

**BAZI ORGANOMETALİK BİLEŞİKLERİN TEPE BOŞLUKLU TEK
DAMLA MİKRO ÖZÜTLEME VE GRAFİT FIRINLI ATOMİK
ABSORPSİYON SPEKTROMETRİ İLE SEÇİMLİ TAYİNİ İÇİN
YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ**

Deniz Yurtsever SARICA

**DOKTORA TEZİ
KİMYA**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAYIS 2011
ANKARA**

Deniz Yurtsever SARICA tarafından hazırlanan “BAZI ORGANOMETALİK BİLEŞİKLERİN TEPE BOŞLUKLU TEK DAMLA MİKRO ÖZÜTLEME VE GRAFİT FIRINLI ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRİ İLE SEÇİMLİ TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ” adlı bu tezin Doktora tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. A. Rehber TÜRKER
Tez Danışmanı, Kimya Anabilim Dalı

.....

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Kimya Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali GÖKMEN
Kimya Anabilim Dalı, ODTÜ

.....

Prof. Dr. A. Rehber TÜRKER
Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Elmas GÖKOĞLU
Kimya Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Adalet TUNÇELİ
Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

.....

Doç. Dr. M. Sayım KARACAN
Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

.....

Tarih: 27/05/2011

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Bilal TOKLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

.....

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Deniz Yurtsever SARICA

**BAZI ORGANOMETALİK BİLEŞİKLERİN TEPE BOŞLUKLU TEK DAMLA
MİKRO ÖZÜTLEME VE GRAFİT FIRINLI ATOMİK ABSORPSİYON
SPEKTROMETRİ İLE SEÇİMLİ TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ
(Doktora Tezi)**

Deniz Yurtsever SARICA

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Mayıs 2011**

ÖZET

Bu çalışmada, tepe boşluklu tek damla mikro özütleme (HS-SDME) ile birleştirilen Zeeman zemin düzeltmeli elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometri (ETAAS) yöntemi geliştirilmiş ve metilciva (MeHg) ile tribütil kalayın (TBT) ayrı ayrı olmak üzere içme suyu, çeşme suyu, atık sular ve midyelerde tayinleri için geçerli kılınmıştır. Ayrıca, organometalik yapılarının yanısıra inorganik civa ve inorganik kalayın varlığında yöntemin seçimliliği araştırılmıştır.

Geliştirilen yöntemle Metilciva ve tribütilkalay türleri, NaBH_4 ortamında hidrürüne dönüştürülmüş ve mikro şırınga ucundaki 3-4 μL toplama reaktifi damlasında hapsedilmiştir. Tiyoüre ve APDC metilciva için, heksadekan ve APDC TBT için toplayıcı reaktif olarak seçildi. Tepe boşluğundaki hidrür ile 5-10 mL çözelti üzerinde sallanan mikro damla ucunda denge oluştuğu zaman damla şırınga içine geri alındı ve nicel tayin için elle grafit fırına enjekte edildi. Yöntemin, mikro özütleme süresi, numune ortamı sıcaklığı, NaBH_4 derişimi, toplayıcı reaktif derişimi, ortamın pH'sı, olası girişim etkileri gibi analitik değişkenleri araştırılmıştır. Yöntemin geçerli kılınması kapsamında, küme içi ve

kümelerarası tekrarlanabilirlik cinsinden kesinlik, gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ), doğrusallık ve girişim etkileri incelenmiştir. Yöntemin doğruluğu belgeli referans maddeler (CRM) ve katım yapılan örnekler analiz edilerek kontrol edilmiştir.

Yöntemin kesinliği analitik amaçlar için yeterli olup, geri kazanma veriminin bağıl standart sapması %10'dan küçüktür. Yöntem, çeşitli su, balık ve midye örneklerine uygulandı. Numunelerde metilciva ve tribütilkalay %10'dan düşük bağıl hatalar ile tayin edildi.

Bilim Kodu : 201.1.004

Anahtar Kelimeler :Organokalay, metilciva, organometal, tek damla mikro özütleme, GFAAS

Sayfa Adedi :156

Tez Yöneticisi :Prof. Dr. Ali Rehber TÜRKER

**METHOD DEVELOPMENT FOR THE SELECTIVE DETERMINATION OF
SOME ORGANOMETALLIC COMPOUNDS BY HEADSPACE SINGLE
DROP MICRO EXTRACTION AND GRAPHITE FURNACE ATOMIC
ABSORPTION SPECTROMETRY**

(Ph-D Thesis)

Deniz Yurtsever SARICA

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

May 2011

ABSTRACT

In this study, headspace single drop microextraction (HS-SDME) method in combination with electro thermal atomic absorption spectrometry (ETAAS) with Zeeman-effect background correction method was developed and validated for separate determinations of methylmercury (MeHg) and tributyltin (TBT) in tap water, bottled water, waste water and mussel tissue samples. Besides organometallic forms in the presence of inorganic mercury and tin selectivity of the method was performed as well.

Methylmercury or tributyltin species were converted to their hydrides in the presence of NaBH_4 and trapped onto 3-4 μL drop of trapping agent in the tip of a microsyringe. Thiourea and APDC for MeHg and hexadecane and APDC for TBT were selected as the acceptor phases. When the equilibrium was reached between the hydrides in the headspace and microdrop suspended above the 5-10 mL solution the drop was retracted back into the syringe and injected manually into graphite furnace for the determination. The analytical parameters of the method such as microextraction time, sampling temperature, NaBH_4

concentration, trapping agent concentration, pH of the medium, possible interference effects have been investigated. Regarding the method validation analytical figures of merits such as; precision in terms of inter-batch and intra-batch repeatability, limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ), linearity and interference effects have been evaluated. Accuracy of the method has been verified by analyzing certified reference materials (CRM) and spiked samples.

The precision of the method was adequate enough for analytical purposes and relative standard deviations for the recovery studies are lower than 10%. Methylmercury and tributyltin have been determined in the samples with a relative error less than 10 %.

Science Code :201.1.004
Key Words :Organotin, methylmercury, organometal, single drop microextraction, GFAAS
Page Number :156
Advisor :Prof. Dr. Ali Rehber TÜRKER

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca üstün deneyimleri ve engin bilgi birikimleri ile beni yönlendiren Tez Danışmanım Hocam Prof. Dr. A. Rehber TÜRKER'e katkıları için çok teşekkür ederim.

Yine kıymetli tecrübelerinden faydalandığım Tez İzleme Komitesi hocalarım Prof. Dr. Ali GÖKMEN'e ve Doç Dr. Adalet TUNÇELİ'ye tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Eşim Begil A. SARICA'nın hiç eksilmeyen desteği olmasa bu tez kesinlikle tamamlanamazdı.

Ayrıca Fen Bilimleri Enstitüsü Uzmanlarından sevgili Munise Hanımın gülüyle sunduğu destekleri için minnettarım.

Canım kızım Hande Burcu SARICA ile Yüksek Lisans Öğrencilerinden sevgili dost Özge GÜREL'e, canım annem Sevim YURTSEVEN, canım babam Prof. Dr. Necdet YURTSEVEN'e ve canım kardeşim Prof. Dr. Engin YURTSEVEN'e benden esirgemedikleri maddi manevi destekleri için gönül dolusu teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tezimi de hayatını bizlere adayıp bugünlere gelmemi sağlayan canım anneannem Mahiye ULUKAYA'ya ithaf ediyorum. Nur içinde yat canım.

Deniz Yurtsever SARICA

İÇİNDEKİLER**Sayfa**

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xxi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Organometaller	5
2.1.1. Bazı organometalik bileşiklerin kirlenme kaynakları	6
2.1.2. Organometalik bileşiklerin tayini	13
2.1.3. Sıvı faz mikro özütleme yöntemi (LPME).....	18
2.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) Yöntemi	31
2.2.1. Temel kurallar	31
2.2.2. Atomik absorpsiyon spektrofotometreleri.....	35
2.2.3. Işın kaynakları	38
2.2.4. Atomlaştırıcılar.....	41
2.2.5. Monokromatör	49
2.2.6. Dedektör	50
2.3. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler	51

	Sayfa
2.3.1. Fiziksel girişimler	51
2.3.2. Kimyasal girişimler.....	52
2.3.3. İyonlaşma girişimi	53
2.3.4 Spektral girişimler	54
2.3.5. Zemin girişimi	54
2.4. AAS tekniği ile nicel tayin	55
2.4.1. Normal kalibrasyon yöntemi	55
2.4.2. Standart ekleme kalibrasyon yöntemi.....	56
2.5. AAS'nin Analitik Performansı ile İlgili Terimler	57
2.5.1. Duyarlık	57
2.5.2. Seçimlilik/Seçicilik.....	58
2.5.3. Doğruluk	58
2.5.4. Kesinlik	58
2.5.5. Gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı	59
2.6. İndüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometrisi (ICP/MS) yöntemi	61
3. DENEYSEL KISIM	66
3.1. Cihazlar ve Malzemeler.....	66
3.1.1. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi	66
3.1.2. İndüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometre (ICP-MS) cihazı	68
3.1.3. Mikrodalga Fırın.....	70
3.1.4. Gaz Kromatografi cihazı	71

	Sayfa
3.1.5. pH metre.....	71
3.1.6. Analitik Terazî	72
3.1.7. Deiyonize su sistemi	72
3.1.8. Manyetik karıştırıcı	72
3.2. Reaktifler, Çözeltiler ve Kimyasal Maddeler.....	72
3.2.1. Civa stok çözeltisi, 992± 3 µg/mL	72
3.2.2. Metilciva stok çözeltisi 1000 µg/mL	72
3.2.3. Amonyumpirolidinditiyokarbamat (APDC) çözeltisi, 12 mg/L	73
3.2.4 . Tiyoüre çözeltisi, 15 mg/L.....	73
3.2.5. Sodyum borhidrür çözeltisi, %5(m/v).....	73
3.2.6. Sodyum hidroksit çözeltisi, %1,25 (m/v).....	73
3.2.7. Asetik asit çözeltisi, 0,5 M.....	73
3.2.8. Sodyum asetat çözeltisi, 0,5 M.....	74
3.2.9. Palladyum nitrat stok çözeltisi, 10000 µg/mL.....	74
3.2.10. Nitrik asit çözeltisi, 0,5 mol/L	74
3.2.11. Hidroklorik asit çözeltisi, 1,0 mol/L.....	74
3.2.12. Metanol	74
3.2.13. Heksidekan	75
3.2.14 Sodyum klorür	75
3.2.15. Kalay stok çözeltisi, 1000 mg/L	75
3.2.16. Tribütil kalay stok çözeltisi, 115,200 mg/L	75
3.2.17. Borik asit çözeltisi, 0,04M	75

	Sayfa
3.2.18. Orto fosforik asit çözeltisi, 0,04M.....	75
3.2.19. Sodyum hidroksitçözeltisi, 0,02M	76
3.2.20. Hidrojen peroksit.....	76
3.3. Numunelerin Hazırlanması	76
3.3.1. Su numunelerinin hazırlanması	76
3.3.2. Midye numunelerinin hazırlanması	77
3.3.3. Belgeli referans midye (ERM-CE 477 mussel tissue) örneğin hazırlanması	77
3.3.4. Belgeli referans köpekbalığı kas dokusu (NRC DORM-2) örneğin hazırlanması	78
3.3.5. Balık numunelerinin hazırlanması.....	78
3.3.6. Belgeli referans balık (BCR 463 tuna fish) örneğin hazırlanması	78
3.3.7. Toplam civa ve kalay tayini için Numunelerin hazırlanması.....	79
3.4. Kullanılan cam ve plastik malzemeler ile bazı araç gerecin temizlenmesi.....	79
3.5. Tek Damla Mikro Özütleme (SDME) işlemi	80
3.5.1. SDME işlem basamakları	80
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA	82
4.1. Tepe boşluklu tek damla mikro özütleme ve grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometri (HS-SDME-ETAAS) yöntemi ile metilciva tayini	82
4.1.1. Analiz ortamı sıcaklığının etkisi	85
4.1.2. Tampon derişimi ve pH'nın etkisi.....	86
4.1.3. NaBH ₄ derişiminin etkisi.....	87
4.1.4. Damla hacminin etkisi.....	88

	Sayfa
4.1.5. Toplayıcı reaktif derişiminin etkisi	89
4.1.6. Örnek çözültisi hacminin etkisi.....	89
4.1.7. Mikro özütleme süresinin etkisi.....	90
4.1.8. Karıştırma hızının etkisi	91
4.1.9. Tuz (NaCl) derişiminin etkisi	91
4.1.10. Seçimli MeHg ve Hg tayini.....	92
4.2. HS-SDME-ETAAS yöntemi ile metil civa tayininin geçerli kılınması (validasyon) çalışmaları	96
4.2.1. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ).....	96
4.2.2. Kesinlik	97
4.2.3. Doğrusal çalışma aralığı.....	101
4.2.4. Doğruluk	101
4.2.5. Yöntemin seçiciliği (girişim etkisi) ve gerçek numunelere uygulanabilirliği	102
4.2.6. Önerilen yöntem için belirlenen performans değerleri özeti	107
4.3. Tepe boşluklu tek damla mikro özütleme ve grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometri (HS-SDME-ETAAS) yöntemi ile tribütil kalay tayni	109
4.3.1. Analiz ortamı sıcaklığının etkisi	110
4.3.2. Tampon derişimi ve pH'nın etkisi.....	111
4.3.3. NaBH ₄ derişiminin etkisi.....	111
4.3.4. Damla hacminin etkisi.....	112
4.3.5. Toplayıcı reaktif derişiminin etkisi	113
4.3.6. Örnek hacminin etkisi	113

Sayfa

4.3.7. Mikro özütleme süresinin etkisi	114
4.3.8. Karıştırma hızının etkisi	115
4.3.9. Tuz (NaCl) derişiminin etkisi	115
4.3.10 Seçimli TBT ve Sn tayini	115
4.4. HS-SDME-ETAAS yöntemi ile tribütil kalay tayininin geçerli kılınması (validasyon) çalışmaları	118
4.4.1. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ).....	119
4.4.2. Kesinlik	119
4.4.3. Doğrusal çalışma aralığı	122
4.4.4. Doğruluk.....	123
4.4.5. Yöntemin seçiciliği (girişim etkisi) ve gerçek numunelere uygulanabilirliği	125
4.4.6. Önerilen yöntem için belirlenen performans değerleri özeti	127
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	129
5.1. Genel Değerlendirme.....	140
5.2. Öneriler	141
KAYNAKLAR	142
ÖZGEÇMİŞ.....	154

