm, CV miktarı %0.2 (a/h), son hacim ise 300 μ L olarak bulunmuştur. Bu optimum koşullar altında tayin edilebilecek en düşük derişim 0.089 mg L^{-1} , gözlenebilme sınırı 0.027 mg L^{-1} ve zenginleştirme faktörü 73, % bağıl standart sapma ise 2.4 olarak bulunmuştur. Çalışmada YKODME yönteminin uygulanabilirliğini ve doğruluğunu tespit etmek amacıyla yöntem gerçek ve sertifikalı su örneklerine uygulanmıştır.

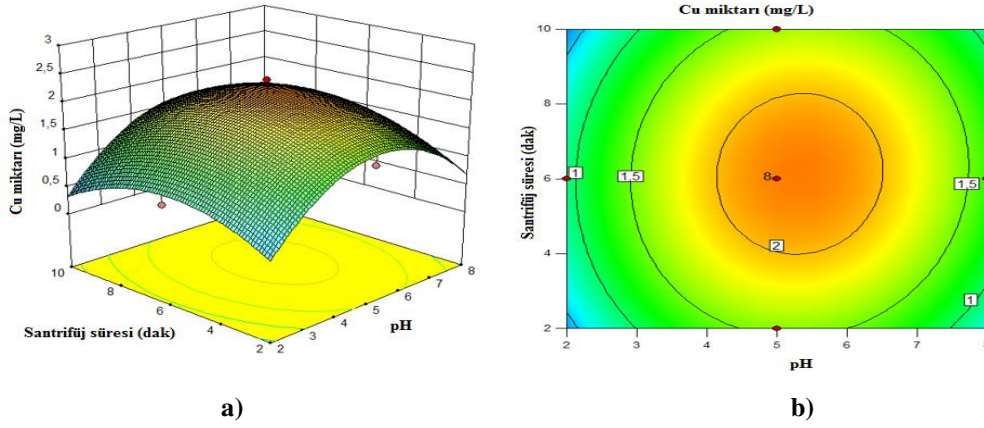
Şekil 3.4'te verilen üç boyutlu cevap yüzey ve iki boyutlu kontur grafikleri incelendiğinde, Cu^{2+} miktarı için ideal pH olan 5'te, minimum bakır düzeyi 4 dakikalık vorteks süresinde iken hem 7. dakikaya doğru hem de 1. dakikaya doğru vorteks süresi değişimiyle Cu^{2+} miktarının arttığı gözlemlendi.



Şekil 3.4. Vorteks süresi ve pH'ın Cu^{2+} miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafiği b) Kontur grafiği

Çıtak (2012), Cu^{2+} ve Pd^{2+} iyonlarının su örneklerinde tayini için DSSME esasına dayanan iki farklı zenginleştirme metodu geliştirmiştir. İlk olarak, Cu^{2+} eser miktarının tayini için DSSME ve mikro örnek verici sistem destekli FAAS kombinasyonu ile yeni bir metod geliştirmiştir. Çalışmada, 1-nitroso-2-naftol şelatlayıcı madde, kloroform ve etanol'de ekstraksiyon ve dispersif çözücüler olarak seçilmiştir. Ekstraksiyon ve dispersif çözücüsünün türü ve hacmi, örneğin pH'sı, ligand konsantrasyonu, matriks iyonları gibi ekstraksiyon verimini etkileyen bazı parametreleri araştırmıştır. Çalışmada optimum şartlar altında zenginleştirme faktörü ve gözlenebilirlik sınırı sırasıyla 70 ve $0.95 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bağlı standart sapmayı %1.9 olarak hesaplamıştır. Yöntemin doğruluğu standart referans madde (NRCC-SLRS-4 Irmak suyu) analiziyle gerçekleştirilmiştir. Bağlı hata %-3.31 olarak bulunmuştur. Geliştirilen zenginleştirme yöntemini pet şişe içme suyu örneklerine başarılı bir şekilde uygulamıştır. Yine çeşitli su örneklerinde Pd^{2+} 'nin ayırma ve zenginleştirilmesi için yeni bir ultrasonik destekli iyonik sıvı DSSME yöntemi geliştirilmiştir. Pd^{2+} konsantrasyonlarının tayini mikro örnek verici sistemi destekli FAAS ile yapılmıştır. 1-feniltiyosemikarbazit (PTC) hidrofobik şelatları ultrasonik banyo yardımı ile su örnekleri içerisine dağıtılmış küçük 1-hegzil-3-metil imidazolyum bis(triflorometilsülfonil)imit ($\text{C}_{6}\text{mim} [\text{NTf}_2]$) damlacıkları içine ekstrakte edilmiştir. $\text{C}_{6}\text{mim}[\text{NTf}_2]$ hacmi, örneğin pH'sı, PTC konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresi gibi bazı değişkenleri ayrıntılı olarak incelemiştir. Zenginleştirme faktörünü 45 olarak bulunmuştur. Analit iyonlarının gözlenebilirlik sınırını 11 mg L^{-1} , bağlı standart sapmayı %3.1 olarak bulunmuştur. Önerilen yöntem başarıyla deniz suyu, nehir suyu, göl ve çeşme suyu örneklerinde Pd^{2+} tayini için uygulanmıştır.

Şekil 3.5'te verilen üç boyutlu cevap yüzey ve iki boyutlu kontur grafikleri incelendiğinde, maksimum Cu^{2+} miktarı için santrifüj süresinin 6 dakika ve pH'ın 5 olduğu, artan pH ve santrifüj süresine bağlı olarak Cu^{2+} miktarının azaldığı belirlendi.



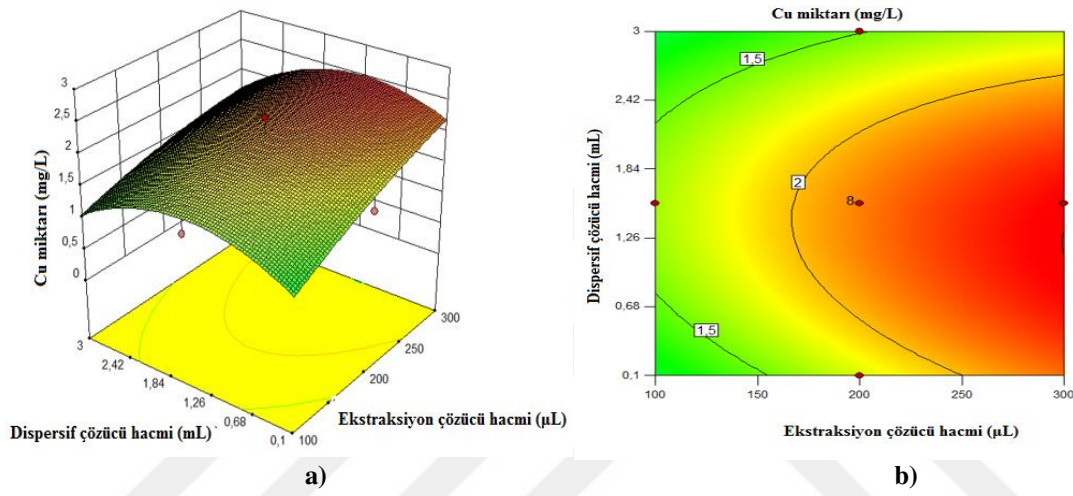
Şekil 3.5. Santrifüj süresi ve pH'ın Cu^{2+} miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafiği b) Kontur grafiği

Kaya (2014), şelat-metal oluşumunda ve sonrasında yapılacak ekstraksiyon işleminde ortamın pH'ının çok önemli olduğunu vurgulamıştır. Araştırmacı, metal iyonlarının ayrılmasında, SFODME yöntemini esas almış ve bu iyonların oluşturduğu hidrofobik özellikteki kompleksin, küçük hacimdeki bir ekstraksiyon çözücüsüne ekstraksiyonu temeline dayandırmıştır. Böylece ekstraksiyon verimini ve kompleks oluşumunu doğrudan etkileyen pH değerinin saptanmasını önemli bulmuştur.

Işık (2015), yaptığı çalışmada zearalenonun HPLC ile tayin öncesi zenginleştirilmesi için basit, hızlı ve etkili olan iyonik sıvı bazlı DSSME yöntemini geliştirmiştir. Yöntemde, 1-butil-3-metilimidazolyum, bis(triflorometansülfonil) imid ve 1-metil-3-oktilimidazolyum bis(triflorometansülfonil) imid iyonik sıvılar ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmıştır. Çalışmada her iki iyonik sıvı ile örnek pH'ı, dispersif çözücü çeşidi ve hacmi, iyonik sıvı hacmi, ekstraksiyon ve santrifüj süresi, tuz etkisi gibi ekstraksiyon verimliliğini etkileyen parametreler optimize edilmiştir. 1-Butil-3-metilimidazolyum bis(triflorometansülfonil) imid ile daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmiştir. Optimum koşullar altında, zearalenon tayini için yöntemin $1\text{-}750\ \mu\text{g L}^{-1}$ aralığında doğrusal olduğu ve gözlenebilirlik sınırı $0.25\ \mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirlik, yüzde bağıl standart sapma cinsinden %1.36 ve %3.02 olarak elde edilmiştir. Geliştirdiği yöntemi bira ve tahıl örneklerine (mısır ve buğday) uygulamıştır. Yöntemin doğruluğu için örneklerle standart zearalenon çözeltisi ilave edilmiş ve %80-100 oranında geri kazanım elde edilmiştir.

