T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BULUTLANMA NOKTASI EKSTRAKSİYONU VE AKIŞ ENJEKSİYON SİSTEMLERİYLE BİRLEŞTİRİLMESİ

Ebru GÜLER

YÜKSEK LİSANS

KİMYA Anabilim Dalını

HAZİRAN-2021
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Ebru GÜLER tarafından hazırlanan "BULUTLANMA NOKTASI EKSTRAKSİYONU VE AKIŞ ENJEKSİYON SİSTEMLERİYLE BİRLEŞTİRİLMESİ" adlı tez çalışması 17/06/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	**İmza**
Başkan Prof. Dr. Hüseyin KARA	……..
Danışman Prof. Dr. Hüseyin KARA	……..
Üye Doç. Dr. Hamide Filiz AYYILDIZ	……..
Üye Doç. Dr. Mustafa TOPKAFA	……..

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Sait SEZGİN
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (SÜ-BAP) tarafından 19201097 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Ebru GÜLER

Tarih: 17.06.2021

İmza:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

BULUTLANMA NOKTASI EKSTRAKSİYONU VE AKIŞ ENJEKSİYON SİSTEMLERİYLE BİRLEŞTİRİLMESİ

Ebru GÜLER

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin KARA

2021, 71 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Hüseyin KARA
Doç. Dr. Hamide Filiz AYYILDIZ
Doç. Dr. Mustafa TOPKAFA

Bulutlanma noktası ekstraksiyonu (CPE) eser düzeydeki madde analizi için kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinden biridir. Daha az toksik, düşük maliyetli ve daha pratik olması açısından klasik ekstraksiyon yöntemlerine üstünlük göstermektedir. Bulutlanma noktası ekstraksiyonu; ayrılması ve zenginleştirilmesi istenen türleri içeren bir numune çözeltisine, pH, sıcaklık, iyonik şiddet gibi uygun analiz şartları sağlanarak, iyonik olmayan yüzey aktif madde üzerine metal iyonun/metal kompleksinin adsorblanmasıyla elde edilen misel fazının, ayrılması esasına dayanan saflaştırma yöntemidir. Bulutlanma noktası ekstraksiyonu deneylerinden elde edilen misel fazlarının analizinde şimdiye kadar kullanılmamış olan akış enjeksiyon analiz tekniği (FIA), temelde çok yönlülüğü, otomasyon kolaylığı, hızlı olması ve minimum seviyede numune hacmi ve çözücü kullanılması nedeniyle üstünlükler gösteren bir analiz tekniğidir.

Bu çalışmada, Cu (II) iyonlarının saflaştırılması ve zenginleştirilmesi için yeni bir CPE yöntemi ve FIA tekniği geliştirilmiştir. Analit çözeltisine, kompleksleştirici olarak L izolösin, pH ayarlayıcı olarak NH_3/NH_4^+ tamponu ve iyonik şiddetini uygun hale getirmek için tuz çözeltisi ilave edilmiş daha sonra sürfaktant olarak daha uygun oktilfenoksi polietoksi etanol (Triton X-114) ilave edilerek çözelti ısıtılıp sonra da soğutularak yoğun faz elde edilmiş ve analizleri gerçekleştirilmiştir. Optimum şartların belirlenmesi için pH, L-izolösin konsantrasyonu ve Triton X-114 konsantrasyonu gibi önemli parametrelerin optimum düzeyleri merkezi kompozit tasarım yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda yanıt değeri olarak pik alanları dikkate alınmış ve optimum şartların pH'nın 9.0 L-izolösin konsantrasyonun 0.6 mmol/L ve Triton X-114 konsantrasyonun da %0,2 olduğu belirlenmiştir. Cu (II) iyonlarının CPE sonrası; AAS, UV-Vis Spektrofotometre ve FIA sistemleri ile tayin edilmeye çalışılmıştır. Akış enjeksiyon analiz tekniğinin optimizasyonunda da merkezi kompozit tasarım kullanılmış ve taşıyıcı faz akış hızı (mL/dk), sıcaklık (ºC) ve numune hacmi (µL) gibi önemli parametreler incelenmiş, yanıt değeri olarak pik alanları dikkate alınmış ve akış hızı 1 mL/dk, sıcaklık 30 ºC ve numune hacmi 30 µL olarak akış enjeksiyon analiz şartları optimize edilmiştir. Daha sonraki aşamalarda FIA ile yapılan çalışmalarda; Deriştirme katsayısının 12,4, LOD değerinin 0,145 mg/L ve LOQ değerinin ise 0,484 mg/L olduğu bulunmuştur. Yapılan bu çalışmada Cu(II) iyonlarının sulu çözeltilerde deriştirilmesi için kullanılan bulutlanma noktası ekstraksiyon yönteminin oldukça verimli, FIA sisteminin ise kolay hızlı ve etkili bir tayin metodu olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (CPE), Akış Enjeksiyon Analizi (FIA), Cu (ll) İyonu, Triton X-114, L-İzolösin

ABSTRACT

MASTER

CLOUD POINT EXTRACTION AND COMBINATION WITH FLOW INJECTION SYSTEMS

Ebru GÜLER

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY

Advisor: Prof. Dr. Hüseyin KARA
2021, 71 Pages

Jury

Prof. Dr. Hüseyin KARA

Assoc. Prof. Hamide Filiz AYYILDIZ

Assoc. Prof. Mustafa TOPKAFA

Cloud point extraction (CPE) is one of the extraction methods used for trace matter analysis. It is superior to classical extraction methods in terms of being less toxic, low cost and more practical. Cloud point extraction; It is a purification method based on the separation of the micelle phase obtained by adsorbing the metal ion/metal complex on the non-ionic surfactant by providing appropriate analysis conditions such as pH, temperature, and ionic strength to a sample solution containing the species to be separated and enriched. Flow injection analysis technique (FIA), which has not been used until now in the analysis of micelle phases obtained from cloud point extraction experiments, is an analysis technique that shows superiorities mainly due to its versatility, ease of automation, speed, and the use of minimal sample volume and solvent.

In this study, a new CPE method and FIA technique were developed for the purification and enrichment of Cu(II) ions. L isoleucine as a complexing agent, NH3/NH4+ buffer as a pH adjuster, and salt solution to optimize its ionic strength is added to the analyte solution. obtained and analyzed. In order to determine the optimum conditions, the optimum levels of important parameters such as pH, L-isoleucine concentration and Triton X-114 concentration were determined using the central composite design method. As a result of the analysis, the peak areas were taken into account as the response value and it is determined that the optimum conditions were pH 9.0 L-isoleucine concentration 0.6 mmol/L and Triton X-114 concentration 0.2%. After CPE of Cu(II) ions; AAS is tried to be determined by UV-Vis Spectrophotometer and FIA systems. In the optimization of the flow injection analysis technique, a central composite design is used and important parameters such as carrier phase flow rate (mL/min), temperature (ºC) and sample volume (µL) were examined, the peak areas were taken into account as the response value, and the flow rate is 0.5 mL/min. , temperature 30 ºC and sample volume 30 µL, flow injection analysis conditions were optimized. In the later stages, it is observed that enrichment factor is 12,4 the LOD value is 0.145 mg/L and the LOQ value is 0.484 mg/L and the in the FIA systems. In this study, it has been seen that the cloud point extraction method used for the concentration of Cu(II) ions in aqueous solutions is quite efficient, while the FIA system is an easy, fast and effective determination method.

Keywords: Flow Injection Analysis (FIA), Cloud Point Extraction (CPE), Copper (II) Metal Ions, Triton X-114, L-Isoleucine

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Hüseyin KARA danışmanlığında tamamlanarak, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü`ne Yüksek Lisans tezi olarak sunulmuş ve S.Ü. BAP tarafından 19201097 nolu proje ile desteklenmiştir.

Lisansüstü çalışmalarım süresince bilimsel katkıları ve maddi manevi yardımları ile beni destekleyen ayrıca bu tez projesinin konu seçiminde, hazırlanmasında ve araştırmaların yürütülmesinde her türlü bilgi, tecrübe ve öngörüleriyle bana yol gösteren kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Hüseyin KARA beyefendiye sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca maddi manevi desteğini gördüğüm, her türlü bilgi ve ilgisini benden esirgemeyen kıymetli hocam Doç. Dr. H. Filiz AYYILDIZ'a ve değerli araştırma grubu hocalarımızdan Doç. Dr. Fatih DURMAZ'a, Doç. Dr. Mustafa TOPKAFA'ya, Arş. Gör. İsmail TARHAN'a, Arş. Gör. Aslan TAŞ'a ve Arş. Gör. Muhammed Raşit BAKIR'a doktora öğrencilerinden Huriye ÇAKIR TAŞ'a, Oktay KALKAN'a, Raziye Nur ÖZÇİÇEK'e ve yüksek lisans öğrencilerinden Sibel CARI 'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca açık lise zamanlarımdan üniversite hayatıma kadar beni maddi manevi destekleyen, duasını benden esirgemeyen bu hayattaki en büyük şansım annem Havva GÜLER'e, kardeşlerim Muhammet GÜLER'e ve Celalettin GÜLER'e sonsuz teşekkür ediyor ve bu tezi onlara atfediyorum.

Ebru GÜLER
KONYA-2021

Canım Aileme...

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

ŞEKİLLLER DİZİNİ ..... **x**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **xii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xiii**

1. GİRİŞ **1**

2. EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ VE ÇEŞİTLERİ **3**

3. BULUTLANMA NOKTASI EKSTRAKSİYONU (CPE) **4**

3.1. CPE'de Kullanılan Temel Kavramlar 5

3.1.1. Yüzey aktif madde ve çeşitleri 5

3.1.2. Kritik misel konsantrasyonu (CMC) ve misel yapısı 8

3.1.3. Bulutlanma noktası sıcaklığı (CPT) ve kraft noktası 8

3.2. CPE' ye Etki Eden Faktörler 10

3.2.1. Ortamın pH değeri 10

3.2.2. Sıcaklık 10

3.2.3. Yüzey aktif madde konsantrasyonu 11

3.2.4. Kompleksleştirici seçimi 11

3.2.5. İyonik güç 14

3.2.6. İnkübasyon süresi, santrifüjleme ve soğutma 14

3.3. CPE Yöntemini Uygulamanın Avantajları ve Dezavantajları 15

3.3.1. CPE yöntemini uygulamanın avantajları 15

3.3.2. CPE yöntemini uygulamanın dezavantajları 15

3.4. Bakır Metali ve Bazı Önemli Özellikleri 16

4. AKIŞ ENJEKSİYON ANALİZ SİSTEMLERİ (FIA)..... 18

4.1. FIA`nın Avantajları..... 20
4.2. FIA`nın Uygulamaları..... 20

5. KAYNAK ARAŞTIRMASI..... 21

6. MATERYAL VE YÖNTEM..... 23

6.1. Kullanılan Cihazlar..... 23
6.2. Kullanılan Kimyasallar..... 24
6.3. Analizlerde Kullanılacak Çözeltilerin Hazırlanması..... 25
6.3.1. Tampon ve tuz çözeltilerin hazırlanması:..... 25
6.3.2. Yüzey aktif maddelerin hazırlanması..... 26
6.3.3. Ligand çözeltilerinin özellikleri ve hazırlanması:..... 27
6.4. Genel CPE Akış Şeması ve Akış Enjeksiyon Analiz Sistemi..... 28
6.5. Merkezi Kompozit Deneysel Tasarım Şartları..... 29
6.5.1. FIA şartlarının optimizasyonu için CDD Şartları..... 29
6.5.2. CPE Analiz Şartlarının Optimizasyonu İçin CDD Şartları..... 30
6.6. Bakır ve 8-Hidroksi Kinolinin CPE Yöntemiyle İncelenmesi..... 31
6.7. Alüminyum , Çinko ve 8-Hidroksikinolin Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu İle İncelenmesi(Bavili Tabrizi, 2007)..... 32
6.8. Bakır-İzolösinin Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu ile İncelenmesi(Liang ve Yang, 2010)..... 33

7. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA..... 35

7.1. CPE Sonrası Zn-8HQ ve Al-8HQ'nin İncelenmesi..... 35
7.1.1. Zn-8HQ Kompleks, Alt Faz ve Üst Faz UV-Vis Sonuçları..... 35
7.1.2. Al-8HQ Kompleksi, Alt Faz ve Üst Faz UV-Vis Sonuçları..... 36
7.2. CPE Sonrası Cu-8HQ Yapısını İncelenmesi..... 37
7.2.1. Cu-8HQ UV-Vis Sonuçları..... 37
7.3. CPE sonrası Cu-İzolösin Kompleks Yapısının İncelenmesi..... 39
7.3.1. Cu-İzolösin Alt Faz UV-Vis Sonuçları..... 39
7.3.2. Cu-İzolösin Alt Fazların Hareketli Faz Seçimi UV-Vis Sonuçları..... 40
7.3.3. CPE Sonrası AAS Analiz Sonuçları..... 41

7.4. Merkezi Kompozit Üç Boyutlu Deneysel Tasarım Grafikleri 43
7.4.1. FIA analiz şartları optimizasyonu 43
7.4.2. CPE analiz şartları optimizasyonu: 44
7.5. CPE Sonrası FIA Sonuçları 45
7.5.1. FIA analiz şartlarının optimizasyonu 45
7.5.2. CPE analiz şartları için merkezi kompozit tasarım grafikleri 46
7.5.3. Bakır izolösin kompleks yapısının FIA'de incelenmesi 47
7.6. Deriştirme Katsayısı 50
7.7. Gözlenebilme sınırı (LOD) 50
7.8. Tayin sınırı (LOQ) 51

SONUÇLAR VE ÖNERİLER 52

KAYNAKLAR 53

ÖZGEÇMİŞ 56

ŞEKİLLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.1.1 CPE yönteminde kullanılan noniyonik yüzey aktif madde çeşitlerinin moleküler yapıları 6

Şekil 3.1.1.2: Yüzey aktif maddelerin hidrofobik ve hidrofilik fonksiyonel grupları (Johnson, 2013)..... 7

Şekil 3.1.1.3: Yüzey aktif maddelerin misellerin geometrik yapısının oluşumuna etkisi (Johnson, 2013)..... 7

Şekil 3.2.3.1 Misel oluşumuna kritik misel konsantrasyonun etkisi 11

Şekil 3.2.4.1: Çinko ve 8HQ kompleksi..... 12

Şekil 3.2.4.2: Bakır ve 8HQ kompleksi..... 12

Şekil 3.2.4.4: Bakır ve PAN kompleksi 12

Şekil 3.2.4.3: Alüminyum ve 8HQ kompleks yapısı..... 12

Şekil 3.2.4.5: Bakır ve L-İzolösin kompleks yapısı 12

Şekil 3.2.6.1: Ekstraksiyon yönteminde kullanılan sabitlenebilir su banyosu ve 14

Şekil 4.1: Akış Enjeksiyon Analiz Sistemi 19

Şekil 6.3.2.1: TRİTON X-114 açık formül yapısı..... 26

Şekil 6.3.2.2: Triton X-114 MSDS sembolleri..... 26

Şekil 6.3.3.1: L-İzolösin ve 8-HQ açık molekül yapıları 27

Şekil 7.1.1.1: Zn-8HQ kompleks, alt faz ve üst faz UV-Vis spektrumları 35

Şekil 7.1.2.1: Al-8HQ kompleks, alt faz ve üst faz UV-Vis spektrumları..... 36

Şekil 7.1.2.2: Farklı konsantrasyonlarki Al-8HQ alt faz UV-Vis spektrumları..... 36

Şekil 7.1.2.3: Farklı konsantrasyonlarki Al-8HQ üst faz UV-Vis spektrumları 36

Şekil 7.1.2.4: Farklı konsantrasyonlarki Al-8HQ alt ve üst faz UV-Vis kalibrasyon grafikleri..... 36

Şekil 7.2.2.1: Cu-8HQ, TX-114, Cu(ll) ve 8HQ UV-Vis Spektrumları..... 37

Şekil 7.2.2.2: Cu-8HQ, TX-114, Cu(ll) ve 8HQ UV-Vis Spektrumlarının Alt ve Üst Fazlarla Karşılaştırılması 38

Şekil 7.3.1.1: Cu-İzolösin Kompleks Yapısının Artan Konsantrasyonuna Göre Alt Faz UV-VİS spektrumları 39
Şekil 7.3.2.1: %1 HNO_3 in MeOH baseline UV-Vis Spektrumları 40
Şekil 7.3.2.2: MeOH-H_2O baseline UV-Vis Spektrumları 40
Şekil 7.3.2.3: H_2O baseline UV-Vis Spektrumları 40
Şekil 7.3.3.1: AAS Analizleri İçin Hazırlanan Cu-İzolösin Komplekslerinin Kalibrasyon Grafiği 41
Şekil 7.3.3.2: CPE Sonrası AAS Cu-İzolösin Alt Faz Kalibrasyon Grafiği 42
Şekil 7.5.1.2: Sıcaklık (°C)-Akış Hızı (dk/mL) 45
Şekil 7.5.1.1: Numune Hacmi (µL)-Akış Hızı (dk/mL) 45
Şekil 7.5.1.3: Sıcaklık (°C)-Numune Hacmi (µL) 45
Şekil 7.5.2.3: Ligand (mmol/L)- Sürfaktant(%) 46

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 3.1.3.1: Yüzey aktif maddelerin kullanılacak alanlara göre CPT sıcaklık değerleri 9

Tablo 3.2.4.1: Bazı metallerin Triton X-114 ve Triton X-100 kullanarak farklı ligantlarla CPT sıcaklıkları(Samaddar ve Sen, 2014)..... 13

Tablo 6.1.1: Analizlerde kullanılan cihazlar..... 23

Tablo 6.2.1: Kullanılan kimyasalların listesi 24

Tablo 6.5.1.1: FIA deneysel tasarım analiz şartları 29

Tablo 6.5.2.1: CPE deneysel tasarım analiz şartları 30

Tablo 7.3.3.1: AAS Analizleri İçin Hazırlanan Artan Bakır Konsantrasyonun Kalibrasyon Çözeltileri..... 41

Tablo 7.3.3.2: CPE Sonrası AAS Cu-İzolösin Alt Faz Kalibrasyon Grafiğinin Konsantrasyon ve Absorbans Değerleri 42

Tablo 7.4.1.1: FIA Deneysel Tasarım Analiz Şartlarına Karşılık Gelen Cevap Değerleri 43

Tablo 7.4.2.1: CPE Deneysel Tasarım Analiz Şartlarına Karşılık Gelen Cevap Değerleri 44

Tablo 7.5.3.1: FIA Analizleri İçin Hazırlanan Cu-İzolösin Komplekslerinin Konsantrasyon Aralıkları..... 48

Tablo 7.5.3.2: CPE sonrası alt faz konsantrasyon ve pik alanları..... 49

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

- **M :** Molarite
- **mM :** Milimolar
- **% :** Yüzde
- **dk :** Dakika
- **g :** Gram
- **mg :** Miligram
- **µg :** Mikrogram
- **L :** Litre
- **mL :** Mililitre
- **µL :** Mikrolitre
- **°C :** Santigrat derece
- **ppm :** Milyonda Bir Kısım
- **rpm :** Dakikada Devir Sayısı

Kısaltmalar

- **8HQ :** 8-Hidroksi Kinolin
- **AAS :** Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
- **CPE :** Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu
- **CP :** Bulutlanma Noktası
- **CDD:** Merkezi Kompozit Tasarım
- **CMC :** Kritik Misel Konsantrasyonu
- **CPT:** Bulutlanma Noktası Sıcaklığı
- **DAD :** Diyod array dedektör
- **FAAS :** Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi
- **FIA:** Akış Enjeksiyon Analizi
- **HPLC :** Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
- **UV-Vis :** Ultraviyole Görünür Bölge Spektrofotometresi

1. GİRİŞ

Doğa, insanların, bitkilerin, hayvanların ve mikroorganizmaların bir arada yaşamaya çalıştığı yerdir. Dünyanın ekosistemi, birlikte uyum içinde çalışan biyosfer (canlılar), atmosfer (hava), litosfer (kara) ve hidrosfer (su) olmak üzere dört temel unsur ile tanımlanır. Doğayı doğrudan etkileyen çevresel kirlilik ekosistemimizi olumsuz yönde etkilemektedir. Artan nüfus yoğunluğuyla birlikte endüstriyelleşmenin artması da bu doğrultuda çevresel kirleticilerin artmasına neden olmuştur. Son birkaç yüzyılda sanayileşmenin hızla artması doğanın kendi atıklarından çok endüstriyel atıkların doğaya ve doğal kaynaklara zarar vermesine neden olmuştur. Diğer taraftan fosil yakıt tüketimi, artan nüfus yoğunluğuyla birlikte enerji ihtiyacı talebini daha çok artırmış ve bu da dünyanın çevre kirliliği sorununu daha da kötüleştirmiştir. Doğa inorganik iyonlar, organik kirleticiler, ağır metaller, radyoaktif izotoplar, gazlı kirleticiler ve nanopartiküller gibi çeşitli kirleticiler tarafından ciddi şekilde kirletilmeye devam etmektedir. Endüstriyelleşmenin getirdiği zararlardan olan ağır metal kirliliği doğaya, canlılara ve insanlara geri dönüşümü olmayan zararlar vermiştir. Söz konusu çevresel kirliliğin insan vücudunda tahribatı büyük olup uzun yıllar vücut da birikmesiyle uzun vadede organ yetmezliğine, kronik hastalıklara, organ kaybına ve hatta ölümlere sebep olmuştur.

Ağır metallerin tespit edilmesi hususunda birçok teknik geliştirilmiş ve tayini yapılmıştır. Ancak tespit edilebilirlik düzeyinde olmayan ağır metallerin tespit edilmesi geçmiş yıllarda çok fazla araştırılmamış ve yapılamamış bunun sonucu olarak uzun vadede zarar vermeye devam etmiştir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda eser düzeydeki ağır metallerin ve toksik maddelerin tespit edilebilmesi için birçok yöntem geliştirilmiş ve uygulanmıştır. Bunlardan bazıları; birlikte çöktürme, katı faz ekstraksiyonu dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon ve bulutlanma noktası ekstraksiyonudur. Bulutlanma noktası ekstraksiyonu bahsi geçen ekstraksiyon yöntemlerinden daha pratik ve hızlı olması sebebiyle daha çok tercih edilmektedir. Bulutlanma noktası ekstraksiyonunun bir diğer özelliği de düşük toksisiteye sahip olmasıdır. Bu ekstraksiyon tekniğinde kullanılan misel oluşumuna dayalı yüzey aktif maddelerin noniyonik olması yapılan analiz sonrası kimyasal atıkların çevreye zarar vermemesi ekstraksiyon tekniğini diğer ekstraksiyon tekniklerinden ayıran başlıca üstün özellikleridir. Endüstriyel temizlik malzemelerinde kullanılan yüzey aktif maddeler çoğunlukla iyonik yapıda olup ekosistem dengesine zarar vermektedir. Kullanılan bu deterjan kalıntıları kanalizasyon yollarıyla denizlere, doğal yer altı kaynaklarına ve toprak kirliliğine neden olmaktadır.