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1 Organokalay Bileşikleri (OKB) Sınır Derişimleri	12
Çizelge 2.2 Civa ve Organociva Bileşikleri (OCB) Sınır Derişimleri	13
Çizelge 3.1 Civa için uygulanan AAS çalışma koşulları	66
Çizelge 3.2 Civa tayini için GFAAS sıcaklık programı	67
Çizelge 3.3 Kalay tayini için uygulanan AAS çalışma koşulları	68
Çizelge 3.4 Kalay tayini için GFAAS sıcaklık programı	68
Çizelge 3.5 Civa tayini için ICP-MS çalışma koşulları	69
Çizelge 3.6 Kalay tayini için ICP-MS çalışma koşulları	70
Çizelge 3.7 Toplam civa ve kalay tayinleri için numune çözünürleştirme aşamasında mikrodalga fırın çalışma koşulları	71
Çizelge 3.8 Tribütilkalay (TBT) tayini için GC-FPD çalışma koşulları	71
Çizelge 4.1 Toplayıcı reaktif Pd ile yöntemin seçiciliğinin su numunelerinde hidrür oluşturabilen Pb, Cd, As ve Se varlığında araştırılması	83
Çizelge 4.2 HS-SDME-GFAAS ile metilciva ve inorganik civa tayini için deney koşulları	95
Çizelge 4.3. Tiyoüre veya APDC toplayıcı reaktifleri ile elde edilen küme-içi tekrarlanabilirlik sonuçları	98
Çizelge 4.4 Tiyoüre veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 1nci gün verileri.....	98
Çizelge 4.5 Tiyoüre veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 2nci gün verileri	99

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.6 Tiyoüre veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 3ncü gün verileri	99
Çizelge 4.7 Kümeler arası tekrarlanabilirlik ölçümlerinin karşılaştırılması -F test.....	100
Çizelge 4.8 Belgeli referans madde-ton balığı (BCR-463 Tuna Fish) analizi.....	103
Çizelge 4.9 Yöntemin seçiciliğinin Zn, Mn, Cu, Cr, Fe, Mo, Na, Ca, Mg, K varlığında farklı su numuneleri ile araştırılması.....	104
Çizelge 4.10 Yöntemin seçiciliğinin su numunelerinde hidrür oluşturabilen Pb, Cd, As, Se, Ge, Ga, Bi, Sb varlığında araştırılması	106
Çizelge 4.11 MeHg ⁺ için Tiyoüre ve APDC ile elde edilen analitik performans değerleri-1	108
Çizelge 4.12 MeHg ⁺ için Tiyoüre ve APDC ile elde edilen analitik performans değerleri-2	108
Çizelge 4.13 HS-SDME-GFAAS ile tribütilkalay tayini analiz koşulları	117
Çizelge 4.14 Ayıklanmış iri kara midyede TBT tayininde HS-SDME-GFAAS ve GC-FPD ile geri kazanım sonuçları	118
Çizelge 4.15 Heksadekan veya APDC toplayıcı reaktifleri ile elde edilen küme-içi tekrarlanabilirlik sonuçları.....	120
Çizelge 4.16 Heksadekan veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 1nci gün veriler.....	121
Çizelge 4.17 Heksadekan veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 2nci gün verileri	121

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.18 Heksidekan veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 3ncü gün verileri	122
Çizelge 4.19 Belgeli referans maddeler ile analiz sonuçları	124
Çizelge 4.20 Yöntemin seçiciliğinin As, Pb, Cd, Cr, Cu, Ni, Hg, Zn, Na, Ca, Mg, K varlığında farklı su ve midye numuneleri ile araştırılması	126
Çizelge 4.21 TBT için Heksidekan ve APDC ile elde edilen analitik performans değerleri-1	128
Çizelge 4.22 TBT için Heksidekan ve APDC ile elde edilen analitik performans değerleri-2	128
Çizelge 5.1. Önerilen yöntemin literatürdeki yakın çalışmalar ile karşılaştırılması	139

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1.	Organokalay bileşiklerinin kullanım alanları 7
Şekil 2.2	Organokalay bileşiklerinin denizlerdeki kaynakları ve taşınmasının şematik gösterimi 9
Şekil 2.3.	Civa döngüsünün şematik gösterimi 11
Şekil 2.4.	Doğrudan tek damla mikro özütleme (D-SDME) tekniğinin şematik gösterimi 20
Şekil 2.5.	Tepe boşluklu tek damla mikro özütleme (HS-SDME) tekniğinin şematik gösterimi 22
Şekil 2.6.	Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (AAS) cihazı blok diyagramı 35
Şekil 2.7.	Tek ışın yollu atomik absorpsiyon spektrometresi şematik gösterimi 37
Şekil 2.8.	Çift ışın yollu atomik absorpsiyon spektrometresi şematik gösterimi 38
Şekil 2.9.	Oyuk katot lambasının şematik gösterimi 39
Şekil 2.10.	Ön karıştırmasız (türbülent akımlı) alev başlığının şematik gösterimi 42
Şekil 2.11.	Ön karıştırmalı (laminer akımlı) alev başlığı 43
Şekil 2.12.	MX çözeltilisinin alevli atomlaştırıcıdaki evrelerinin şematik gösterimi 45
Şekil 2.13	Massmann tipi grafit fırın ve grafit küvet şematik gösterimi 46
Şekil 2.14	Tipik standart ekleme grafiği 57
Şekil 2.15	İndüktif olarak eşleşmiş Plazma (ICP) 62

Şekil	Sayfa
Şekil 2.16 İndüktif olarak eşleşmiş Plazma (ICP) torç şematik gösterimi	63
Şekil 2.17. ICP-MS cihazının şematik gösterimi	64
Şekil 3.1. Civa ve kalay için saptanan kül etme ve atomlaştırma sıcaklık grafikleri.....	67
Şekil 3.2 SDME uygulamasının şematik gösterimi.....	81
Şekil 4.1. Civanın HS-SDME-GFAAS ile ve seçimli tayini için belirlenen ve kükürt içeren toplayıcı reaktifler.....	84
Şekil 4.2. HS-SDME-GFAAS ile metilciva tayininde civa absorbandsına sıcaklık etkisi	86
Şekil 4.3. HS-SDME-GFAAS tayininde NaBH ₄ derişiminin etkisi	88
Şekil 4.4. HS-SDME-GFAAS ile MeHg tayininde toplayıcı reaktif derişiminin etkisi	89
Şekil 4.5. HS-SDME-GFAAS ile MeHg tayininde mikro özütleme süresinin etkisi	90
Şekil 4.6 Metilciva ve civanın HS-SDME-GFAAS ile seçimli tayininde pH'nın etkisi	92
Şekil 4.7. Metilciva ve civanın HS-SDME-GFAAS ile seçimli tayininde NaBH ₄ derişiminin etkisi	93
Şekil 4.8. HS-SDME-GFAAS ile TBT tayininde sıcaklık etkisi	110
Şekil 4.9. HS-SDME-GFAAS ile TBT tayininde NaBH ₄ derişiminin etkisi	112
Şekil 4.10. HS-SDME-GFAAS ile TBT tayininde toplayıcı reaktif derişiminin etkisi	113

Şekil	Sayfa
Şekil 4.11. HS-SDME-GFAAS ile TBT tayininde mikro özütlenme süresinin etkisi	114
Şekil 4.12. Tribütilkalay ve kalayın HS-SDME-GFAAS ile seçimli tayininde pH etkisi	116

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte ve alfabetik sırayla, aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
R²	Korelasyon katsayısı
S/N	Sinyal Gürültü oranı
Kısaltmalar	Açıklama
AAS	Atomic Absorption Spectrometry (Atomik Absorpsiyon Spektrometresi)
APDC	Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (Amonyum pirolidin ditiyokarbamat)
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry (Toksik Bileşikler ve Hastalık Kayıt Ajansı)
CFME	Continous Flow Micro extraction (Sürekli akış mikroözütleme)
CVAFS	Cold Vapor Atomik Fluorescence Spectroscopy (Soğuk buhar atomik floresans spektroskopisi)
DMT	Dimethyl tin (Dimetilkalay)
DBT	Dibutyltin (Dibütilkalay)
DOcT	Diocyltin (Dioktilkalay)
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Yetkili Kuruluşu)
EPA	Environmental Protection Agency (Çevre Koruma Ajansı)

Kısaltmalar	Açıklama
FDA	Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç Dairesi)
FAO	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
GC-FPD	Gas chromatograph Ffluorescence Phosphorescence Detector (Gaz Kromatografisi floresans fosforesans dedektör)
GFAAS	Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi)
HCL	Hollow Cathode Lamp (Oyuk katot lamba)
HF-LPME	Hollow Fiber Liquid Phase Micro Extraction (Oyuk fiber sıvı faz mikro özütleme)
HG-AAS	Hydride Generation Atomic Absorption Spectroscopy (Hidrür oluşturmali Atomik Absorpsiyon Spektrometresi)
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi)
HS	Head Space (Tepe boşluğu)
HS-SDME	Head Space Single Drop Micro Extraction (Tepeboşluklu tek damla mikroözütleme)
HS-SDME-GFAAS	Head Space Single Drop Micro Extraction Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (Tepe boşluklu tek damla mikroözütleme grafit fırınli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi)
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (İndüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometre)
iHg	Inorganic Mercury (İnorganik civa)
iSn	Inorganic Tin (İnorganik kalay)
JECFA	Joint Expert Committee on Food Additives and Contaminants (Gıda Katkı ve Bulaşanları Birleşik Uzmanlık Komitesi)

Kısaltmalar	Açıklama
LLE	Liquid Liquid Extraction (Sıvı sıvı özütleme)
LOD	Limit of Detection (Gözlenebilme sınırı)
LPME	Liquid Phase Micro Extraction (Sıvı faz mikroözütleme)
MAD	Microwave Assisted Derivatization (Mikrodalga yardımıyla türevlendirme)
MRL	(Maximum Residue Limit (En yüksek kalıntı düzeyi)
NRC	US National Research Council (ABD Ulusal Araştırma Konseyi)
RfD	Daily Reference Dosage (Günlük referans doz)
SDME	Single Drop Micro Extraction (Tek damla Mikroözütleme)
SIA	Sequential Injection Analysis (Ardışık Enjeksiyon analizi)
SPE	Solid Phase Extraction (Katı faz özütleme)
TDD	Tolerable Daily Dosage (Tolere edilebilen günlük doz)
TBT	Tributyltin (Tribütikalay)
TBTC	Tributyl tin Chloride (Tribütikloro kalay)
TCyT	Tricyclohexyl Tin (Trisikloheksilikalay)
TioU	Thiourea (Tiyüüre)
TPhT	Triphenyl Tin (Trifenilikalay)
TDI	Tolerable Daily Intake (Tolere edilebilen günlük alınan)
TWI	Tolerable Weekly Intake (Tolere edilebilen haftalık alınan)
bw	Body weight (Vücut ağırlığı)
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

1. GİRİŞ

Canlıların yaşamında metal iyonlarının önemli rol oynadığı çok iyi bilinen bir gerçektir. Bu iyonların eksiklikleri halinde biyokimyasal süreçlerde önemli değişiklikler ve/veya bozulmalar oluşurken, normal düzeyin üstünde bulunmaları halinde ise zehirlenmeler görülmektedir. Her ne kadar bazı metaller (Ca, Mg, Fe, Se, Zn, Cu vb.) canlılar için yeri doldurulamaz ve vazgeçilemez bileşenlerse de, bunların da gereğinden, diğer bir deyişle “normal düzey” olarak kabul edilmiş sınırdan fazla alınması organizmanın zarara uğramasına neden olmaktadır. Bir diğer konu ise mikroelementlerin biyoyararlanımlarının, farklı bileşiklerine göre değişiklikler göstermesidir. Örneğin deniz ürünlerini korkusuzca ve hatta aşırı miktarlarda tüketmenin, canlılarda arsenik zehirlenmesi açısından sorun yaratmayacağı çünkü hemen tüm arseniğin zararsız arsenobetain yapısında bulunduğu ancak inorganik yapıdaki arseniğin zehirli olduğu bilinmektedir. [Spehar ve ark., 1980, Amaral ve ark., 2008].

Elementlerin toplam olarak tayin edilmelerinden ziyade türlerin nitel ve nicel tayinlerinin geçtiğimiz yıllarda analitik kimya açısından önemi ve gerekliliği anlaşılmış ve çalışmalar yaygınlaşmıştır. Aynı durum organometalik bileşikler için de geçerlidir. Örneğin organokalay bileşikleri deniz ortamında farklı yapılarda yer almakta ve bunların her biri canlıların yaşamını, toksik etkisi ve biyoyararlanımı açısından tamamen farklı biçimlerde etkilemektedir. Bu durumda dokudaki toplam miktarın belirlenmesinden ziyade, sadece en zararlı yapının var olup olmadığı ve eğer var ise sadece onun derişiminin bilinmesi çok daha anlamlı olmaktadır [Schubert ve ark., 2000].

Diğer eser elementlerde olduğu gibi organometalik bileşikler de sularda ve/veya biyolojik örneklerde son derece düşük düzeylerde bulunmaktadır. Bu nedenle eser elementlerin tayinlerinde olduğu gibi organometalik bileşiklerin doğrudan tayinleri de derişim düzeylerinin çoğu zaman tayin yönteminin gözlenebilme sınırlarına yakın olması ve numune ortamındaki diğer

elementlerin yarattığı girişim etkileri gibi nedenlerle pek mümkün değildir. Eser element türleme tayinlerinde olduğu gibi organometalik bileşiklerin tayinleri de çok basamaklıdır. Genellikle uygulanan yöntem, gerçek zamanlı olarak iki cihazın ardışık kullanımınıdır. Tayin edilecek elemente bağlı olarak gaz kromatograf (GC) veya yüksek basınçlı sıvı kromatograf (HPLC), metale duyarlı dedektör olarak atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS) ya da çok daha yaygın olarak indüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrofotometresi (ICP-OES) veya indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) ile birleşik olarak kullanılmaktadır [Shum, Sam ve Houk, 1993, Fairman ve Wahlen, 2001, Byrdy ve Caruso, 1995, Caruso ve Montes-Bayon 2003].

Organometallerin tayini çoğunlukla sözü edilen bu birleşik tekniklerin gerçek zamanlı kullanımı ile gerçekleştirilmektedir. Türkiye’de bu konuda karşılaşılan çeşitli güçlüklerden biri de çoğu araştırma biriminde türlerin ayrılması aşamasında gereken kromatografi cihazı ve tayin için kullanılacak elementel analiz cihazının aynı yerde bulunmamasıdır. Olduğu nadir durumlarda da iki cihazın birleştirilmesi, birbirine uyumlu kılınması için zorunlu olan ara yüzün bulunmamasıdır. Bu zorunlu haller nedeni ile Türkiye’de çoğu uygulama eşzamanlı ayırma ve tayin yerine, önce ayırıp ardından tayin şeklindedir.