Şekil 3.6'da verilen üç boyutlu cevap yüzey ve iki boyutlu kontur grafikleri incelendiğinde, ideal dispersif çözücü hacminin 1.56 mL olduğu ve ekstraksiyon çözücüsü hacminin artıkça Cu^{2+} miktarının da buna bağlı olarak arttığı görüldü.

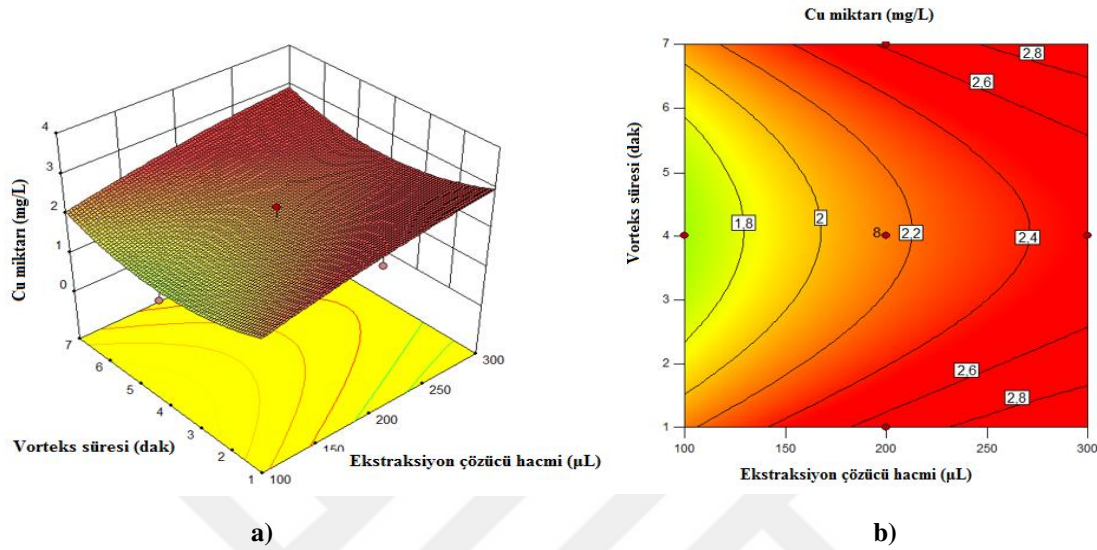
Ekstraksiyon tekniklerinde, ekstraksiyon çözücüsü hacminin verimi etkileyen önemli parametrelerden biri olduğu Şahin ve Durukan (2011), tarafından rapor edilmiştir. Mikrodamla içine analitin taşınma oranının, ekstraksiyon fazı ile sulu fazı arasındaki ara yüzey alanı ile doğrudan ilişkili olduğu da vurgulanmıştır. Bu yüzden damla hacmi arttığında, ekstraksiyon verimi ve ekstraksiyon ara yüzeyi artmıştır. Damla hacminin daha da artmasıyla, ekstraksiyon veriminin düştüğü ve çözücü hacmi etkisinin üstün olduğu vurgulanmıştır.



Şekil 3.6. Dispersif çözücü hacmi ve ekstraksiyon çözücü hacminin Cu²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafiği b) Kontur grafiği

Bahadır (2015), tarafından yapılan çalışmada DSSME yöntemi ile 3 farklı organik karakterli ligant kullanılarak, Cd²⁺, Pd²⁺ ve Au³⁺ iyonlarının sulu çözeltilerden ayrılması, zenginleştirilmesi ve FAAS ile tayin yöntemleri araştırılmıştır. Bu iyonların geri kazanım değerleri üzerine pH, ligand miktarı, dispersif sıvı türü ve hacmi, ekstraksiyon sıvısı türü ve hacmi, numune hacmi ve yabancı iyonlarının etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan; 2-[(4-fenilpiperazin-5-tiokso-4,5-dihidro-1,3,4-oksadiazol-2-il)metil]-5-metil-4 [2-(1H-indol-3-il)etil]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-on ligandının, pH 6.5'te Cd²⁺'nin, 1-(6-morfolinopiridin-3-il)-3-feniltüyoüre ligandının pH 5.5'te Au³⁺'ün ve pH 1.5'te Pd²⁺'nin, N-(Benzil)-2-({3-metil-5-okso-4-[2-(1H-indol-3-il)etil]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il}asetil) hidrazinkarbotiyoamid ligandının ise 0.2 mol L⁻¹ HNO₃'li ortamda Au³⁺'ün zenginleştirilmesinde kullanılabileceği görülmüştür. Gözlenebilme sınırı Cd²⁺ için 0.69 µg L⁻¹, Pd²⁺ için 4.97 µg L⁻¹ ve Au³⁺ için 4.86-4.97 µg L⁻¹ olarak bulunmuştur. Zenginleştirme faktörü Cd²⁺ için 40, Au³⁺ ve Pd²⁺ için 20 olarak belirtilmiştir.

Şekil 3.7’de verilen üç boyutlu cevap yüzey ve iki boyutlu kontur grafikleri incelendiğinde ideal 4 dakikalık vorteks süresinde, ekstraksiyon çözücüsü miktarı arttıkça Cu^{2+} miktarının arttığı tespit edildi.

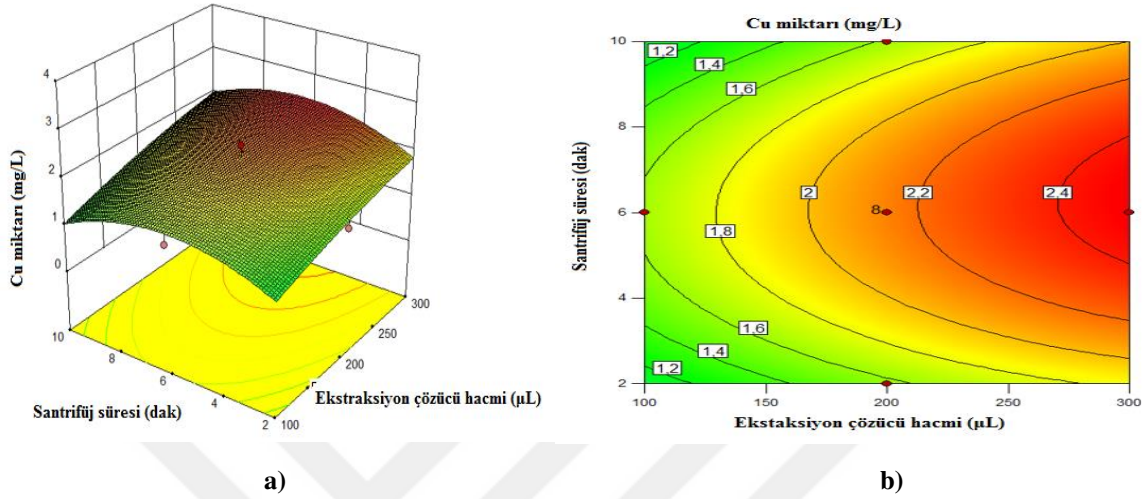


Şekil 3.7. Vorteks süresi ve ekstraksiyon çözücüsü hacminin Cu^{2+} miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafiği b) Kontur grafiği

Açıkgöz (2014), karıştırmanın ekstraksiyon veriminde artışa sebep olması bunun sonsuz hızda aynen devam ettiği anlamına gelmediğini rapor etmiştir. Ayrıca belli bir karıştırma hızına kadar artış olurken karıştırma hızındaki daha fazla artış ters bir etki ile ekstraksiyonda durmaya veya azalmaya sebep olabilir. Bunun sebebi de aşırı karıştırma işleminin çözücü ile birlikte ekstre edilecek materyalin birlikte yığın hareketinden kaynaklanır. Karıştırma hızının ekstraksiyon verimine etkisinin yanında, seçilecek karıştırıcı tipi de yine büyük önem taşır. Yine çalışılan materyalin özellikleri dikkate alınarak bu seçimin yapılmasının son derece önemli olduğunu vurgulamıştır.

Bayhan (2012), eser seviyede Ni^{2+} 'yi DSSME ile ayırıp ve zenginleştirerek FAAS ile tayin etmiştir. Analitin kantitatif geri kazanma değerleri pH, tampon türü, ligand miktarı, dispersif ve ekstraksiyon çözücülerinin türleri ve derişimleri, santrifüj hızı ve zamanı, ekstraksiyon zamanı örnek hacmi için optimize edilmiştir. Bayhan (2012) tarafından, FAAS ile Ni^{2+} tayin sınırı $1.7 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$ olarak bulunurken zenginleştirme faktörü 5 olarak rapor edilmiştir. Ortalama geri kazanma değerlerinin %95-103 aralığında değiştiği bildirilmiştir. Geliştirilen yöntem göl suyu, deniz suyu, akarsu, çeşme suyu, anot çamuru, saç jölesi, ruj, tıraş kremi örneklerine uygulanmıştır.