Bu tezin amacı; bulutlanma noktası ekstraksiyonu ile tespit edilebilirliği düşük metallerin uygun şartlar yerine getirilerek çevreye daha az zararlı noniyonik yüzey aktif maddelerin üzerine metal komplekslerinin adsorblanarak seyreltik ortamdan derişik ortama alınması esasına dayanan bir ayırma ve saflaştırma yöntemi olan bulutlanma noktası ekstraksiyonunu akış enjeksiyon analiz sistemiyle birleştirerek daha duyarlı ve doğru ölçümler yapmak hedeflenmiştir. Bulutlanma noktasında ekstraksiyonunda kullanılan noniyonik yüzey aktif maddelerin düşük sıcaklıkta olması sebebiyle analiz için gerekli enerji düzeyi minimum seviyede tutulması amaçlanmıştır. Ortama ilave edilen elektrolitlerin etkisiyle de faz ayrımın kolaylaşması, bulutlanma noktası sıcaklığının düşürülmesi ve yüzey aktif maddelerin hidrofobik ve hidrofilik uçlarının yönelmelerinin kolaylaştırılması sağlanmıştır. Hidrofobik uçların apolar yapıdaki metal kompleksine bağlanması ve hidrofilik uçların polar yapıdaki sulu çözeltide misel yapısı oluşturmasıyla meydana gelir. Oluşan misel yapıları kendi aralarında moleküler bir çekim (dipol-dipol) oluşturmasıyla faz ayrımı gerçekleşir. Oluşan fazların daha net bir şekilde ayrılması için santrifüjleme yapılır. Fazların ayrılması ile sürfaktanca zengin faza gerekli seyreltme işlemi yapılarak, yöntemin verimliliği ve söz konusu metal için uygulanabilirliği kontrol etmek amacıyla cihazda okumaya hazır hale getirilirmiştir. Mevcut çalışmada, spektrofotometrik olarak analiz yapmadan önce Cu (II)'nin CPE yöntemiyle ön konsantrasyonu için amino asit (L-izolösin) kullanılmıştır. Cu-amino asit kompleksleri UV-Vis spektrofotometresi tayini yapıldıktan sonra akış enjeksiyon analiz tekniğiyle de analizi yapılmış ve bazı şartlar belirlenmiştir. CPE' nin akış enjeksiyon analiz yöntemiyle tayinin verimliliğini etkileyen faktörler sistematik olarak çalışılmıştır. Daha sonraki aşamalarda ekstraksiyon verimliliğini artırmak amacıyla analiz şartları üzerinde de çalışmalar yapılmıştır.

2. EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ VE ÇEŞİTLERİ

Geçmişten günümüze matriks örneklerinin analizinde hassas, duyarlı ve uygulanabilir halde olması oldukça önemli bir hale gelmiştir. Analiz etmede hassasiyeti yüksek cihazlar geliştirilmesine rağmen, cihazlar çoğu zaman matriks ortamının analizinde başarı sağlayamamıştır(Citak ve Tuzen, 2010). Analiz edilecek türlerin derişimlerinin çok küçük olduğu durumlarda, eğer örnek matrikse birçok potansiyel girişimci tür içeriyorsa bu tür analizler oldukça zor hale gelir. Böyle bir ortamda hedef türlerin duyarlı ve doğru analizlerini yapabilecek bir analitik yaklaşım geliştirilmesi oldukça önemli ve zordur. Bu sebeple bazı işlemler yapılarak matris ortamındaki analitleri ayırarak zenginleştirme yapılabilmelidir. Yapılacak olan bu işlemler genel olarak damıtma, katı yüzeye tutunma ve ekstraksiyon şeklinde olmalıdır(Fang ve ark., 2001). Ekstraksiyon işlemlerinde genellikle sıvı-sıvı, katı-sıvı ve katı faz ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır. Zenginleştirme yöntemlerinin amacı aslında büyük hacimli eser bileşenlerin küçük hacme düşürülmesi işlemidir(Hinze ve Pramauro, 1993). Bu süreç zarfında örnekteki ilk maddelerin bir kısmının örnekten ayrılması ve örneğe yabancı maddelerin eklenmesi orijinal matriksi analiz için daha uygun bir şekle dönüştürür. Ayırt etme işlenmeleri çoğu zaman, farklı iki faz oluşumu ve maddenin faz değiştirmesi şeklindedir(Duran ve ark., 2012). Bu iki fazlardan birinde analiz edilecek madde diğer fazda ise bozucu etkiye sahip olan madde toplanır. Fiziksel yöntemlerle ayrılan bu iki fazdan girişimci maddenin derişimi tayin edilecek maddenin vereceği analize temelde ki tepkimelere zarar vermeyecek düzeye indirgenmiş olur. En yaygın olarak kullanılan zenginleştirme yöntemleri elektrolit zenginleştirme, iyon değiştirme, adsorpsiyon ile zenginleştirme, birlikte çöktürme, uçuculaştırma ve ekstraksiyonudur(Sun ve ark., 2012).

Ekstraksiyon yöntemlerinin değerlendirilmesinde en önemli değişkenler(Skoog ve ark., 2017);

- Geri kazanım
- Zenginleştirme katsayısı
- Uygulanabilirliği
- Örnek miktarı gibi etkenler

Ekstraksiyon yöntemleri aşağıdaki gibi gösterilebilir(Skoog ve ark., 2017);

- Sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu
- Katı faz mikroekstraksiyonu
- Birlikte çöktürme mikroekstraksiyonu
- Elektrolitik zenginleştirme
- İyon değiştiriciler ile zenginleştirme
- Bulutlanma noktası ekstraksiyonu

3. BULUTLANMA NOKTASI EKSTRAKSİYONU (CPE)

Ön deriştirme ve saflaştırma prosedürleri, deneysel çalışmalar için söz konusu metodun duyarlılığını ve seçiciliğini artırmak deneysel çalışmalarda büyük bir zorluk teşkil etmiştir. Bu amaçla, katı faz ekstraksiyonu (SPE), sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE), iyon değişimi ve birlikte çöktürme dâhil olmak üzere birçok farklı prosedürler geliştirilmiştir. Bulutlanma noktası ekstraksiyonu (CPE), geleneksel sıvı-sıvı ekstraksiyonuna göre çeşitli avantajlar sunan analizi yapılacak analitin ön deriştirilmesi ve saflaştırılması için çevre dostu bir ekstraksiyon yöntemidir. Deneysel çalışma sırasında minimum miktarda toksik organik çözücü kullanıldığı için yeşil ekstraksiyon yöntemi olarak da adlandırılır(Safavi ve ark., 2004).

1976'da Watanabe ve çalışma arkadaşları yeni bir saflaştırma ve ekstraksiyon tekniği olan bulutlanma noktası ekstraksiyonu organik çözücü kullanarak yapılan ekstraksiyon türlerine bir alternatif olarak bulunmuştur(Watanabe ve Tanaka, 1978). Watanabe ve çalışma arkadaşları ilk olarak düşük konsantrasyonlarda Ni^{2+} iyonunun 1-(2-Thiazolylazo) -2-naftol (TAN) ile kompleks yapısını oluşturup bu kompleks yapıyı polioksietilen izooktil siklohekzil eter aracılığıyla (Triton X-100) seyreltik ortamdan derişik ortama çekmesiyle keşfedilmiştir(Wang ve ark., 2006). Düşük toksisiteye sahip olması, pratik ve düşük maliyetli olmasının dışında eser düzeyde madde analizi için de kullanılan bu ekstraksiyon yöntemi ayırma, saflaştırma ve tayin sınırının altında olan maddeleri derişik hale getirilerek okunmasına olanak sağlayan bir ekstraksiyon yöntemidir(Ghaedi ve ark., 2009a). Bulutlanma noktası ekstraksiyonu ilk kullanıldığı zamanlarda metallerin hidrofobik ligantlarla oluşturduğu komplekslerinin ön konsantrasyonu için kullanılmış olsa da proteinlerin saflaştırılması, pestisitlerin tayinini, nanopartiküllerin tespiti ve fenolik maddelerin deriştirilmesi gibi birçok alanda kullanılmıştır. Bu nedenle, son yıllarda, teorik çalışmalardan çok organik ve inorganik analitlerin deriştirilmesi ve tayin edilmesi gibi birçok alanda çalışmalar yapılmış ve yayınlanmıştır (Bezerra ve ark., 2005).

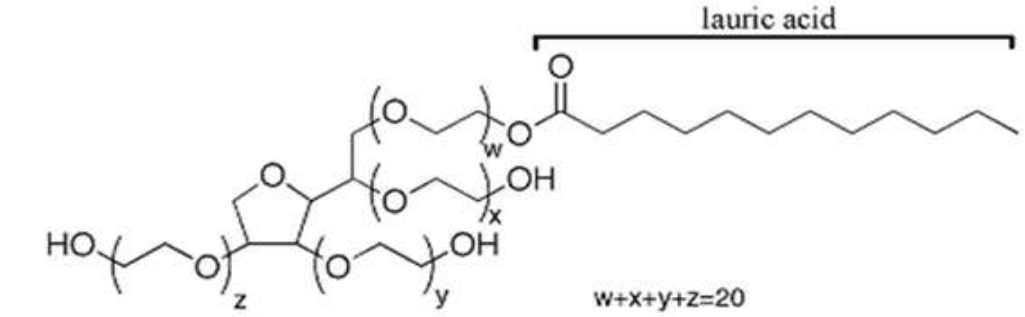
3.1. CPE'de Kullanılan Temel Kavramlar

Bulutlanma noktası ekstraksiyonunun temel prensibini oluşturan bazı önemli kavramlar vardır. Bu temel kavramlar ekstraksiyon yöntemini doğrudan etkileyen bu kavramlar; yüzey aktif madde ve çeşitleri, yüzey aktif maddenin oluşturduğu misel yapısı, kritik yüzey aktif madde konsantrasyonu, misellerin oluşması için gerekli olan bulutlanma noktası ve kraft noktası gibi kavramlardır(Gulmini ve ark., 2002).

3.1.1. Yüzey aktif madde ve çeşitleri

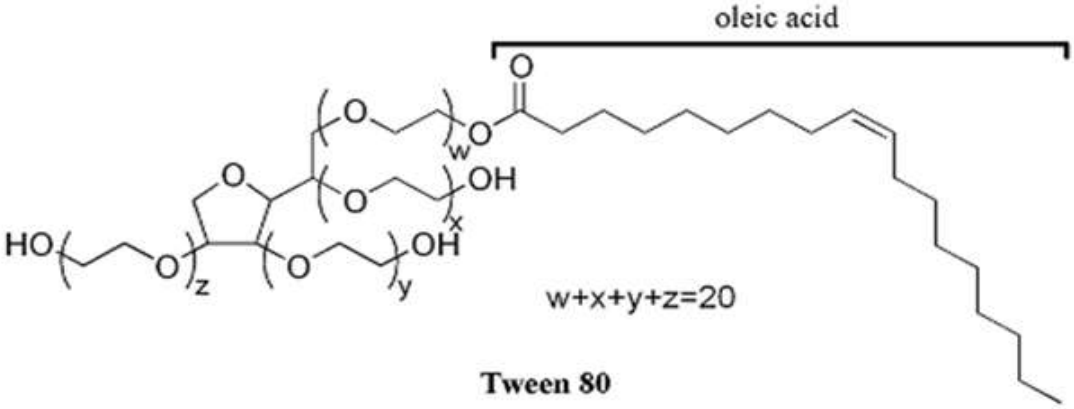
Artan nüfus yoğunluğu ile birlikte hijyen koşullarının iyileştirilmesi için yüzey aktif maddelerin kullanımı artmıştır. Fakat yüzey aktif maddeler deniz suyu ve atık su kalitesi üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Kanalizasyonlar aracılığıyla denizlere ulaşan yüzey aktif maddeler, sıcaklığın etkisiyle buharlaşarak su-atmosfer ara yüzeyinde çözünmüş oksijenin miktarını azaltıp ekosistem dengesine zarar verirler.

Yüzey aktif maddeler suda veya bir sulu çözeltide çözündüğünde yüzey gerilimini etkileyen (çoğunlukla azaltan) kimyasal bileşiktir. Yüzey aktif maddenin İngilizce olan karşılığı ***sur***face ***act***ive ***a***ge***nt*** kelimelerinin harflerinden oluşan bir kısaltma olan surfactant (surfaktan) kelimesi de yüzey aktif madde yerine kullanılır(Bosch Ojeda ve Sanchez Rojas, 2009). Su içerisinde kendi kendine "oto-organize" olabilen yüzey aktif maddeler suyu seven ***(hidrofilik)*** ve suyu sevmeyen ***(hidrofobik)*** olarak iki kısımdan oluşur. Hidrofobik kısım düz veya çok az dallanmış bir hidrokarbonlardan oluşabilir. Hidrofilik fonksiyonel grup değişken olabilir. Bulutlanma noktası ekstraksiyonunda kullanılacak olan yüzey aktif madde de aranan özellikler; düşük bulutlanma noktası sıcaklığına sahip olması, kolay ayrılabilir bir faz oluşturması, düşük konsantrasyonda çalışılabilmesi, düşük maliyetli olması, düşük toksisiteye sahip olması ve kolay biyozonurluluğu olmasıdır(Paleologos ve ark., 2005).



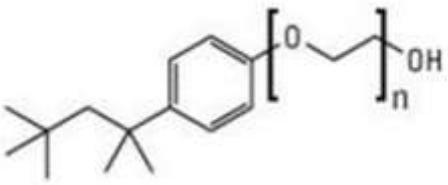
Tween 20

$C_{58}H_{114}O_{26}$

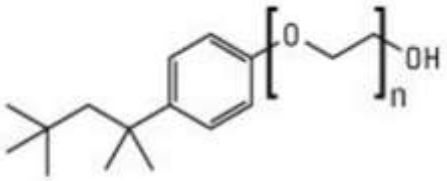


Tween 80

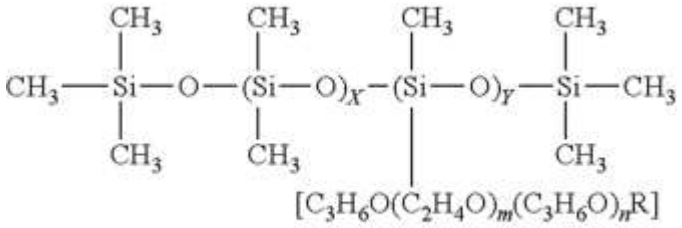
$C_{64}H_{124}O_{26}$



Triton* X-114 Detergent
n = 7-8
MW 537

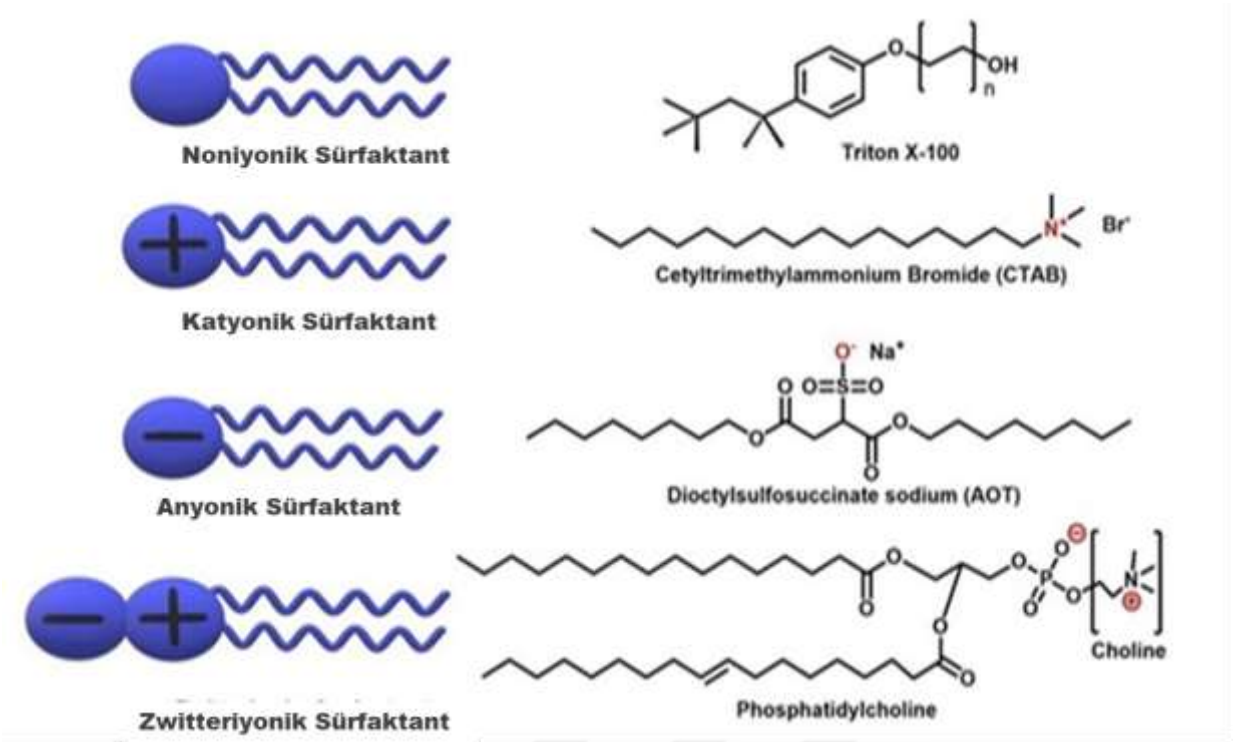


Triton* X-100 Detergent
n = 9-10
MW 647

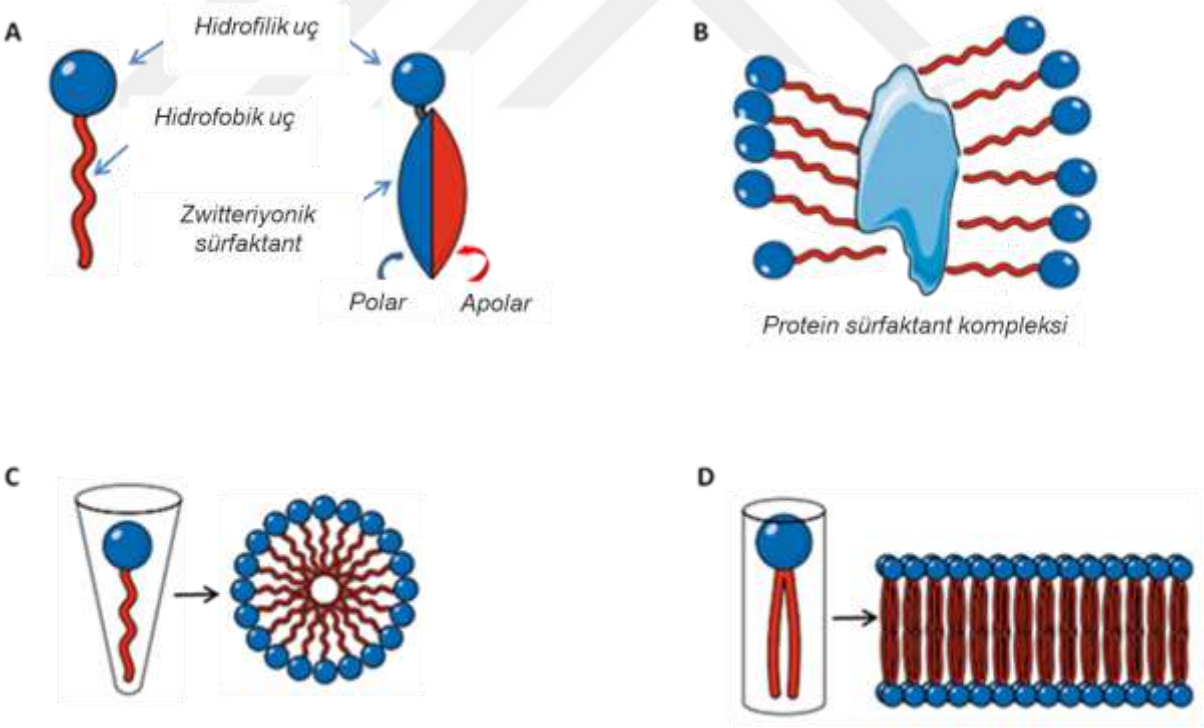


PEG/PPG 18/18 Dimethicone

Şekil 3.1.1.1 CPE yönteminde kullanılan noniyonik yüzey aktif madde çeşitlerinin moleküler yapıları



Şekil 3.1.1.2: Yüzey aktif maddelerin hidrofobik ve hidrofilik fonksiyonel grupları **(Johnson, 2013)**



Şekil 3.1.1.3: Yüzey aktif maddelerin misellerin geometrik yapısının oluşumuna etkisi **(Johnson, 2013)**

3.1.2. Kritik misel konsantrasyonu (CMC) ve misel yapısı

Kritik misel konsantrasyonu (CMC); yüzey aktif madde moleküllerinin misel oluşturmadan sulu fazda kalabileceği en düşük konsantrasyon olarak tanımlanır. Bu konsantrasyonun üzerindeki konsantrasyonlarda misel oluşumu gerçekleşmektedir. Ancak ortama ilave edilen yüzey aktif maddenin fazlalığı dinamik denge oluşturarak kararsız misel yapılarına, buda faz ayrımının zorlaşmasına neden olur. Kritik misel konsantrasyonu yüzey aktif maddenin türüne göre değişiklik göstermesinin yanında ortamın pH'ına, sıcaklığa ve ekstrakte edilecek analitin konsantrasyonuna da bağlıdır(Pharr, 2011).

Miseller; Yüzey aktif madde moleküllerinin belli bir konsantrasyonun üstünde kendi aralarında oluşturdukları kümelerdir. Oluşan misel küreleri kullanılan yüzey aktif maddenin türüne ve geometrik yapısına göre değişkenlik göstermektedir. Misellerin oluşumu sırasıyla; yüzey aktif maddenin çözelti ortamına ilavesi, ısıtılmasıyla yüzey aktif maddenin homojen bir şekilde çözünerek dağılması, daha sonra ortamın sıcaklığını düşürerek yüzey aktif maddelerin analiti kendi içinde hapsederek misel denen küre şeklinde molekülleri oluşturmasıdır. Misellerin oluştuğu çözelti ortamı eğer polar bir çözelti ortamı ise normal misel sistemi denilen hidrofobik kısmın küre içinde kaldığı, hidrofilik kısmın ise dış tarafta kaldığı bir misel oluşumu gözlemlenmektedir. Böyle bir durumun tam tersi söz konusu ise yani çözücü ortamı apolar bir ortam ise ters misel oluşu gözlenir. Ters misel sisteminde hidrofobik kısımlar dışarda hidrofilik kısımlar ise içe doğrudur.

3.1.3. Bulutlanma noktası sıcaklığı (CPT) ve kraft noktası

Bulutlanma noktası sıcaklığı misel oluşturacak yüzey aktif maddelerin analiti içine alarak misel oluşturmaya başladığı sıcaklık noktasıdır. Bu noktada çözelti bulanık bulutumsu bir çözelti haline geldiği için bulutlanma noktası olarak isimlendirme yapılmıştır(Citak ve Tuzen, 2010).

Bulutlanma noktası ekstraksiyonunun önemli parametrelerinden olan ve asıl ekstraksiyonun gerçekleştiği sıcaklık olan bulutlanma noktası sıcaklığı kullanılan yüzey aktif maddenin türüne bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Yöntemde kullanılan yüzey aktif maddeler seçilirken ekstraksiyonun amacı olan düşük enerji kullanımı göz önünde bulundurularak yüzey aktif madde seçimi yapılır. Öte yandan ekstraksiyonu yapılan analitin yapısı da dikkatte alındığında minimum enerji kullanımı analite bağlı olarak değişkenlik gösterilebilir(Wang ve ark., 2006).

Bulutlanma noktası ekstraksiyonunda sıcaklığın gereken sıcaklıktan düşük olması misellerin oluşum sıcaklığına erişemediği için ekstraksiyonun gerçekleşmemesine neden

olduğundan verimliliğin düşmesine neden olacaktır. Sıcaklığın gerekenden fazla olması ise analit formunun bozulmasına, dinamik bir dengenin oluşmasından dolayı karasız misel yapısına neden olup yine aynı şekilde ekstraksiyon verimliliğin düşmesine neden olacaktır(Çıtak, 2010).

Tablo3.1.3.1: Yüzey aktif maddelerin kullanılacak alanlara göre CPT sıcaklık değerleri

	CPT	**KULLANILDIĞI ALAN**
Triton X-100	64°C	Biyolojik sıvılarda metal analizi için ve nanopartikül analizlerinde
Triton X-114	23°C	Toprak, su ve yağ numunelerinde Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb, V ve Zn gibi metal analizlerinde
PEG / PPG-18/18 dimethicone	38°C	Silikon bazlı sentetik yüzey aktif maddedir. Toprak su ve havada bulunan Polisiklik hidrokarbonların analizlerinde
Tween 20	76°C	Sentezlenmiş olan metal nanopartikül analizlerinde
Tween 80	65°C	Su ve gıda analizlerinde Cr, Pb, Cu, Ni, Bi, ve Cd metallerin analizinde kullanılmıştır.

3.2. CPE' ye Etki Eden Faktörler

Bulutlanma noktası ekstraksiyonunun uygulanabilmesi için, kompleksleştirici madde seçiminin yanı sıra, pH, yüzey aktif madde türü ve derişimi, sıcaklık, iyonik güç ve zaman gibi deneysel parametrelerin optimize edilmesi gerekir.