Hemen her araştırma laboratuvarında bulunan AAS ile yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlikte eser element tayini yapmak oldukça ekonomik ve süratlidir. Girişim etkileri ve gözlenebilme sınırı nedeniyle bir çok durumda tayin edilecek elementin ön zenginleştirme veya ayırmaya tabi tutulması gereklidir [Tokalıoğlu ve ark., 2002, Tunçeli ve Türker, 2000, Tunçeli ve Türker, 2002, Türker, 2007]. Elektrotermal (Grafit Fırın) AAS'nin duyarlılığının yetersiz kaldığı elementlerin başında civa gelmektedir. Ayrıca civanın yüksek uçuculuğu nedeniyle ortam düzenleyici (OD) kullanılması halinde bile uygun olmadığı mutlaka analiz öncesi gerekli özütleme uygulaması zorunluluğu vardır [Jiang ve ark., 2008]. Ön zenginleştirme için sıvı-sıvı özütlemesi (LLE), katı faz özütlemesi (SPE), mikrodalga yardımı ile özütleme (MAD),

türevlendirme gibi tayin edilecek analite ve incelenecek numune ortamına göre çeşitli yöntemler uygulanmaktadır.

Bu özütleme yöntemleri ile hem analitin girişim etkisi yapabilecek numune ortamından uzaklaştırılması hem de gözlenebilme sınırına yakın olan derişiminin artırılarak tayin yönteminin tayin sınırının üzerine çıkılması sağlanmaktadır. Klasik sıvı sıvı özütleme tekniğinden türetilmiş olan ve çözücü kullanımının büyük ölçüde azaltıldığı sıvı faz mikro özütleme (LPME) yönteminin iki uygulaması tek damla mikro özütleme/ayırma (SDME) ve oyuk fiber sıvı faz mikro özütleme (HF-LPME) dir. SDME analitlerin sulu faz ile mikro şırınga iğnesinin ucundaki organik çözücü (birkaç mikro litre hacimdeki mikro damla) arasında dağılması prensibine dayanmaktadır. Analitin bulunduğu sulu çözeltiden analit, mikro damla içine özütlenir. Özütlemeyen sonra, mikro damla, mikro şırınga içine geri alınır ve genellikle gaz kromatografisi ya da yüksek performanslı sıvı kromatografisi kolonuna enjekte edilir. Alışılmış sıvı-sıvı özütleme yönteminden türetilerek minyatürize edilmiş olan SDME, SPE ve LLE de görülen çözeltinin buharlaşması, katı faz mikro özütleme (SPME)' de görülen fiberlerin bozunması dolayısı ile kısa ömürlü olması, her analite uygun olanın bulunamayışı gibi problemlerle karşılaşılmadığı için daha kolay, ekonomik, etkin ve çözücü bağımlılığı olmayan bir numune hazırlama tekniğidir [Xu ve ark., 2007].

Son yıllarda hidrür oluşturan elementlerin GFAAS ile tayinlerinde SDME tekniği yoğun olarak kullanılmaktadır [Bagheri ve Naderi, 2009, Pena ve ark., 2008]. Çalışmalarda alışılmış ortam düzenleyicilerin aynı zamanda toplayıcı reaktif olarak kullanılmaları da yaygındır. SDME, doğrudan ve tepe boşluklu olmak üzere iki farklı teknik olarak uygulanmaktadır. [Jiang ve Hu., 2008,].

Bu tez kapsamında Türkiye'de yeteri kadar çalışmanın yapılmadığı bir alan olan organometalik bileşiklerin tayinleri konusunda, gerçek zamanlı olarak yüksek teknoloji içeren iki cihazın ardışık olarak kullanılmasına gerek olmadan son derece ekonomik ve süratle numune analizi gerçekleştirmek

üzere yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla su, midye ve balık örneklerinde tribütilkalay, metilcivanın ICP-MS ve/veya AAS ile seçimli olarak tayin edilmesini sağlamak için yöntem geliştirilmiştir. Yöntem geliştirme çalışmaları, analiz yöntemi olarak seçilen SDME-AAS tekniği için aşağıda belirtilen en uygun analiz değişkenlerinin belirlenmesini, geliştirilen yöntemin geçerli kılınmasını ve gerçek örneklere uygulanmasını kapsamaktadır.

Bu doğrultuda, organometal hidrürünün oluşturularak toplayıcı reaktifte özütlenmesi sürecindeki

- Organometal hidrürün oluşturulma sıcaklığı,
- Organometal hidrürün oluşturulma süresi,
- Mikro özütleme süresi,
- Hidrür oluşturmada kullanılan indirgenin derişimi,
- Toplayıcı reaktifin derişimi,
- Numune hacmi,
- Mikro damlanın hacmi,
- Ortam pH'sı,
- Tampon seçimi ve derişimi

gibi faktörlerin etkileri incelenerek tayin edilecek organometaller için en uygun analiz şartları belirlenmiştir. Belirlenen deney şartları uygulanarak tayinler yapılmış ve yöntemin geçerliliği, doğruluk ve tekrarlanabilirlik, belgeli referans malzemelerin kullanılması ve istatistiklerin uygulanması ile gösterilmiştir.

Tez kapsamında yapılan çalışmalar ile toksisitesi yüksek metilciva ve tribütilkalay gibi organometalik bileşiklerin, AAS olan her laboratuvarında yüksek doğruluk, seçicilik ve tekrarlanabilirlikle tayinlerinin gerçekleştirilmesine olanak sağlanacağı ve bu yolla analitik kimya alanına yeni bir yöntem kazandıracağı ve böylece ülkemiz çevre ve sağlık tematik alanlarına ait bilimsel birikime katkı yapacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Organometaller

Metal-karbon bağı içeren türler organometalik bileşikler olarak adlandırılmaktadır. Bu durumda Sn-C bağı içeren bileşikler organokalay ve Hg-C içerenler de organociva olarak adlandırılmaktadır. Ortamda aynı elementin değişik organometalik bileşikleri (butilikalay, metilikalay) bulunabilir ve tek tek tayinleri öncesi bunların ayrılmaları gerekir [Craig, 2003].

Organokalay ve organociva bileşikleri hem çevreye olan zehirli etkileri en yüksek düzeyde olan hem de arsenik ile birlikte doğada en fazla bulunan organo bileşiklerdir.

Kalay genellikle 2+ ve 4+ yükseltgenme basamağında bulunur ve çoğunlukla Sn(IV) organokalay bileşiği oluşturur. Organokalay bileşikleri R_nSnX_{4+n} (n=1, 2, 3, 4, R= alkil veya aril; X=H, OR, halojen vb.) şeklinde gösterilen bileşiklerdir [Hoch, 2001, ve Staniszevska ve ark., 2008].

Civa doğada dört temel kimyasal türde bulunur; elementel halde Hg^0 , inorganik civa (Hg^{2+}), monometilciva (MeHgX), ve dimetilciva Me_2Hg [Stein ve ark., 1996].

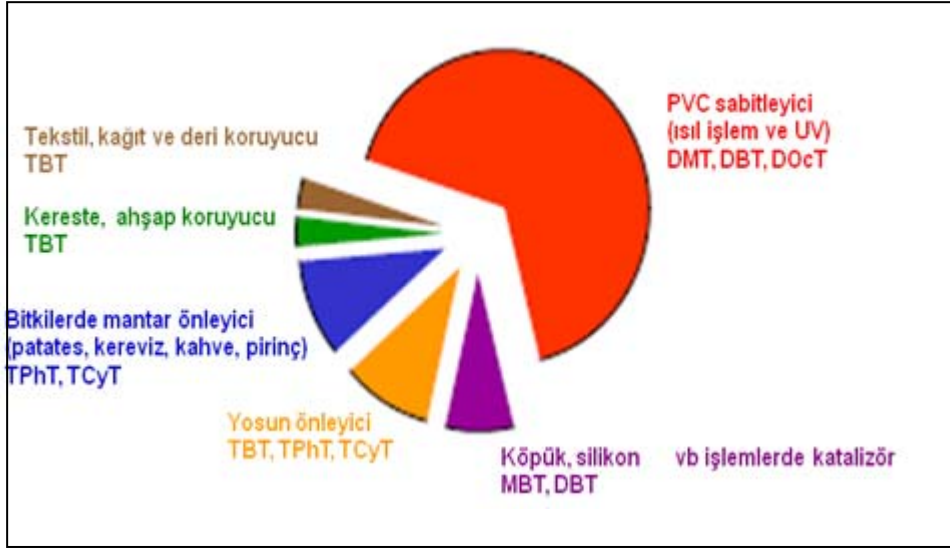
İnsanların neden olduğu çevresel etkiler nedeniyle geçtiğimiz yıllarda çevrede organometallerin miktarında artışlar gözlenmektedir [Craig, 1986]. Bu metallerin zehirlilik ve biyoyararlanım oranları, taşınırılıkları ve çevresel etkileri buldukları kimyasal türe bağlıdır. Bu nedenlerle metal türlemesi çalışmaları diğer tüm metaller için olduğu gibi organometaller için de çok önemli olmaktadır [Szpunar ve ark., 2000].

2.1.1. Bazı organometalik bileşiklerin kirletme kaynakları

Bazı kirleticiler doğal olarak oluşurken bir kısmı insan faaliyetleri kaynaklıdır. Çevre kirlenmesinde insan faktörü gittikçe artan oranda etkin olmaktadır. Bazı kalay ve civa organo türlerinin çevreye aktarılmaları ya doğrudan organik yapıda ya da inorganik yapıdan organik yapılarına dönüşerek gerçekleşmektedir. Ortama bağlı olarak Sn ve Hg içeren inorganik türler çevreye özgü bitkiler, hayvanlar, mikroorganizmalar ile zararlı organik yapılarına dönüşebilmektedir [Monperrus ve ark., 2003, ve Rodriguez Martín-Doimeadios ve ark., 2004].

Organokalay bileşikleri, 76/464/EEC ve 2006/11/EC Direktifleri ile belirlenen ve 2006/60/EC Su Çerçeve Direktifinde (Water Framework Directive) de belirtildiği üzere, çevre ve insan sağlığı için oluşturduğu risk nedeni ile, zararlı bileşikler listesinin üst sıralarında yer almaktadır [Nikolaou ve Gatidou, 2007]. Avrupa Birliği tarafından 20 Kasım 2001 de alınan 2455/2001/EC kararında da 2000/60/EC Su Çerçeve Direktifine yapılan eklemeler ile belirlenen 11 öncelikli toksik bileşenler arasında TBT yer almakta ve 20 yıl içinde denizlerdeki derişiminin sifıra indirilmesi planlanmaktadır. Bu aynı zamanda toksik türlerin tayininin zorunlu olduğunun yönetmeliklerde yer aldığı ilk karardır [Dietz ve ark., 2007].

Şekil 2.1’de özetlendiği üzere organokalay kırk yıldan daha uzun süredir PVC yapımında katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Organokalay, PVC’nin ısı ve ışık etkisiyle kararsızlaşıp renginde ve yapısında meydana gelen bozunmayı önlemekte kullanılmaktadır. Bu nedenle organokalayın yüzey sularına karışmakta olduğu bilinmektedir. Bitki zararlıları için tarım ilaçlarında kullanılan tribütil, trifenil, ve trisikloheksilkalay bileşikleri de yüzey sularına karışmaktadır. Ayrıca bu bileşikler gemilerin dış yüzeylerindeki boyalarda, deniz canlılarının ve özellikle midyelerin gemi yüzeyine yapışarak hız kesmesini engellemek amacıyla yoğun olarak kullanılmaktadır. [Negri ve ark., 2004, Fromme ve ark., 2005].



Şekil 2.1. Organokalay bileşiklerinin kullanım alanları

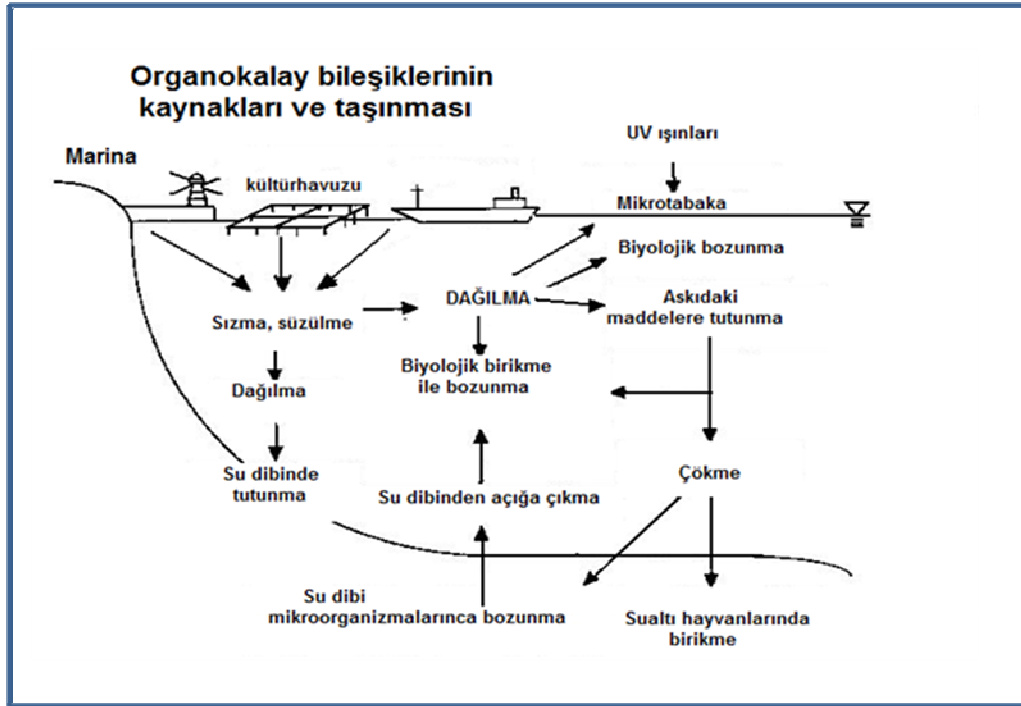
Farklı organik yapıların farklı zararlı ve toksik etkileri görülmektedir; örneğin trietilkalay ilik hücrelerine zarar verirken, trimetil kalay nöronlara zarar vermektedir. Toksisitesi sularda trialkil > di > mono şeklinde iken, nörolojik toksisitesi, bibütilkalay >> trietil, trimetil kalay şeklindedir. Kalayın çevresindeki organik grubun küçülmesi ile toksik etkisi de azalmaktadır. Organokalayın toksik etkisi ortamdaki yapısına bağlıdır. Tribütıl kalay (TBT), (DBT), TMT ve dimetilkalay (DMT) arasında en toksik etkiye sahip olan TBT , ve en düşük toksik etkiye sahip olan ise DMT'dir. TBT, DMT'den en az 4 kez daha zararlıdır. Trialkilkalay bileşikleri, dialkilkalay bileşiklerinden daha zararlıdır. [Boyer, 1989, Kungolos, A. ve ark., 2001, Landmeyer, J. ve ark., 2004, Bartlett, A.J. ve ark., 2005].

Amerikan Ulusal Hıfzısıhha Kurumu (National Sanitary Foundation-NSF) nun belirlediği standartlara göre mono- ve dimetil kalay için kısa süreli ve kronik maruz kalma sınırı olarak sırasıyla, 100 µg/L ve 30 µg/L tesbit edilmiştir. Aynı şekilde mono ve dibütıl kalay için de kısa süreli maruziyet ve kronik maruziyet için belirlenen sınırlar sırası ile, 100 µg/L ve 30 µg/L dir. [Magos, 1986, Sadiki ve ark., 1999, Jones-Lepp ve ark., 2001]. Denizlerde özellikle midye ve ıstıdyelerde depolandığı bilinen TBT'in altı saat olan yarılanma

ömrü ile bozunarak nispeten daha az toksik olan dibütilkalay (DBT) ve monobütilkalay (MBT) yapılarına dönüşmektedir.