Şekil 3.8’de verilen üç boyutlu cevap yüzey ve iki boyutlu kontur grafikleri incelendiğinde, ideal 6 dakikalık santrifüj süresince, ekstraksiyon çözücüsü miktarı arttıkça Cu^{2+} miktarının da arttığı tespit edildi.

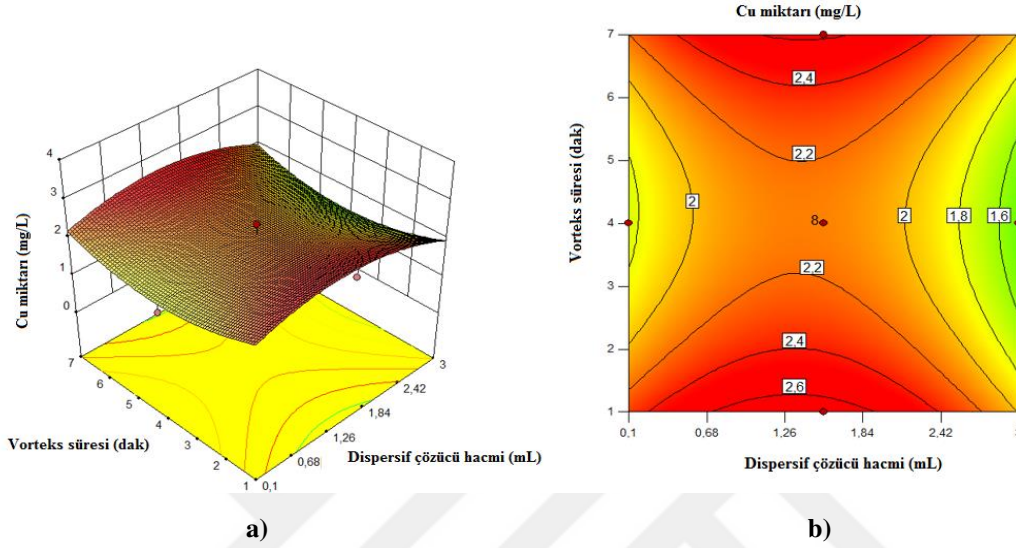


Şekil 3.8. Santrifüj süresi ve ekstraksiyon çözücüsü hacminin Cu miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafiği b) Kontur grafiği

Altun (2013), ekstraksiyon çözücü hacminin zenginleştirme faktörünü doğrudan etkilediğini rapor etmiştir. Ayrıca ekstraksiyon çözücü hacminin yüksek olması, dolayısıyla zenginleştirme faktörünün de düşük çıkmasına ve santrifüj sonrası elde edilen organik faz hacminin artmasına neden olmuştur. Bu yüzden ekstraksiyon çözücü hacminin düşük tutulması hem hedef analitlerin belirlenmesi hem de zenginleştirme faktörünün yükselmesi hedef analitlerin belirlenmesindeki duyarlılığı arttırmış olur. Böylece ekstraksiyon çözücü hacmi 5-100 µL aralığında seçilmiştir.

Dönmez (2012) yaptığı çalışmada, GFAAS ile Pb^{2+} iyonlarının ayırma ve ön zenginleştirilmesini esas alan yeni bir yöntem geliştirmiştir. Bu yeni yöntemi Pb^{2+} 'yi tayin etmek için gıda, biyolojik ve çeşitli su örneklerine uygulamıştır. Yöntemin; pH, organik çözücü ve dispersif çözücü hacmi, ligand madde miktarı, tuz oranı gibi birtakım analitik parametrelerini belirlenmiştir. Pb^{2+} iyonları için gözlenebilme sınırını $0.062 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak, geri kazanımı ise %95-%102 aralığında olduğunu rapor etmiştir. Yöntemin validasyonu NCS-DC 73347a insan saç sertifikalı standart referans maddesinin analiziyle yapılmıştır. Bunun yanında mevcut ön zenginleştirme yöntemi, Pb^{2+} iyonlarının tayini için su ve bisküvi örneklerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

Şekil 3.9’da verilen üç boyutlu cevap yüzey ve iki boyutlu kontur grafikleri incelendiğinde, Cu miktarı için ideal dispersif çözücü hacmi 1.56 mL, minimum Cu²⁺ miktarı 4 dakikalık vorteks süresinde iken hem 7. dakikaya doğru hem de 1. dakikaya doğru vorteks süresi değişimiyle Cu²⁺ miktarının arttığı gözlemlendi.

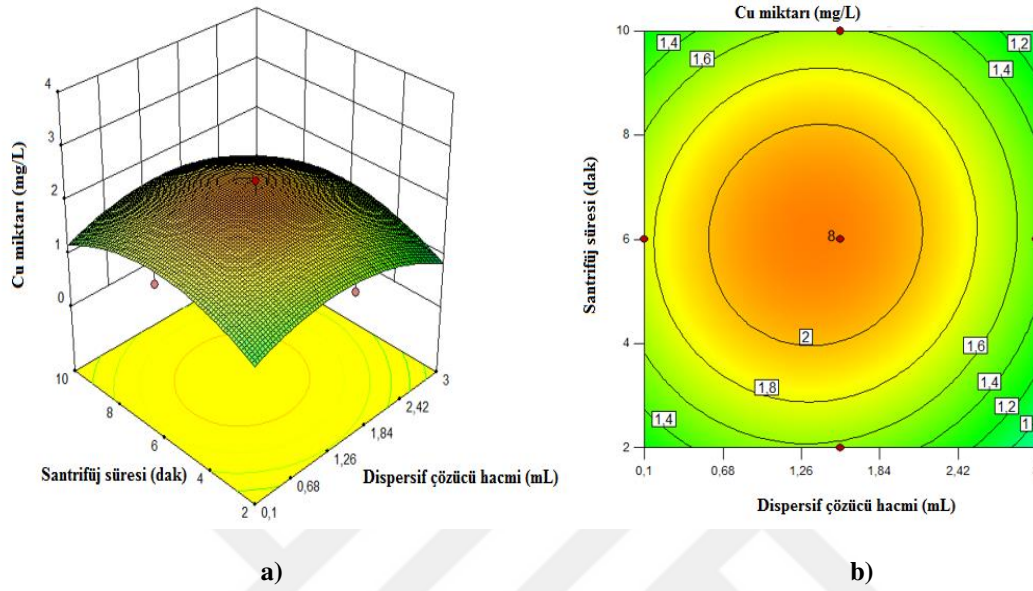


Şekil 3.9. Dispersif çözücü hacmi ve vorteks süresinin Cu²⁺ miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafiği b) Kontur grafiği

Akdoğan (2011), dispersif çözücü hacminin bulutumsu çözelti oluşumunu etkileyen bir parametre olduğunu vurgulamıştır. Ayrıca ekstraksiyon veriminde ekstraksiyon çözücüsünün dağılımı önemli rol oynar. Yani iyi bir bulutumsu çözelti elde etmede dispersif çözücünün hacminin ve ekstraksiyon çözücü hacminin önemli olduğu belirtilmiştir.

Kıranarlıgiller (2014), Cu²⁺’nin 1-(2-piridilazo)-2-naftol şelatı halinde zenginleştirilmesi ve ayrılması için bir DSSME tekniği geliştirmiştir. Ekstraksiyon çözücüsü olarak 1-dekanol ve dispersif çözücüsü olarak da etanol kullanılmıştır. Cu²⁺’nin ekstraksiyon verimi üzerine pH, 1-(2-piridilazo)-2-naftol miktarı, ekstraksiyon çözücüsünün türü ve hacmi, dispersif çözücüsünün türü ve hacmi, örnek hacminin etkisi gibi analitik parametreler optimize edilmiş ve bazı matriks iyonlarının etkilerini de araştırılmıştır. Cu²⁺ için gözlemlenebilir sınırını 0.9 µg L⁻¹ ve zenginleştirme faktörünü ise 30 olarak bulunmuştur. Metodun validasyonu için TMDA-51.3, TMDA-64.2 ve SPS-WW2 atık su sertifikalı referans maddeleri kullanılmıştır. Metodu bazı gıda ve su örneklerinin bakır içeriklerinin tayini için kullanılmıştır.

Şekil 3.10'da verilen üç boyutlu cevap yüzey ve iki boyutlu kontur grafikleri incelendiğinde, maksimum Cu^{2+} miktarı için, 1.56 mL dispersif çözücü hacmi ve 6 dakikalık santrifüj süresinin ideal olduğu tespit edildi.