3.2.1. Ortamın pH değeri

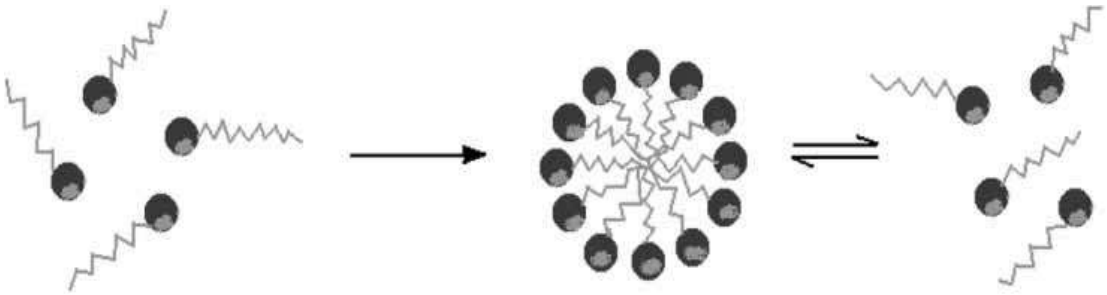
CPE ekstraksiyon yönteminde ortamın pH'sı, ayrılması istenilen analitin misel faz içinde kalabilmesini ayarlamak için oldukça önemli bir parametredir. Bu parametre doğrudan ekstraksiyon yöntemini etkilemekte ve verimliliği minimuma indirebilmektedir. Özellikle metal iyonlarının önderiştirilmesinde ortam pH'sı oldukça önemlidir. Ekstraksiyon yönteminde ayrılacak olan metal iyonunun komplekstirici ligantla kompleks oluşturması ve oluşan kompleks yapının yüzey aktif maddeyi üzerinde adsorbe etmesiyle oluşan misel yapının elde edilmesinden dolayı pH önemli bir parametre olarak etki etmektedir. Öte yandan pH ayarlaması için kullanılan tampon çözeltinin tamponlanma kapasitesi de ekstraksiyon yöntemini etkileyen önemli bir parametredir(Şahin ve ark., 2009).

3.2.2. Sıcaklık

Bulutlanma noktası ekstraksiyonunda önemli parametrelerden olan sıcaklık ekstraksiyonun önemli aşamalarının gerçekleştiği parametrelerdendir. Yüksek verimli bir ekstraksiyon analizi yapmak için, yüzey aktif maddenin bulutlanma noktası sıcaklığından daha yüksek bir sıcaklıkta çalışılması önerilmektedir. Analiz şartlarında gerekenden fazla sıcaklığın kullanılması hem yüzey aktif maddenin hem de analitin formunun bozulmasına neden olabilir. Yüzey aktif madde türüne de göre değişkenlik gösteren bu parametrede hem analite uygun hem de yüzey aktif maddeye uygun sıcaklığın belirlenmesi açısından önemlidir. Yüzey aktif maddenin bulutlanma sıcaklığının yüksek olması, sıcaklığın artmasıyla hidrojen bağlarının bozulması ve dehidrasyon oluşması sebebiyle analitin o sıcaklıkta molekül formunun bozulması ekstraksiyon verimliliğini doğrudan azaltan önemli bir parametredir. Öte yandan sıcaklığın gerekenden düşük olması yüzey aktif maddelerin analiti de içine alan bir misel yapısının oluşmamasına neden olacaktır. Bu sebepten dolayı ekstraksiyonun tamamlandığı, sulu faz ile misel fazının etkin bir şekilde ayrıldığı en düşük denge sıcaklığının ayarlanması hedeflenmelidir(Xie ve ark., 2010).

3.2.3. Yüzey aktif madde konsantrasyonu

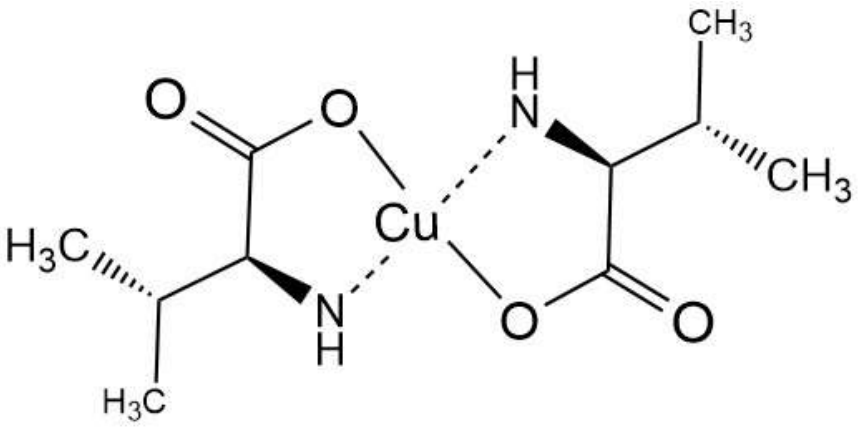
Bulutlanma noktası ekstraksiyonun da yüzey aktif madde seçilirken düşük bulutlanma noktası sıcaklığına sahip olmasına, kolay ayrılabilir bir faz oluşturmasına ve düşük konsantrasyonda çalışılabilmesine dikkat edilmelidir. Bunların dışında yüzey aktif maddenin ortama fazlaca ilave edilmesi ya da gerekenden fazlaca ilave edilmesi denge ortamının bozularak dinamik denge halinde yüzey aktif maddelerin monomerlerine dönüşmesine ve kararsız bir misel yapısının oluşmasına neden olabilmektedir. Bu durum daha önce de bahsedildiği gibi kritik misel konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. CPE yöntemi uygulanırken analiti toplayabilecek kadar yüzey aktif madde ilave edilmelidir(Haddou ve ark., 2014).



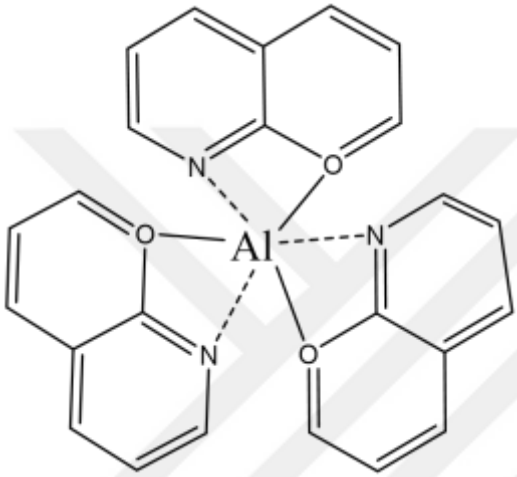
Şekil 3.2.3.1 Misel oluşumuna kritik misel konsantrasyonun etkisi

3.2.4. Kompleksleştirici seçimi

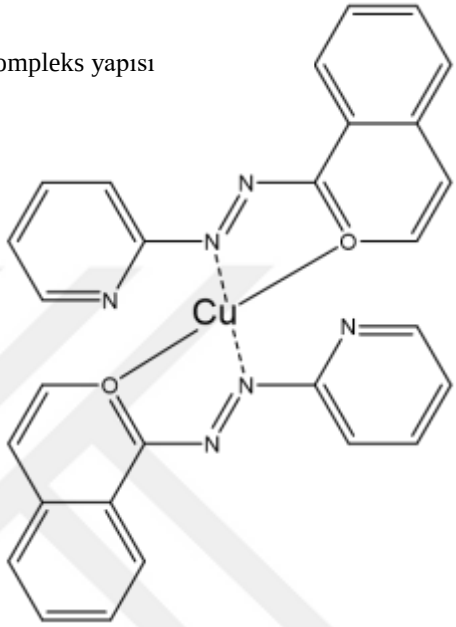
Genelde metal ekstraksiyonlarında kullanılan komplekstirici ligantlar, iyonik haldeki metal iyonlarının apolar bir hale getirmek için kullanılır. Metal kompleksinin apolar yapıda olmasının istenmesinin nedeni yüzey aktif maddenin hidrofobik kısmı ile apolar yapıdaki metal kompleksi misel oluşturup ortamdan seyreltik ortamdan derişik ortama alınmasıdır. Metal iyonunun değerliğine göre değişen ligantlar genelde çift dişli olması istenir. Bunlardan bazıları 8-hidroksikinolin (8-HQ), dietilditiokarbamat (DDTC), 1- (2-piridilazo) -2-naftol (PAN), 1- (2-tiyazolilazo) -2-naftol (TAN), (4- (2) piridilazo) resorsinol (PAR) ve bazı amino asit türleridir(Silva ve ark., 2009).



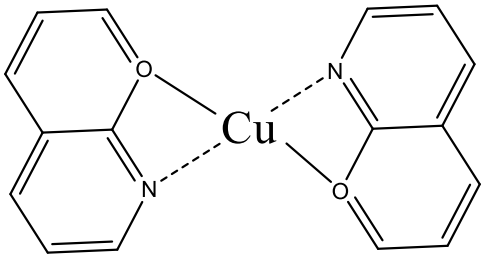
Şekil 3.2.4.5: Bakır ve L-İzolösin kompleks yapısı



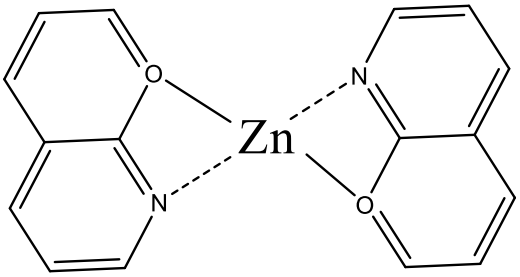
Şekil 3.2.4.4: Alüminyum ve 8HQ kompleks yapısı



Şekil 3.2.4.3: Bakır ve PAN kompleksi



Şekil 3.2.4.2: Bakır ve 8HQ kompleksi



Şekil 3.2.4.1: Çinko ve 8HQ kompleksi

Tablo 3.2.4.1: Bazı metallerin TRİTON X-114 ve TRİTON X-100 kullanarak farklı ligantlarla CPT sıcaklıkları**(Samaddar ve Sen, 2014)**

Metal	***Sürfaktant***	***Ligant***	***CPT***
Cu	Triton X-100	Amino acid	68 ºC
Co	Triton X-114	PAN	50 ºC
Cd	Triton X-114	APDC	45 ºC
Cd	Triton X-114	Dithizone	55 ºC
Pb	Triton X-114	Dithizone, octanol	42 ºC
Cd	Triton X-114	Methyl green	50 ºC
Hg	Triton X-114	PAN, TAR	50 ºC
Al	Triton X-114	Xylidal blue	50 ºC
As(III)	Triton X-114	Pyronine B	45 ºC
Co	Triton X-114	4-Benzylpiperidinedithiocarbamate (K-4-BPDC)	60 ºC
Cu	Triton X-114	N,N-bis(2-hydroxy acetophenone)-	35 ºC
		1,2-propanedimine(L)	
Zn	Triton X-114	2-methyl-8-hydroxyquinoline(quinaldine), PAN	70 ºC
Al, Zn	Triton X-114	8-HQ	45 ºC
Cd	Triton X-114	Iodide, methyl green (MG)	50 ºC
Pb, Co, Cu	Triton X-114	1-Phenylthiosemicarbazide (1-PTSC)	50 ºC
Fe, Cu	Triton X-114	Erichrome cyanine	70 ºC
Fe	Triton X-114	2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-	50 ºC
		diethylaminophenol (5Br-PADAP)	
Pb	Triton X-114	Brilliant cresyl blue (BCB)	40 ºC
Mn	Triton X-100	1-phenyl-3-methyl-4-benzoyl-5-	80 ºC
		pyrazolone (PMBP)	
As	Triton X-114	Pyronine B, SDS	45 ºC
Be	Triton X-114	Cetyl-pyridinium chloride (CPC)	50 ºC
Zr, Hf	Triton X-114	Quinalizarine	55 ºC
La, Gd	Triton X-100	Calixarenes	75 ºC

3.2.5. İyonik güç

Ekstraksiyonda faz ayrımını kolaylaştırmak için çözelti ortamına elektrolit ilave edildiğinde, yüzey aktif maddenin eterik kısmının dehidratasyonu (su kaybı) yüzünden bulutlanma noktası sıcaklığı düşmektedir. Ayrıca inorganik tuzlar, misel kümeleri ve analit iyonları arasındaki hidrofobik etkileşimleri artırmakta ve bu sayede analitik ayırmayı iyileştirmektedir. Elektrolit olarak genel Na_2SO_4, NaCl, $MgSO_4$ gibi nötr tuzlar tercih edilmektedir.(Duran ve ark., 2012)

3.2.6. İnkübasyon süresi, santrifüjleme ve soğutma

Ekstraksiyon zamanı ise özellikle metaller için, kompleksleştirici madde ile reaksiyonun tamamlanması ve bu kompleksin misel içine alınması için, bulutlanma noktası ekstraksiyonu yönteminde önemli bir parametredir. Yeterli sıcaklık ayarlaması yapıldıktan sonra misellerin oluşumu için bir inkübasyon süresi gerekmektedir. Bu sürede miseller tam olarak oluşmakta ve faz ayrımı başlamaktadır.(de Godoi Pereira ve Arruda, 2003) Analitin gerekenden fazla inkübe edilmesi analitin ve misel yapının bozulmasına neden olmaktadır. Organik ve inorganik maddelerin ekstraksiyonu için genelde 10 dakika yeterli olurken metal iyonlarının ekstraksiyonun da ise kompleks yapının oluşması ve oluşan kompleks yapının misel oluşturması için bu süre 20-25 dakikaya veya daha fazla süreye kadar uzatılmaktadır. İnkübasyon süresi dolan çözeltinin misel yapısının altta birikmesi için yapılan santrifüjleme işlemi kısa süreli ve yüksek devir dönme gücüne sahip olmalıdır. Aksi takdirde sürenin uzun tutulması çözeltinin sıcaklığını etkileyerek fazların ayrılmasını zorlaştıracaktır. Öte yandan santrifüj öncesi ve sonrası oluşan misel moleküllerinin altta birikerek sulu fazdan ayrılması için yapılan soğutma işlemi ise misellerin ve sulu fazın dekantasyonla ayrılması için kolaylık sağlanması için kullanılmıştır.(Lemos ve ark., 2008)



Şekil 3.2.6.1: Ekstraksiyon yönteminde kullanılan sabitlenebilir su banyosu ve santrifüj cihazı

Her ekstraksiyon yönteminde olduğu gibi bulutlanma noktası ekstraksiyonu yönteminde de bazı analiz şartları vardır. Bu şartlar ekstraksiyon yöntemini yerine göre kolaylaştıran yerine göre zorlaştıran yöntemlerdir. CPE yöntemi diğer ekstraksiyon yöntemlerinden daha basit, pratik, yüksek verimli olmasının yanında dezavantaj olarak uygun şartlar sağlanmadığında ekstraksiyonu daha da zorlaştıran bir ekstraksiyon yöntemi haline gelebilmektedir. Bunlardan bazıları sıralama şeklinde aşağıda belirtilmiştir.

3.3. CPE Yöntemini Uygulamanın Avantajları ve Dezavantajları

3.3.1. CPE yöntemini uygulamanın avantajları

- ✓ Ekstraksiyon yönteminin en önemli avantajlarından biri olan kullanılan noniyonik yüzey aktif maddelerin toksik olmamasından dolayı çevreci olmasıdır.
- ✓ Ekstraksiyon yöntemi metal ekstraksiyonlarında ve diğer organik ve inorganik maddelerinde ekstraksiyonlarında yüksek verimlilikte analiz yapılması yöntemi üstün kılan özelliklerindendir.
- ✓ Kullanılan teknik ekstra teçhizat gerektirmediği, kısa olması ve yöntemin hemen sonuç alınabilen yöntem olması dolayısıyla diğer ekstraksiyon yöntemlerinden daha kısa süreli, pratik ve basittir.
- ✓ Sıvı-sıvı ekstraksiyonlara nazaran kullanılan solvent miktarının çok daha az solvent kullanılması dolayısıyla daha az toksik solvent kullanılır.
- ✓ Yöntemde kullanılan kimyasal sarfiyatın minimuma indirgenmesi sebebiyle ekstraksiyon yöntemi daha ucuz maliyetlidir.(Pharr, 2011)

3.3.2. CPE yöntemini uygulamanın dezavantajları

- ✓ Bulutlanma noktası ekstraksiyonu yönteminde çalışılacak analiz şartları yeterince araştılmadığı takdir de ekstraksiyon yöntemi daha karmaşık bir tayin yöntemine dönüşebilir.
- ✓ Eser düzeyde analit için çalışıldığında ekstra aşama gerektirdiğinden normal analizi yapılabilecek olan analiti daha da uzun zamanlı tayin aşaması gerektirebilecek analize dönüştürebilir.
- ✓ Ekstraksiyonu yapılacak olan eser düzeydeki analitin çalışmadan kaynaklanabilecek bir hatada geri dönüşümü olmayan bir kirliliğe ya da analit kaybına sebep olabilir.

- ✓ Normal ekstraksiyon yöntemlerinde özel çalışma prosedürler gerekmezken CPE ekstraksiyon yönteminde özel çalışma prosedürleri (karıştırma, ısıtma, soğutma ve santrifüjleme) gerekebilir.
- ✓ Yöntemde eser düzeyde analiz yapıldığı için kullanılan kimyasallardan gelen kirliliğin olmaması gerekir. Aksi takdirde analiti tayin aşamasında verimliliği düşürür ve kirliliğe neden olur. Bu sebepten dolayı kullanılacak olan kimyasalların yüksek saflıkta olması gerekir.
- ✓ Ekstraksiyona başlamadan önce kullanılacak olan cam malzemelerin özel temizleme yöntemleri gerektirdiğinden analiz öncesi ekstra zaman kaybına neden olabilir.(Samaddar ve Sen, 2014)

3.4. Bakır Metali ve Bazı Önemli Özellikleri

Bakır (Cu) sadece hayvanlar için önemli olduğu kadar bitkiler için de temel bir element olarak kabul edilir. Bu element, karbonhidrat metabolizmasını ve kalp damar aktivitesini korumak için birçok canlı organizma tarafından yalnızca çok düşük seviyelerde (yaklaşık 40 ng/mL) gereklidir. Öte yandan Cu hem bitkiler hem de hayvanlar için yüksek konsantrasyonda toksik bir elementtir. Hücre zarına bağlanabilir ve hücre duvarı yoluyla taşıma sürecini engelleyebilir ve nitrat redüktaz aktivitesini azaltarak nitrojen metabolizmasının zarar görmesine neden olabilir. Ayrıca, kısaltılmış kök uzunluğu, daha az yaprak ve bitki biokütlesindeki düşüş ile işaretlenen bitkilerin büyümesi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Su ve bitkilerdeki Cu konsantrasyonundaki artışlar, endüstriyel ve evsel atıklar bakır bileşiğinin yosun öldürücü ve herbisit olarak kullanılmasından kaynaklanmıştır. Cu, kirliliğin bir sonucu olarak gıdaların depolanması ve işlenmesi sürecinde gıdalarda dolaylı olarak bulunabilir. Günlük 1.5-2 mg Cu alımı önemlidir, ancak günlük dozajdan fazla alınması böbreklerde ve kanda birikerek zehirlenmelere neden olacaktır. Doğal su kaynaklarının doğada ki metalleri korozyona uğratarak bakırı içme sularına dahil etmesinden dolayı, su ve gıdalardaki eser bakır içeriği günlük olarak kontrol edilmelidir. Avrupa da, içme suyundaki Cu için 2 mg/mL sınırı belirlemiş, Kanada ve ABD'de 1.3 mg/mL olarak sınırlandırmıştır.

Alev atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) ve indüktif eşleşmiş plazma, (ICP) atomik emisyon spektrometresi (AES) eser Cu seviyelerinin belirlenmesinde en yaygın kullanılan teknikler olmasına rağmen, akış enjeksiyon sistemi (FIA) ve spektrofotometre (UV-Vis) geniş bir kullanma sahasına sahip olmaya devam etmektedir. Prosedürlerin basitliği, tekniğin hızı, hassasiyeti ve doğruluğu, Cu tayini için akış enjeksiyon tekniği yöntemini daha

ön plana çıkarmıştır.(Lu ve ark., 2007) Bununla birlikte, gıda ve su örneklerinde düşük seviyelerde Cu varlığı nedeniyle, uygun bir hassasiyet seviyesine ulaşmak için genellikle akış enjeksiyon tayininden önce bir deriştirme aşaması gereklidir. Bakır tayini için çeşitli ortamlarda, birlikte çökeltme, sıvı-sıvı ekstraksiyonu, katı faz ekstraksiyonu vb. gibi birçok ön konsantrasyon prosedürü geliştirilmiştir. Bulutlanma noktası ekstraksiyonuna (CPE) misel oluşumuna dayalı bir ayırma ve deriştirme yöntemidir.