Tribütil kalay ve trifenil kalayın mikroorganizmalara karşı biyosidal etkisi bilindiği için hemen tüm dünyada 1960'lardan itibaren yoğun olarak kullanılmaktadır. Triorganokalaylar çok düşük derişimlerde dahi olsalar karanlık deniz diplerinde ve sedimentte çok uzun süre kararlı kalmaktadır. Bu nedenle 1980'lerin sonundan başlayarak alternatif olarak kalay yerine bakır ve/veya farklı organik maddeler içeren biyosidaller geliştirilmiştir. Pek çok ülke kalay içeren boyaları yasaklamış ve Uluslararası Denizcilik Vakfı (International Maritime Organization) ve Avrupa Birliği, 1 Ocak 2003 tarihinden itibaren öncelikle EU bayrağı taşıyan gemileri kapsayan EC/782/2003 tarihli mevzuatıyla ve 1 Ocak 2008 den itibaren de hangi ülkenin bayrağını taşıdığına bakılmaksızın gemilerde çürüme önleyici olarak kullanılan ve organokalay içeren boyaların kullanımını ve satışını yasaklamıştır [Omae, 2003, 2009/425/EC].

Organokalay bileşiklerinin denizlerdeki başlıca kaynakları ve taşınma şekli şematik olarak Şekil 2.2 de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Organokalay bileşiklerinin denizlerdeki kaynakları ve taşınmasının şematik gösterimi [Watanabe ve ark., 1998].

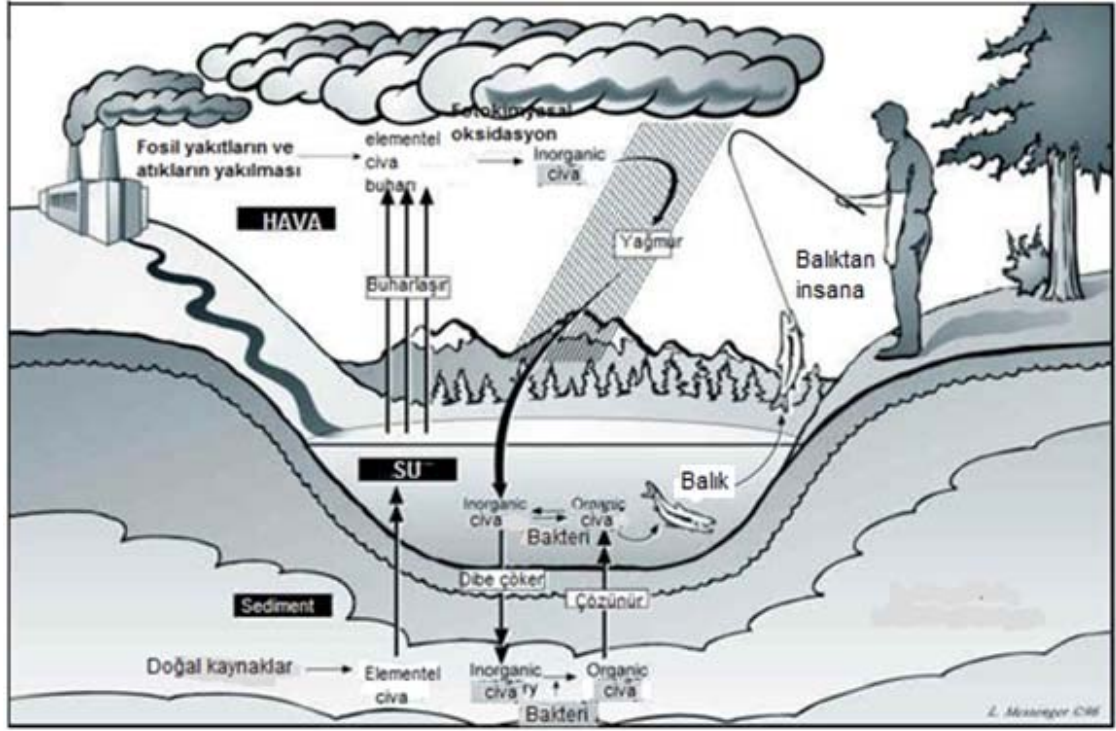
Yerkürede doğal olarak bulunan civa volkanik patlamalar esnasında civa buharı şeklinde atmosfere salınır. Kömür veya katı yakıt yakarak elektrik üreten fabrikalardan da civa buharı salınabilir, atmosfere yayılan civa yağış yolu ile tekrar yerküreye, denizlere döner. 1997de EPA'nın yaptığı bir açıklamada atmosferdeki civa için en büyük kaynak olarak katı yakıt yakan fabrikalar gösterilmiştir. Tarımda antifungal özelliği olan metilciva, pestisit ve herbisit olarak kullanılmaktadır. Dünyada ticari olarak thiomersal, Amerika Birleşik Devletlerinde ise thimerosal denilen bu organociva bileşikleri aslında antiseptik ve antifungal madde olarak kullanılır. Yoğun kullanım alanlarının başında bazı aşılar da koruyucu olarak, yılan zehirine panzehir olarak, antikor içeriğinde, deri üzerinden yapılan alerji testlerinde, göz ve burun için kullanılan ilaçlarda ve dövme mürekkebinde kullanılmaktadır [Bigham ve Copes, 2005, Ins Vacc Safety, 2010]. Özellikle çocuklarda bebeklik çağı aşıları söz konusu olduğunda otizm tehlikesi nedeniyle Amerika Birleşik

Devletleri ve Avrupa Birliğine üye ülkeler yanısıra diğer bazı ülkelerde civanın özellikle aşılarda kullanımı yasaklanmıştır [Baker, 2008].

Kentsel atıklarda civa içeren ürünler (piller, floresan ampülleri ve boyalar) bulunmaktadır. Atmosferdeki toplam civanın %80'i Hg^0 olup gaz halindedir ve atmosferde 1 yıldan daha uzun süre kalabilmektedir. Ama yüzeye ulaştığında hangi yapıda olduğu önemlidir. Elementel civa toprağa ulaştığı zaman bir kısmı inorganik yapıda depolanırken, kalan kısım döngüye girmektedir. Doğadaki civa döngüsü atıklar ile (termometre, pil, ampül vb,) havaya karışmış olan civanın, yağmurlarla toprağa ve sulara karışması ile başlar. Sularda bulunan bakteriler tarafından absorplanan civa, zehirli metil civa haline dönüşür. Bu bileşik, bakterilerle beslenen balıkların dokularında birikir. (Şekil 2.3). Özellikle kılıç balığı, uskumru, tuna balığı ve köpek balığı gibi büyük balıklarda daha fazla civa depolanır. FDA; balıklardaki en yüksek civa düzeyini 1 mg/kg olarak sınırlandırmıştır. CH_3HgX derişimi çevreye bağlı olarak farklılık göstermektedir.

Civa döngüsüne

- Nehirler, göller, kıyı suları ve okyanusların katkısı %0,01 - %10,
- Omurgasızların katkısı %60-%90 ve
- Su bitkilerinin katkısı %10-%30 düzeyindedir [Morit ve ark., 1998, U.S.EPA, 2002, U.S. FDA, 2009, U.S. FDA ve U.S. EPA, 2004, Rodríguez Martin-Doimeadios, 2004].



Şekil 2.3. Civa döngüsünün şematik gösterimi
[\[http://www.mercury.utah.gov/atmospheric_transport.htm\]](http://www.mercury.utah.gov/atmospheric_transport.htm).

Arsenik ve selenyumun tersine kalay, kurşun ve civanın inorganik yapıları organik türleri yanında daha az toksiktir [McCarty, 2006]. Organokalay, ile toplam civa ve organociva bileşikleri için uluslararası çevre ve sağlık örgütleri tarafından kabul edilen kalıntı/bulaşan sınır derişimleri sırasıyla, Çizelge 2.1., 2.2. 'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Kalay ve Organokalay Bileşikleri (OKB) Sınır Değişimleri

Tür	Sınır Değişim	Kaynak
Tribütilkalay (TBT) (mikroorganizma)	1 ng/L	WHO 1989
TBT (Su bitkisi)	100 ng/L	
TBT (balık)	100 µg/L	
Kalay (teneke kutulardan) İngiltere Fransa	1,8 – 6 mg/gün 2,7 mg/gün	EFSA 2003
Organokalay bileşikleri toplamı (DBT, TBT, TPhT, DOT)	TDI=250 ng/kg va	EFSA 2004
Tribütl kalay bileşikleri	YASAK	EC 2009

Çizelge 2.2. Civa ve Organociva Bileşikleri (OCB) Sınır Derişimleri

Tür / Ortam	Sınır Derişim	Kaynak
Toplam civa (içme suyunda)	2,0 µg/L	ATSDR 1999 (EPA)
Metilciva (deniz ürününde)	1,0 mg/kg	ATSDR 1999 (FDA)
Organik civa (çalışılan ortam havasında)	0,1 mg/m ³	ATSDR 1999 (OSHA)
Metilciva	TWI=0,7 mg/kg va /hafta	NRC 2000
Toplam civa – (balıkda)	0,5 mg/kg (yaş kütlede) (kılıç, ton ve kalkan cinsi pisi balığı için 1,0 mg/kg (yaş kütlede)	EC 2001 ve Revize 2002, Revize 2006b
Metilciva	TWI=1,6 mg/kg va	FAO/WHO JECFA 2003

2.1.2. Organometallic bileşiklerin tayini

Organometallic bileşiklerin doğrudan tayinleri çoğu zaman mümkün olmadığı için ön ayırma gerekli olmaktadır. Metal türlerinin tayinleri çalışmalarında örneklerin saklanma koşulları, seçilecek örnek kapları, bütünü temsil eden örnek alınması, tanık deney sayısı vb. dikkat edilmesi gereken konuların başında gelmektedir [Batley, 1991, Dadfarnia ve ark., 1994]. Organometallic bileşiklerin türleme sonrası tayini istendiğinde mutlaka yapılarını bozmaksızın özütlenmeleri gerekmektedir. Eş zamanlı ayırma ve tayin deneylerinde bile

bu tür bileşiklerin derişimlerinin düşük olması ön zenginleştirmeyi zorunlu kılmaktadır.

Bütün ön zenginleştirme işlem basamaklarının uygulanmaları sırasında beklenenler şunlardır:

- Kabul edilebilir düzeyde geri kazanım elde edilmesi,
- Olabildiğince yüksek oranda zenginleştirme (analitin yüksek hacimli sulu ortamdan çok düşük hacimde organik çözücü içine alınması)
- Kullanılacak organik çözücünün seçimi. Bu seçimde aşağıdaki ölçütler göz önüne alınır.
 - Hedeflenen analit için yüksek seçimlilik göstermesi,
 - Kullanılacak cihazla sorunsuz çalışması

Özellikle organometaller söz konusu olunca bu hedeflere ulaşmak zorlaşmaktadır. Organometallerin ayrılması, tayin öncesi yapılması gereken bir işlemdir. Katı örneklerden doğrudan analiz edilmeleri olası değildir. Özütleme temel prensip olarak bileşiğin iki ayrı fazda kısmi dağılımına dayanır. Analit iki farklı fazdaki göreceli çözünürlüğüne göre dağılacaktır.

Organometallerin tayini için;

- Sıvı-sıvı özütleme (LLE),
- Sıvı-membran özütleme,
- Katı faz özütleme (SPE),
- Mikradalga yardımı ile özütleme (MAD)

gibi ön zenginleştirme yöntemleri kullanıldığı gibi,

- hidrür oluşturma,
- alkilleme

gibi türevlendirme yöntemleri de kullanılmaktadır.

Sıvı-Sıvı Özütlemesi (LLE):

Bu yöntem analitin farklı çözünürlüklere sahip birbirine karışmayan iki çözücü (sıvı) arasındaki dağılımı esasına dayanır. Bir faz genellikle su diğeri ise organik çözücüdür ve hacim olarak daha düşüktür. İnorganik veya organik analit ya doğrudan deriştirme ortamı olan organik faza ya da önce organik faza sonra tekrar küçük hacimli sulu faza (geri özütleme) çekilir. “Benzer benzeri çözer” ilkesi uyarınca organometaller için yaygın kullanılan organik çözücüler hegzan ve izooktandır. Organometallerin türlemesi polar (az uçucu) ve apolar (fazla uçucu) olmak üzere tüm türlerin tayinini içerir. Dolayısı ile polar türlerin apolar türlere dönüştürülmesi gerekmektedir ki bu da ancak türevlendirme ile sağlanabilir. Sıvı-sıvı özütlemesinin en önemli dezavantajı emülsiyon oluşumudur. Bu durum fazların ayrılmasını engeller. Organometallerin özütlenmesi sırasında asit (HCl) eklenmesi ve santrifujleme bunu önlemektedir. Sıvı-sıvı özütlemesi sırasında düşük hacimlerin kullanılması ayırma ve ön zenginleştirmenin eşzamanlı olarak gerçekleşmesine olanak sağlamaktadır [Monperrus ve ark., 2004, Pawliszyn, 2002]. Ayırma ve tayin için uygulanan analitik metotların duyarlılığı ve/veya seçiciliği yönünde sürekli iyileştirmeler, gelişmeler olsa da klasik sıvı-sıvı özütleme hala en yaygın uygulanan tekniktir.

Sıvı Membran Özütlemesi:

Sıvı membranlar eser miktarda ağır metal iyonlarının özütlenmesine olanak sağlar. Sıvı membran iki sıvı fazı ayıran ince tabaka organik fazdır. Metal iyonunun özütlenmesini sağlamak için, özütlenecek analit organik membran fazda çözülür. Sıvı membran, uygulandığı fazdan metal iyonunu özütler ve membranın diğeri yüzüne aktararak adeta mekik gibi davranır. Böylece özütleme ve ayırma tek basamakta gerçekleştirilmiş olur. Sıvı membran

özütlemesi kullanımında LLE de karşılaşılan emülsiyon oluşumu gibi problemler görülmez [Zhou ve ark., 2003].