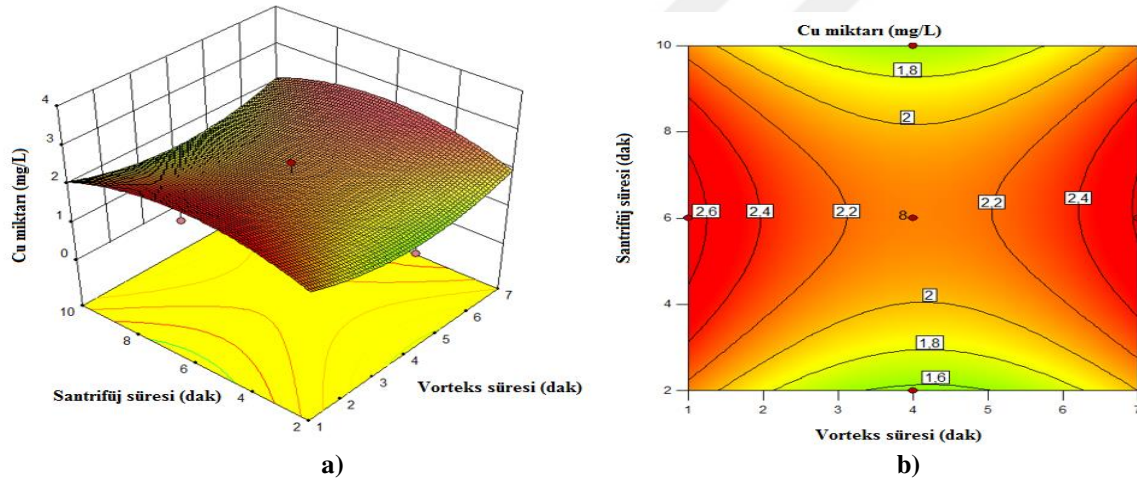
Şekil 3.10. Dispersif çözücü hacmi ve ekstraksiyon çözücüsü hacminin Cu^{2+} miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafiği b) Kontur grafiği

Altun (2013), dispersif çözücüsünün hem ekstraksiyon çözücüsü ile karışabilen özellikte hem de sulu faz içinde olması gerektiğini tespit etmiştir. Yine dispersif çözücünün, ekstraksiyon çözücüsü ve sulu faz arasındaki yüzey alanına bağlı olarak ekstraksiyon veriminin artmasına yardımcı olduğunu belirtmiştir. Her iki faz içinde dağılan dispersif çözücünün, bulutumsu (su/dispersif çözücü/ekstraksiyon çözücüsü) bir görüntü oluşturması gerektiğini de vurgulamıştır. Kullanılan dispersif çözücüler tetrahidrofur, aseton, etanol, asetonitril ve metanoldur.

Kenanoğlu (2014) yaptığı çalışmada, ekstraksiyon çözücüsü olarak düşük erime noktasına sahip ($22-24^{\circ}\text{C}$), sudan daha az yoğun, toksisitesi ve uçuculuğu az olan 1-dodekanolü kullanmıştır. Araştırmacı çözeltideki Hg^{2+} iyonlarını, suda çözünebilen bir şelatlaştırıcı olan difenilkarbazon ile kompleks oluşumunun ardından ekstrakte etmiştir. Araştırmacı çalışma boyunca ekstraksiyon çözücüsünün türü ve miktarı, kompleksleştirici derişimi, sıcaklık, örnek hacmi, sonikasyon süresi, pH, tuz etkisi ve emülsifikasyon tekniği gibi ekstraksiyon verimini ve kompleks oluşumunu etkileyen parametreleri inceleyerek optimize etmiştir. Ayrıca kullanılan ultrasonik banyonun optimum çalışma koşullarını da

belirlemiştir. Yöntemin optimum koşullar altında $0.5\text{--}10\text{ mg L}^{-1}$ derişim aralığında 0.999 korelasyon katsayısıyla doğrusal olduğu bulunmuştur. Gözlenebilme sınırı 0.2 mg L^{-1} , bağıl standart sapma değeri $4\text{ mg L}^{-1}\text{ Hg}^{2+}$ çözeltisi için %4.53 olarak bulunmuştur. Sadece 10 mL hacminde örnek kullanılarak 21 katlık bir zenginleştirme faktörü elde edilmiştir. Son olarak sertifikalı referans madde kullanarak metodun validasyonunu gerçekleştirilmiştir. Geri kazanım değerini %98'un üzerinde elde edilmiştir. Önerilen yöntem gerçek su örneğine uygulanmıştır.

Şekil 3.11'de verilen üç boyutlu cevap yüzey ve iki boyutlu kontur grafikleri incelendiğinde maksimum, Cu^{2+} miktarı için ideal santrifüj süresinin 6 dakika, minimum bakır düzeyi 4 dakikalık vorteks süresinde elde edilen hem 7. dakikaya doğru hem de 1. dakikaya doğru vorteks süresi değişimiyle Cu^{2+} miktarının arttığı gözlemlendi.



Şekil 3.11. Santrifüj süresi ve vorteks süresinin Cu^{2+} miktarına etkisi a) Cevap yüzey grafiği b) Kontur grafiği

Kaya (2014), tüm sıvı faz mikroekstraksiyon tekniklerinde karıştırmanın ekstraksiyon çözücüsü ile sulu faz arasındaki transferini arttırmada etkili bir yol olduğunu rapor etmiştir. Örneği karıştırma, analitin organik faza olan dağılımını arttırarak damla ile örnek çözeltisi arasındaki denge için gerekli zamanının azalmasını da sağlamıştır. Ekstraksiyon verimi için çok yüksek karıştırma hızları organik damlanın bozulmasına ve dağılmasına sebep olacağı için ekstraksiyon veriminde azalmaya neden olmuştur. Uygun bir karıştırma hızının seçiminin önemli olduğunu vurgulamıştır.

Karaca (2014), yaptığı çalışmada Pb^{2+} 'nin 2-hidroksipiridin-3-karboksilik asit şelatı halinde zenginleştirilmesi ve ayrılması için bir DSSME tekniğini uygulamıştır. Çalışmada

ekstraksiyon çözücüsü olarak karbon tetraklorür ve dispersif çözücüsü olarak da etanol kullanmıştır. Yine Cu^{2+} 'nin ekstraksiyon verimi üzerine etkili pH, 2-hidroksipiridin-3-karboksilik asit miktarı, ekstraksiyon çözücüsünün türü ve hacmi, dispersif çözücü türü ve hacmi, örnek hacmi gibi analitik parametreleri optimize etmiştir. Bazı matriks iyonlarının etkilerini de araştırmıştır. Pd^{2+} için gözlenebilme sınırı $8.3 \mu\text{g L}^{-1}$ ve zenginleştirme faktörünü 30 olarak hesaplamıştır. Metodun validasyonunu TMDA-64.2, TMDA 53.3 ve SPS-WW2 waste water (atık su) sertifikalı referans maddeleri ve GBW074425 soil (toprak), BCR-146 R Sewage sludge from industrial origin (endüstriyel orijinli kanalizasyon çamuru), HR-1 Harbour sediment (liman sedimenti) ve DC73349 Bush branches and leaves (çalı dalı ve yaprağı) sertifikalı referans maddelerinin analizi ile kontrol etmiştir. Yöntemi bazı su, gıda, toprak ve sediment örneklerine başarılı bir şekilde uygulamıştır.

3.1. Bakırın Optimizasyonu ve Deneysel Doğrulama

Dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon yöntemiyle kuru çay örnekleri için optimum çalışma koşulları (pH, ekstraksiyon çözücü hacmi, dispersif çözücü hacmi, santrifüj süresi ve vorteks süresi) kuru çay örneklerindeki bakır değerleri dikkate alınarak saptandı. Dizayn edilen deneme desenine göre gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasında bakır değeri maksimumunu sağlayan işlem koşullarının optimum nokta olarak seçilmesi hedeflendi.

Merkezi kompozit tasarıma göre bağımsız değişkenler olarak pH, ekstraksiyon çözücü hacmi, dispersif çözücü hacmi, vorteks süresi ve santrifüj süresi seçildi. Yapılan çalışmalar sonrasında elde edilen modeller kullanıldı. Çalışılan deneysel bölge içerisindeki optimum işlem koşulu 'istenilirlik (desirability) fonksiyonu' metodu kullanılarak belirlendi. İstenilirlik (desirability) fonksiyonu yaklaşımı uygulandığında optimum nokta için birbirine yakın yüz çözüm bulundu. Tablo 3.4'te optimum noktayı veren 100 çözüm görülmektedir. Programın (Desing-Expert 10.0) belirlendiği birinci çözüm optimum nokta olarak seçildi.