4. AKIŞ ENJEKSİYON ANALİZ SİSTEMLERİ (FIA)

Otomatikleştirilmiş Analiz Sistemleri; ayrı akış analizörleri ve sürekli akış analizörleri olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Bazen bu iki sistemin bir araya gelmesiyle oluşturulan sistemler de analizlerde kullanılmaktadır. Ayrı ve sürekli sistemlerin her ikisi de bilgisayar kontrollüdür. Ayrı akış analizörleri otomatikleştirilmiş analiz sistemlerinde amaç ayrı ayrı numune kapları kullanıp kirliliği sıfıra indirgemektir. Sistem normal analiz şartlarından çok daha maliyetli olma açısından pahalıdır. Sürekli akış analizörlerinde ise analit sürekli olarak devam eden akışın içersindedir ve analitin türevlendirilmesi, dedektörde ölçülmesi ve sistemden atılması sürekli devam eden akış sistemiyle gerçekleşir. Bu otomatikleştirilmiş analiz sistemlerinde dikkat edilmesi gereken husus akış hızının artması ile analitlerin birbiriyle karışmasını engelleyecek şartlar oluşturmaktır. Aksi halde numunelerin birbiriyle etkişelmesinden kaynaklı analtin doğru tayin edilememesi ya da analitin bozulmasına sebep olabilir.(Durmaz, 2008; Ayyıldız, 2010)

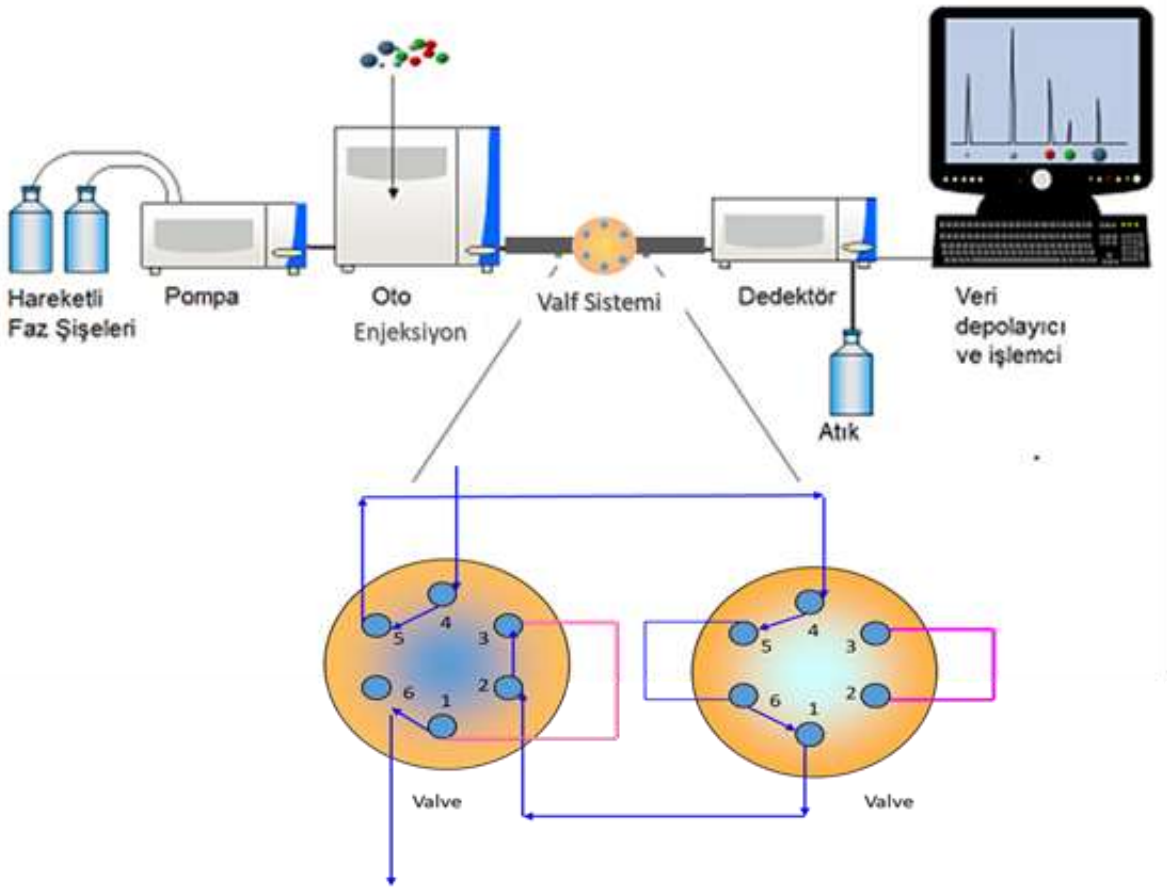
Akış enjeksiyonlu analiz tekniği 1975 yılında Ruzicka ve Hansen arkadaşları tarafından geliştirilen bir tekniktir. Akış enjeksiyon analiz sistemleri normalde dışarda gerçekleştirilen karıştırma, seyreltme ve deriştirme gibi bir analiz şartlarını sistem içinde gerçekleştirip, daha hızlı, daha pratik ve kesinliği yüksek bir analiz yapma otomasyon sistemidir.(Tarhan, 2011) Akış enjeksiyon analiz sistemlerinde ekstradan teçhizat ve malzeme gerektirmemesinden dolayı donanımlı ve oldukça ucuz bir yöntemdir. Sistemin üzerindeki değişkenlerin optimizasyonu ve hareketli faz kompozisyonunun kontrolünün kolay olması nedeniyle kullanımı oldukça basit ve kolay kontrol edilebilir bir sistemdir. Bu akış enjeksiyon tekniklerinde pompa sistemleri olarak gradient pompa veya peristaltik pompa sistemleri kullanılıp sürekli akış analizörlerin kullanımı amaçlanmıştır.(Ayyıldız, 2010)

Akış enjeksiyon analiz sistemi temel olarak sürekli akan bir haraketli faz içersine numunenin enjekte edilip haraketli faz içersinde bir bölge olarak hareket etmesi ve dedektöre ulaşıp dedektör cevap değeri alındıktan sonra analitin yine aynı devam eden hareketli faz içersinde atığa gönderilmesi esasına dayanan bir tekniktir. Analiz sisteminin akış enjeksiyon olarak adlandırılmasının nedeni ise geliştirildiği ilk zamanlarda sürekli olarak akan bir haraketli faz içersine analitin bir arayüz yardımıyla enjeksiyon edilmesinden kaynaklanmıştır. Daha sonra geliştirilen sistemler de analitin akışa dahil olması yönlendirici valf sistemleriyle gerçekleştirilmiştir.(Ayyıldız, 2010)

Akış enjeksiyon analiz sistemleri yüksek performanslı sıvı kromatografisine (HPLC) benzer olarak; sürekli olarak akış sağlayan hareketli fazı, pompa sistemi, enjeksiyon bloğu ve dedektör gibi birçok benzer donanımı benzer olarak kullansada HPLC' de kullanılan ve bir

dağılma denge sistemiyle analitleri birbirinden ayıran kolon sisteminin olmamasından dolayı farklı bir yöntem olduğu görülmektedir.(Durmaz, 2008)

Genel olarak bir akış enjeksiyon analiz sistemi; hareketli fazın sürekli akışını sağlayan bir pompa sisteminden, numunenin sisteme verildiği bir enjeksiyon bloğundan, enjekte edilen analitin sisteme dahil olmasını sağlayan bir valf sisteminden, analiti dedekte eden dedektör sisteminden ve detektörden alınan cevap değerlerinin işlendiği bir veri toplama işlemci sisteminden oluşmaktadır. Yaygın olarak kullanılan akış enjeksiyon analiz sistemi şekilde gösterilmektedir.



Şekil 4.1: Akış Enjeksiyon Analiz Sistemi

4.1. FIA`nın Avantajları

FIA, kimyasal analizlerin basitleştirilmesinde oldukça başarılı olmuştur. Bu başarının başlıca sebepleri, geleneksel manuel teknikler üzerinde FIA`nın şu avantajlara sahip olmasıdır:

- ✓ Otomasyon nedeniyle düşük işçilik maliyeti,
- ✓ Basitlik ve düşük maliyetli enstrümantasyon,
- ✓ Fazla miktarda numunenin analizlenmesi için düşük analiz maliyeti,
- ✓ Yüksek numune verme hızı,
- ✓ Numune hazırlama ve dedeksiyonda otomasyon,
- ✓ Mekaniksel performans nedeniyle yüksek hassasiyet,
- ✓ Kesikli sistemlere kıyasla yüksek kesinlik,
- ✓ Daha az numune, reaktif tüketimi ve daha az atık üretimi,
- ✓ Hemen hemen tüm laboratuvarlarda kullanılabilen enstrümantal teknikler birleştirilme imkânı sağlayan kullanışlı bir yöntemdir.(Ayyıldız, 2010)

4.2. FIA`nın Uygulamaları

Kullanılan akış enjeksiyon sistemlerinin diğer birçok

Birçok analiz için düzenleme organları tarafından düzeltilen spesifik metodolojilerin yanı sıra, numunelerin farklı doğası FIA metotlarının çok yönlü olmasını gerektirmektedir. Şimdiye kadar FIA metodu kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar incelendiğinde; FIA`nın endüstri (toprak, gübre, alaşım), klinik (serum, plazma, tam kan, üre), çevre (deniz suyu, atık su, sedimentler), tarım (bitkiler), metalürji, jeoloji, gıda (meyve suyu, şarap, süt ve süt ürünleri), ilaç ve biyoteknoloji (proteinler, amino asitler, amonyak, glikoz) alanlarında birçok uygulaması olduğu görülmektedir(Ayyıldız, 2010).

Genellikle sulu çözeltilerde uygulaması bulunan tekniğin, doğruluk, uygulanabilirlik, hassaslık, seçicilik, duyarlılık, tespit aralığı ve numune verme hızı gibi özellikleri göz önünde bulundurulduğunda; sulu çözeltilerdeki analitiksel kalite değerlendirmeleri için uygun bir yöntem olarak kullanılabilir(Ayyıldız, 2010).

5. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Seçil çandır ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilen Cr (III), Pb (II), Cu (II), Ni (II), Bi (III) ve Cd (II) metal iyonlarının eser miktarlarının belirlenmesi için bir bulutlanma noktası ekstraksiyon (CPE) prosedürü geliştirilmiştir. Geliştirilen yeni yöntemde kompleksleştirici ilave edilmeden çalışmalar yapılmış ve yapılan çalışmalarda Tween 80 kullanılmıştır. Bulutlanma noktası ekstraksiyonu sonrası alevli atomik absorpsiyonda analizleri yapılmış ve Cr (III), Pb (II), Cu (II), Ni (II), Bi (III) ve Cd (II) metal analizleri için tavsiye edilen limit değerleri sırasıyla 2.8, 7.2, 0.4, 1.1, 0.8 and 1.7 μg L−1 bulunmuştur. Çandır çalışma grubu daha sonra musluk suları, maden suyu, domates suyu ve fındık numunelerinde analizler yapmış aşağıda tablo belirtildiği gibi sonuçlar bulunmuştur.(Candir ve ark., 2008)

Ahad Bavili Tabrizi tarafından geliştirilen bulutlanma noktası ekstraksiyonunda Al(III) ve Zn (II) metallerinin 8-Hidroksikinolin ile yaptığı hidrofobik metal kompleksleri incelenmiştir. Çalışmada 25 mL metal-kompleks çözeltisi için % 0.12 Triton X-114 kullanarak spektroflorimetri ile eser miktarda alüminyum (200 $\mu g.l^{-1}$) ve çinko (250 $\mu g.l^{-1}$) tayinleri yapılmıştır. Alüminyum ve çinko metalleri için geri kazanım alt seviyesi olarak alüminyum (0.79 $\mu g.l^{-1}$) ve çinko (1.2 $\mu g.l^{-1}$) sevilerine kadar tayini yapılmıştır. Analiz aşamaları için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Daha sonra spektroflorimetri ile yapılan analizlerde alüminyum ve çinkonun 40 ve 100 $\mu g.l^{-1}$ aralığında kalibrasyon çözeltileri hazırlanmış ve 5 kez tekrarlanmıştır. Yapılan kalibrasyon tablosu sonucunda alüminyum ve çinko metalleri için sırasıyla % 2.72 ve 2.1 standart sapma değerleri bulunmuştur. Yabancı iyon varlığında metallerin % 95–104 aralığında geri kazanımları elde edilmiştir. Geliştirilen yöntem daha sonra gıda numuneleri üzerinde çalışılmış ve alüminyum ve çinko metallerinin miktarları tayin edilmiştir.(Bavili Tabrizi, 2007)

Mehrorang Ghaedi ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemde Cd (II), Pb (II), Pd (II) ve Ag (I) metal iyonları için bulutlanma noktası ekstraksiyonu uygulanmıştır. Analitik prosedürde, bis ((1H-benzo [d] imidazol-2il) etil) sülfan (BIES) ligand olarak kullanılmıştır. Yüzey aktif madde olarak da non-iyonik Triton X-114 çözeltisi kullanılmıştır. Analiz şartlarının optimizasyonunda BIES konsantrasyonu, pH ve yüzey aktif madde miktarı (Triton X-114) optimize edilmiştir. Optimumu koşullarda Cd^{2+}, Pb^{2+}, Pd^{2+} ve Ag^{+} için 1.4, 2.8, 1.6 ve 1.4 $ng.mL^{-1}$'lik tespit limitleri belirlenmiştir. Önerilen bulutlanma noktası ekstraksiyonu, radyolojik atıklar, kan ve idrar örnekleri gibi karmaşık matriks içeren gerçek numunelerde metal iyonlarının belirlenmesi için uygulanmıştır.(Ghaedi ve ark., 2009b)

Pei Liang ve Juan Yang yaptıkları çalışmada bulutlanma noktası ekstraksiyonu ile iz miktardaki (100 μg.L^{-1}) bakır tayini için yeni bir yöntem geliştirmeyi hedeflemişlerdir. Önerilen bu yöntemde amino asit (L-İzolösin); ligand olarak ve Triton X-100, yüzey aktif madde olarak seçilmiştir. Analiz şartlarında ligand konsantrasyonu, pH, sıcaklık, bekleme süresi, kullanılan noniyonik yüzey aktif maddenin konsantrasyonu gibi şartlar üzerine çalışılmış ve belirlenen en uygun şartlar tespit edilmiştir. Optimum koşullar altında, kalibrasyon grafiği 10-1000 μg.L^{-1} aralığında kullanılmış ve 5 μg L^{-1}'lik bir tespit limiti belirlenmiştir. Daha sonraki aşamalarda gıda ve su örnekleri üzerinde çalışılmış ve bakır konsantrasyonu tayin edilmiştir.(Liang ve Yang, 2010)

6. MATERYAL VE YÖNTEM

6.1. Kullanılan Cihazlar

Tablo 6.1.1: Analizlerde kullanılan cihazlar

Cihaz Adi	Marka-Model
❖ Santrifüj Cihazı	❖ Mse-Mistral2000
❖ Karıştıcı	❖ IsoLab
❖ Vorteks	❖ IsoLab
❖ Ultra Saf Su Cihazı	❖ Tka-GenPure
❖ Etüv	❖ Mido-2/AL
❖ Isıtıcılı Manyetik Karıştıcı	❖ Ika-Rct Classic
❖ Döner Buharlaştırıcı	❖ Buchi-Rotavapor R210
❖ Buzdolabı	❖ Arçelik
❖ Bulaşık Makinesi	❖ Bosch
❖ Ultraviyole-Görünür alan Spektrofotometre Cihazı	❖ Shimadzu
❖ İnfrared Spektrofotometre (FT-IR) Cihazı	❖ Bruker-Alpha
❖ HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)	❖ Agilent 1200 serisi
❖ Analitik terazi	❖ VA304 model GEC
❖ Ultrasonik banyo	❖ KUDOS SK 6GT model
❖ Isı sabitlenebilir su banyosu	❖ Buchi R-210
❖ Vakum pompası	❖ Buchi V-700
❖ Termostatlı ısıtıcı	❖ IKA VT5 S40
❖ Mikro pipet takımı	❖ İsolab

6.2. Kullanılan Kimyasallar

Yapılan deneysel çalışmalar sırasında kullanılan reaktifler kromatografik saflıkta olup Merck ve Sigma firmalarından satın alınmıştır. Ayrıca kullanılan çözeltilerin hepsi TKA Milipure marka ultra saf su cihazından elde edilen ve iletkenliği 0.67 µS/cm nin altında olan ultra saf su ile hazırlanmıştır. CPE prosedürü, numune hazırlama işlemleri, ve tampon hazırlama gibi çalışmalarda kullanılan kimyasal ve çözücüler teknik saflıkta (saflık derecesi>% 95) kullanılmış, FIA'de gerçekleştirilen akış enjeksiyon analizlerde ise kromatografik saflıktaki kimyasal ve çözücülerden faydalanılmıştır.

Tablo 6.2.1: Kullanılan kimyasalların listesi

❖ $Cu(NO_3)_3.3H_2O$ (Bakır nitrat trihidrat)	❖ Na_3PO_4 (Sodyum fosfat)
❖ $AlCl_3.3H_2O$ (Alüminyum klorür hekzahidrat)	❖ L-İzolösin
❖ $ZnCl_2$ (Çinko klorür)	❖ 8-Hidroksikinolin
❖ NaOH (Sodyum hidroksit)	❖ Triton X-100
❖ C_2H_5OH (Etanol)	❖ Triton X-114
❖ CH_3OH (Metanol)	❖ NH_3 (Amonyak)
❖ KOH (Potasyum hidroksit)	❖ H_3BO_3 (Borik Asit)
❖ NaCl (Sodyum klorür)	❖ $Na_2B_4O_7$ (Sodyum tetraborat)
❖ H_3PO_4 (Fosforik Asit)	❖ CH_3COONa (Sodyum asetat)
❖ Na_2SO_4 (Susuz sodyum sülfat)	❖ NH_4Cl (Amonyum klorür)
❖ NaOH (Sodyum hidroksit)	❖ $(NH_4)_3PO_4$, (Amonyum fosfat)
❖ H_2SO_4 (Sülfürik asit)	❖ Ultra saf su
❖ CH_3COOH (Asetik asit)	❖ NaH_2PO_4 (Sodyum dihidrojen fosfat)
❖ Na_2HPO_4 (Disodyum monohidrojen fosfat)	❖ HCl (Hidroklorik asit)

6.3. Analizlerde Kullanılacak Çözeltilerin Hazırlanması

6.3.1. Tampon ve tuz çözeltilerin hazırlanması:

Hazırlanan tüm tampon çözeltiler ultra saf su ile hazırlanıp daha sonra kullanmak için soğuk saklama dolabında ısı ve ışıktan korunacak şekilde muhafaza edilmiştir.

1000 mg/L stok metal çözeltilerinin Hazırlanması: Cu^{2+}, Al^{3+}, Zn^{2+} mg/L olarak çözeltileri seyreltik asit çözeltisi ile hazırlanmıştır.

Fosfat Tamponu pH 7.0 ve pH 9: Her biri 0.1 M derişimde olan H_3PO_4, NaH_2PO_4, Na_2HPO_4 ve Na_3PO_4 çözeltileri kullanılarak uygun pH' da tampon çözeltileri potansiyometrik olarak hazırlanmıştır. Tampon çözeltileri hazırlamak için pH metre ile pH ayarlaması yapılırken 0.1 M H_3PO_4 ve 2 M NaOH çözeltileri ile ayarlamalar yapılmıştır.

Asetat Tamponu pH 6.0: Her biri 0.1 M derişimde olan CH_3COONa, CH_3COOH ve NaOH çözeltileri kullanılarak pH metre ile pH ayarlamaları yapılmıştır.

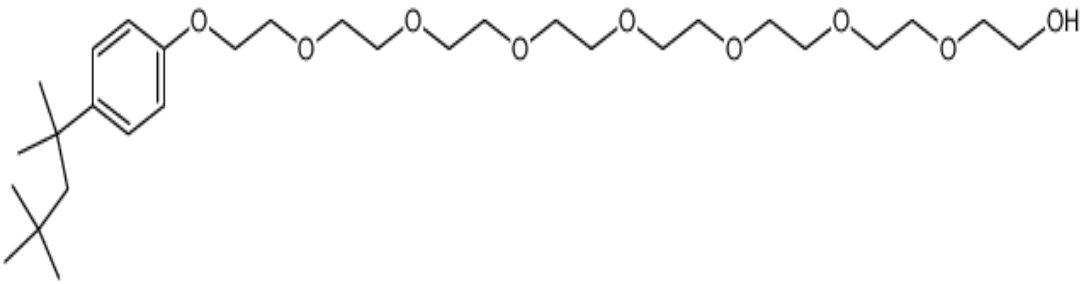
Boraks Tamponu pH 9.0: H_3BO_3 ve $Na_2B_4O_7$ çözeltileri 0.05 M olacak şekilde ayrı ayrı 60 °C' de ısıtılarak pH metre ile pH ayarlamaları yapılmıştır.

NH_3/NH_4Cl Tamponu pH 9.0: $(NH_4)_3PO_4$, NH_3, HCl ve NH_4Cl çözeltileri kullanılarak 0.1 M tampon kapasitesinde pH metre ile pH ayarlaması yapılmıştır.

Na_2SO_4 ve NaCl Tuz Çözeltisinin Hazırlanması: Ekstraksiyon prosedüründe bulutlanma noktası sıcaklığını düşürmek ve faz ayrımını kolaylaştırmak için kullanılan tuz çözeltileri 1 mol/L konsantrasyonda ultra saf su kullanarak hazırlanmıştır.

6.3.2. Yüzey aktif maddelerin hazırlanması

Triton X-114 Kimyasal Özellikleri ve hazırlanması:



Şekil 6.3.2.1: TRİTON X-114 açık formül yapısı

Kimyasal adı (CAS)*:* polyethylene glycol tert-octylphenyl ether

CAS numarası: **9036**-19-5

Moleküler formülü: (C2H4O)n C14H22O, (n: 7 veya 8)

Moleküler ağırlığı: 537

Kritik Misel Konsantrasyonu (CMC): 0.2 mM (20-25°C)

Bulutlanma noktası sıcaklığı: 23 °C

Erime sıcaklığı: 117 °C

Kaynama sıcaklığı*:* 254 °C

Yoğunluk (25 °C): 1.058 g/mL

LD50 (oral, sıçan): 1800 mg/kg



Şekil 6.3.2.2: Triton X-114 MSDS sembolleri

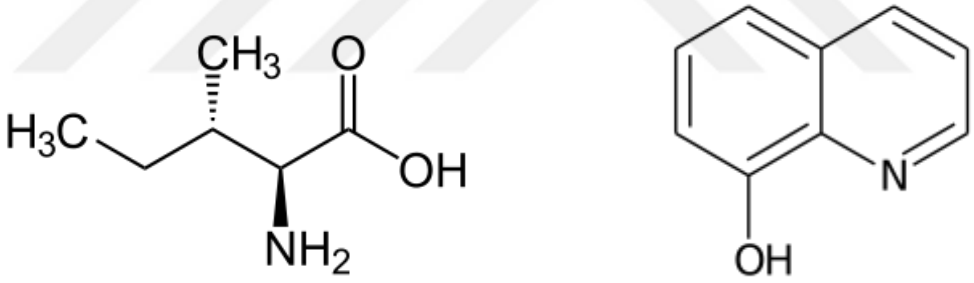
Triton X-114 ve Triton X-100 Çözeltisinin hazırlanması: Ticari olarak satılan stok çözelti kullanılarak %0,1 ile %10 arasında saf su ile ağırlık/hacimce ve ağırlık/ağırlıkça olarak çözeltileri hazırlanmıştır.

6.3.3. Ligand çözeltilerinin özellikleri ve hazırlanması:

CPE yöntemi kullanılarak bakır iyonlarının ön konsantrasyonu için aşamalar, apolar yapıdaki ligand komplekslerinin yüzey aktif madde ile ekstraksiyonuna dayanmaktadır. 8-hidroksikinolin (8-HQ), dietilditiokarbamat (DDTC), 1- (2-piridilazo) -2-naftol (PAN), 1- (2-tiyazolilazo) -2-naftol (TAN) ve (4- (2) piridilazo) resorsinol (PAR), metallerin bulutlanma noktası ekstraksiyonunda kullanılan bazı ligand türlerinin yanı sıra amino asitler de metal ekstraksiyonunda kullanılan L-izolösin, Valin, Lösin v.b. biyolojik ligantlardır. Amino asitlerin metal iyonlarıyla kompleksleri hem karboksilat hem de âmin gruplarını içerdiği için oluşan kompleks yapıları geçiş metalleriyle kararlı bir kompleks yapısı oluşturabilirler.(Samaddar ve Sen, 2014)

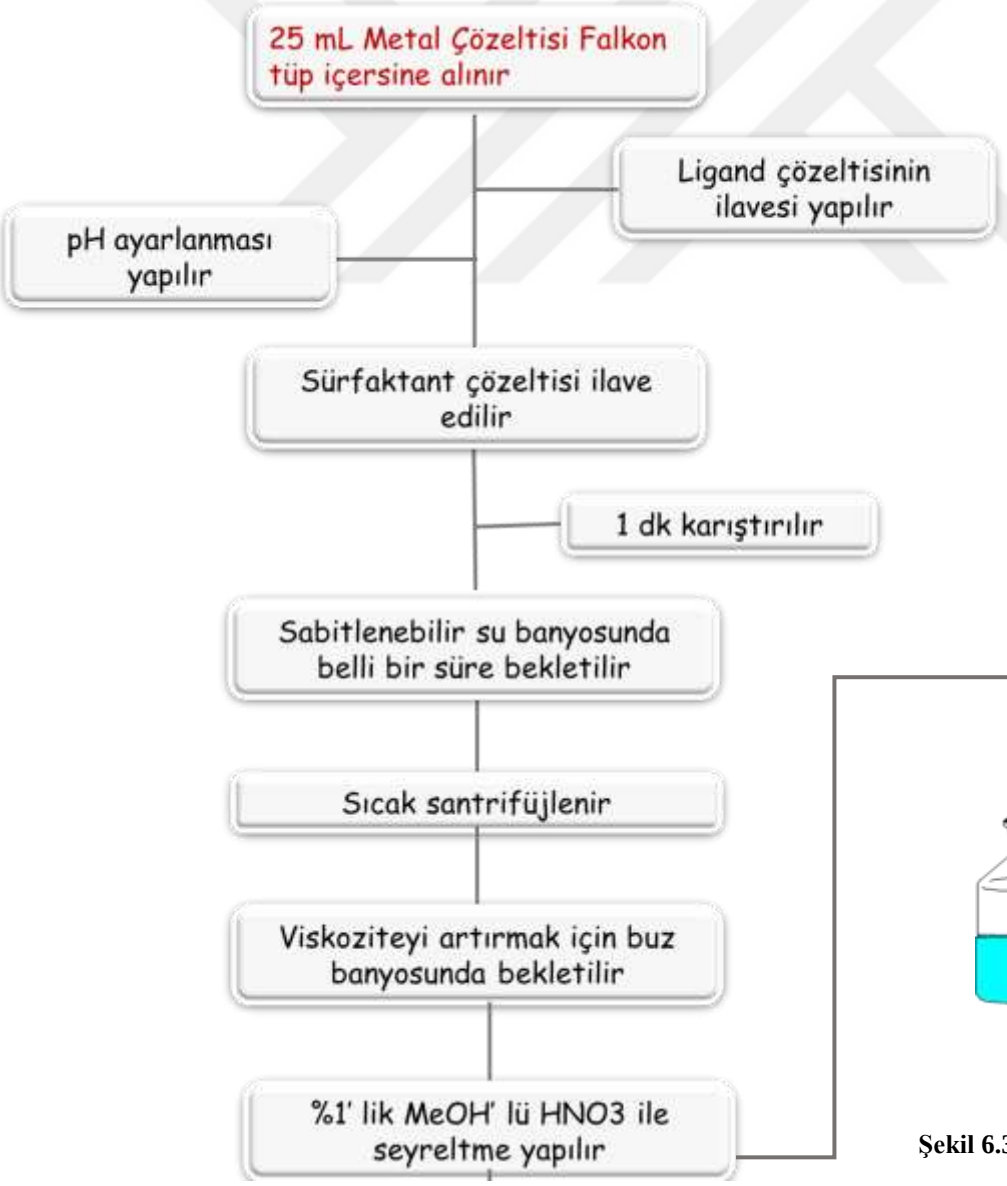
8-hidroksikinolin (8-HQ) ve Çözeltisinin Hazırlanması:

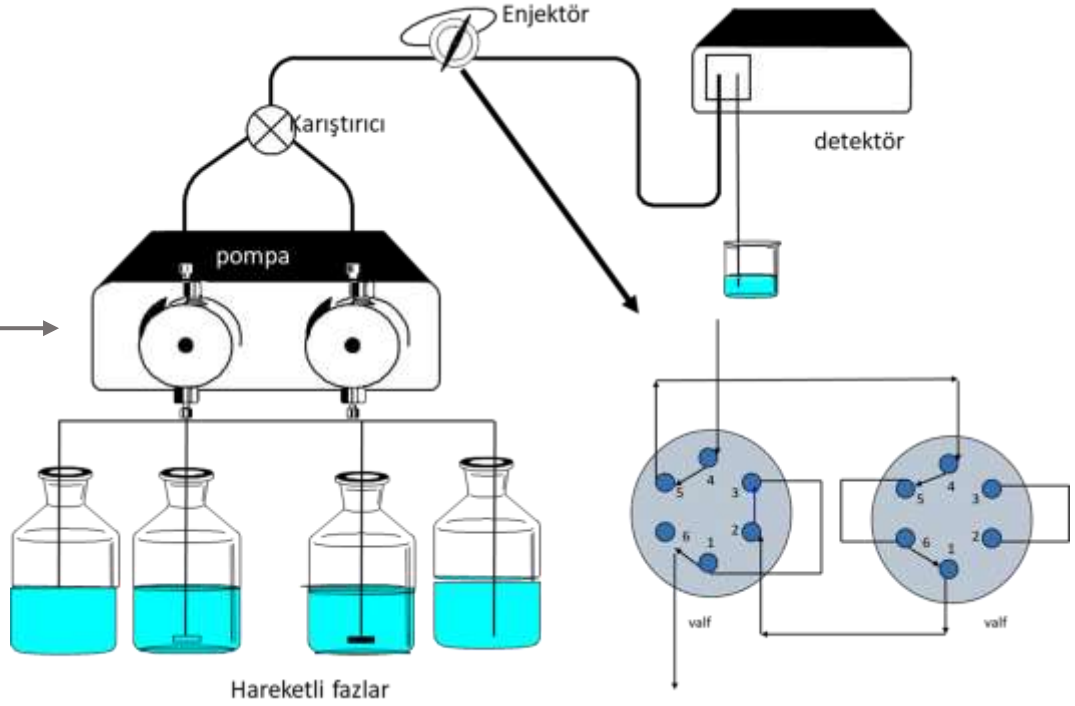
Al^{+3}, Zn^{+2} ve Cu^{+2} metal iyonlarının kompleks yapılarını elde etmek için $2{,}76.10^{-3}$ mol/L 0,6 mmol/L, 1 mmol/L, 3 mmol/L, 5 mmol/L, 5 mmol/L, 10 mmol/L, 20 mmol/L, ve 50 mmol/L L-İzolösin ve 8-HQ çözeltileri ultra saf su ile hazırlandı.(Bavili Tabrizi, 2007; Liang ve Yang, 2010)



Şekil 6.3.3.1: L-İzolösin ve 8-HQ açık molekül yapıları

6.4. Genel CPE Akış Şeması ve Akış Enjeksiyon Analiz Sistemi





Şekil 6.3.3: CPE' den sonra elde edilen analitlerin FIA ile analizinde kullanılan valf sisteminin şematik gösterimi

6.5. Merkezi Kompozit Deneysel Tasarım Şartları

6.5.1. FIA şartlarının optimizasyonu için CDD Şartları

Tablo 6.5.1.1: FIA deneysel tasarım analiz şartları

	-1.68	**-1**	**0**	**1**	**1.68**
AKIŞ HIZI (mL/dk)	0.16	0.5	1	1.5	1.84
NUMUNE HACMİ (µL)	13.2	20	30	40	46.8
SICAKLIK (°C)	16.6	25	30	35	38.4

Deney sırası	**Deney No**	**Akis Hızı (mL/dk)**	**Numune Hacmi (µL)**	**Sıcaklık (°C)**
5	1	0.5	20	35
4	2	1.5	40	25
7	3	0.5	40	35
9	4	0.16	30	30
20	5	1	30	30
11	6	1	13.2	30
3	7	0.5	40	25
6	8	1.5	20	35
17	9	1	30	30
10	10	1.84	30	30
12	11	1	46.8	30
19	12	1	30	30
16	13	1	30	30
2	14	1.5	20	25
18	15	1	30	30
14	16	1	30	38.4
13	17	1	30	16.6
8	18	1.5	40	35
1	19	0.5	20	25
15	20	1	30	30

6.5.2. CPE Analiz Şartlarının Optimizasyonu İçin CDD Şartları

Tablo 6.5.2.1: CPE deneysel tasarım analiz şartları

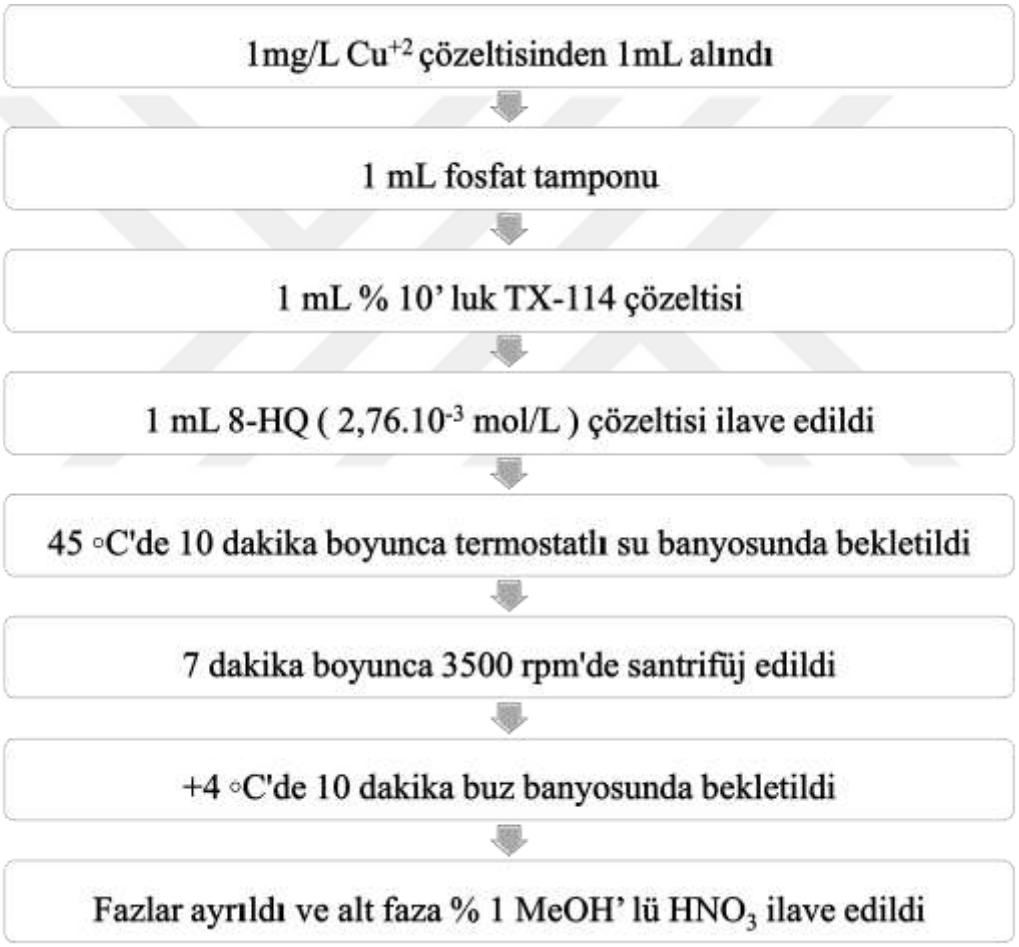
	-1.68	**-1**	**0**	**1**	**1.68**
pH ($-\log[\alpha_{H3O+}]$)	8.1591	8.5	9	9.5	9.8409
SÜRFAKTANT (Triton X-114 (%))	0.0318207	0.1	0.2	0.3	0.368179
LİGAND (L-İZOLÖSİN (mmol/L))	0.431821	0.5	0.6	0.7	0.768179

Deney sırası	**Deney No**	**pH ($-\log[\alpha_{H3O+}]$)**	**SÜRFAKTANT (%)**	**LİGAND (mmol/L)**
20	1	9	0.2	0.6
5	2	8.5	0.1	0.7
2	3	9.5	0.1	0.5
1	4	8.5	0.1	0.5
7	5	8.5	0.3	0.7
6	6	9.5	0.1	0.7
4	7	9.5	0.3	0.5
14	8	9	0.2	0.768179
8	9	9.5	0.3	0.7
12	10	9	0.368179	0.6
11	11	9	0.0318207	0.6
15	12	9	0.2	0.6
19	13	9	0.2	0.6
18	14	9	0.2	0.6
9	15	8.1591	0.2	0.6
10	16	9.8409	0.2	0.6
3	17	8.5	0.3	0.5
17	18	9	0.2	0.6
16	19	9	0.2	0.6
13	20	9	0.2	0.431821

6.6. Bakır ve 8-Hidroksi Kinolinin CPE Yöntemiyle İncelenmesi

8-hidroksi kinolin ile yapılan deneyde bazı aşamalar değiştirilerek misel oluşumu incelenmiş ve UV-Vis ile ölçümü alınmıştır. Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda metal çözeltileri kullanıp farklı pH değerlerinde ilave edilen yüzey aktif madde, 8-HQ ve tampon çözelti miktarlarının etkisi incelenmiştir. Kullanılan prosedürde metal miktarı sabit tutulup diğer çözeltilerden her seferinde başlangıç çözeltisinin üzerine her aşamada 1'er ml daha ilave edilerek deney yapılmıştır. (Bavili Tabrizi, 2007)

Deney aşamaları şu şekilde yapılmıştır;



Şekil 6.5.2: CPE ile bakır ve 8-Hidroksikinolinin analiz aşamaları

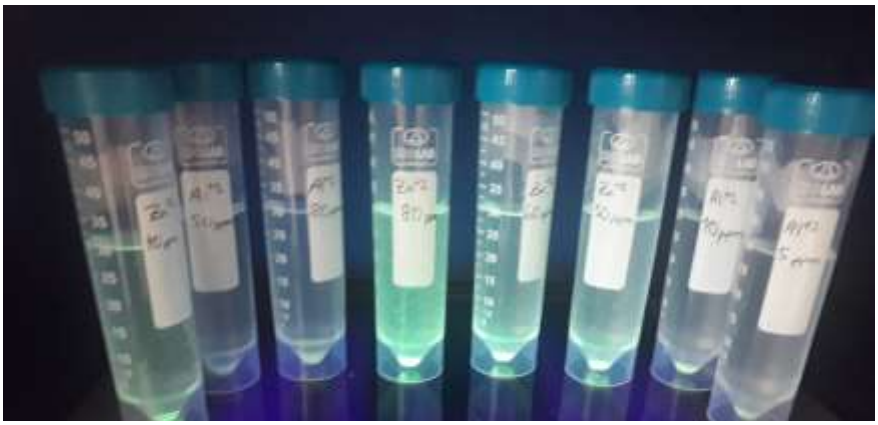
6.7. Alüminyum , Çinko ve 8-Hidroksikinolin Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu İle İncelenmesi(Bavili Tabrizi, 2007)

Al $^{3+}$ İçin

- ➔ Al^{3+} iyonu karışımı içeren çözeltiden 25 mL santrifüj tüpüne alındı
- ➔ 0.6 mL 8-HQ ($2{,}76.10^{-3}$ mol/L) ilave edildi
- ➔ 2 mL Asetat tamponu ile pH 6'e ayarlandı
- ➔ 1 mL (1 mol/L) Na_2SO_4 ilave edildi
- ➔ 1,5 mL Triton X-114 (%2) ilave edildi
- ➔ Karışım, 1 dakika boyunca çalkalandı
- ➔ 50 ◦C'de 15 dakika boyunca su banyosunda bekletildi
- ➔ 5 dakika +4 ◦C'de 5 dakika bekletildi
- ➔ 15 dakika boyunca 2500 rpm'de santrifüj edildi
- ➔ 5 dakika +4 ◦C'de 5 dakika daha bekletildi

Zn $^{2+}$ İçin

- ➔ Zn^{2+} iyonu karışımı içeren çözeltiden 25 mL santrifüj tüpüne alındı
- ➔ 0.6 mL 8-HQ ($2{,}76.10^{-3}$ mol/L) ilave edildi
- ➔ 2 mL Boraks tamponu ile pH 9'e ayarlandı
- ➔ 1 mL (1 mol/L) Na_2SO_4 ilave edildi
- ➔ 1,5 mL Triton X-114 (%2) ilave edildi
- ➔ Karışım, 1 dakika boyunca çalkalandı
- ➔ 50 ◦C'de 15 dakika boyunca su banyosunda bekletildi
- ➔ 5 dakika +4 ◦C'de 5 dakika bekletildi
- ➔ 15 dakika boyunca 2500 rpm'de santrifüj edildi
- ➔ 5 dakika +4 ◦C'de 5 dakika daha bekletildi

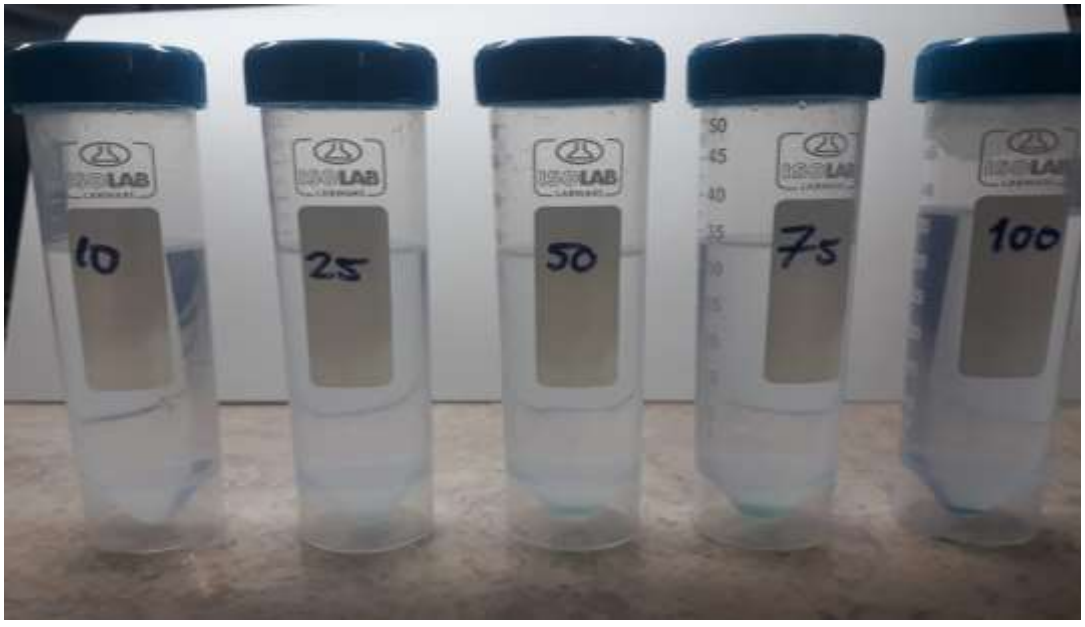


Şekil 6.5.2.: Alüminyum, Çinko ve 8-Hidroksikinolin kompleks yapısının CPE sonrası spektroflorimetre ışığı altında görünümü

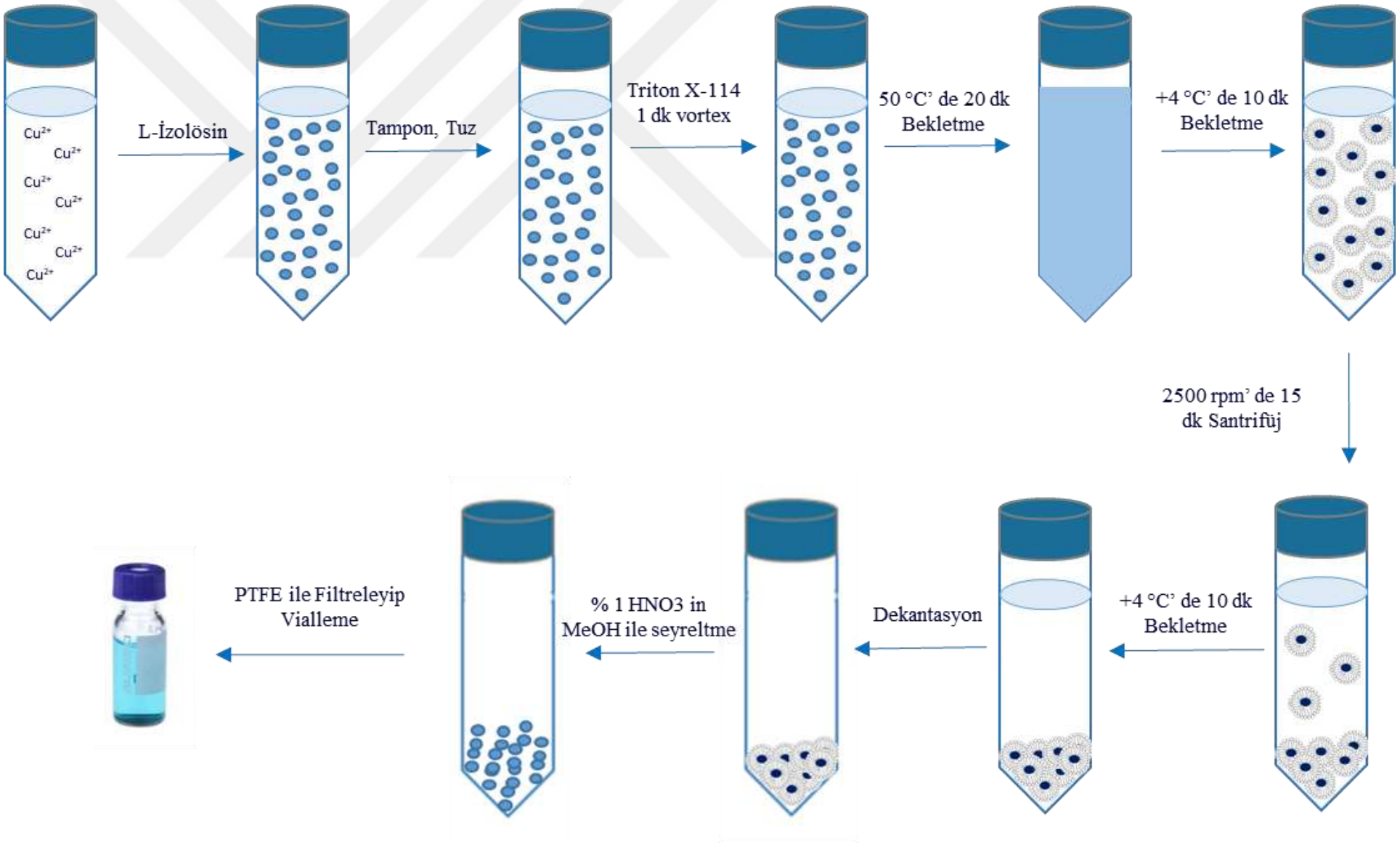
6.8. Bakır-İzolösinin Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu ile İncelenmesi(Liang ve Yang, 2010)

Deney aşamaları şu şekilde yapılmıştır;

- ➔ Cu^{2+} Metal iyonu içeren çözeltiden 25 mL santrifüj tüpüne alındı
- ➔ 4 mL L-izolösin (6 mmol/L) ilave edildi
- ➔ 2 mL NH_4^+/NH_4Cl tamponu ile pH 9'e ayarlandı
- ➔ 1 mL (1 mol/L) Na_2SO_4 ilave edildi
- ➔ 2 mL Triton X-114 (%0,2) ilave edildi
- ➔ Karışım, 1 dakika boyunca çalkalandı
- ➔ 50 ◦C'de 15 dakika boyunca su banyosunda bekletildi
- ➔ 5 dakika +4 ◦C'de 5 dakika bekletildi
- ➔ 15 dakika boyunca 2500 rpm'de santrifüj edildi
- ➔ 5 dakika +4 ◦C'de 5 dakika daha bekletildi



Şekil 6.5.2: CPE sonrası bakır (II) iyonlarının L-izolösin ile yaptığı kompleks yapısının farklı konsantrasyonlarda incelenmesi

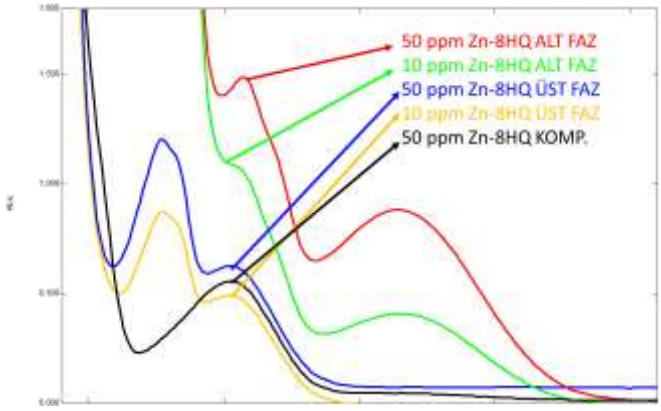


Şekil 6.5.2: Bakır (II) iyonlarının L-izolösin ile yaptığı kompleks yapısının CPE yöntemiyle tayinin analiz akış şeması

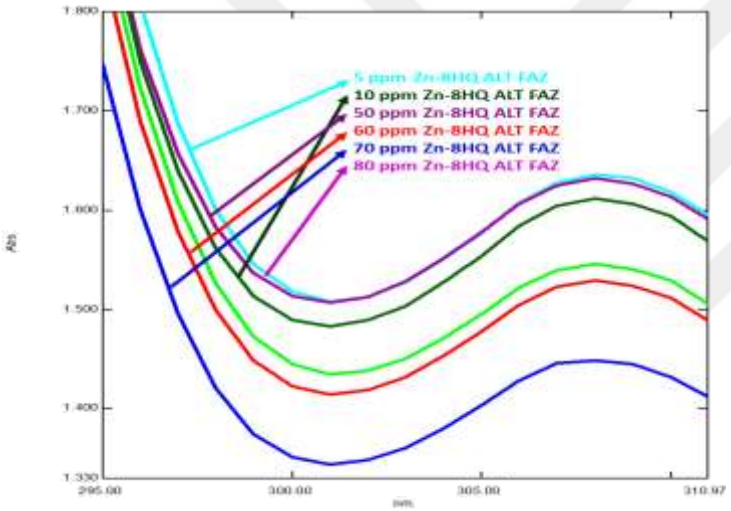
7. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

7.1. CPE Sonrası Zn-8HQ ve Al-8HQ'nin İncelenmesi

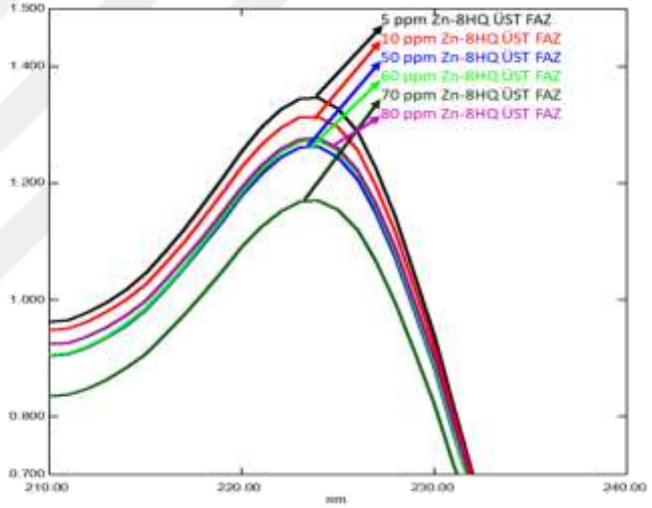
7.1.1. Zn-8HQ Kompleks, Alt Faz ve Üst Faz UV-Vis Sonuçları