Katı Faz Özütlemesi (SPE)

Katı faz özütlemesinde sıvı faz içerisinde bulunan analit bir disk, kartuş veya kolona doldurulmuş sorbent üzerinden geçirilir. Kuvvetli etkileşim uyarınca analit sorbent üzerinde tutulur ve ardından çok küçük hacimde organik çözücü, disk veya kartuştan geçirilerek (veya ısısal buharlaştırma ile) sorbent ve analit arasındaki bağ kırılır ve analit geri alınarak, toplanır [Parkinson ve ark., 2004, Huck ve ark., 2000, Dopico-Garcia ve ark., 2007]. Katı faz çoğu zaman doğal veya sentetik polimerik reçinelerle dolgululu kolon ve bir membran süzgeçtir. Pek çok organometal bileşiği için bu özütleme uygulanmaktadır. Büyük kısmı katyonik iyonlar verdiği için ters-faz kolonlar ve kartuşlar kullanılmaktadır. Bu amaçla seçilen adsorban genellikle silika-jel, C₁₈ dir. Böylece 1000 kez ön zenginleştirme mümkün olabilmektedir. Civa türlerinin ön zenginleştirilmesi sırasında analiti katı yüzeyde tutmak için çeşitli kimyasal maddelerin kullanımı gerekmektedir. Sülfidril, koton mikrokolon, kuron eterler ve şelatlandırıcılar (ditizon veya 2-merkaptotanol gibi) bu amaçla kullanılan kimyasal maddelerdir [Gomez-Ariza ve ark., 2001].

SPE'nin sayısız avantajları arasında LLE den çok daha düşük hacimde çözücü kullanılması, türlerin saklanması için kartuşların kullanılabilir olması ve çok yüksek oranda ön zenginleştirmeye olanak sağlaması sayılabilir. En büyük dezavantajı ise LLE'ye oranla daha düşük olan tekrarlanabilirlik ve çok bilinen sorbentlere karşı düşük seçiciliktir [Pawliszyn, J., 2002, Parkinson ve ark., 2004, Gomez-Ariza ve ark., 2001]. Klasik SPE'nin yanı sıra son yıllarda katı faz mikro özütleme (SPME) uygulamaları da deriştirmeve/veya ayırma amaçlı olarak kullanılmaktadır [Huck ve ark., 2000]. SPME'de, özütleme fazı yüksek molekül ağırlıklı polimerik bir sıvı veya yüksek yüzey alanlı gözenekli bir adsorbandır. SPME'de küçük çaplı eritilmiş silikat bir fiber özütleme fazı ile kaplanır. Bu fiber uç örnek çözelitiyle doğrudan (daldırma modu) veya

örnek buharıyla (headspace modu) temas ettirilir. Analit için örnek ile fiber arasında dağılıma dengesi kurulur. Sonra fiber uç üzerinde toplanan analit, örnek fazından alınır. En önemli üstünlüğü klasik katı faz özütlemesindeki ara basamakları azaltması ve çok küçük hacimli (yaklaşık 1 µL) ikinci faz içermesidir.

Katı faz özütlemede metalleri şelatları veya kompleksleri halinde deriştirmek için yaygın olarak kullanılan materyaller aktif karbon, Amberlite XAD (XAD-2, -4, -7, -8, -16, ve -1180, 2010) reçineler benzofenon, naftalin, stiren-etilen glikol dimetakrilat polimerdir. Ayrıca mikroorganizmalar ve nanomalzemeler de kullanılmaktadır [Tokalıoğlu ve ark., 2002, Ghaedi ve ark., Çekiç ve ark., 2004, 2005, Vankatesh ve ark., 2005, Ghaedi ve ark., 2006, Soylak ve ark., 2006, Bulut ve ark., 2007, Doğru ve ark., 2007, Türker 2007, Kalfa ve ark., 2009].

Mikrodalga yardımı ile özütleme (MAD)

Organometalik türleme konusunda uygulama alanı bulan ve yaklaşık 3 dakikalık süresi ile diğerlerinden çok daha hızlı bir yöntemdir [Monperrus ve ark., 2003]. Yöntemin en önemli dezavantajı organometalik bileşiklerin özütleme işlemleri sırasında bozunma olasılığıdır. Uygun geri kazanım için optimizasyonu civa için çalışılmıştır [Ruiz Encinar ve ark., 2003, Vazquez ve ark., 1999]. Anton Paar Mikrodalga firması uygulama laboratuvarları 2006 yılındaki araştırmalarında apolar çözücüler kullanmışlardır. Böylece polar çözücülerin ve apolar çözücülerin mikrodalga fırında eşzamanlı kullanılması ile örnek hazırlamada kolaylık sağlanmaktadır. Apolar çözücüde toplanarak GC'ye aktarılacak suretiyle ayırma işlemine tabi tutulabilmektedir.

Türevlendirme yöntemleri

Eser elementleri örnek ortamından ayırarak deriştirmek için uygulanan türevlendirme işlemleri iki gruba ayrılır; hidrür oluşturma tepkimeleri ve

alkilleme tepkimeleri. 1970'lerden bu yana uygulanan hidrür oluşturma tekniğinde yoğun olarak sodyum tetraborat (NaBH_4) kullanarak, polar organometalik bileşiklerin asidik ortamda apolar hidrürüne dönüştürülmesi prensibi yer almaktadır. Özellikle tribütilkalay çalışmalarında yüksek orandaki organik ve inorganik maddelerin girişimleri nedeniyle oluşturulan hidrür kararlı olmamaktadır [Ebdon ve ark., 2001]. Bu nedenle hidrür oluşturma, tütleme çalışmalarında ilk tercih olmamaktadır.

2.1.3. Sıvı faz mikro özütme yöntemi (LPME)

Alışlagelmiş numune hazırlama/deriştirme yöntemleri yüksek tekrarlanabilirlik ve uygulama kolaylığı avantajlarına sahip olmasına rağmen,

- Çok yüksek saflıkta organik çözücüye ihtiyaç duyulması,
- Kolaylıkla bulaşma problemi olması,
- Analit kaybının yaşanması,
- Zaman kaybı gibi

dezavantajlara da sahiptir.

Bu nedenlerle analitik kimya alanında hızlı, kolay, pahalı olmayan ve daha çevre dostu numune hazırlama tekniklerine ihtiyaç duyulması nedeniyle "*mikro özütme teknikleri*" ortaya atılmıştır.

Sıvı-sıvı özütme tekniğinin minyatürize edilmesi ile türetilmiş olan sıvı-faz-mikro-özütme (LPME) yöntemi uygulamalar bazında üçe ayrılmaktadır.

Bunlar;

- oyuk fiber sıvı faz mikro özütme (HF-LPME),
- dispersif sıvı sıvı mikro özütme (DLLME) ve
- tek damla mikro özütme (SDME) yöntemleridir.

Kısaca bu yöntemler;

i) Oyuk fiber sıvı faz mikro özütleme (HF-LPME):

Çözücü kullanılmayan bu yöntemin temel prensibi, hidrofobik oyuk fiber gözeneklerine emdirilmiş olan organik çözücü içine analitin sulu numuneden özütlenmesidir [Psillakis ve Kalogerakis, 2002, Psillakis ve Kalogerakis, 2003, Ratola ve ark., 2008].

ii) Dispersif sıvı sıvı mikro özütleme (DLLME)

Özütleme çözeltilsinin ve dispersif çözeltilinin sulu numuneye enjekte edilmesi ile bulutlanan çözeltilinin oluşması prensibine dayanır. Suda çözünmeyen özütleme çözücüsünün mutlaka sudan daha yoğun olması, dispersif çözücünün ise mutlaka suda ve özütleme çözücüsünde çözünür olması gereklidir.

iii) Tek Damla Mikro Özütleme (SDME)

Şırınga ucunda sallanan bir damla organik çözücü içinde sulu çözeltildeki analitin deriştirilmesi, toplanması esasına dayanır.

SDME

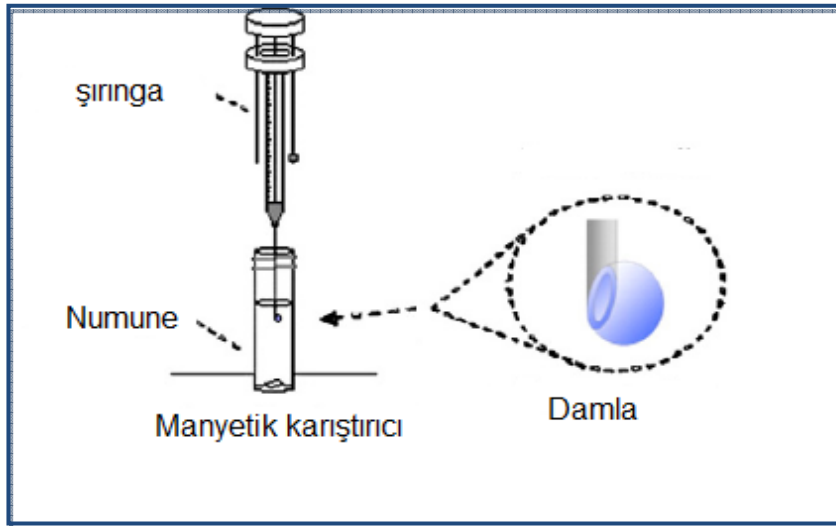
- kolay uygulanan,
- ucuz,
- hızlı ve
- göreceli olarak çözücü kullanılmayan numune hazırlama tekniğidir.

Son derece düşük miktarda analit özütlenmekte/deriştirilmektedir. Sıvı-sıvı özütlemenin minyatürize edilmesi konusundaki ilk çalışmalar 1996 yılında Liu ve ark., ve Jeannot ve Cantwel tarafından başlatılmış, 8 µL gibi ve özellikle GC için çok büyük olan damlanın ancak bir kısmı enjekte edilerek

çalışılmıştır. Mikro özütme uygulanan analit 4-metilasetofenon için su ile karışmayan organik çözücü olarak n-oktan kullanılarak GC ile tayin edilmiştir. [Liu ve Dasgupta, 1996, Jeannot ve Cantwel 1996, Jeannot ve Cantwel 1997]. Aslen organik analitler için geliştirilmiş olsa da 2003 yılından başlayarak inorganik eser elementler ve organometaller ile çalışmalarda da tercih edilmektedir. [Chamsaz ve ark., 2003].

SDME'nin dört farklı numune aktarım seçeneği bulunmaktadır. Bunlar;

- Doğrudan tek damla mikro özütme (Doğrudan - SDME)[Bagheri ve Naderi, 2009], (Şekil 2.4)
- Tepe boşluklu tek damla mikro özütme (HS-SDME),
- Sıvı-sıvı-sıvı mikro özütme (LLLME) ve
- Sürekli akış mikro özütme (CFME veya CF-SDME) [Liu ve Lee, 2000], olarak adlandırılmaktadır.

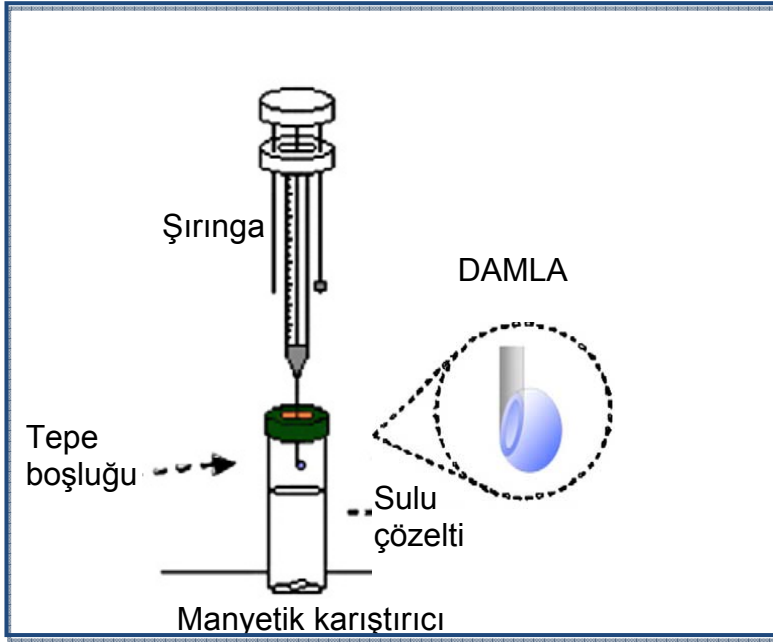


Şekil 2.4. Doğrudan tek damla mikro özütme (Doğrudan -SDME) tekniğinin şematik gösterimi.

Bu çalışmada tepe boşluklu tek damla mikro özütme (HS-SDME) tekniği kullanıldığı için sadece bu teknik açıklanmıştır.

HS-SDME, uçucu veya yarı uçucu bileşiklerin numune üzerindeki tepe boşluğunda mikro damla içine özütlenmesi ve deriştirilmesine dayanan bir numune hazırlama tekniğidir. Mikro özütleme, ön zenginleştirme ve türevlendirme, toplayıcı reaktifin yer aldığı ve tepe boşluğunda asılı damlanın ucunda gerçekleşmektedir. Tekniğin şematik gösterimi Şekil 2.5 'de yer almaktadır.

Bu teknikde, numune, tepe boşluğu (HS) tüpü içerisinde ve uygun tampon çözelti içinde hazırlanıp pH ayarlaması yapılır. Özel aygıtı yardımıyla tepeboşluğu tüpünün kapağı sıkıca kapatılır. Septum üzerinden uygun bir şırınga (bu amaç için genellikle GC enjeksiyon şırıngası kullanılmaktadır) ile bir kaç mikrolitre hacmindeki toplayıcı reaktif damlası tüp içine indirilir ama çözeltiye değmeden sabit durması sağlanır. Damla şırınga ucunda asılı tutulur ve tüm bu sürede numune sürekli karıştırılır. Aynı anda başka bir şırınga yardımı ile ve yine septum üzerinden numune çözeltisine NaBH_4 enjekte edilir. NaBH_4 ile tepkime sonucunda analitin hidrürü oluşturularak türevlendirilmesi sağlanmış olmaktadır. Böylece numune-tepe boşluğu ve tepe boşluğu-damla arasındaki dengenin kurulmasının ardından hidrürü halinde damlaya özütlenen analit önce şırınga içine çekilir ardından şırınga tüpden dışarı çıkartılır ve analit grafit fırınlı AAS de tayin edilir.



Şekil 2.5. Tepe boşluklu tek damla mikro özütme (HS-SDME) tekniğinin şematik gösterimi.

Tepe boşluğunda kütle aktarımı, gaz fazındaki yüksek dağılım katsayısı nedeni ile hızlıdır. Numune çözeltisinin karıştırılması tepe boşluğundaki konveksiyonu düşürerek sulu fazdaki kütle aktarımının artmasını sağlamaktadır. Böylece sulu faz ile gaz fazı arasındaki termodinamik dengenin oluşması hızlanmaktadır. Kütle aktarım hızı hem sıvı fazın karıştırılma hızına hem de özütme fazında analitlerin difüzyonuna bağlıdır. [Theis ve ark., 2001, Pena-Pereira ve ark., 2007, Pena-Pereira ve ark., 2009].

HS-SDME yarı metaller, organometaller ve ametaller için uygulanmaktadır. Uygun özütme bileşiğinin, toplayıcı reaktifin seçimi tüm parametreler içinde en önemlisidir. Kuramsal olarak yüksek kaynama noktasına, yani düşük buhar basıncına sahip ve tayin edilecek analiti özütleyebilme kapasitesi olan her özütleyici HS-SDME için uygundur. Tepe boşluklu uygulamanın uçucu ya da en az yarı uçucu özütleyici özelliğini gerektirmesi dezavantaj gibi görünse de hidrür oluşturmali AAS'dekine benzer olarak ortamın girişimlerden olabildiğince arındırılmış olması avantajını da beraberinde getirmektedir.