Tablo 3.4. Bakırın kuru çay örnekleri için istenilirlik fonksiyonu ile belirlenen optimum nokta çözümleri

#	İstenilirlik	Cu^{2+} (mg L^{-1})	pH	Ekstraksiyon çözücü hacmi (μL)	Dağıtıcı faz hacmi (mL)	Vorteks süresi (dk)	Santrifüj süresi (dk)
1	1.000	2.513	4.764	215.129	0.737	1.065	7.673

2	1.000	2.519	5.628	250.664	1.329	5.719	5.888
3	1.000	2.601	4.780	269.762	1.642	1.862	6.891
4	1.000	2.513	4.825	240.845	1.792	6.353	5.466
5	1.000	2.491	5.879	296.920	0.697	3.571	6.215
6	1.000	2.566	5.546	274.145	0.749	1.313	3.199
7	1.000	2.522	6.422	248.447	0.830	1.886	5.949
8	1.000	2.469	4.968	204.827	1.619	6.500	6.958
9	1.000	2.566	5.537	290.892	1.086	5.414	5.172
10	1.000	2.623	5.000	200.000	1.550	7.000	6.000
11	1.000	2.681	5.939	271.671	1.072	1.468	8.224
12	1.000	2.581	5.506	279.352	0.737	6.667	3.916
13	1.000	2.661	5.292	262.916	1.791	6.424	6.696
14	1.000	2.484	5.279	239.611	1.379	6.055	7.654
15	1.000	2.511	6.737	283.955	0.844	1.874	4.471
16	1.000	2.495	4.628	280.832	0.645	2.102	6.857
17	1.000	2.651	6.506	260.761	1.284	1.636	5.772
18	1.000	2.680	5.000	200.000	1.550	1.000	6.000
19	1.000	2.461	6.377	288.197	0.364	6.807	8.788
20	1.000	2.502	5.364	214.135	1.755	1.699	5.851
21	1.000	2.475	6.279	255.626	2.047	6.561	7.540
22	1.000	2.504	4.948	287.300	0.592	1.340	3.160
23	1.000	2.475	5.397	293.086	0.770	4.568	5.692
24	1.000	2.541	5.269	226.483	1.430	6.432	7.419
25	1.000	2.474	5.000	300.000	1.550	4.000	6.000
26	1.000	2.469	4.991	261.660	1.883	1.944	4.678
27	1.000	2.671	6.028	274.650	1.204	6.420	4.984
28	1.000	2.518	5.705	166.366	1.216	1.011	6.126
29	1.000	2.512	5.919	256.438	1.436	1.939	4.272
30	1.000	2.461	6.335	285.248	2.196	1.794	5.706
31	1.000	2.651	5.234	288.610	0.785	2.208	5.751
32	1.000	2.484	4.795	241.607	1.345	6.211	4.859
33	1.000	2.474	5.417	283.612	0.578	1.368	9.222
34	1.000	2.476	5.208	274.221	1.730	2.855	6.156
35	1.000	2.722	5.233	287.303	0.898	6.573	4.768
36	1.000	2.484	5.647	238.922	1.699	6.021	7.002
37	1.000	2.469	6.404	281.762	0.638	6.511	8.650
38	1.000	2.511	4.836	204.528	1.087	1.532	5.904
39	1.000	2.465	5.372	254.830	1.499	2.461	4.796
40	1.000	2.667	4.791	296.649	1.018	2.041	5.411
41	1.000	2.475	5.746	201.958	1.644	1.625	6.377
42	1.000	2.462	5.871	287.044	1.764	5.188	5.497
43	1.000	2.523	6.248	250.646	1.575	6.155	6.603
44	1.000	2.510	5.545	207.054	1.590	1.630	6.625
45	1.000	2.536	5.144	294.394	1.113	4.889	5.960
46	1.000	2.534	5.424	292.360	0.472	6.548	4.068
47	1.000	2.486	5.859	171.443	1.252	1.111	5.366
48	1.000	2.528	5.150	171.226	1.104	1.023	5.195
49	1.000	2.521	5.873	284.211	1.326	3.298	6.569

50	1.000	2.546	4.934	218.959	1.744	1.321	4.678
51	1.000	2.562	5.125	285.293	2.047	7.000	9.136
52	1.000	2.778	4.491	276.824	0.994	1.103	4.859
53	1.000	2.638	4.700	283.791	0.443	6.979	7.602
54	1.000	2.552	5.586	280.328	1.212	5.500	5.198
55	1.000	2.557	5.571	276.013	1.304	2.502	4.913
56	1.000	2.501	5.613	293.703	1.115	5.439	8.262
57	1.000	2.467	5.421	175.530	1.558	6.871	6.582
58	1.000	2.592	4.534	267.468	1.729	6.443	5.745
59	1.000	2.561	6.485	290.449	1.894	1.163	3.782
60	1.000	2.605	5.537	189.769	1.302	1.138	6.421
61	1.000	2.590	5.887	223.792	1.911	6.871	6.451
62	1.000	2.697	5.749	294.520	1.105	2.075	4.841
63	1.000	2.640	5.542	202.470	1.266	1.234	5.959
64	1.000	2.795	6.247	266.843	0.711	1.213	6.711
65	1.000	2.512	6.360	220.157	1.649	1.138	7.862
66	1.000	2.472	5.880	287.014	0.791	1.006	2.188
67	1.000	2.482	5.557	174.519	1.140	1.031	4.413
68	1.000	2.482	5.777	202.096	1.520	1.279	4.228
69	1.000	2.489	5.410	197.168	1.259	1.639	6.449
70	1.000	2.508	6.252	248.091	1.896	1.078	3.813
71	1.000	2.493	4.900	251.881	1.772	5.997	5.805
72	1.000	2.622	4.824	290.810	2.043	1.424	7.380
73	1.000	2.527	5.561	262.891	1.344	2.501	7.260
74	1.000	2.597	5.783	212.010	1.717	6.935	7.099
75	1.000	2.645	5.337	267.719	2.098	1.265	5.018
76	1.000	2.595	6.008	287.990	0.512	6.398	7.675
77	1.000	2.816	4.811	266.204	1.383	6.872	6.282
78	1.000	2.472	5.295	171.120	1.843	1.049	6.760
79	1.000	2.480	4.797	267.839	1.762	6.250	8.173
80	1.000	2.468	4.846	179.820	1.705	1.183	5.042
81	1.000	2.789	4.843	284.473	1.971	1.005	7.137
82	1.000	2.563	4.501	295.361	0.582	6.576	7.585
83	1.000	2.675	4.747	281.053	0.996	6.927	4.101
84	1.000	2.655	6.056	275.699	1.092	2.111	5.549
85	1.000	2.484	5.734	210.049	1.950	1.426	5.588
86	1.000	2.471	6.455	292.331	1.248	4.854	6.093
87	1.000	2.505	5.889	286.614	2.005	1.265	9.055
88	1.000	2.636	5.641	230.602	1.045	1.570	5.434
89	1.000	2.537	5.499	250.240	1.935	1.356	4.129
90	1.000	2.515	7.081	255.062	1.596	1.338	6.326
91	1.000	2.805	5.359	294.779	1.719	1.473	5.245
92	1.000	2.707	6.086	289.902	1.966	6.730	7.506
93	1.000	2.508	5.587	179.805	1.805	1.075	5.343
94	1.000	2.608	5.536	189.576	1.119	1.089	6.484
95	1.000	2.488	5.094	189.720	1.276	6.936	4.741
96	1.000	2.558	6.143	293.183	0.279	6.813	8.240
97	1.000	2.715	5.299	278.632	1.542	6.371	7.335

98	1.000	2.545	4.997	287.846	0.604	6.882	8.986
99	1.000	2.693	5.537	275.165	1.770	6.413	7.052
100	1.000	2.635	5.581	200.257	1.510	1.017	4.757

3.2. Kuru Çay Örneklerinin Analize Hazırlanması

0.2 g kuru çay örneği alındı ve üzerine 4 mL HNO₃ eklendi. Daha sonra Tablo 3.5'teki program seçilerek örnekler mikrodalga fırında çözünürleştirildi. Çözünürleştirilen örneklerle 5 mL ultra saf su ilave edildi ve santrifüjlendi. Elde edilen berrak çözeltilerden uygun miktarlarda alınarak optimize edilen DSSME basamakları uygulandı. Kör örnekler de aynı şekilde hazırlandı.

Tablo 3.5. Mikrodalga çözünürleştirme basamakları

Basamak	1	2	3
Sıcaklık (°C)	150	160	190
Güç (%)	80	80	80
Süre (dk)	10	10	20

3.3. Optimize Edilen Yöntemin Gerçek Örneklerle Uygulanması

Kuru çay örneklerinde kullanılacak pH, ekstraksiyon çözücü hacmi, dispersif çözücü hacmi, vorteks süresi ve santrifüj süresinin optimizasyonu cevap yüzey metodu kullanılarak merkezi kompozit tasarımı ile istatistiksel dizayn uygulaması ile belirlendi. Dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon yöntemi için optimum pH, ekstraksiyon çözücü hacmi, dispersif çözücü hacmi, vorteks süresi ve santrifüj süresi değerlerinin belirlenmesinde kuru çay örneklerindeki bakır cevap olarak alındı. Optimize edilen deneysel koşulların Cu²⁺'nin PAN ile kompleks oluşturarak zenginleştirilmesiyle geliştirilen DSSME yöntemi gerçek kuru çay örneklerine uygulandı. Yöntemin geçerliliği SRM (NIST SRM 1547 Peach leaves) ile test edildi. Kuru çay örneklerinden elde edilen bakır miktarı ve SRM analiz sonuçları Tablo 3.6'da sunulmuştur.