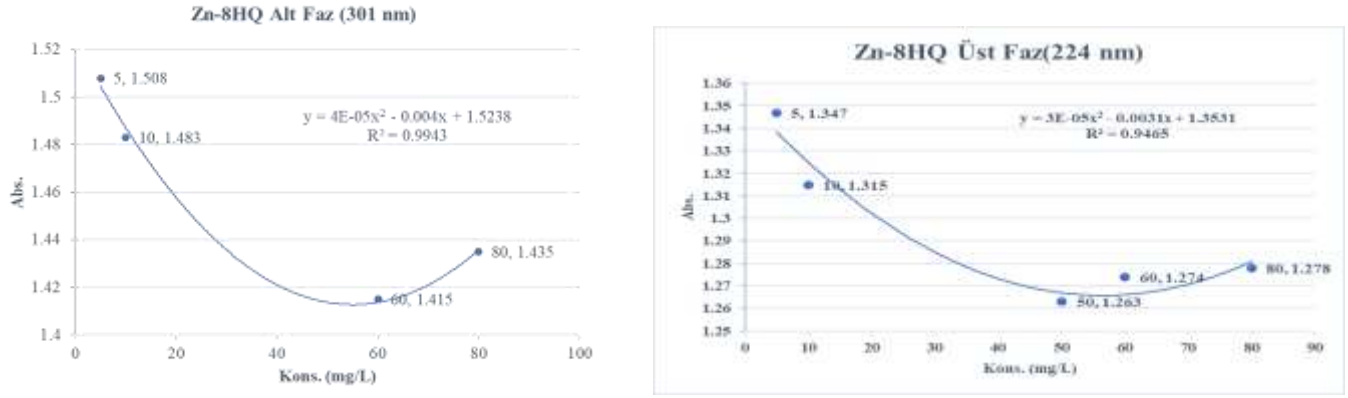
Şekil 7.1.1.1: Zn-8HQ kompleks, alt faz ve üst faz UV-Vis spektrumları



Şekil 7.1.1.2: Farklı konsantrasyonlarki Zn-8HQ alt faz UV-Vis spektrumları

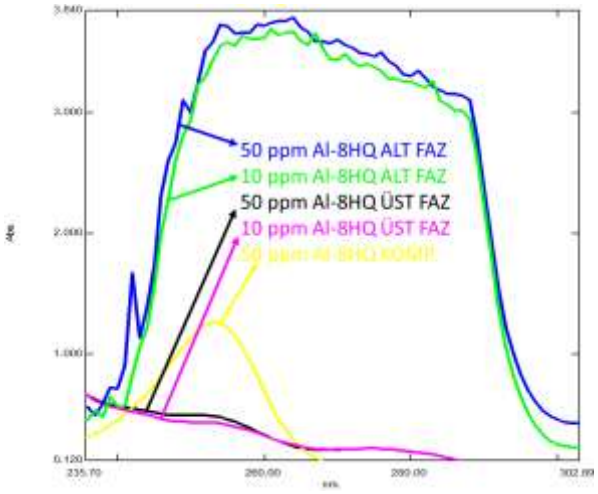


Şekil 7.1.1.3: Farklı konsantrasyonlarki Zn-8HQ üst faz UV-Vis spektrumları

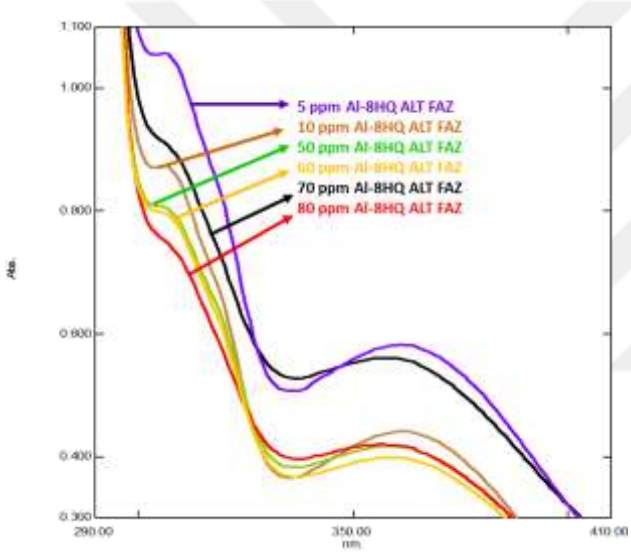


Şekil 7.1.1.4: Farklı konsantrasyonlarki Zn-8HQ alt ve üst faz UV-Vis kalibrasyon grafikleri

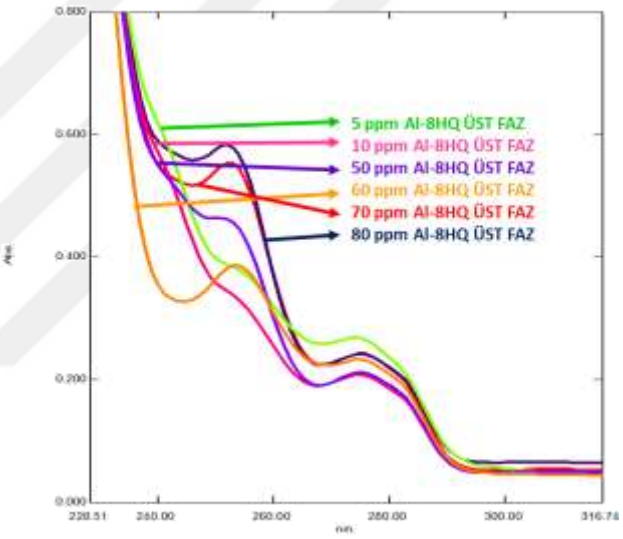
7.1.2. Al- 8HQ kompleksi, alt faz ve üst faz UV-Vis sonuçları



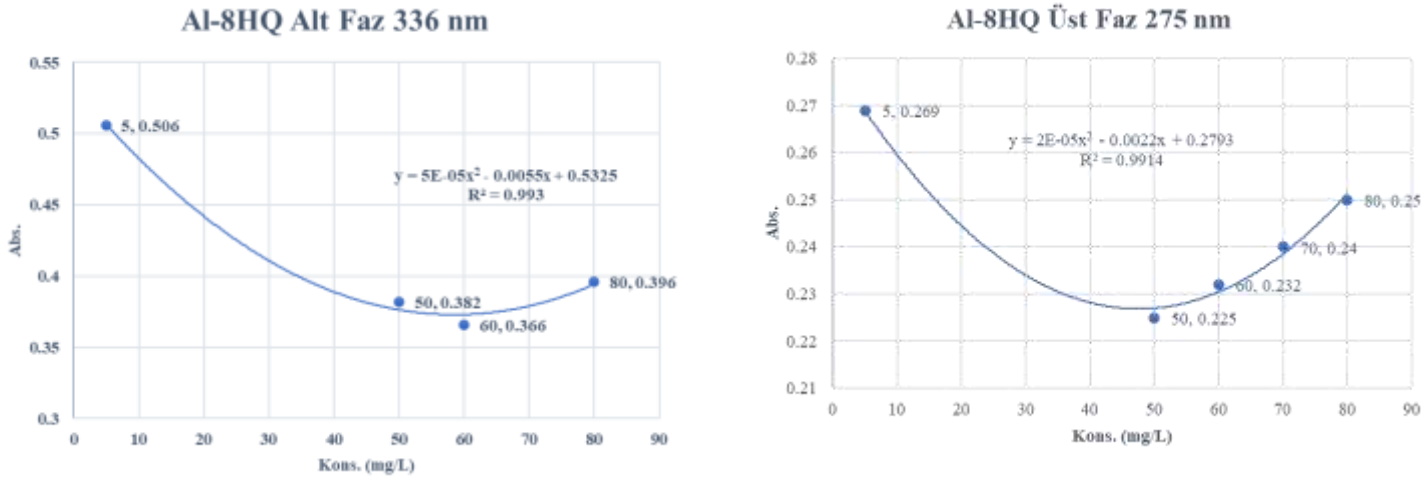
Şekil 7.1.2.1: Al-8HQ kompleks, alt faz ve üst faz UV-Vis spektrumları



Şekil 7.1.2.2: Farklı konsantrasyonlarki Al-8HQ alt faz UV-Vis spektrumları



Şekil 7.1.2.3: Farklı konsantrasyonlarki Al-8HQ üst faz UV-Vis spektrumları

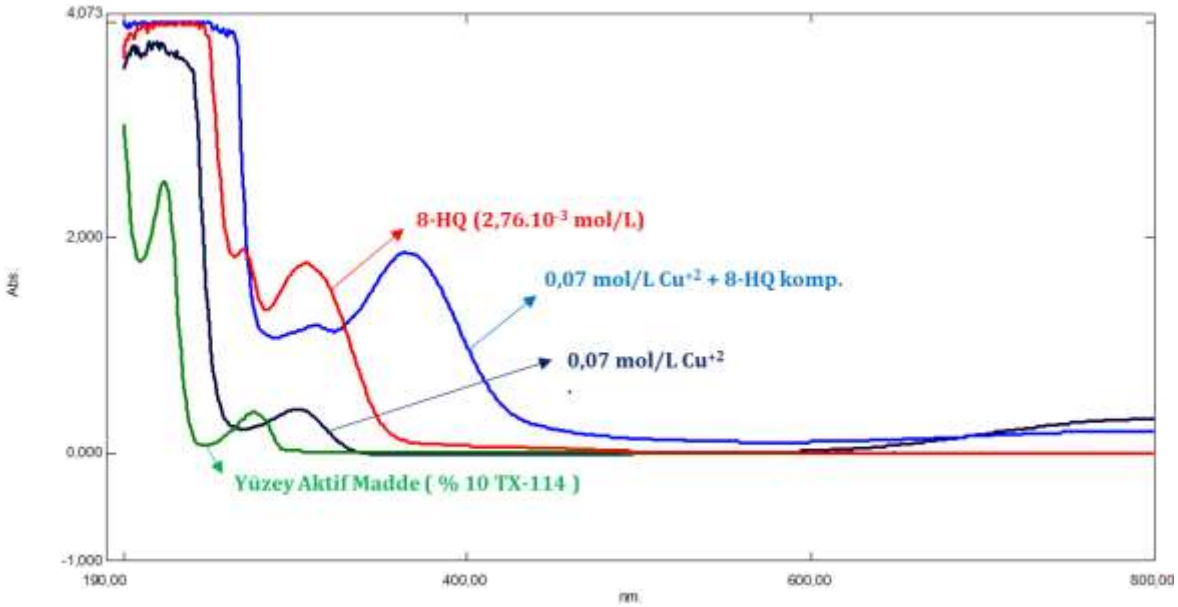


Şekil 7.1.2.4: Farklı konsantrasyonlarki Al-8HQ alt ve üst faz UV-Vis kalibrasyon grafikleri

Yukarda belirtilen çalışmalarda UV-Vis ölçümleri alınan Al ve Zn' nun 8-HQ kinolin ile yaptığı kompleks yapısının ve CPE sonrası oluşan alt ve üst fazların karşılaştırılması yapılmış sonuç olarak alt fazda misellerin Al ve Zn 8-HQ kompleks yapısının toplanabildiği görülmüştür. Daha sonraki aşamalarda farklı konsantrasyonlarda metal çözeltileri hazırlanıp CPE yöntemi ile ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon sonrası yapılan ölçümlerde alt fazların baseline çözeltisi olarak %1 MeOH'lü HNO3 kullanılmış ve üst fazlar içinse saf su kullanılmıştır. Alt ve üst fazların farklı dalga boylarında incelenmesi bu sebeptendir. Konsantrasyonlar arası farklı absorbans değerlerin baz alındığı ölçümlerde Al^{3+} ve Zn^{2+} metal iyonlarının 8-HQ kompleks oluşturduğu fakat TX-114 noniyonik yüzey aktif madde ile kararlı bir misel yapısının oluşturmadığından dolayı ekstraksiyon sonrası misel yapısının tam bozulamadığı ve yapılan spektrofotometrik yöntemlerle tayin edilemediği bulunmuştur. Kullanılan söz konusu metallerin ekstraksiyonunda tekrarlanabilirliğinin olmamasından dolayı daha sonraki süreçlerde bakır metalinin ekstraksiyonuna göre çalışmalar devam etmiştir.

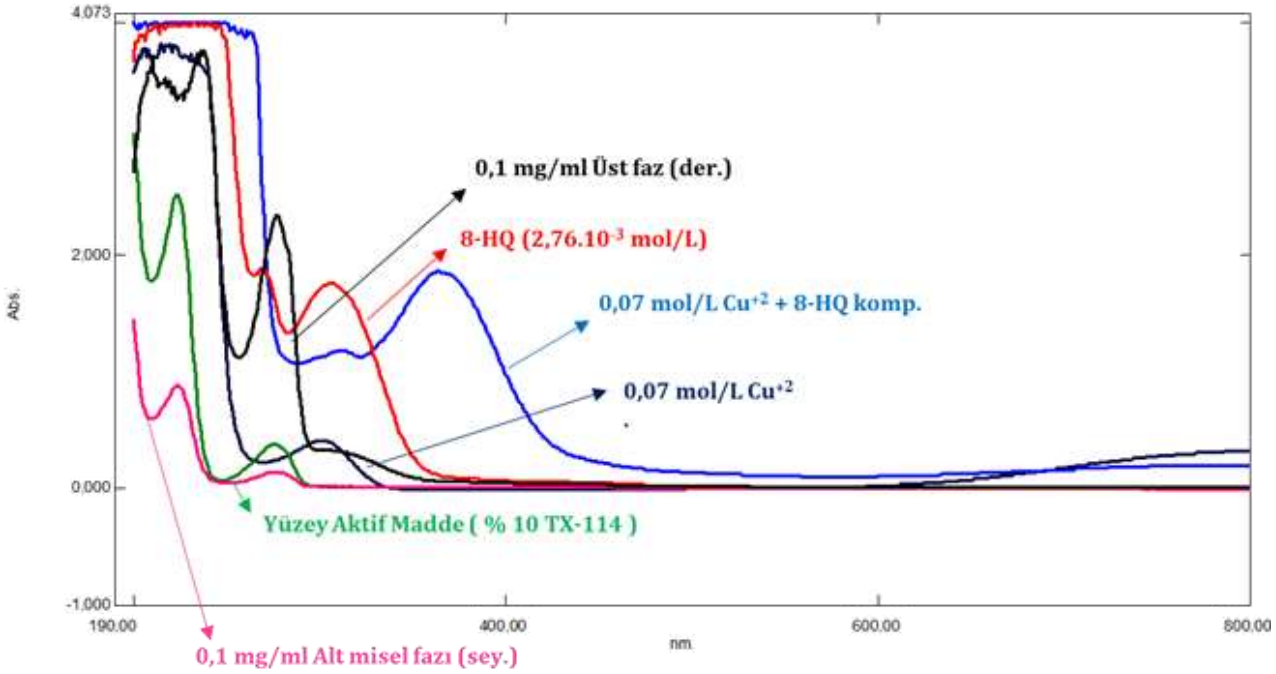
7.2. CPE Sonrası Cu-8HQ Yapısını İncelenmesi

7.2.1. Cu-8HQ UV-Vis sonuçları



Şekil 7.2.1.1: Cu-8HQ, TX-114, Cu(ll) ve 8HQ UV-Vis Spektrumları

Bakır ve 8-hidroksi kinolin kompleks yapısının CPE yöntemi için uygunluğunu kontrol etmek adına UV-VİS spektroskopisinde ölçümleri alınmıştır. Alınan UV spektrum ölçümlerinin sonucu yukarıda verilmiştir. Yukarıda gösterilen grafikte yüzey aktif madde (% 10'luk TX-114), 8-hidroksi kinolinin ($2{,}76.10^{-3}$ mol/L), Cu^{+2} (0,07 mol/L) ve kompleksin (8-HQ + Cu^{+2}), ayrı ayrı ölçümleri alınmış ve bulutlanma noktası ekstraksiyonu deneylerinden elde edilen, misel olduğu düşünülen yapının içeriklerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

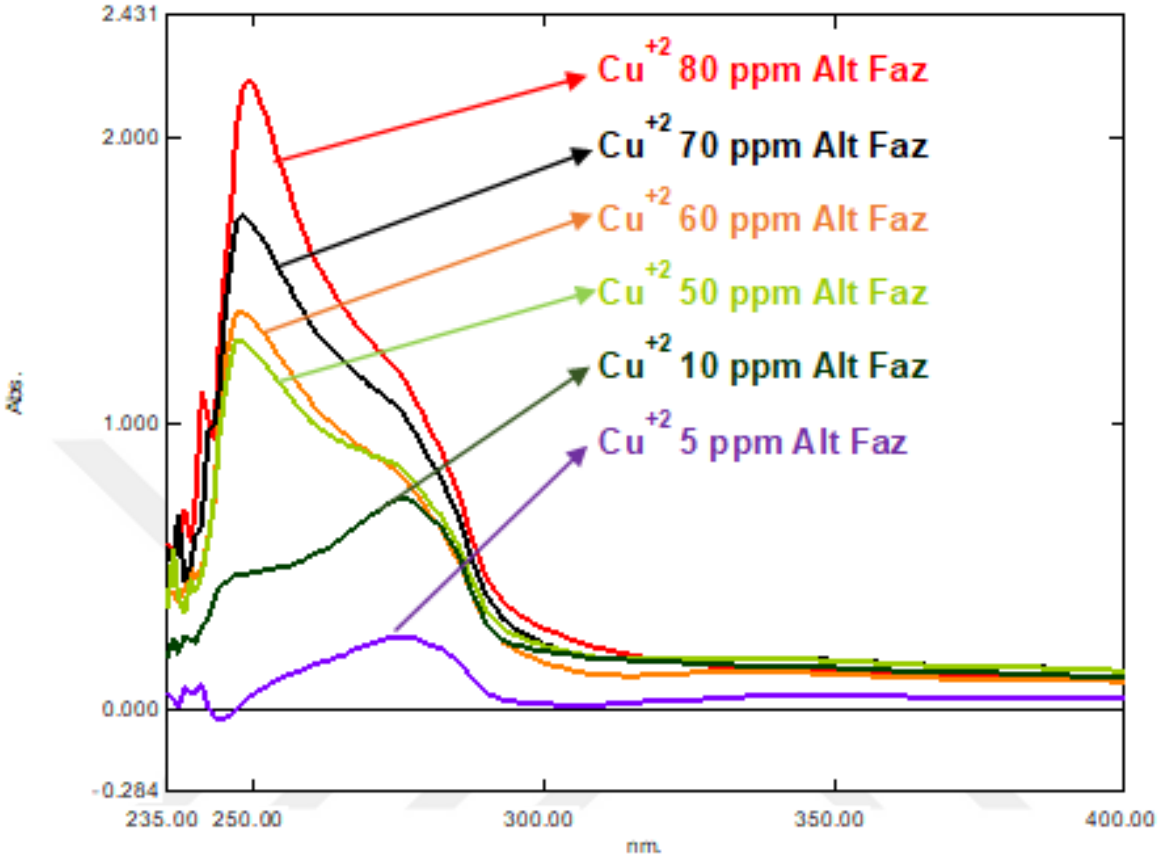


Şekil 7.2.1.2: Cu-8HQ, TX-114, Cu(ll) ve 8HQ UV-Vis Spektrumlarının Alt ve Üst Fazlarla Karşılaştırılması

Sonuç olarak; uygulanan prosedürden elde edilen alt ve üst kısımlarının UV spektrum ölçümleri alınmış ve yukarıdaki grafikte karşılaştırılmıştır. Kullanılan metotta Cu+2 + 8-HQ'nin kompleks oluşturduğu fakat oluşan kompleks yapısının yüzey aktif madde ile alt fazda toplanamadığı, kompleks yapısının üst fazda kaldığı gözlenmiştir.

7.3. CPE sonrası Cu-İzolösin Kompleks Yapısının İncelenmesi

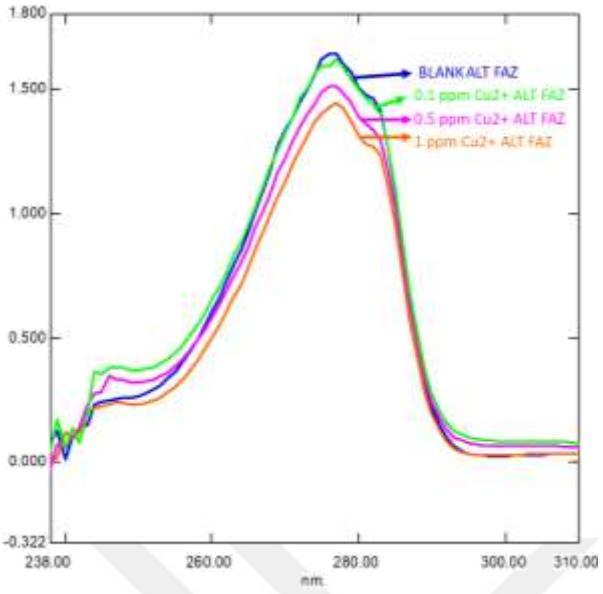
7.3.1. Cu-izolösin alt faz UV-Vis sonuçları



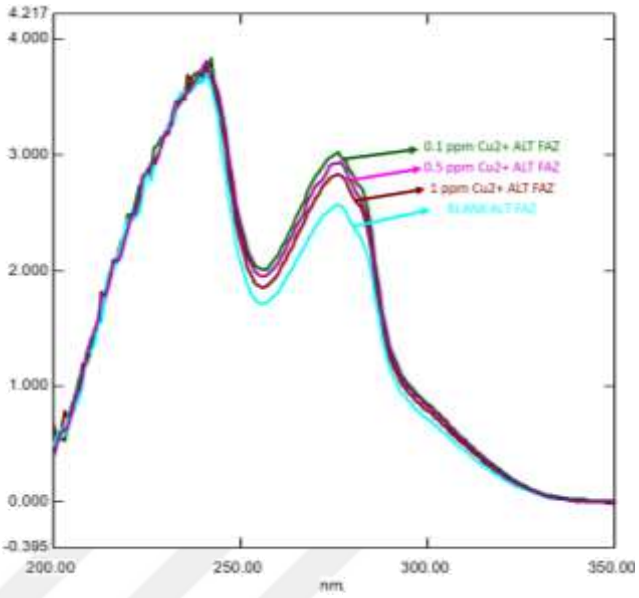
Şekil 7.3.1.1: Cu-İzolösin Kompleks Yapısının Artan Konsantrasyonuna Göre Alt Faz UV-VİS spektrumları

Yukardaki gösterilen bulutlanma noktası ekstraksiyon aşamaları yapıldıktan sonra ekstraksiyon yönteminin uygunluğunu kontrol etmek amacıyla UV-Vis spektrofotometresi ile alt fazların ölçümleri alınmıştır. Grafikte gösterilen UV-Vis spektrumlarında artan metal konsantrasyonuyla birlikte artan absorbans şiddetinin ekstraksiyon yönteminin uygunluğunu göstermektedir. Yapılan ölçümler sonucunda alt fazların 250 nm dalga boyunda tayin edilebildiği görülmüştür.