Tek damla mikro özütleme tekniği ile yapılan çalışmalar

Çalışmaların büyük kısmında “benzer benzeri çözer” prensibine dayanarak toplayıcı faz (özütleme çözücüsü) olarak çoğunlukla organik çözücüler kullanılmıştır.

Bazı kaynaklarda Tankeviciute ve ark., tarafından 2001 yılında diğer kaynaklarda ise Theis ve ark., tarafından 2001 yılında ilk kez önerildiği belirtilen tepe boşluklu HS-SDME tekniği özellikle uçucu analitlerin sulu fazdan tepe boşluğuna kolayca geçiş yapması ve daha az uçucu olanların sulu fazda kalarak girişim etkisini azaltması nedeniyle tercih edilmektedir. Son yıllara kadar yoğun olarak sulardaki klorobenzenin veya organofosforlu pestisitlerin tayinleri başta olmak üzere, sularda nitroaromatik patlayıcıların tayini, sularda fitalat esterlerinin tayini, atık sularda PAH tayini gibi alanlarda uygulamalar yapılmıştır [Tankeviciute ve ark., 2001, Vidal ve ark., 2005, Lambropoulou ve ark., 2004, Psillakis ve Kalogerakis, 2001, Psillakis ve Kalogerakis, 2003, Charalabaki ve ark., 2005].

Wu ve ark., sıvı faz mikro özütleme (LPME) uygulamalarından ikisinin HS-SDME ve HS-HF-LPME karşılaştırmasını HPLC-UV ile fenollerin tayini için uygulamıştır. Bal, su ve yazıcı tonerinin örnek olarak seçildiği çalışma sonucunda 9, 15, 150, 200, 300, 410 gibi önzenginleştirme/deriştirme oranlarına ulaşılmıştır [Wu ve ark., 2008].

Jiang ve Hu, doğrudan SDME uygulamasını grafit fırın AAS ile eşleştirerek Pb, Cd tayininde ditizon (H_2DZ) ile kompleks oluşturarak tolueni toplayıcı reaktif olarak kullanmıştır. Çalışma şartları optimize edilmiş; Cd ve Pb için sırasıyla, 2 pg/mL ve 90 pg/mL gözlenebilme sınırları elde edilmiştir. 10 dakikalık mikro özütleme süresi sonunda Cd ve Pb için 118 ve 90 önderiştirme oranına ulaşılmıştır. Numune kloroform mikrodamlasında özütlenmiş ve ardından GFAAS ile tayin edilmiştir. Aynı yöntem toluen ile uygulanarak Pb için de denenmiştir. Yöntemin uygulanması çeşme suyu,

kaynak suyu, nehir suyu, göl suyu ve analitik katkıları sularda Pb ve Cd tayini ile yapılmıştır [Jiang ve Hu, 2008].

Fan ve Zhou üstte söz edilene benzer çalışmayı yani ditizon (H_2DZ) ile kompleks oluşturarak ve toluen yerine kloroform kullanarak gerçekleştirmiştir. Su ve biyolojik örneklerde SDME-GFAAS ile Cd tayini için ve iridyumun sabit ortam düzenleyici olarak kullanıldığı şartlarda gözlenebilirlik sınırı LOD 0.7 ng/L olarak hesaplanmıştır. Yöntemin zenginleştirme faktörü 65 olarak belirtilmiştir. [Fan ve Zhou, 2006].

Nazari mikro özütleme ve grafit fırın AAS ile sularda Cd tayini yapmıştır. Ön zenginleştirme aşamasında Cd, sulu numunede kadmiyum 2-(5-brom-2-piridilazo)-5-dimetilaminofenol (5-Br-PADAP) katyonik kompleks haline alınmış ve 4 μ L nitrobenzen ve amonyum tetrafenilborat damlasında özütlenmiştir. GFAAS analizi sırasında ortam düzenleyici olarak Pd kullanılmıştır. Çalışmanın zenginleştirme faktörü 390, yüzde geri kazanım 78 olarak hesaplanmıştır. Geri kazanımın düşük oluşunun nedeni katyonik kompleksden sulu faza Cd geçişinin düşük olmasından bunun da önceki kompleks oluşturma basamağı veriminin düşük olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Yöntemin gözlenebilirlik sınırı 0.0065 μ g/L olarak belirtilmiştir [Nazari 2008].

Lin ve Whang, Cr(III), 1,1,1-trifloroasetilasetonat kullanarak ve mikrodalga desteği (MAD) ile türevlendirmiş ve uçucu krom trifloroasetilasetonata dönüştürmüştür. Ardından toluen damlacığına deriştirilerek gaz kromatograf ile tayin edilmiştir. Pena ve ark., Cr(VI) için amonyum pirolidin ditiyokarbamat (APDC) ile türevlendirme/deriştirmeyi takiben yarı otomatik ardışık enjeksiyon analiz sistemi (SIA) ile doğrudan – SDME – SIA - GFAAS ile tayin yapılmıştır. Özütleme süresinin değiştirilmesi ile zenginleştirme faktöründe ulaşılan değerlere dikkat çekilmiştir. Ortama çok yüksek oranlarda Cu, Fe ve Zn katıldığında geri kazanımlarda büyük düşüşler gözlenmiştir. Liang ve ark., biyolojik örneklerde Pb tayini için de doğrudan - SDME uygulaması

kapsamında 1-fenil-3-metil-4-benzol-5-pirazolon (PMBP) özütleme reaktifi olarak kullanmış ve GFAAS ile tayin gerçekleştirilmiştir [Lin ve Whang, 2007, Pena ve ark., 2008, Liang ve ark., 2008].

Anthemidis ve Adam, ardışık enjeksiyon (SI) sisteminin tam otomatik modunu kullanarak tek damla mikro özütlemeyi (SDME) elektrotermal atomik absorpsiyon (ETAAS) ile eşleştirerek suda eser Cd tayini için çalışmıştır. Amonyum dietilditiyofosfat (DDPA) ile yüksüz Cd kompleksi Cd(II)-DDPA oluşturularak 60 µL diizobütilketon (DIBK) damlasında özütlenmiştir. 10 dakikalık mikro özütleme ile zenginleştirme faktörü 10 olarak hesaplanmıştır. Yöntem ile elde edilen LOD 0,01 µg/L olarak belirtilmiştir [Anthemidis ve Adam, 2009].

Sürekli akış mikro özütleme (CFME) ya da sürekli akış tek damla mikro özütleme (CF-SDME) nin elektrotermal buharlaştırma (ETV) ile eşleştirilmesi çalışmalarında Xia ve ark., tayin için ICP/MS kullanarak Be, Cd, Co ve Pb tayinlerini benzolaseton (BZA) damlacığında gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada ayrıca ortam düzenleyici kullanılmamış ve BZA bu görevi de üstlenmiştir. CF-SDME ile çalışmayı Cao ve ark. ise Pb tayinininde kullanmışlar ve 1-fenil-3-metil-4-benzol-5-pirazolon (PMBP) ile özütleme sağlamış tayin için ise GFAAS uygulamıştır [Xia ve ark., 2004, Cao ve ark., 2008].

Chamsaz ve ark., HS-SDME-GFAAS ile hidrür oluşturulabilen elementlerden As(III) ile çalışmışlar. Tayinde HCl ve NaBH₄ ortamında hidrür oluşturulmuş ve analit piridin-benzalkol damlasında deriştirilmiştir. GFAAS tayini sırasında ortam düzenleyici olarak gümüş dietilditiyokarbamat (AgDDC) ve Ni kullanılmıştır. Çeşme suyu, çamaşır makinası kireç önleyici toz ve katım yapılmış deniz suyunda yapılan bu çalışmada 7 dakika olarak uygulanan mikro özütleme süresi sonunda elde edilen mutlak gözlenebilme sınırı (3s_b) 18 pg ve derişim gözlenebilme sınırı (LOD) 45 pg/mL olarak; geri kazanımlar ise %95-105 olarak bulunmuştur. Hidrür oluşturabilen elementlerden Bi(III), Ge(IV), Pb(II), Sb(III), Se(IV), n(II), Cd(II) ile yapılan girişim/seçimlilik

çalışmalarında Se(IV), Sb(III) ve Bi(III) varlığında arsenik sinyalinde düşüş tespit edilmiştir [Chamsaz ve ark., 2003].

Fragueiro ve ark., grafit fırında ortam düzenleyici olarak kullanılan paladyumu aynı zamanda toplayıcı reaktif olarak da kullanmış ve HS-SDME yöntemi ile oluşturulan hidrürleri Pd damlasında özütlenen Se, Sb ve As tayinleri GFAAS ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada toplam inorganik arsenik tayini için hidrür oluşumu HCl ile sağlanırken seçimli As(III) tayini için sitrik asit kullanılmıştır. Elde edilen zenginleştirme faktörü As(III) için 70, Se(IV) için 25 ve Sb(III) için de 20 olarak hesaplanmıştır. 3 µL damlada 1,5 dakika mikro özütleme sonunda LOD değeri As, Se, Sb için sırasıyla, 0,15, 0,15, 0,20 ng/mL olarak bulunmuştur [Fragueiro ve ark., 2004].

Fragueiro ve ark., HS-SDME ile GFAAS eşleşmesiyle toplam inorganik Se ve Se(IV) tayini için Pd damlasında mikro özütleme yapmıştır. Se(VI)'nın Se(IV)'e indirgenmesi için hidrür oluşumu öncesi UV ışınması uygulanmıştır. Se(IV) için zenginleştirme faktörü 25, gözlenebilme sınırı (LOD 3σ) 0,15 ng/mL olarak hesaplanmıştır. [Fragueiro ve ark., 2006].

Gil ve ark., 2009 yılında yapılan çalışmalarında tepe boşluklu HS-SDME ile elektrotermal buharlaşma indüktif olarak eşleşmiş kütle spektroskopisi (ETV-ICP-MS) ile hidrür oluşturabilen elementlerden As, Sb, Bi, Pb, Sn ve Hg buharlarını hidroklorik asit ve potasyum ferisiyanit ortamında elde ederek Pd damlasında mikro özütlemeleri gerçekleştirmişlerdir. Bu şartlarda elde edilen zenginleştirme faktörleri As, Sb, Bi, Pb, Sn ve Hg için sırasıyla, 9, 85, 138, 130, 37 ve 72 olarak bulunmuştur. Mikro özütleme süresinin 3,5 dakika olduğu çalışmada gözlenebilme sınırı (3σ yaklaşımı ile LOD) As, Sb, Bi, Pb, Sn ve Hg için sırasıyla, 0,2, 0,04, 0,01, 0,07, 0,09 ve 0,8 µg/L olarak hesaplanmıştır [Gil ve ark., 2009].

Li ve ark., da ETV-ICP/MS ile tayin öncesi SDME uygulaması ile çevre ve biyolojik örneklerde Cd, Pb tayini yapmışlardır. Çalışmada 8-hidroksikinolin

(8-HQ) kompleksleştirici olarak kullanılmış, kloroform ise mikro özütleme reaktifi olarak kullanılmıştır. Yöntemin gözlenebilirlik sınırı Pb ve Cd için sırasıyla, 2,9 ve 4,6 pg/mL olarak bulunmuştur. Zenginleştirme faktörleri ise Pb için 190, Cd için 140 olarak hesaplanmıştır [Li ve ark., 2006].

Metallerin, yarı metallerin ve ametallerin tayinlerinde yapılan çalışmaların yanısıra organometaller için de SDME uygulamaları yapılmıştır. Genellikle kromatografik yöntemlerin tayin cihazı rolünü üstlendiği bu tür çalışmaların örnekleri de aşağıda özetlenmiştir.

Doğada bulunanlar içinde en zararlılardan olan organokalay bileşiklerinden özellikle takibi gereken tribütil kalay (TBT) ve trifenilkalay (TPT) tayinleri için Shioji ve ark., Doğrudan-SDME uygulamışlar. GC/MS/MS tayini öncesi mutlaka türevlendirilmesi gereken kalay bileşikleri için Doğrudan-SDME mikro özütleme reaktifi olarak α,α,α -triflorotolyen kullanılmıştır. Mikro özütleme süresi 60 dakikadır. Elde edilen zenginleştirme faktörleri TBT, TPT sırasıyla, 140 ve 92 olarak hesaplanmıştır [Shioji ve ark., 2004].

Colombini ve ark., HS-SDME ve HS-SPME tekniklerini hem ayrı ayrı sıvı-sıvı özütleme ile (LLE) hem de birbiri ile karşılaştırmış ve GC/MS kullanarak monobütilkalay (MBT), dibütilkalay (DBT), tribütilkalay (TBT) tayinleri yapmışlardır. SDME uygulamalarına göre ve 10 dakikalık mikro özütleme süresi sonunda TBT için $R^2=0,8436$, $S/N=3$ olduğu derişime göre TBT için LOD 3 ng/L olarak belirtilmiştir [Colombini ve ark., 2004].

Xiao ve ark., HS-SDME ve GC-ICP-MS eşleştirmesi ile bütilkalay bileşikleri için türleme çalışması yapmışlardır. Sodyum tetraetilborat (NaBEt_4) ve sodyum tetrahidroborat (NaBH_4) sırasıyla, etillendirme (türevlendirme) ve hidrür oluşturma yolu ile daha uçucu bütilkalay bileşikleri oluşturmak için kullanılmıştır. Mikro özütleme reaktifi olarak denenen bütanal, n-oktanal, dodekan elde edilen organokalay etil türevlerinin sinyalleri ile girişim yapmış; etilen glikol hiç özütleme sağlamamış; o-k silen ise çok yüksek

buharlaşma özelliği nedeni ile kullanılamamıştır. Xiao ve ark., çalışmada 5 dakika süren mikro özütleme için dekan kullanmış ve TBT için LOD 0.8 ng/L olarak hesaplamıştır. Çalışma deniz suyu ve kabuklu deniz hayvanlarında yapılmıştır [Xiao ve ark, 2008].

Pd(II)'nin veya Pt(IV)'ün mikro özütleme reaktifi olarak da kullanılabileceğinin denendiği çalışma ile Gil ve ark., metilciva tayini için HS-SDME ile GFAAS tekniğini eşleştirmişlerdir. Çalışmanın zenginleştirme faktörünün yaklaşık 40 olduğu belirtilmiştir. 2 dakikalık mikro özütleme süresi sonunda metilciva için elde edilen LOD 4 µg/L dir. Bu çalışmada yöntemin uygulanması ile inorganik civa için elde edilen zenginleştirme faktörünün düşük oluşuna dikkat çekilmiştir [Gil ve ark., 2005].

Liu ve ark., organik çözücüler yerine iyonik çözelti 1-alkil-3-metylimidazolyum heksaflorofosfat ($[C_nMIM][PF_6]$ burada $n=4$ ve 8) kullanmıştır. $n=4$ ile 15 dakika mikro özütleme süresi Direkt-SDME-CVAFS analiz tekniği uygulaması ile 5-40 arası zenginleştirme faktörüne ulaşılırken $n=8$ ile ve 30 dakika mikro özütleme süresi ile zenginleştirme faktörleri 4-27 olarak hesaplanmıştır [Liu ve ark., 2005].