Tablo 3.6. Çeşitli kuru çay örneklerinin Cu²⁺ miktarları

Örnek	Cu ²⁺ (mg kg ⁻¹)
1	1.6±0.3
2	1.2±0.1
3	2.0±0.2
4	1.6±0.2
5	2.0±0.3
6	0.7±0.1
7	0.8±0.1
8	1.4±0.2
9	1.1±0.1
10	1.5±0.2
11	1.4±0.1
12	<ts
13	1.1±0.1
14	1.4±0.2
15	1.1±0.1
16	1.9±0.2
17	0.4±0.1
18	1.1±0.1
19	1.0±0.1
20	2.0±0.3
SRM	3.7±0.2

ts: tayin sınırı

Bahar ve Zakerian (2012), insan saçı ve çay örneklerindeki bakırın ayrılması ve zenginleştirilmesi için katılaştırılmış yüzen organik damla dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu kullanmıştır. Bu çalışmada, ekstraksiyonu etkileyen deneysel parametrelerin optimizasyonu (ekstraksiyon ve dispersif çözücülerin miktarı, pH, şelatlama maddesi miktarı ve ekstraksiyon süresi) gerçekleştirilmiştir. Optimum şartların siyah ve yeşil çay örneklerine uygulanması sonucu siyah çaydaki Cu²⁺ miktarı 17.48±1.09 µg g⁻¹ ve yeşil çaydaki Cu²⁺ miktarı 61.50±1.20 µg g⁻¹ olarak tespit edilmiştir.

Yeni bir adsorban olan polihidroksibutirat-b-polietilenglikol blok kopolimeri Cu²⁺ ve Pb²⁺'nın FAAS ile analiz edilmesinden önce ayrılması ve zenginleştirilmesinde kullanılmıştır. pH, adsorban miktarı, akış hızı ve örnek miktarı gibi parametrelerin etkileri araştırılmıştır. Zenginleştirme faktörü 50, verim ise >%95 olarak tespit edilmiştir. Çaydaki Cu²⁺ ise 12.5±1.10 µg g⁻¹ olarak bulunmuştur (Wadhwa ve ark., 2014).

Katılaştırılmış yüzen organik damla dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu yöntemi kullanılarak yapılan başka bir çalışmada, eser miktardaki Cu²⁺ tayin edilmiştir. 8-hidroksikinolin şelatlaştırıcı, 1-dodekanol ekstraksiyon çözücüsü ve metanol de dispersif çözücü olarak kullanılmıştır. Standart ilavesi yapıldığında yeşil çaydaki Cu²⁺ verimi %92-

102 aralığında, siyah çaydaki Cu^{2+} verimi %94-96 aralığında olduğu belirlenmiştir (Wu ve ark., 2011).

Khayatian ve Hassanpour (2018) eser miktarda bakır tayini için alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile kombine edilen iyon çifti dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (IP-DLLME) kullanmıştır. Şelatlama ajanı olarak pyrocatechol menekşesi kullanılarak eser miktarda bakır (II) kloroforma ektrakte edildikten sonra bakır-ligand kompleks oluşumunu etkileyen örnek pH'ı, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon çözücüsü tipi ve hacmi ve dağıtıcı çözücü ve ligand konsantrasyonu optimize edilmiştir. Optimum deneysel koşullar altında, zenginleştirme faktörü 10 olarak elde edilmiştir. Lineer dinamik aralık ve tayin sınırı sırasıyla $6.0\text{-}100\ \mu\text{g L}^{-1}$ ve $3,7\ \mu\text{g L}^{-1}$ olarak tespit edildikten sonra bakırın tayini için geliştirilen yöntem toprak, multivitamin tabletlerine, çay ve su örneklerine başarıyla uygulanmıştır.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Son yıllarda sıklıkla kullanılan mikroekstraksiyon yöntemlerinden biri DSSME'dir. Yöntemin sahip olduğu avantajları (basit ve ucuz oluşu, doğruluğu, hassasiyeti, basit araç gereç kullanımı, çok az düzeyde organik çözücü tüketimi) sayesinde bu tekniğin kullanımını tercih edilir hale getirmiştir. Bu yöntemle yüksek önderiştirme faktörü değerlerine de ulaşılabilmesi yöntemin bir diğer üstünlüğüdür. Bu çalışma kapsamında cevap yüzey metodu merkezi kompozit tasarımı kullanılarak deneysel değişkenler optimize edildi ve çeşitli kuru çay örneklerinde Cu^{2+} iyonunun DSSME ile önderiştirilmesi ve FAAS ile tayini gerçekleştirildi. Bu çalışmada, Cu^{2+} iyonu bulunan sentetik sulu ortama kompleks oluşturmak üzere PAN ilavesi yapıldı. Ortamın pH'sı metal iyonlarının uygun bir kompleksleştirici madde ile komplekslerini oluşturmaya etki eden en önemli değişkenlerden biridir. Bu nedenle kompleks oluşumunu, dolayısıyla ekstraksiyon verimini doğrudan etkileyen pH değerinin saptanması gerekmektedir. Cu^{2+} iyonu içeren çözeltinin pH'ı 2-8 arasında değiştirilerek, Cu^{2+} iyonu için en uygun çalışma pH'nın 5 olduğu tespit edildi.

Ekstraksiyon verimine etki eden faktörlerden bir diğeri de ekstraksiyon çözücüsü hacmidir. Bu amaçla yapılan deneysel çalışmalarda ekstraksiyon çözücü hacmi 100 μL ile 300 μL aralığında çalışıldı ve 300 μL 'de maksimum Cu^{2+} elde edildiği CYM'nin üç boyutlu grafiğinden faydalanılarak tespit edildi. Ekstraksiyon verimine etki eden faktörlerden diğeri bir değişken olarak seçilen dispersif çözücü hacmidir. Bu amaçla yapılan deneylerde dispersif çözücü hacmi 0.1-3 mL arasında denenmiş ve Cu^{2+} iyonu için optimum dispersif çözücü hacminin 1.56 mL olduğu CYM'nin üç boyutlu grafiğinden faydalanılarak belirlendi. Cu^{2+} iyonu için yapılan diğeri çalışmalarda ise optimum değişken değerleri santrifüj için 6 dakika, vorteks süresi için 7 dakika olarak belirlendi. Cu^{2+} için zenginleştirme faktörü 20 kat olarak hesaplandı. Yöntemin doğruluğu test etmek için Cu^{2+} içeren sertifikalı standart referans maddeye DSSME yönteminin CYM ile optimize edilmiş koşulları uygulanarak analiz gerçekleştirildi. Cu^{2+} için geri kazanım değerinin %98 olduğu saptandı.

Cevap yüzey yönteminin MKT'nin kullanıldığı ve deneysel değişkenlerin zaman ve maliyet açısından ekonomiklik sağladığı bu çalışma diğeri çalışmalara karşılaştırıldığında, bazı üstünlüklerinin olduğu göze çarpmaktadır. Tayini gerçekleştirilen Cu^{2+} iyonlarının

ICP-MS, elektrotermal AAS gibi diğer yöntemlerle daha hassas ve duyarlı ölçümü gerçekleştirilebilir. Fakat FAAS'nin sahip olduğu hızlı ölçüm alma olanağı, ICP-MS gibi diğer cihazlara nazaran daha ekonomik oluşu, kullanım kolaylığı, başka laboratuvarlarda da yöntemlerin kolayca uygulanabilmesi gibi avantajları göz önüne alındığında bu çalışmamızda FAAS tercih edildi. Yöntem, çevre ve canlı sağlığına yüksek toksik etkisi olan Cu^{2+} iyonlarının 20 kat önderiştirilerek, hızlı bir şekilde çeşitli kuru çay örneklerinde FAAS yardımıyla ve düşük örnek hacminde tayinine olanak sağlamıştır.

Bu çalışmada kullanılan MKT'nin CYM uygulamasıyla azaltılan deney sayısı ve geliştirilen DSSME yöntemi farklı gıda örneklerine uygulanabilir olması yönüyle önem teşkil etmektedir. Ayrıca optimizasyonu sağlanan deneysel değişkenler benzer çalışmalara ışık tutacağından benzer matrikslerde oluşturulacak metal komplekslerinde PAN kullanımının yararlı bir şelatlayıcı olacağı açıktır. Dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon yönteminde kullanılan kimyasal miktarının diğer ekstraksiyon metotlarına göre çok düşük olmasından dolayı tercih edilmelidir. Her ne kadar çalışmamız kapsamında gerçekleştirilen 20 kat zenginleştirme oranı ihtiyaç duyulması durumunda başka çalışmalarda artırılabilir bir oran olması nedeniyle daha hassas ve daha maliyetli olan ICP-MS ve GF AAS'ye alternatif bir analiz olanağı sunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Açıkgöz, Ş.**, 2014. Su örneklerinde organik reaktifler ve UV-VIS spektrofotometre kullanarak metal tayini için bir dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) yöntemi geliştirme. *Yüksek Lisans Tezi*, Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yozgat, 40s.
- Akdoğan, A.**, 2011. Bazı pestisitlerin kromatografik ayrılmaları ve tayinleri. *Doktora Tezi*, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 32s.
- Aksu, Ç.**, 2005. Yeni çöktürülmüş ditiyokarbamat bileşiklerinin eser metallerin FAAS ile tayininde önderiştirme işlemlerinde kullanılabilirliğinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 41s.
- Allothman, Z., Yilmaz, E., Habila, M.**, 2013. Development of a dispersive liquid–liquid microextraction combined with flame atomic absorption spectrometry using a microinjection system for the enrichment, separation, and determination of nickel in water samples. *Desalination and Water Treatment*, 51:34-36.
- Altun, F.**, 2013. Zenginleştirme yöntemleri ile bazı ağır metallerin tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Pamukkale, 12s.
- Araç, E.**, 2014. Sulu çözeltideki kurşun ve bakır iyonlarının sepiyolit ile adsorpsiyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 45s.
- Artan, R.O.**, 2007. Ağır metal içeren atık suların ileri arıtımında su mercimeği (*Lemna* sp.) bitkisinin kullanılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 33s.
- Assadi, Y., Farajzadeh, M.A., Bidari, A.**, 2012. Theory of extraction techniques, reference module in chemistry, molecular sciences and chemical engineering,

comprehensive sampling and sample preparation. *Analytical Techniques for Scientists*, 2:181-212.