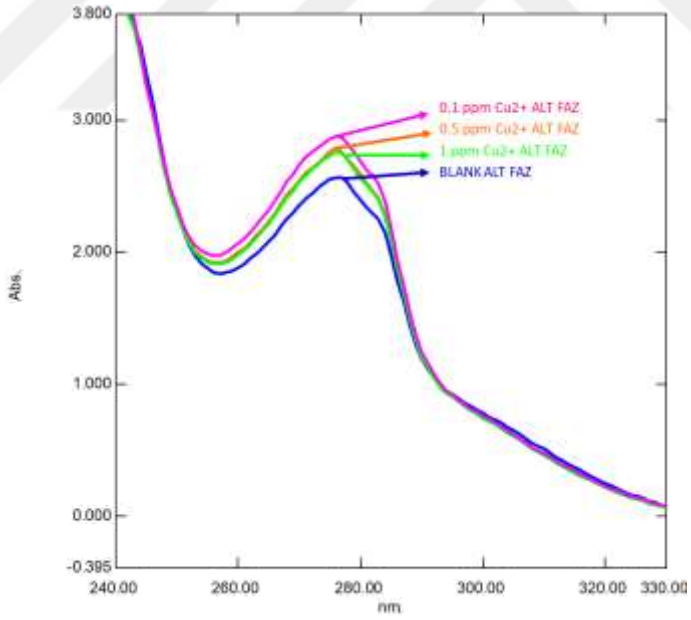
7.3.2. Cu-izolösin alt fazların hareketli faz seçimi UV-Vis sonuçları



Şekil 7.3.1.1: %1 HNO_3 in MeOH baseline UV-Vis Spektrumları



Şekil 7.3.2.2: MeOH-H_2O baseline UV-Vis Spektrumları



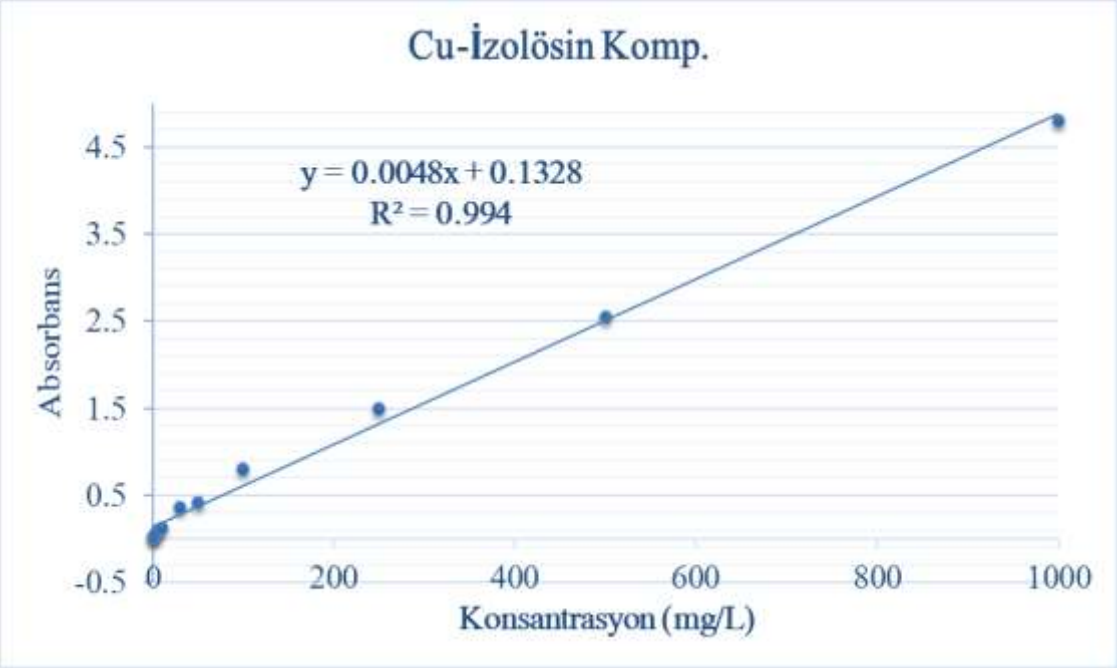
Şekil 7.3.2.3: H_2O baseline UV-Vis Spektrumları

Yapılan spektrofotometrik analizler sonrası 0.1, 0.5 ve 1 mg/kg metal konsantrasyonlarında alt fazların farklı baseline MeOH- H_2O, H_2O ve %1'lik metanollü nitrik asitle çözeltilerinde ölçümleri alınmış ve pikleri yukarıdaki verilmiştir. Sonuç olarak MeOH-H_2O baseline çözeltisinde daha doğru sonuç alınabildiği ve FIA analizleri için hareketli faz olarak kullanılabileceği görülmüştür.

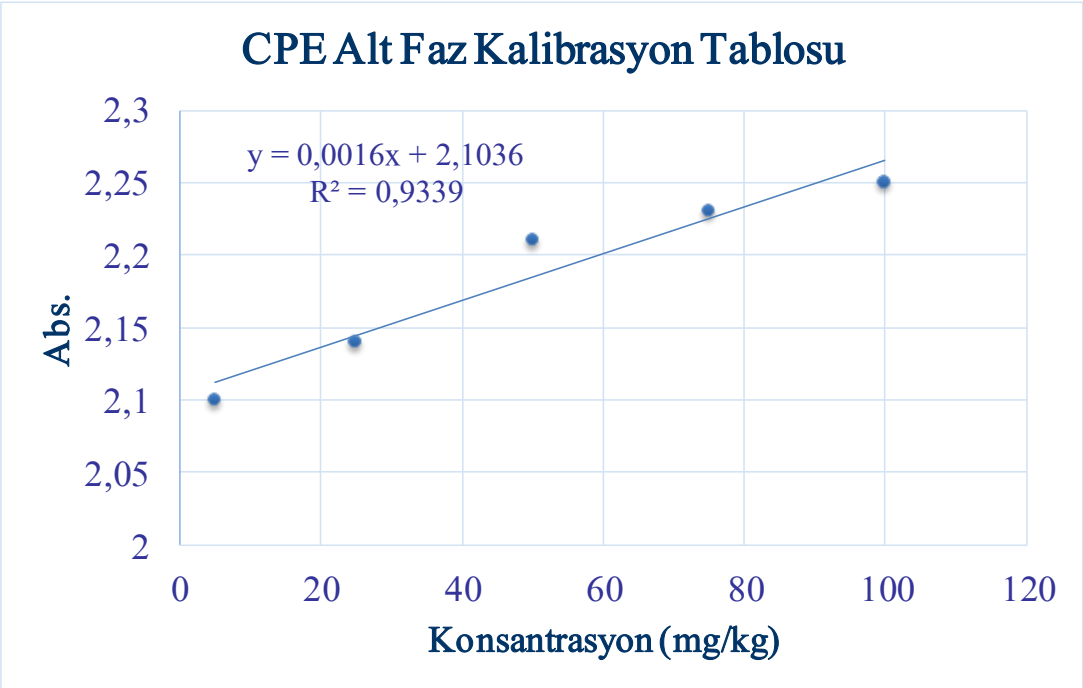
7.3.3. CPE sonrası AAS analiz sonuçları

Tablo 7.3.3.1: AAS Analizleri İçin Hazırlanan Artan Bakır Konsantrasyonun Kalibrasyon Çözeltileri

Konsantrasyon (mg/kg)	Absorbans
0.5	**0.01**
1	**0.02**
5	**0.055**
10	**0.095**
30	**0.12**
50	**0.36**
100	**0.42**
250	**0.8**
500	**1.5**
1000	**2.55**



Şekil 7.3.3.1: AAS Analizleri İçin Hazırlanan Cu-İzolösin Komplekslerinin Kalibrasyon Grafiği



Şekil 7.3.3.2: CPE Sonrası AAS Cu-İzolösin Alt Faz Kalibrasyon Grafiği

Konsantrasyon (mg/kg)	Absorbans
5	**2.1**
25	**2.14**
50	**2.21**
75	**2.23**
100	**2.25**

Tablo 7.3.3.3: CPE Sonrası AAS Cu-İzolösin Alt Faz Kalibrasyon Grafiğinin Konsantrasyon ve Absorbans Değerleri

AAS'de yapılan analizlerde farklı konsantrasyonlarda kompleks ve alt faz birimleri okutulmuş ve doğrusal bir grafik elde edilmiştir. Yapılan analizlerin sonucunda %R değeri %393 mg/L olarak bulunmuştur. Yapılan ekstraksiyon yönteminin doğruluğu AAS analiz yöntemiyle doğrulanmıştır.

7.4. Merkezi Kompozit Üç Boyutlu Deneysel Tasarım Grafikleri

7.4.1. FIA analiz şartları optimizasyonu

Tablo 7.4.11.1: FIA Deneysel Tasarım Analiz Şartlarına Karşılık Gelen Cevap Değerleri

	-1.68	**-1**	**0**	**1**	**1.68**
AKIŞ HIZI (mL/dk)	0.16	0.5	1	1.5	1.84
NUMUNE HACMİ (µL)	13.2	20	30	40	46.8
SICAKLIK (℃)	16.6	25	30	35	38.4

Deney sırası	**Deney No**	**Akis Hızı (mL/dk)**	**Numune Hacmi (µL)**	**Sıcaklık (°C)**	**Pik Alanı**
5	1	0.5	20	35	1154.07
4	2	1.5	40	25	2451.57
7	3	0.5	40	35	3559.85
9	4	0.16	30	30	8424.95
20	5	1	30	30	4775.94
11	6	1	13.2	30	3408.14
3	7	0.5	40	25	2482.49
6	8	1.5	20	35	25574.9
17	9	1	30	30	2364.96
10	10	1.84	30	30	2311.88
12	11	1	46.8	30	1202.23
19	12	1	30	30	2493.51
16	13	1	30	30	4605.77
2	14	1.5	20	25	1386.87
18	15	1	30	30	2470.54
14	16	1	30	38.4	3983.46
13	17	1	30	16.6	6327.51
8	18	1.5	40	35	1124.96
1	19	0.5	20	25	2168.94
15	20	1	30	30	2458.12

7.4.2. CPE analiz şartları optimizasyonu:

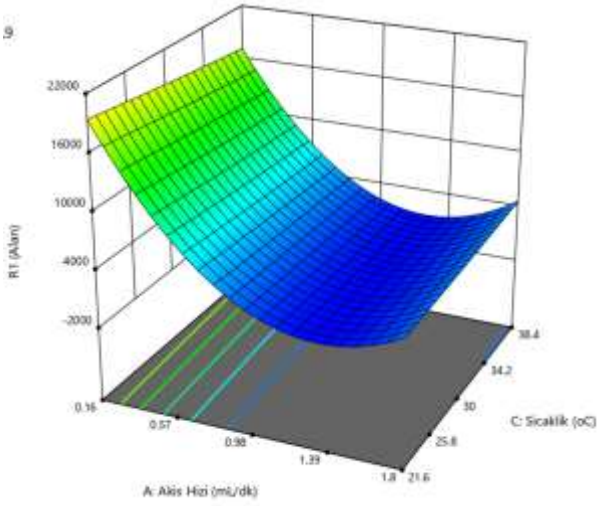
Tablo 7.4.22.1: CPE Deneysel Tasarım Analiz Şartlarına Karşılık Gelen Cevap Değerleri

	-1.68	**-1**	**0**	**1**	**1.68**
pH ($log[\alpha_{H3O+}]$)	8.1591	8.5	9	9.5	9.8409
Sürfaktant (Triton X-114 (%))	0.0318207	0.1	0.2	0.3	0.368179
Ligand (L-İzolösin (mmol/L))	0.431821	0.5	0.6	0.7	0.768179

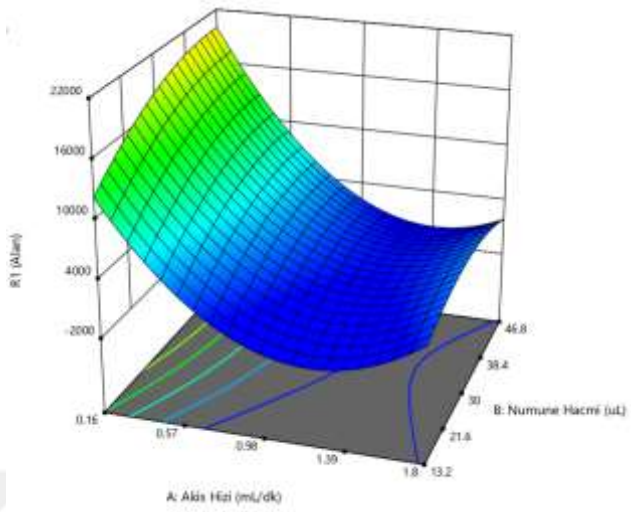
Deney sırası	**Deney No**	**pH-($log[\alpha_{H3O+}]$)**	**Sürfaktant (%)**	**Ligand (mmol/L)**	**Pik Alanı**
20	1	9	0.2	0.6	3032
5	2	8.5	0.1	0.7	2402
2	3	9.5	0.1	0.5	4973
1	4	8.5	0.1	0.5	2457
7	5	8.5	0.3	0.7	1921
6	6	9.5	0.1	0.7	3704
4	7	9.5	0.3	0.5	4513
14	8	9	0.2	0.768179	2989
8	9	9.5	0.3	0.7	4381
12	10	9	0.368179	0.6	3143
11	11	9	0.0318207	0.6	3058
15	12	9	0.2	0.6	2812
19	13	9	0.2	0.6	3013
18	14	9	0.2	0.6	2785
9	15	8.1591	0.2	0.6	2156
10	16	9.8409	0.2	0.6	4497
3	17	8.5	0.3	0.5	2350
17	18	9	0.2	0.6	2758
16	19	9	0.2	0.6	3122
13	20	9	0.2	0.431821	3049

7.5. CPE Sonrası FIA Sonuçları

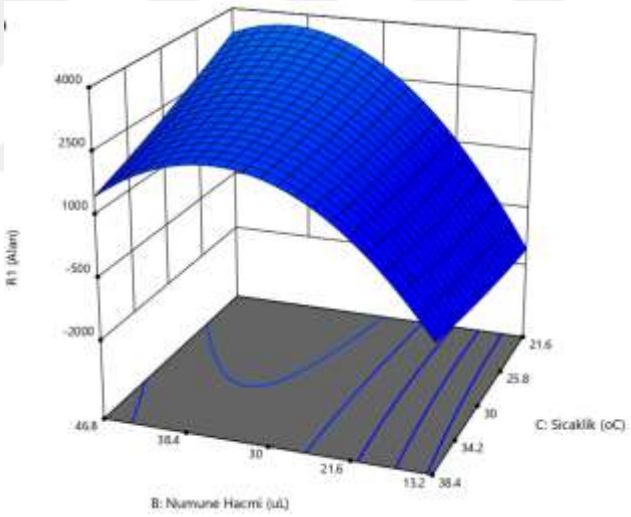
7.5.1. FIA analiz şartlarının optimizasyonu



Şekil 7.5.1.1: Sıcaklık (°C)-Akış Hızı (dk/mL)



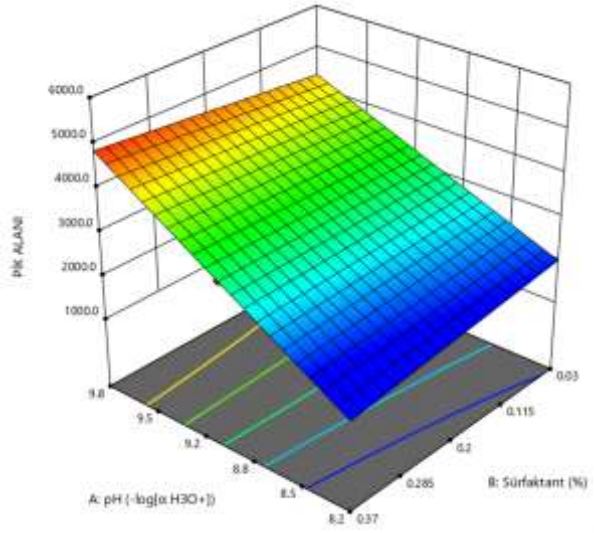
Şekil 7.5.1.2: Numune Hacmi (µL)-Akış Hızı (dk/mL)



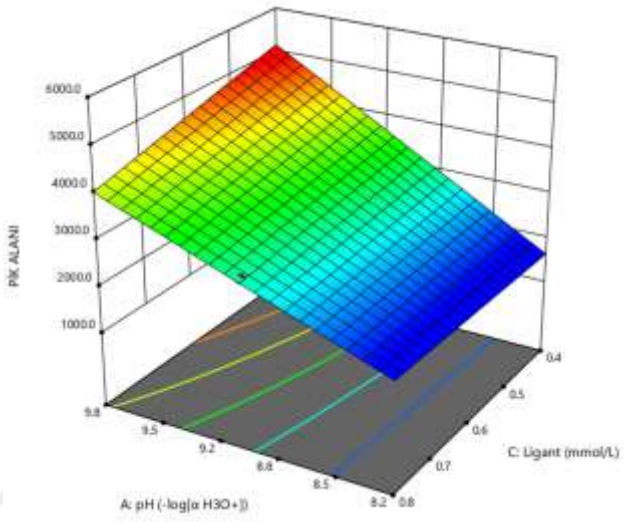
Şekil 7.5.1.3: Sıcaklık (°C)-Numune Hacmi (µL)

Deneysel tasarımda değişken olarak sıcaklık (°C), akış hızı (dk/mL) ve enjeksiyon hacmi (µL) ve cevap değeri olarak pik alanı baz alınmıştır. Yapılan analiz sonucu akış hızının pik alanı ile ters orantılı olarak değişkenlik gösterdiğini ve pik alanının 0.5 dk/mL akış hızında en yüksek olduğu bulunmuştur. Diğer değişkenler ele alındığında numune hacmi ve sıcaklığın pik alanına çok fazla etki etmediği bulunmuştur. Sonuç olarak; yapılan deneysel tasarım grafiklerininin yorumlandığında akış hızının 1 mL/dk' da sıcaklığın 30°C 'de, numune hacminin 30 µL olduğu şartların uygun olduğu görülmüştür.

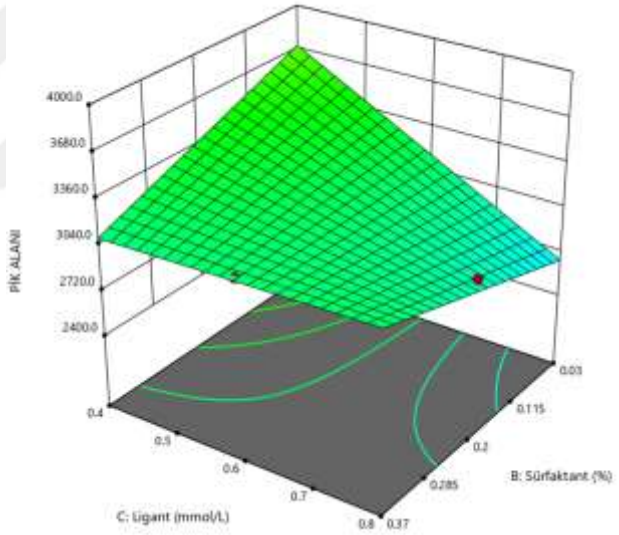
7.5.2. CPE analiz şartları için merkezi kompozit tasarım grafikleri



Şekil 7.5.2.1: Sürfaktant (%)- pH (-log[α_{H3O+}])



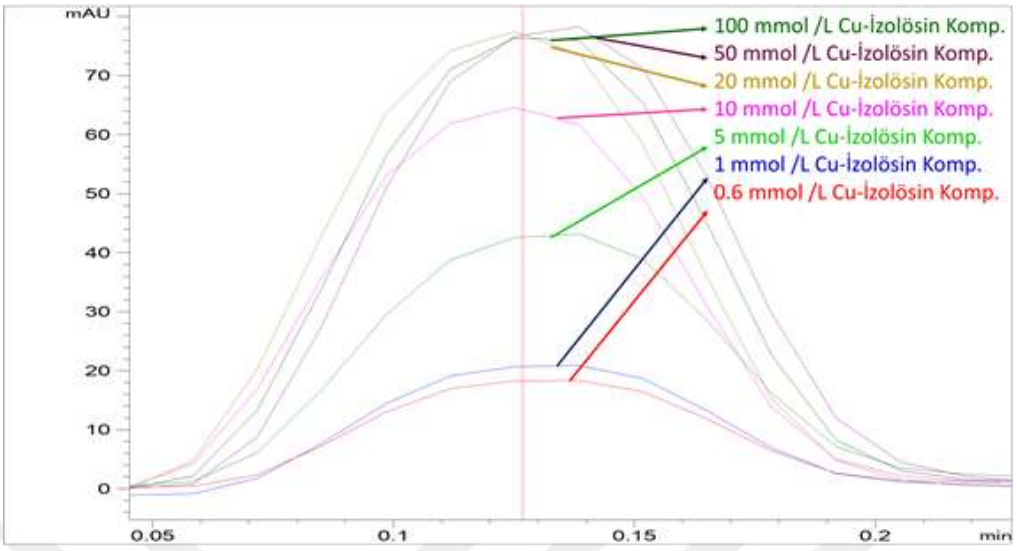
Şekil 7.5.2.2: Ligand (mmol/L)- pH (-log[α_{H3O+}])



Şekil 7.5.2.1: Ligand (mmol/L)- Sürfaktant(%)

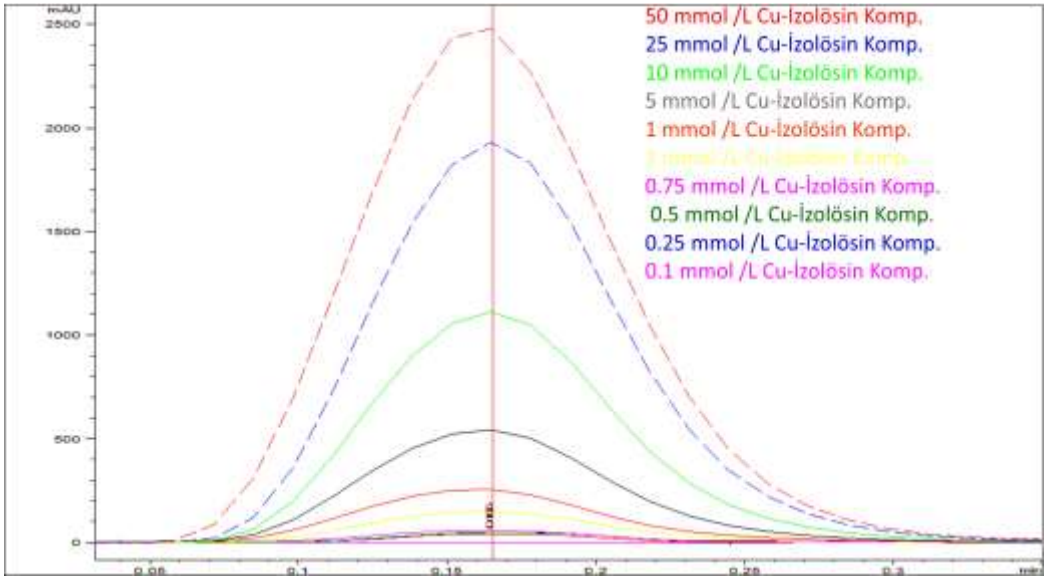
Yapılan bu çalışmada analiz şartlarının optimizasyonu için deneysel tasarım yapılmış ve analiz için uygun şartların 0,6 mmol/L ligand, %0,2 sürfaktant ve pH: 9.0 olduğu görülmüştür. Oluşan grafiğe göre sürfaktant ve ligand miktarının çok fazla etkili olmadığı ve pH'nın etkili olduğu görülmüştür. Yapılan daha önceki analizlerde aynı şartlar kullanılmış ve yapılan optimizasyon da görüldüğü gibi uygun şartların çalışıldığı tespit edilmiştir.