Ye ve ark., geliştirdikleri an-ağızlı özütleme aygıtı ile özütleme reaktifi hacmini arttırdıkları için SDME duyarlığının iyileşmesini sağlamışlardır. Çalışmada 1-oktanal özütleme reaktifi olarak model bileşikler olarak seçilen siyanazin, simazin ve artrazin üzerinde denenmiştir. Elde edilen gözlenebilme sınırı ($S/N=3$) siyanazin, simazin ve artrazin için sırasıyla, 0,03, 0,04 ve 0,06 µg/L olarak hesaplanmıştır. Yöntem gerçek su örneklerinde denenmiştir.

Tek Damla Mikro Özütleme Tekniğine Etki Eden Faktörler

Sıvı faz özütlemesi; çözücü özütlemesi olarak da adlandırılır, iki bileşenden oluşan karışım, karışımda bir veya daha fazla bileşeni çözen bir çözücü

tarafından işleme alınır. Bu şekilde işlenen karışım, *artık* olarak adlandırılır ve çözücü açısından zengin olan faz, *özüt* olarak adlandırılır. Burada temel prensip bileşiğin iki ayrı fazda kısmi dağılımına dayanır. Madde sulu ve organik fazdaki göreceli çözünürlüklerine göre dağılacaktır.

İşlem, iki sıvı faz arasında bir denge işlemidir ki bu dengeyi bileşiğin iki fazdaki çözünürlükleri yönlendirir. Karışım çalkalandığı zaman bir dengeye ulaşılır ve her iki fazda maddenin derişimi sabit kalır. Belirli bir sistem ve sıcaklık için bu derişimlerin oranına dağılım katsayısı denir ve bu aynı zamanda çözünürlüklerin oranına eşittir.

$$K_D = C_A/C_B = S_A/S_B$$

Burada;

K_D : Dağılım katsayısı,

C_A : Maddenin A fazındaki derişimi,

C_B : Maddenin B fazındaki derişimi,

S_A : Maddenin A fazındaki çözünürlüğü,

S_B : Maddenin B fazındaki çözünürlüğü

dür.

Bir özütleme işleminin başarılı olması doğru çözücü seçimine bağlıdır. En çok kullanılan çözücüler eter, benzen, toluen, petrol eteri, heksan, broform, metilen klorür ve karbon tetraklorürdür. Bunların hiçbiri suda çözünmez ve organik bileşikler için iyi çözücülerdir.

Yöntem iki sıvının yoğunluk farkından yararlanılarak uygulanır. Şu halde yoğunlukları birbirine yakın olan maddeler kolay ayrılmayabilir ve örneğin emülsiyon halinde kalabilir. Bu durumda, sulu faz NaCl ile doyurulur, buna tuz etkisi denir [Özşar ve Bodur, 2007].

Numune hazırlama aşamasında sıvı-sıvı özütleme (LLE) tekniği hala en çok uygulanan yöntemlerdendir. Bu neredeyse yüzyıllık geçmişi olan teknikte bazı değişiklikler olmuştur. Klasik LLE uygulamalarında çok fazla çözücü kullanılması ki bunların büyük kısmı oldukça zararlıdır ve uygulama uzun süreler gerektirdiği için vakit kaybı fazladır. Bunlar tekniğin en önemli dezavantajlarındandır. Son 13-14 yıl içinde analitik kimyada olumlu yankı bulan minyatürize edilmiş özütleme yöntemleri ile hem süreler kısaltılmış hem de zararlı çözücülerin kullanımı çok büyük miktarlarda düşürülmüştür. Klasik LLE ile karşılaştırıldığında bu yöntemler ile çok daha verimli analit önderiştirme oranlarına ulaşıldığı, hızlı numune hazırlama ve kolay otomasyon olanağı sağlandığı görülmektedir.

Yoğun olarak GC için ve az da olsa LC için geliştirilmiş olan minyatürize edilmiş özütleme tekniği katı faz mikro özütleme (SPME) dir. Bu yöntemde durağan fazla kaplanmış olan fiber ya çözeltiye veya tepeboşluğuna uygulanarak analitin difüzyon (dağılım) ya da konveksiyon (aktarım) ile durağan fazda toplanmasına dayanır. Böylece fiberde özütlenmiş/deriştirilmiş olan analit cihaza enjekte edilerek kantitatif tayin edilir [Arthur ve Pawliszyn, 1990].

Birkaç yıl sonra ise tek damla mikro özütleme (SDME) tekniğinde fiber yerine, GC şırıngası ucunda ya da PTFE çubuk ucunda tutulan çözücü damlası kullanılmıştır. Analitlerin bu damlacık içine dağılması SPME fiberinde olduğu gibidir. Tepe boşluklu HS-SDME çalışmalarının ilki Jeannot ve Cantwell, tarafından gerçekleştirilmişti. SDME'ye çözücü mikro özütlemesi, sıvı-faz mikro özütleme ve sıvı-sıvı mikro özütleme gibi isimler de verilmektedir [Jeannot ve Cantwell, 1996].

Daha önceki kısımlarda da özetlendiği üzere SDME, sulu faz ile mikro şırınga iğnesinin ucundaki organik çözücü (birkaç mikro litre hacimdeki mikro damla) arasında analitlerin dağılması prensibine dayanmaktadır. Analit, bulunduğu sulu çözeltiden mikro damla içine özütlenir. Özütlemeyen sonra, mikro

damla, mikro şırınga içine geri alınır ve genellikle gaz kromatografisi ya da yüksek performanslı sıvı kromatografisi kolonuna enjekte edilir. Bu çalışmada ise grafit fırınlı AAS kullanılmıştır.

Tekrarlanabilir sonuçlar alabilmek için mutlaka optimize edilmesi gereken başlıca SDME parametreleri şunlardır:

- Özütleme süresi,
- Toplayıcı reaktifin seçimi,
- Toplayıcı reaktifin derişimi,
- Karıştırma hızı,
- Mikro damla hacmi,
- Tuz etkisi,
- Ortam sıcaklığı,
- Ortam pH'sı.

Bu tez kapsamında organociva ve organokalay bileşiklerinin hidrürleri halinde HS-SDME ile zenginleştirildikten ve ayrıldıktan sonra GFAAS ile tayin edilmesi için yeni bir yöntem önerilmiştir. Geliştirilen yöntem gerçek örneklerde metilciva ve tribütikalay tayinlerine uygulanmıştır.

2.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) Yöntemi

2.2.1. Temel kurallar

1950'lerde Alan Walsh tarafından geliştirilmiş olan atomik absorpsiyon spektroskopisi, yüksek sıcaklıkta gaz halinde ve temel enerji düzeyinde bulunan element atomlarının elektromanyetik ışınları absorplaması üzerine kurulmuştur. Absorplanan elektromanyetik ışınlar ultraviyole ve görünür bölge ışınlarıdır.

Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) metal ve yarı metallerin eser nicel analizleri için kullanılan bir yöntemdir.

Ortamda absorpsiyon yapan elementin derişimi ile ölçülen absorbans doğru orantılıdır.

E_0 temel enerji seviyesindeki atom, $h\nu$ enerjisinde foton absorplarsa, E_i kararsız uyarılmış enerji seviyesine geçer. Buna atomun uyarılması denir ve geçişe ait enerji Planck eşitliğiyle gösterilir;

$$E_i - E_0 = h\nu = h\frac{c}{\lambda}$$

Burada;

h : Planck sabiti, $6,626 \cdot 10^{-34}$ J s,

c : Işık hızı, m/s,

ν : Absorplanan ışının frekansı, s^{-1} ,

λ : Absorplanan ışının dalga boyu, m dir.

Atomun absorpsiyon yapması için, temel ve uyarılmış enerji düzeyleri arasındaki enerji farkına tam olarak eşit enerjiye sahip bir ışın ile karşılaşması şarttır. Diğer taraftan Lambert, homojen bir ortamdan geçen ışın şiddetinin, ışınların geçtiği yöndeki ortamın kalınlığıyla üstel şekilde azaldığını, ancak ortama gelen ve ortamdaki geçen ışın şiddetlerinin oranının gelen ışınların şiddetinden bağımsız olduğunu bulmuştur.

$$I = I_0 e^{-k'd}$$

Burada;

I_0 : Ortama gelen ışının şiddeti,

I : Ortamı terk eden ışının şiddeti,

d : Ortamın kalınlığı (ışının ortamdaki geçtiği yol),

k' : Absorpsiyon katsayısı, dalga boyuna ve ortama bağılı bir katsayı

dir.

Üzerine ışının düştüğü ortam, absorpsiyon yapan bir maddenin çözeltisi ise,

absorpsiyon katsayısı derişim ile orantılıdır.

$$k' = k'' C$$

Lambert tarafından ortaya atılan ve Beer tarafından geliştirilen maddelerin ışın absorpsiyonuyla ilgili bu yasa,

$$\ln (I_0 / I) = k'' d C$$

$$k = k'' / 2,303 \text{ ise}$$

$$A = \log (I_0 / I) = k d C$$

şeklinde verilmektedir.

Burada;

A : Absorbans,

C : Absorpsiyon yapan türün derişimi,

k : Absorpsiyon katsayısı (derişim molarite olarak alındığında molar absorpsiyon katsayısı, ϵ , adını alır)

dır.

Bir çözeltide absorbans için geçerli olan bu eşitlik atomik absorpsiyon için de geçerlidir.

Absorpsiyon, temel haldeki atomların enerji absorplayarak kararsız uyarılmış hale geçmeleri esasına dayanır. Absorpsiyon şiddeti temel haldeki atomların sayısına bağlı olarak değişir. Belirli bir sıcaklıkta gaz fazında bulunan atomların uyarılmış ve uyarılmamış taneciklerinin sayısal oranı sıcaklığa bağlıdır ve bu oran Boltzmann eşitliğiyle gösterilir.

$$\frac{N_i}{N_0} = \frac{P_i}{P_0} e^{-\frac{\Delta E}{kT}}$$

Burada;

N_i : Uyarılmış enerji düzeyindeki atom sayısı,

N_0 : Temel enerji düzeyindeki atom sayısı,

k : Boltzmann sabiti,

ΔE : Uyarılmış ve temel haller arasındaki enerji farkı,

T : Mutlak sıcaklık,

P_i : Uyarılmış enerji düzeyinin istatistiksel ağırlığı

P_0 : Temel enerji düzeyinin istatistiksel ağırlığı

dır.

Boltzman eşitliğine göre oda sıcaklığında, uyarılmış enerji düzeyindeki atom sayısı, temel enerji düzeyindeki atom sayısının yanında ihmal edilebilecek kadar azdır. Buna göre ortam sıcaklığı arttıkça, temel haldeki atom sayısı azalır. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde, temel düzeydeki atom sayısının fazla olması istendiğinden, atomlaşma sıcaklığı belirlenirken, bu sıcaklığın çalışılan element atomlarını atomlaştırmasına fakat uyarılmamasına dikkat edilir. 3000 K'den daha düşük sıcaklıklarda uyarılmış seviyedeki atom sayısı, temel haldeki atom sayısına oranla ihmal edilebilecek denli düşüktür. Böylece, temel enerji düzeyindeki atom sayısının ortamdaki toplam atom sayısına eşit olduğu kabul edilir. Buna göre absorpsiyon miktarı temel haldeki atom sayısı ile ilintilidir [Skoog ve ark., 1998, Skoog ve ark., 1999, Yalçinkaya, 2010].

2.2.2. Atomik absorpsiyon spektrofotometreleri

Atomik absorpsiyon spektrometresinin çalışma prensibi, temel düzeydeki element atomlarının UV-Görünür bölgedeki monokromatik ışınları Beer-Lambert yasasına göre absorplamasına esasına dayanır. Şu halde atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin için elementin sırayla nötral ve atomik buhar haline gelmesi ve kaynaktan gelen elektromanyetik ışın demetinin yoluna dağılması gerekir. Atomlaştırıcıya gelen ışın şiddetinin atomlaştırıcı-

dan geçen ışın şiddetine oranı ölçülür. Atomik absorpsiyon spektrometreleri Şekil 2.6 da blok diyagram ile gösterilen beş temel bileşenden oluşur.

Bunlar;

1. Analit elemetinin atomları tarafından absorplanacak ışınları yayan ışın kaynağı,
2. Numunenin serbest atomlarının buharının oluşmasının sağlandığı atomlaştırıcı,
3. Dalga boyu seçicisi (monokromatör),
4. Işın sinyallerini algılayan ve elektrik akımına dönüştüren ve ölçen elektronik devreler (dedektörler),
5. Verilerin toplandığı ve değerlendirildiği bilgisayar vb. yardımcı donanımlar



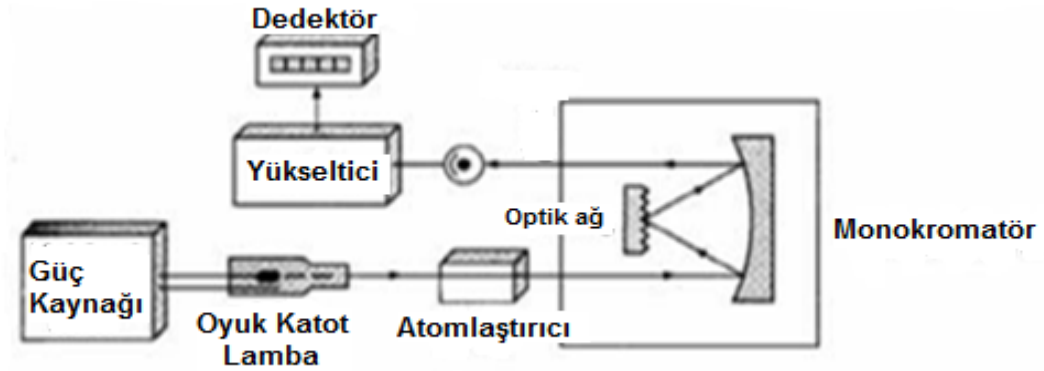
Şekil 2.6. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (AAS) cihazı blok diyagramı

Atomik absorpsiyon cihazının en önemli kısımlarından biri örnekteki analitin absorplayacağı ışınları yayan ışın kaynağıdır. Kaynaktan atomlaştırıcıya tek dalga boylu ışın gönderilmekte ama atomlaştırıcıdan ilave ışınların yayılması nedeniyle çok dalga boylu ışınlar da oluşmaktadır. İdeal bir atomlaştırıcının emisyon yapmaması gerekirse de, pratikte bunun sağlanması mümkün değildir. Kullanılan monokromatör bu anlamda önem kazanmaktadır. Bilinen klasik monokromatörler gibi beyaz ışığı dalga boylarına ayırmaktan ziyade, zaten kesikli ışın kaynağından tek dalga boyu iletilmekte olduğundan, öncelikle rezonans çizgisini diğerlerinden ayırmak amacıyla ve de özellikle alevden kaynaklanan emisyonları vb. azaltılması amacıyla yani bir tür filtre

olarak çalışmaktadır. AAS' lerde monokromatörün cihaz içindeki konumu da bu nedenle atomlaştırıcıdan sonradır.