Aydın, Z., 2009. Çeşitli örneklerde vanadyumun HPLC-AAS ile türlemesi ve arsenik tayini. *Doktora Tezi*, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 30s.

Aygün, A., 2012. Tekstil endüstrisi reaktif ve dispers boya banyo atıksularının elektrokoagülasyon prosesiyle arıtımı: Yanıt yüzey yöntemiyle optimizasyonu. *Doktora Tezi*, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 45s.

Bahadır, Z., 2015. Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi ile çeşitli çevresel numunelerde kadmiyum, palladyum ve altın elementlerinin zenginleştirilmesi ve FAAS ile tayinleri. *Doktora Tezi*, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 32s.

Bahar, S., Zakerian, R., 2012. Determination of copper in human hair and tea samples after dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop (DLLME-SFO). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23(6):1166-1173.

Baig, J.A., Tasneem, G.K., Abdul, Q.S., Mohammad, B.A., Hassan, I.A., Ghulam, A.K., Sumaira, K., 2009. Optimization of cloud point extraction and solid phase extraction methods for speciation of arsenic in natural water using multivariate technique. *Analytica Chimica Acta*, 651:57-63.

Bayhan, Z., 2012. Çeşitli örneklerde dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon ile nikel tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 35s.

Bayrak, E.H., 2014. Çeşitli çevresel ve gıda örneklerinde eser element tayini için yöntem geliştirme. *Doktora Tezi*, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 20s.

- Bezerra, M.A., Arruda, M.A.Z., Ferreira, S.L.C.,** 2005. Cloud point extraction as a procedure of separation and pre-concentration for metal determination using spectroanalytical techniques: A review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 40:269-299.
- Bhaskar, M., Aruna, P., Jeevan, R.J.G., Radhakrishnan, G.,** 2004. β -cyclodextrinpolyurethane polymer as solid phase extraction material for the analysis of carcinogenic aromatic. *Analytica Chimica Acta*, 509:39-45.
- Cantle, J.E.** 1982. Atomic absorption spectrometry. Techniques and instrumentation in analytical chemistry. Vol. 5. Amsterdam: *Elsevier Scientific Publishing Company*.
- Cooper, R., Morré, D.J., Morré, D.M.,** 2005. Medical benefits of green tea: Part I. Review of non-cancer health benefits. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 11(3):521-528.
- Cunningham, S.D., Shann, J.R., Crowley, D.E., Anderson, T.A.,** 1997. Phytoremediation of contaminated water and soil. In: Kruger, E.L., Anderson, T.A., Coats, J.R., Phytoremediation of Soil and Water Contaminants, Vol. 664. *American Chemical Society*, Washington, pp. 2-17.
- Çepel, N.,** 1997. Toprak kirliliği erozyon ve çevreye verdiği zararlar. *TEMA Vakfı Yayınları*, İstanbul, 111s.
- Çıtak, D.,** 2012. Dağılımlı sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon yöntemiyle bazı metallerin zenginleştirilmesi ve AAS ile tayini. Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma, Gaziantep, 24s.
- Çolak, G.,** 2013. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile Cu(II)'nin tayini için akışa enjeksiyon sistemine dayalı önderiştirme yöntemi geliştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa, 39s.

- Dadfarnia, S., Shabani, A.M.H.,** 2010. Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals: A review. *Analytica Chimica Acta*, 658:107-119.
- De Jager, L.S., Andrews, A.R.J.,** 2001. Preliminary studies of a fast screening method for cocaen and cocaen metabolites in urine using hollow fibre membrane solvent microextraction (HFMSME). *Analyst*, 126:1298-1303.
- Demir, A.,** 2002. *Çay. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü-Bakış*, 1:1-4.
- Demirci, A., Özçimder, M.,** 2008. Kimyada ayırma yöntemleri. Kuban Matbaacılık Yayıncılık, Ankara.
- Dietz, C., Sanz, J., C'amara, C.,** 2006. Recent developments in solid-phase microextraction coatings and related techniques, *Journal of Chromatography A*, 1103:183-192.
- Dönmez, I.,** 2012. Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi ile kurşunun tayini için yöntem geliştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 35s.
- Dündar, A.,** 2011. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köftelerde heterosiklik aromatik aminlerin oluşumunun sınırlandırılmasında optimum tuz, askorbik asit ve yağ kullanım seviyelerinin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 45s.
- Ercan, Ö.,** 2008. Bakır iyonunun katı faz ekstraksiyonu-AAS kombinasyonu ile tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 32s.
- Eren, İ.,** 2004. Patateslerin osmotik dehidrasyonunun “response surface” metodu kullanılarak optimizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 42s.

- Ergün, H.**, 2009. Katı faz ekstraksiyonu ile Fe(III) zenginleştirilmesi ve FAAS ile tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 25s.
- Fawell, J.K., Giddings, M., Magara, Y., Ohanian, E., Toft, P.**, 2006. Guidelines for drinking-water quality. *World of Health Organization*, Singapur.
- Fawell, J.K., Ohanian, E., Giddings, M., Toft, P., Magara, Y., Jackson, P.**, 2004. Copper in drinking-water: Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. *World of Health Organization*, Swiss.
- Gülmez, Ş.**, 2010. Altın-APDC birlikte çöktürme yöntemiyle bazı eser elementlerin deriştirilmesi ve AAS ile tayinleri. *Yüksek Lisans Tezi*, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 26s.
- Gündüz, T.**, 2008. Çevre Kimyası. 1. Baskı, Gazi Kitabevi Tic. Ltd. Şti., Ankara.
- Güneri, A.**, 2012. Bakır tayininde atom tuzaklı atomik absorpsiyon spektrometresi metodunun kullanılması ve yöntemin interfer çalışmaları, *Yüksek Lisans Tezi*, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 8s.
- Henning, S.M., Fajardo-Lıra, C., Lee, H., Youssefian, A.A., Go, V.L.W., Heber, D.**, 2003. Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with antioxidant capacity. *Nutrition and Cancer*, 45(2):226-235.
- Işık, G.**, 2015. Çeşitli gıda örneklerindeki zearalenonun iyonik sıvı bazlı dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu ile zenginleştirilerek HPLC ile tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 39s.
- İnce, M.**, 2005. Ultra eser düzeydeki ağır metallerin amberlite-XAD ile önderiştirilmesi ve atomik absorpsiyon spektrofotometresiyle tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 56s.

- Kaplan, O.,** 2008. Türleme ile toprakta metal kirlenmesinin boyutunun belirlenmesi. *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 57s.
- Karaca, M.,** 2014. Mikroekstraksiyon-alevli atomik absorpsiyon spektrometresi kombinasyonu ile eser metal ayrılması zenginleştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 20s.
- Kartal, A.A.,** 2012. Bazı fenolik bileşiklerin kromatografik tayinleri. *Doktora Tezi*, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 30s.
- Kaya, B.,** 2014. Sulu örneklerde eser düzeydeki ağır metal iyonlarının alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayini için katılaştırılmış yüzen organik damla mikroekstraksiyon tekniği ile önderiştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 32s.
- Kenanoğlu, Ö.,** 2014. Alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi kullanılarak su örneklerinde eser miktardaki Hg(II) iyonlarının tayini için katılaştırılmış yüzen organik damla ile ultrason-destekli emülsifikasyon mikroekstraksiyonunun uygulanması. *Yüksek Lisans Tezi*, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 37s.
- Khalili Z., Yamini, Y., Shariati, S., Jönsson, J.,** 2007. A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop. *Analytica Chimica Acta*, 585:286-293.
- Khan, S., Soylak, M., Kazi, T.G.,** 2013. Room temperature ionic liquid-based dispersive liquid phase microextraction for the separation/preconcentration of trace Cd²⁺ as 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) complex from environmental and biological samples and determined by FAAS. *Biological Trace Element Research*, 156:49–55.
- Khani, R., Shemirani, F., Majidi, B.,** 2011. Combination of dispersive liquid–liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry for preconcentration and determination of copper in water samples. *Desalination*, 266:238-243.