7.5.3. Bakır izolösin kompleks yapısının FIA'de incelenmesi



Şekil 7.5.3.1: Artan İzolösin Konsantrasyonuna Karşılık 50 mg/L Bakırın Cu-İzolösin Kompleksinin FIA Pikleri

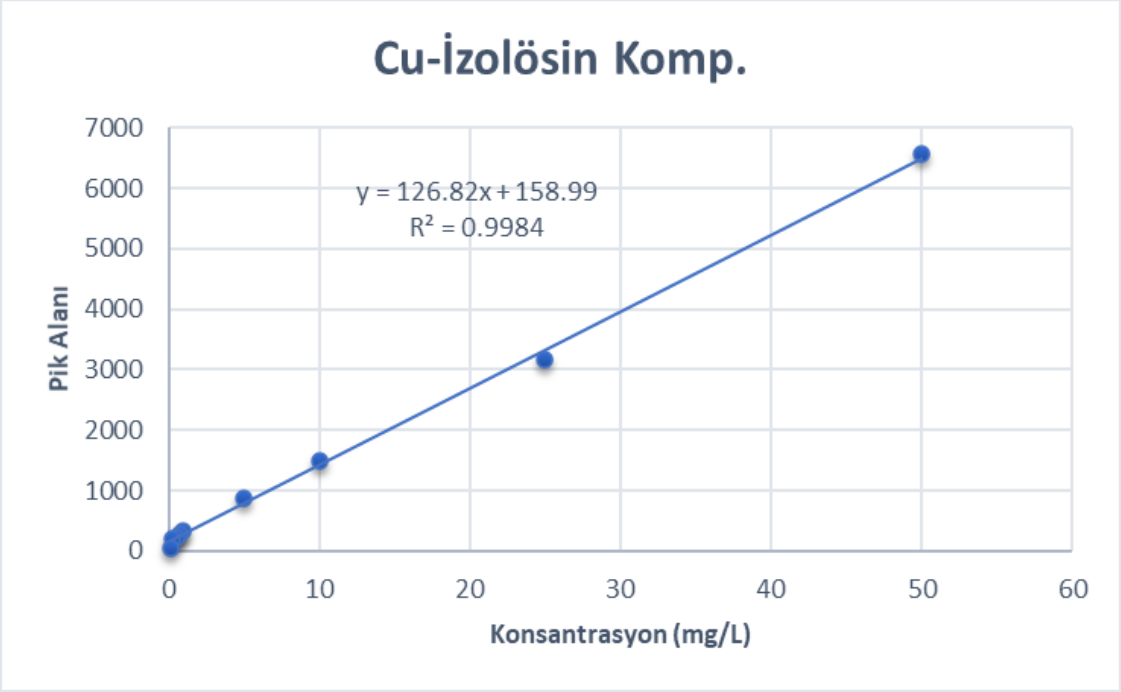
Şekil 7.5.3.1' de gösterilen piklerde bakır konsantrasyonu 50 mg/L' ye sabit tutularak artan izolösin konsantrasyonuna karşılık analizleri yapılmış ve yapılan analiz sonucu FIA pik alanlarının 20 mmol/L İzolösinden sonra artmadığı 50 mg/L bakır için 20 mmol/L İzolösinin kompleks oluşturmak için yeterli olduğu görülmüştür.



Şekil 7.5.3.2: Artan Bakır Konsantrasyonu Göre Cu-İzolösin Kompleks FIA Pikleri

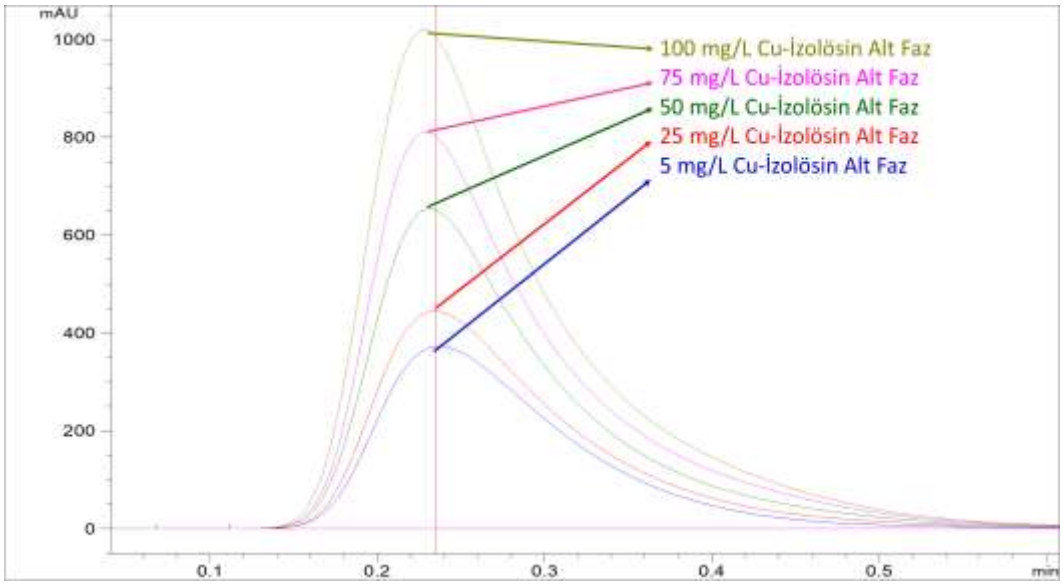
Tablo 7.5.33.1: FIA Analizleri İçin Hazırlanan Cu-İzolösin Komplekslerinin Konsantrasyon Aralıkları

Konsantrasyon	Pik Alanı	
(mg/L)	x̄	± STD
0.1	50.37	± 0.60
0.25	198.93	± 1.61
0.50	223.23	± 1.64
0.75	273.07	± 9.89
1	328.23	± 1.67
5	871.93	± 2.64
10	1502.93	± 10.17
25	3205.93	± 28.59
50	6573.43	± 24.08

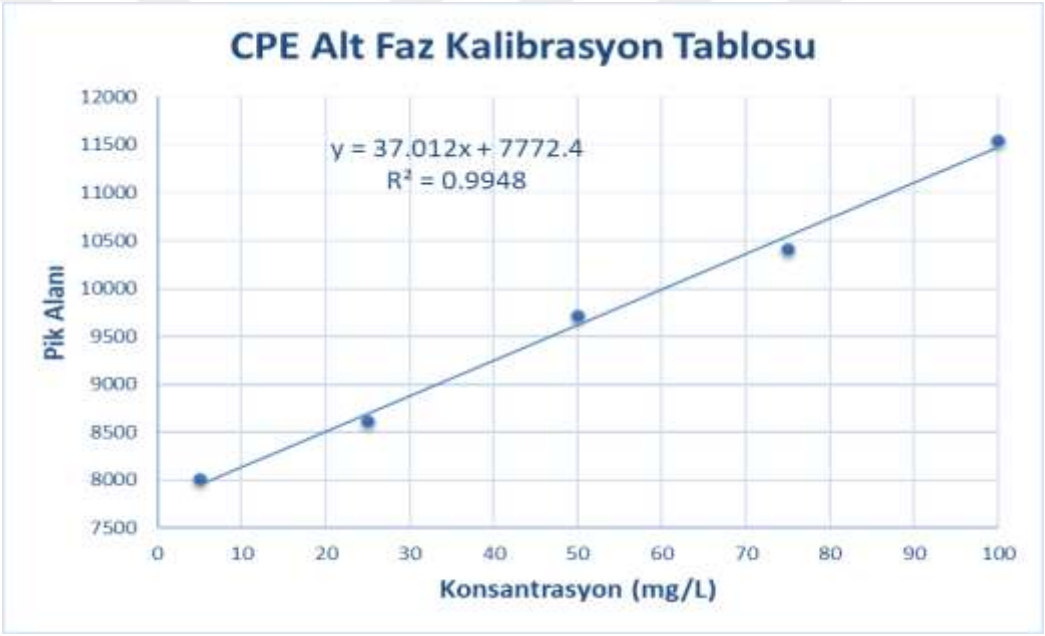


Şekil 7.5.3.3: FIA Analizleri İçin Hazırlanan Cu-İzolösin Komplekslerinin Kalibrasyon Grafiği

Şekil 7.5.3.3' de gösterilen piklerde 200 mmol/L İzolösin konsantrasyonu sabit tutularak bakır konsantrasyonu artırılmıştır. Analiz sonucuna göre izolösin konsantrasyonunun 50 mg/L bakıra kadar yeterli geldiği fakat 50 mg/L bakırdan sonra pik alanlarında bir artma olmamasından dolayı izolösin miktarının yeterli gelmediği görülmüştür.



Şekil 7.5.3.4: Artan Bakır Konsantrasyonun Cu-İzolösin Alt Faz FIA Pikleri



Şekil 7.5.3.5: Artan izolösin konsantrasyonuna karşılık 50 mg/L bakırın Cu-izolösin alt faz kalibrasyon grafiği

Tablo 7.5.33.2: CPE sonrası alt faz konsantrasyon ve pik alanları

Konsantrasyon (mg/L)	Pik Alanı
5	**8009.7**
25	**8614.3**
50	**9715.9**
75	**10413.9**
100	**11546.1**

Spektrofotometrik ve AAS analizleri yapıldıktan sonra aynı işlemler akış enjeksiyon analiz ile tekrarlanmıştır. Yukardaki akış enjeksiyon analiz şartlarında 1-1 oranında metanol ile seyreltme yapılarak sistemde analizi yapılmış ve yukarda bulunan sonuçlar elde edilmiştir. Yukardaki analiz sonuçlarına göre artan konsantrasyon miktarına göre doğru orantılı olarak artan pik şiddetleri ekstraksiyon yönteminin verimli olduğunu göstermiştir.

7.6. Deriştirme Katsayısı

CPE yönteminde yapılan ekstraksiyon verimliliği deriştirme katsayısı ile ifade edilebilmektedir. CPE'den sonra elde edilen alt fazda bulunan bakır (II) iyonlarının konsantrasyonunu hesaplamak için pH'sı 9'a ayarlanmış, 0.1-50 mg/L arasında bakır-izolösin kompleksleri hazırlanıp FIA ölçümleri yapılmış ve pik alanlarına göre kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir. Şekil 7.5.3.3 de gösterilen kalibrasyon eğrileri kullanılarak deriştirme katsayısı hesap edilmeye çalışılmış ve 5.0 mg/L konsantrasyonundaki bir çözeltinin CPE sonrası konsantrasyonunun 61,9 mg/L olduğu tespit edilmiştir. FIA yöntemiyle yapılan çalışmalarda deriştirme katsayısı olarak yaklaşık **12,4** değeri bulunmuştur.

7.7. Gözlenebilme Sınırı (LOD)

Gözlenebilme sınırı, kabul edilebilir kesinlik ve doğruluk değerlerine bağlı olarak analitin bir işlemle gözlenebilecek en düşük derişimdir. LOD, baseline gürültüsünden farklı olarak tespit edilen, fakat miktarı belirlenemeyen en küçük analit olarak da tanımlanmaktadır. Gözlenebilme sınırının hesaplanmasında aşağıda verilen denklem ile hesap edilebilmektedir. pH: 9'a ayarlanmış 0.1-50 mg/L arasında bakır-izolösin kompleksleri hazırlanıp FIA ölçümleri alınmış ve ölçüm sonucunda LOD değerinin 1.8 mg/L olduğu bulunmuştur. Bulunan sonuca göre 1.8/12,4=0,145 mg/L bakır çözeltisinin CPE sonrası deriştirilmesi ile 1,8 mg/L FIA tekniği ile gözlenebilir sınır içeresinde olabileceği görülmüştür. Metodun Gözlenebilme sınırı (LOD) 0,145 mg/L Cu (II) olarak bulunmuştur.

LOD: En küçük analit değerinin standart sapmasının üç katı alınarak hesaplanmaktadır. **LOD= SSx3= 0,145 mg/L**

7.8. Tayin Sınırı (LOQ)

Tayin sınırı, kabul edilebilir kesinlik ve doğruluk değerlerine bağlı olarak analitin bir işlemle tayin edilebilecek en düşük derişimidir. LOQ, beseline gürültüsünden farklı olarak tespit edilen ve miktarı belirlenebilen en küçük analit konsantrasyonu olarak da tanımlanmaktadır. Tayin sınırının hesaplanmasında aşağıda verilen denklem ile hesap edilebilmektedir. pH: 9.0 ayarlanmış 0.1 ile 50 mg/L arasında bakır-izolösin kompleksleri hazırlanıp FIA ölçümleri alınmış ve ölçüm sonucunda LOQ değerinin 6.0 mg/L olduğu bulunmuştur. Bulunan sonuca göre Tayin Sınırı (LOQ), deriştirilebilme özellikleri göz önünde bulundurulduğunda LOQ≅6,0/12,4=0,484 mg/L'lik bakır çözeltisi olarak bulunmuştur.

LOQ: En küçük analit değerinin standart sapmasının on katı alınarak hesaplanmaktadır. **LOQ= SSx10 = 0,484 mg/L**

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Klasik ekstraksiyon yöntemlerinden farklı olarak geliştirilmiş bulutlanma noktası ekstraksiyonu, daha az toksik olması, düşük maliyetli olması ve daha pratik olması açısından klasik ekstraksiyon yöntemlerinden üstündür. CPE; ayrıştırılması/zenginleştirilmesi istenen türleri içeren bir numuneye, uygun ortam koşulları (pH, sıcaklık, tuz ilavesi) sağlandıktan sonra noniyonik sürfaktanların eklenmesiyle misel oluşumu esasına dayanan bir ekstraksiyon yöntemidir. Öte yandan bu ekstraksiyon yöntemi, çevreye zararlı ağır metallerin ve toksik maddelerin tespit sınırına kadar tespit edilmesini mümkün kılmıştır. Bulutlanma noktası ekstraksiyon analizi için uygun bir HPLC sistemi modifiye edilmiş ve bağlantılar değiştirilmeden bakır iyonları için yeni ve verimli bir sistem olan akış enjeksiyon analiz sistemi kullanılmıştır.

Tamamlanan bu çalışmada; düşük konsantrasyonlu Cu (II) iyonlarının bir kompleks oluşturucu ligand olarak L-izolösin kullanılması ve deriştirilmesi için yeni, hassas ve doğru bir bulutlanma noktası ekstraksiyon prosedürü geliştirilmiştir. UV-Vis spektrofotometresinden farklı olarak kullanılan akış enjeksiyon analiz sistemi daha hızlı, daha hassas ve daha az numune hacmi ile ölçümleri mümkün FIA analizleri yapılmıştır. CPE prosedüründen elde edilen misel fazında Cu (II) iyonlarının tayini için verimli sonuçlar elde edilmiştir. FIA analizinin optimizasyon çalışmaları, merkezi kompozit tasarım ile gerçekleştirilmiştir. CCD' de parametre olarak sıcaklık (°C), akış hızı (mL/dk) ve enjeksiyon hacmi (µL), tepki değeri olarak pik alanı kullanılmıştır. En iyi sonuçlara sahip optimum parametre değerleri; akış hızı 1 mL/dk, numune hacmi 30 µL ve sıcaklık 30°C olarak belirlenmiştir. Daha sonra CPE analiz şartlarında da CCD çalışmaları yapılmıştır. Yapılan çalışmanın sonucunda, yanıt değeri olarak pik alanları dikkate alınmış ve optimum şartların pH'nın 9.0 L-izolösin konsantrasyonun 0.6 mmol/L ve Triton X-114 konsantrasyonun da %0,2 olduğu belirlenmiştir. Daha sonraki aşamalarda FIA 'da LOD değerinin 0,145 mg/L ve LOQ değerinin ise 0,484 mg/L olduğu görülmüştür. Yapılan bu çalışmada Cu(II) iyonlarının sulu çözeltilerde deriştirilmesi için kullanılan bulutlanma noktası ekstraksiyon yönteminin oldukça verimli, FIA sisteminin ise kolay hızlı ve etkili bir tayin metodu olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

Ayyıldız, H. F., 2010, Otomatikleştirilmiş akış enjeksiyon sistemleriyle yağ analiz metotlarının geliştirilmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Bavili Tabrizi, A., 2007, Cloud point extraction and spectrofluorimetric determination of aluminium and zinc in foodstuffs and water samples, *Food Chemistry*, 100 (4), 1698-1703.

Bezerra, M. d. A., Arruda, M. A. Z. ve 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 (4), 269-299.

Bosch Ojeda, C. ve Sanchez Rojas, F., 2009, Separation and preconcentration by a cloud point extraction procedure for determination of metals: an overview, *Anal Bioanal Chem*, 394 (3), 759-782.

Candir, S., Narin, I. ve Soylak, M., 2008, Ligandless cloud point extraction of Cr(III), Pb(II), Cu(II), Ni(II), Bi(III), and Cd(II) ions in environmental samples with Tween 80 and flame atomic absorption spectrometric determination, *Talanta*, 77 (1), 289-293.

Citak, D. ve Tuzen, M., 2010, A novel preconcentration procedure using cloud point extraction for determination of lead, cobalt and copper in water and food samples using flame atomic absorption spectrometry, *Food Chem Toxicol*, 48 (5), 1399-1404.

Çıtak, D., 2010, Katı faz ekstraksiyonu, birlikte çöktürme ve bulutlanma noktası ekstraksiyonu ile bazı metallerin zenginleştirilmesi ve türlemesi.

de Godoi Pereira, M. ve Arruda, M. A. Z., 2003, Trends in Preconcentration Procedures for Metal Determination Using Atomic Spectrometry Techniques, *Microchimica Acta*, 141 (3-4), 115-131.

Duran, C., ÖZDEŞ, D., Kaya, E. Ç., Kantekin, H., Bulut, V. N. ve TÜFEKÇİ, M., 2012, Optimization of a new cloud point extraction procedure for the selective determination of trace amounts of total iron in some environmental samples, *Turkish Journal of Chemistry*, 36 (3), 445-456.

Durmaz, F., 2008, Akış enjeksiyon-katı faz ekstraksiyon sistemi ile bazı metal iyonlarının tayin edilmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Fang, Q., Du, M. ve Huie, C. W., 2001, On-line incorporation of cloud point extraction to flow injection analysis, *Analytical chemistry*, 73 (14), 3502-3505.

Ghaedi, M., Niknam, K., Shokrollahi, A. ve Niknam, E., 2009a, Determination of Cu, Fe, Pb and Zn by Flame-AAS after Preconcentration Using Sodium Dodecyl Sulfate Coated Alumina Modified with Complexing Agent, *Journal of the Chinese chemical society*, 56 (1), 150-157.

Ghaedi, M., Shokrollahi, A., Niknam, K., Niknam, E., Najibi, A. ve Soylak, M., 2009b, Cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometric determination of cadmium(II), lead(II), palladium(II) and silver(I) in environmental samples, *J Hazard Mater*, 168 (2-3), 1022-1027.

Gulmini, M., Prevot, A. B., Pramauro, E. ve Zelano, V., 2002, Surfactant Micellar Solutions as Alternative Solvents for Microwave-Assisted Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from a Spiked River Sediment, *Polycyclic Aromatic Compounds*, 22 (1), 55-70.

Haddou, B., Canselier, J. P. ve Gourdon, C., 2014, Use of Cloud Point Extraction with Ethoxylated Surfactants for Organic Pollution Removal, In: The Role of Colloidal Systems in Environmental Protection, Eds, p. 97-142.

Hinze, W. L. ve Pramauro, E., 1993, A Critical Review of Surfactant-Mediated Phase Separations (Cloud-Point Extractions): Theory and Applications, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 24 (2), 133-177.

Lemos, V. A., Santos, M. S., David, G. T., Maciel, M. V. ve Bezerra Mde, A., 2008, Development of a cloud-point extraction method for copper and nickel determination in food samples, *J Hazard Mater*, 159 (2-3), 245-251.

Liang, P. ve Yang, J., 2010, Cloud point extraction preconcentration and spectrophotometric determination of copper in food and water samples using amino acid as the complexing agent, *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 (1), 95-99.

Lu, C., Song, G., Lin, J. M. ve Huie, C. W., 2007, Enhancement in sample preconcentration by the on-line incorporation of cloud point extraction to flow injection analysis inside the chemiluminescence cell and the determination of total serum bilirubin, *Anal Chim Acta*, 590 (2), 159-165.

Paleologos, E. K., Giokas, D. L. ve Karayannis, M. I., 2005, Micelle-mediated separation and cloud-point extraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24 (5), 426-436.

Pharr, D. Y., 2011, A Review of the Use of Surfactants in Flow Injection Analysis, *Analytical Letters*, 44 (13), 2287-2311.

Safavi, A., Abdollahi, H., Nezhad, M. H. ve Kamali, R., 2004, Cloud point extraction, preconcentration and simultaneous spectrophotometric determination of nickel and cobalt in water samples, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 60 (12), 2897-2901.

Şahin, Ç. A., ŞATIROĞLU, N. ve Bektaş, S., 2009, Cloud point extraction for preconcentration and determination of uranium in water samples by spectrophotometry, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 37 (3), 241-247.

Samaddar, P. ve Sen, K., 2014, Cloud point extraction: A sustainable method of elemental preconcentration and speciation, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20 (4), 1209-1219.

Silva, E. L., Roldan Pdos, S. ve Gine, M. F., 2009, Simultaneous preconcentration of copper, zinc, cadmium, and nickel in water samples by cloud point extraction using 4-(2-pyridylazo)-resorcinol and their determination by inductively coupled plasma optic emission spectrometry, *J Hazard Mater*, 171 (1-3), 1133-1138.

Skoog, D. A., Holler, F. J. ve Crouch, S. R., 2017, Principles of instrumental analysis, Cengage learning, p.

Sun, H., Ge, X., Lv, Y. ve Wang, A., 2012, Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed, *J Chromatogr A*, 1237, 1-23.

Tarhan, İ., 2011, Hümik maddelerin bazı biyokimyasal kaynaklardan ekstraksiyonu ve akış enjeksiyon sistemleriyle tayin metotlarının geliştirilmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Wang, L., Cai, Y. Q., He, B., Yuan, C. G., Shen, D. Z., Shao, J. ve Jiang, G. B., 2006, Determination of estrogens in water by HPLC-UV using cloud point extraction, *Talanta*, 70 (1), 47-51.

Watanabe, H. ve Tanaka, H., 1978, A non-ionic surfactant as a new solvent for liquid—liquid extraction of zinc (II) with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol, *Talanta*, 25 (10), 585-589.

Xie, S., Paau, M. C., Li, C. F., Xiao, D. ve Choi, M. M., 2010, Separation and preconcentration of persistent organic pollutants by cloud point extraction, *J Chromatogr A*, 1217 (16), 2306-2317.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ebru GÜLER
Uyruğu
Doğum Yeri ve Tarihi :
e-mail

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	**Açık Öğretim Lisesi**	**2014**
Üniversite	:	**Selçuk Üniversitesi/Fen Fakültesi/Kimya**	**2018**
Yüksek Lisans	:	**Selçuk Üniversitesi/FBE/Kimya A.B.D.**	**2021**
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2016	**Beyhekim Devlet Hastanesi/Biyokimya**	**Stajyer**
2017	**Selçuk Üniversitesi/Fen Fakültesi**	**Stajyer**
2018	**Selçuk Üniversitesi/Eczacılık Fakültesi**	**Öğrenci Asistanlığı**
2019	**Selçuk Üniversitesi/Sağlık Kültür D.B.**	**Kısmi Zamanlı**
2020	**Selçuk Üniversitesi/Fen Fakültesi**	**Öğrenci Asistanlığı**

YAYINLAR

Mustafa Ender PEKCİCİ, **Ebru GÜLER**, Mustafa TOPKAFA **" Biogenic amine contents in Turkish dairy products: determination and comparison"Journal of Food Measurement and Characterization (2021) https://doi.org/10.1007/s11694-021-00996-6**

Ebru GÜLER, Hüseyin KARA **"Preconcentration and Determination of Copper Ions in Aqueous Solution by Cloud Point Extraction - Flow Injection Analysis Systems IV. International Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress 30-31 October 2020, Antalya, Turkey *(Poster Presentation) (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır).***

Nuraniye ERUYGUR, Fatma AYAZ, Yavuz BAĞCI, **Ebru GÜLER**, Esra MALTAŞ ÇAĞIL **"Chemical profiling, in-vitro antioxidant and enzyme inhibition activities of Cardaria draba (L.) Desv. subsp. draba different parts" 6th International Conference Computational and Experimental Science and Engineering-ICCESEN 23-27 October 2019, Kemer/Antalya *(Poster Presentation)*.**

İsmail TARHAN, **Ebru GÜLER**, Hüseyin KARA **"Determination of fatty acid profile of some extra virgin olive oils by gas Chromatography" 3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences-EurasianBioChem 19-20 March 2020, Ankara, Turkey *(Poster Presentation).***

Mustafa Ender PEKCİCİ, **Ebru GÜLER**, Mustafa TOPKAFA **"Konya bölgesinde üretilen bazı süt ürünlerinde bulunan biyojen aminlerin kromatografik yöntemlerle belirlenmesi" 3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences-EurasianBioChem 19-20 March 2020, Ankara, Turkey *(Poster Presentation).***