- Khayatian, G., Hassanpour, M.,** 2018. Ion pair dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of trace amounts of copper(II) in soil, multivitamin tablet, tea and water samples using flame atomic absorption spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry Research*, 5(1):11-21.
- Kıranarlıgiller, E.,** 2014. Mikroekstraksiyon ile bakırın deriştirilmesi ve spektrometrik tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 38s.
- Koç, B., Kaymak Ertekin, F.,** 2009. Yanıt yüzey yöntemi ve gıda işleme uygulamaları. *Gıda Dergisi*, 35(1):1-8.
- Kumar, A., Gaurav, A.K.M., Tewary, D.K., Singh, B.,** 2008. A review on development of solid phase microextraction fibers by sol-gel methods and their applications. *Analytica Chimica Acta*, 610:1-14.
- Lajunen, J.L.H.J.,** 1992. Spectrochemical analysis by atomic absorption and emission, *The Royal Society of Chemistry*, Cambridge, 31-143.
- Liska, I.,** 2000. Fifty years of solid-phase extraction in water analysis-historical development and overview. *The Journal of Chromatography A*, 885:3-16.
- Livia, K., Ioseph, S.B., Sandrejová, J., Andruch, V.,** 2012. Recent advances in dispersive liquid-liquid microextraction using organic solvents lighter than water: A review. *Microchemical Journal*, 102:11-17.
- Luczaj, W., Skrzydlewska, E.,** 2005. Antioxidative properties of black tea. *Preventive Medicine*, 40:910-918.
- Meagher, R.B.,** 2000. Phytorematadion of toxic elemental and organic pollutants. *Current Opinion in Plant Biology*, 3:153-162.

- Melek, E.**, 2006. Kurşun ve kadmiyumun katı faz ekstraksiyonu ile zenginleştirilmesi ve atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 40s.
- Mello, L.D., Alves, A.A., Macedo, D.V., Kubota, L.T.**, 2005. Peroxidase-based biosensor as a tool for a fast evaluation of antioxidant capacity of tea. *Food Chemistry*, 92:515-519.
- Mercimek, B.**, 2009. Suda eser miktarda bulunan bazı metal iyonlarının biyopolimerik sorbant kullanılarak önderistirilmesi spektrometrik metodlarla tayini. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü, Selçuk Üniversitesi, Konya, 48s.
- Mizuike, A.**, 1983. Enrichment techniques for inorganic trace analysis. Springer-Verlag, New York.
- Myers, R.H., Montgomery, D.C.**, 1995. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. Second Edition, *John Wiley and Sons*, New York.
- Naseri, M.T., Hosseini, M.R.M., Assadi, Y., Kiani, A.**, 2008. Rapid determination of lead in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 75:56-62.
- Oba, Ş.**, 2012. Ekstraksiyon koşulları optimize edilmiş bazı baharat ekstraktlarının köftenin depolama stabilitesi üzerine etkilerinin cevap yüzey metodu kullanılarak belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 39s.
- Oehmen, A., Vergel, D., Fradinho, J.**, 2013. Mercury removal from water streams through the ion exchange membrane bioreactor concept. *Journal of Hazardous Materials*, 264:65-70.

- Okcu, M., Tozlu, E., Kumlay, A.M., Pehlivan, M., 2009.** Ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri. Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Erzurum, Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Iğdır, *Alınteri dergisi*, 14-26.
- Öktüren, A.F., Sönmez, S., 2007.** Ağır metal toksisitesinin bitki metabolizması üzerine etkileri. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü, Antalya. s.30.
- Pedersen-Bjergaard, S., Rasmussen, K.E., 1999.** Liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 71:2650-2656.
- Pedersen-Bjergaard, S., Rasmussen, K.E., 2008.** Liquid phase microextraction with porous hollow fibers a miniaturized and highly flexible format for liquid-liquid extraction. *Journal of Chromatography A*, 1184:132-142.
- Raskin, I., Ensley, E., 2000.** Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up to environment. *John Wiley and Sons*, New York, 303.
- Reed, B.E., Matsumoto, M.R., 1993.** Modelling cadmium adsorption by activated carbon using the langmuir and freundlich isotherm expressions. *Separation Science and Technology*, 28:2179-2195.
- Rezaee, M., Yamini, Y., Khanchi, A., Faraji, M., Saleh, A., 2010.** A simple and rapid new dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop combined with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry for preconcentration and determination of aluminium in water samples. *Journal of Hazardous Materials*, 178-3:766-770.
- Sabuncu, M.E., 2014.** Süt ve süt ürünleri endüstrisi atıksularının elektrokoagülasyon yöntemi ile arıtımında RSM kullanılarak proses optimizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 49s.

- Sarafraz-Yazdi, A., Amiri, A.,** 2010. Liquid-phase microextraction, *Trends in Analytical Chemistry*, 29:1-14.
- Schmoll, O., Howard, J., Chilton, J., Chorus, I.,** 2006. Protecting groundwater for health: managing the quality of drinking-water. World Health Organization, Volume. 1, *IWA Publishing*, Britain.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A.,** 1998. Principles of instrumental analysis. Harcourt Brace Company, Orlando, Florida.
- Stresty, T.V.S., Madhava Rao, K.V.,** 1999. Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cell of pigeonpea. *Environmental and Experimental Botany*, 41:3-13.
- Subaşı, A.,** 2010. Yanıt yüzey yöntemi yardımı ile ısı değıştirici optimizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 35s.
- Şahin, A.C., Durukan, I.,** 2011. Ligandless-solidified floating organic drop microextraction method for the preconcentration of trace amount of cadmium in water samples. *Talanta*, 85:657-61.
- Şentürk, M.,** 2013. Saroz körfezi balık türlerinde arseniğin hidrür oluşurmalı atomik absorpsiyon ve grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 40s.
- Tanrıverdi, N.,** 2012. Atom tuzaklı atomik absorpsiyon spektrometresi ile kurşun tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 39s.
- Turan, M.D., Altundoğan, H.S.,** 2011. Hidrometalurjik araştırmalarda Yanıt yüzey yöntemlerinin kullanımı. *Madencilik*, 50:11-23.

Ulutürk, H., 2016. Bazı eser düzey metallerin sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi kullanılarak tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çankırı, 8s.

URL-1, 2018; www.tuik.gov.tr. 25 Ekim 2017.

URL-2, 2005 www.caykur.org.tr. 25 Ekim 2017.

URL-3, http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf. 25 Ekim 2017.

Uzunoğulları, P., 2010. Patates atığında *aureobasidium pullulans* ile pullulan üretimi ve cevap yüzey metodu ile proses koşullarının optimizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 41s.

Ürküt, Z., 2007. Kalsiyum aljinatta immobilize edilmiş *aureobasidium pullulans* P56 hücreleri ile pullulan üretiminin optimizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 41s.

Vyas, D., Kumar, S., 2005. Tea [*Camellia sinensis*(L.) O.Kuntze] clone with lower period of winter dormancy exhibits lesser cellular damage in response to low temperature. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43:383-388.

Wadhwa, S.M., Tuzen, M., Kazi, T.G., Soylak, M., Hazer, B., 2014. Polyhydroxybutyrate-b-polyethyleneglycol block copolymer for the solid phase extraction of lead and copper in water, baby foods, tea and coffee samples. *Food Chemistry*, 152:75-80.

Wei, Y., Lei, H., Wang, L., Zhu, L., Zhang, X., Liu, Y., Chen, S., Ahring, B., 2014. Liquid Liquid extraction of biomass pyrolysis bio-oil, *Energy Fuels*, 28:1207-1212.

Weisburger, J.H., Chung, F.L., 2002. Mechanism by chronic disease caused by nutritional factors and tobacco products and their prevention by tea polyphenols. *Food and Chemical Toxicology*, 40:1145-1154.

Weldon, F., 1999. Atomic spectroscopy and related topics. Semester 1.

Welz, B., Sperling, M., 1999. Atomic absorption spectrometry. 3rd Completely Revised Edition, *Wiley-VCH*, Weinheim.

Wu, C., Zhao B., Li, Y., Wu, Q., Wang, C., Wang, Z., 2011. Development of dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop for the sensitive determination of trace copper in water and beverage samples by flame atomic absorption spectrometry. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(3):829-835.

Xiao-Huan, Z., Qiu-Hua, W., Mei-Yue, Z., Guo-Hong, X., Wang, Z., 2009. Developments of dispersive liquid-liquid microextraction technique. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 37:161-168.

Yilmaz, E., Soylak, M., 2014. Development a novel supramolecular solvent microextraction procedure for copper in environmental samples and its determination by microsampling flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 126:191-195.

Zang, X.H., Wu, Q.H., Zhang, M.Y., Xi, G.H., Wang, Z., 2009. Developments of dispersive liquid-liquid microextraction technique. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 37:161-168.

Zeid, A., Othmana, A., Yilmaz, E., Habilaa, M., Soylak, M., 2013. Development of a dispersive liquid-liquid microextraction combined with flame atomic absorption spectrometry using a microinjection system for the enrichment, separation, and determination of nickel in water samples. *Desalination and Water Treatment*, 51:34-36.

Zhu, Y.-x., Huang, H., Tu, Y.-y., 2006. A review of recent studies in China on the possible beneficial effects of tea. *International Journal of Food Science and Technology*, 41: 333-340.



ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Karakoçan’da doğdum. İlköğretim ve lise eğitimimi Karakoçanda tamamladım. 2014 yılının Temmuz ayında Munzur Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünden mezun oldum. 2014 yılının Ekim ayında Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladım ve hala devam etmekteyim.