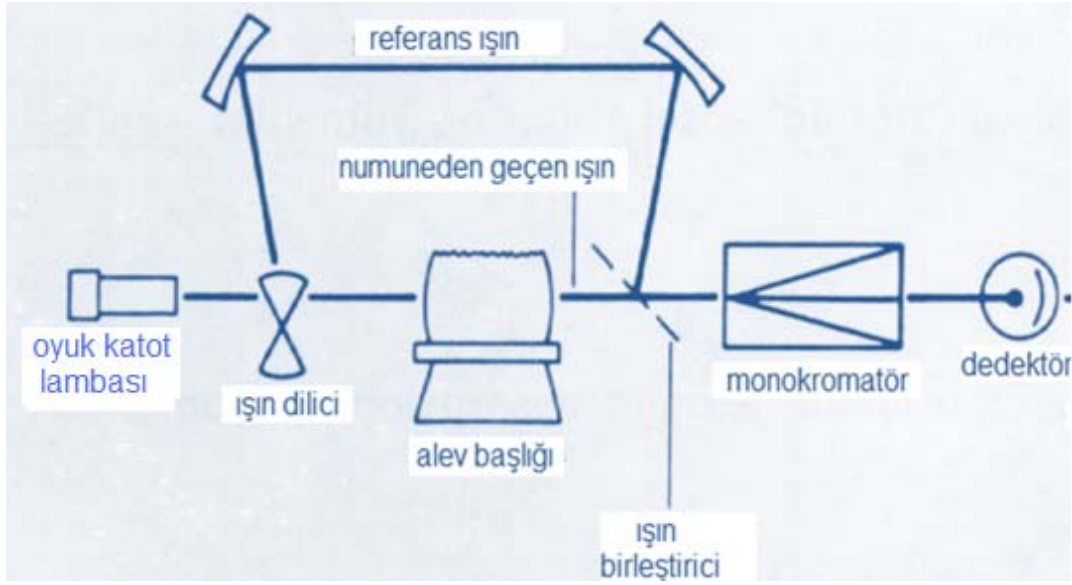
Tipik bir atomik absorpsiyon cihazında, alev tarafından yayılan ışının sebep olduğu girişimi gidermek gerekir. Yayılan ışının çoğu monokromatör tarafından süzülmesine karşın alevdeki uyarılmış atomların emisyonu ile oluşan ve monokromatörün ayarlandığı dalga boyuna denk gelen ışınlar dedektöre ulaşan ışın şiddetini artırır. Alevden gelen ışınların etkisini gidermek için, kaynaktan gelen ışını module etmek, yani şiddetini sabit frekansta periyodik olarak değiştirmek gerekir. Bu takdirde, dedektöre iki tip sinyal ulaşır. Bunlardan birincisi kaynaktan gelen modüle edilmiş ışınlar, ikincisi ise alevden gelen sürekli ışınlardır. Bunların arasındaki fark alınarak düzeltilmiş değer okunur. Modülasyon, ya bir ışık dilici ya da modüle edilmiş bir ışık kaynağı kullanılarak yapılır.

Absorpsiyon ölçümlerinde (alev veya grafit fırın) atomlaştırıcıdan yayılan ışınların etkisini azaltmak için tek ışın demetli alternatif akımlı sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemlerde ışın kaynağı ile atomlaştırıcı arasına konan bir ışın kesici yardımı ile kaynaktan gelen ışınlar dedektöre kesikli olarak gönderilirken, atomlaştırıcıda oluşan ışınlar dedektöre sürekli ulaşır. Işık dilici ya da ışık bölücü sonrası kesikli gelen ışınlar dedektörde bir alternatif akım oluşturmakta ve elektronik devrelerde de sadece bu akım yükseltilmektedir. Böylece, ışın kaynağından gelen ışın şiddetinin yanında atomlaştırıcıdan kaynaklanan ışın şiddeti ihmal edilmektedir. Işın kaynaklarından kesikli ışınların gelmesi, kaynağa kesikli akım uygulamakla da sağlanmaktadır. Tek ışın yollu atomik absorpsiyon spektrometresi Şekil 2.7'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Tek ışın yollu atomik absorpsiyon spektrometresinin şematik gösterimi.

Işın kaynağından gelen ışınların kesikli hale getirilmesi yerine, ışın yoluna yerleştirilen aynalı ışık dilici yardımıyla ışın eşit şiddette iki demete bölünerek bir atomlaştırıcıdan ve bir de atomlaştırıcının dışından geçirmek suretiyle dedektöre ulaştırılır. Bu şekilde çift ışın yollu cihazlar yapılmaktadır. Atomlaştırıcıdan ve dışından geçen ışın demetleri dedektör üzerine art arda gelir ve alternatif türden sinyal oluşturur. Her iki ışın şiddeti birbirine eşit olduğunda dedektörde herhangi bir akım meydana gelmemekte, sinyal oluşmamaktadır. Atomlaştırıcıdan gelen ışının şiddeti absorpsiyon nedeniyle azaldığında, dedektöre gelen sinyal alternatif sinyal olarak algılanarak bir akım üretilir ve bu akım yükseltilerek ölçülür. Şekil 2.8'de gösterilen bu sistemde çift ışın demeti kullanılması nedeniyle kararlılığı tek ışın demetli sistemlere göre daha iyi, fakat ışın demetinin ikiye ayrılması yüzünden yayılan ışın şiddetinin azalması nedeniyle de analitik duyarlık daha düşüktür.



Şekil 2.8. Çift ışın yollu atomik absorpsiyon spektrometresi şematik gösterimi.

2.2.3. Işın kaynakları

Atomik absorpsiyon ve emisyon pikleri, moleküler absorpsiyon ve emisyon bantlarından çok dar ve çizgi şeklindedir. Atomik hatların doğal genişliği, yaklaşık olarak 10^{-5} nm'dir. Etkin hat genişliği, ölçülen sinyalin yarı yüksekliğinde pikin genişliği olarak tanımlanır. Dar hat genişlikleri, atomik spektroskopide çok önemlidir. Hatların dar olması spektrumda hatların birbiri üzerine binme ihtimalini azaltır. Eğer hatlar genişse hatların örtüşme ihtimali artar.

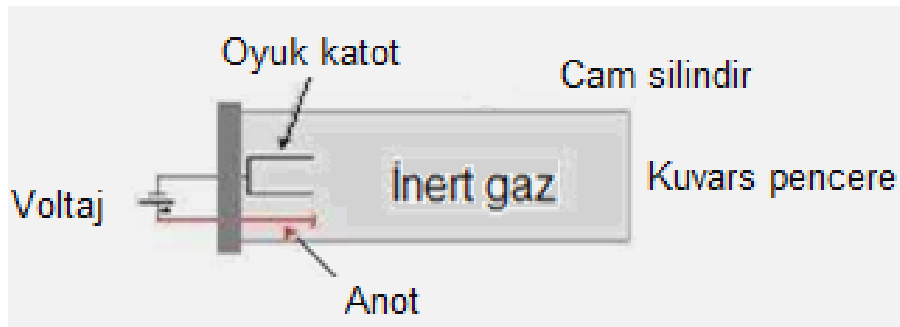
Beer Kanunu tek dalga boylu ışınlar için geçerlidir ve atomik spektroskopide ışın kaynaklarının, emisyon hat genişliğinin atomik absorpsiyon hat genişliğine eşit veya daha dar olması istenir. Bu nedenle atomik absorpsiyon spektrometrik yöntemde absorpsiyon piklerinden daha dar bant genişliği olan kesikli ışın kaynakları kullanılır. Bu da her tayin elementi için ayrı lamba gerektirmektedir. Son yıllarda ise sürekli ışın kaynaklarının kullanıldığı güçlü monokromatörlere sahip cihazlar ticari olarak piyasaya sunulmuştur.

AAS'de kullanılan ışın kaynakları şunlardır:

1. Oyuk katot lambası (HCL)
2. Elektrotsuz boşalım lambası (EDL)
3. Sürekli ışın kaynağı

Oyuk katot lambası (HCL)

AAS' de kullanılan ışın kaynaklarından biri olan ve en fazla tercih edilen oyuk katot lambası 1-5 mmHg düşük basınçta neon veya argon gibi asal bir gazla doldurulmuştur. Şekil 2.9'da şematik olarak gösterilen lamba silindir şeklindedir ve içerisinde anot ve katot bulunmaktadır. Katot, analizi yapılacak olan elementten yapılmıştır. Anot ise tungsten veya nikelden yapılmıştır. Anot ile katot arasına 100-400 V'luk gerilim uygulanır ve lamba içerisindeki asal gazın iyonlaşması sağlanır. Ortamdaki iyonlar katoda çarparak yüzeyden metal atomlarını kopararak uyarırlar. Uyarılmış enerji düzeyinde bulunan atom kararsızdır ve temel enerji düzeyine dönmek isteyecektir. Bu atom temel enerji düzeyine dönerken katot elementine özgü dalga boyunda (λ) ışınım yapar. Bu nedenle, AAS'de tayin edilecek elemente ait oyuk katot lamba kullanılır [Skoog ve ark., 1999, Yıldız ve ark., 1993].



Şekil 2.9. Oyuk katot lambasının şematik gösterimi.

Elektrotsuz boşalım lambası (EDL)

Bu lamba uçucu ve rezonans çizgisi 200 nm'den düşük dalga boyunda (ö) olan elementler için tercih edilmektedir. Çünkü aynı elementin oyuk katot lambasına göre yaklaşık 10-100 kat daha fazla ışın şiddeti elde edilmektedir. Bu lambada bir kuvars tüpe düşük basınçta argon gazı ile tayin edilecek elementin metal veya tuzundan 1-2 mg bulunur; kuvars tüpün dış çeperleri ile temastaki elektrotlar arasına 200 watt'lık bir güç uygulaması ile uyarma sağlanır. Lamba içinde elektrot bulunmaz, şiddetli radyo frekansı veya mikrodalga ile gereken enerji elde edilir. Bu ışınım alanında inert gaz iyonlaşır, iyonlar alanın yüksek frekanslı bileşeni ile hızlandırılarak spektrumu istenen metalin atomlarını uyaracak enerjiye ulaşırlar [Skoog ve ark., 1999, Yalçınkaya, 2010, Altınışik, 2004].

Sürekli Işın kaynakları

Sürekli ışık kaynağı olarak bilinen hidrojen, döteryum ve yüksek basınçlı ksenon lambaları geniş bir spektrumda ışın yapmaktadırlar. Atomlar ise çok dar bir hatta absorpsiyon yaptıkları için kullanılan ışık kaynaklarının da dar bir hatta emisyon yapmaları gerekmektedir. Günümüzde sürekli ışın kaynakları da AAS'de kullanılmaktadır. Ama bilinen monokromatörlerden farklı olarak yüksek ayırma gücüne sahip kuvvetli bir monokromatör olması halinde atomik absorpsiyon spektrometresinde (HR-CS-AAS) sürekli ışın kaynağı kullanılmaktadır. Tüm UV-Görünür bölgede (~190 – 800 nm) ışın yapan bu kaynaklarda "sıcak nokta modu" denilen belli bir bölgede ışın yoğunluğu yüksektir. Sürekli ışın kaynakları 300 W gerilim (20 V, 15 A) ve doğru akım kullanılarak çalıştırılır. Sürekli ışın kaynaklı AAS'lerde iki ayrı monokromatör kullanılmaktadır. Bir tanesi ışın kaynağı ile atomlaştırıcı arasında diğeri atomlaştırıcı ile dedektör arasına yerleştirilmiştir. Işın kaynağı ile atomlaştırıcı arasında kullanılan monokromatör kuvvetli bir ayırma gücüne sahip, diğeri monokromatör ise kesikli ışın kaynağı ile kullanılan geleneksel AAS'lerdeki monokromatörler gibidir [Welz ve ark., 2005].

2.2.4. Atomlaştırıcılar

Numune çözeltilisi içindeki iyonlardan ve moleküllerden tayin edilecek elementin temel düzeydeki atomik buharının oluşturulduğu bölüm atomlaştırıcılarıdır. Absorpsiyon şiddeti gaz fazındaki serbest atom derişimiyle doğru orantılı olduğundan, AAS'de atomlaştırıcıların rolü çok önemlidir.

Atomlaştırıcılar,

- Aevli
- Aevsiz
- Hidrür oluşturmalı/Soğuk buhar

olmak üzere başlıca üç türüdür.

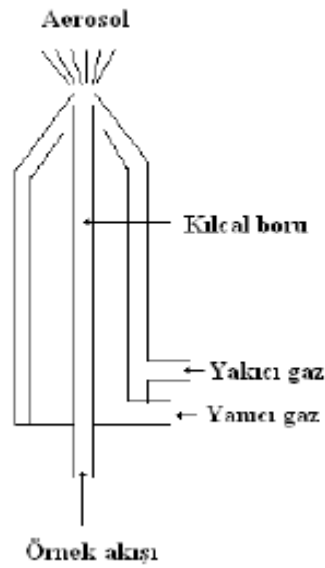
Aevli atomlaştırıcılar

Numune çözeltilisi çeşitli yanıcı ve yakıcı gazların yakılmasıyla elde edilen aleve havalı (nömatik) bir sisleştirici yardımı ile püskürtölür. Genellikle aevli atomik absorpsiyon spektrometrelerinde yakıcı gaz olarak hava, oksijen ve N_2O , yanıcı gaz olarak da H_2 , C_2H_2 ve propan gazı kullanılır. Aevli atomik absorpsiyon spektrofotometresinde alevin oluşturulması için kullanılan alev başlıkları ön-karıştırmaz (türbölent akımlı) ve ön-karıştırmalı (laminer akımlı) olmak üzere iki türdür.

Ön-karıştırmaz alev başlıklarında, örnek çözeltilisi, yanıcı ve yakıcı gazlar, birbirleriyle temas etmeden ayrı ayrı taşınarak yakıcı başlığının hemen çıkışında karşılaşırlar

Ön karıştırmaz alev başlıkları şekil 2.10'da gösterildiği gibi sisleştirici (nebölizör) ile birlikte dir. Örnek çözeltilisi kapiler bir borudan yanıcı ve yakıcı gazların sağladığı venturi etkisi ile emilir. Numunenin akış hızı 1–3 mL/min

'dır. Bu başlıkların en önemli avantajı alev daha çok numune ulaşmasını sağlayarak bütünü temsil eden sonuç alınmasını sağlar. Ön-karıştırmalı alev başlıklarına göre patlama ve geri saçılma ihtimali daha azdır. Alev yolunun kısa olması ve bekin tıkanma ihtimalinin fazlalığı ise önemli dezavantajlarıdır. Gürültülü çalışan bu atomlaştırıcılar emisyon ve floresans çalışmalarında tercih edilirken, ışık yolu kısa olduğu için absorpsiyonda kullanılmazlar.

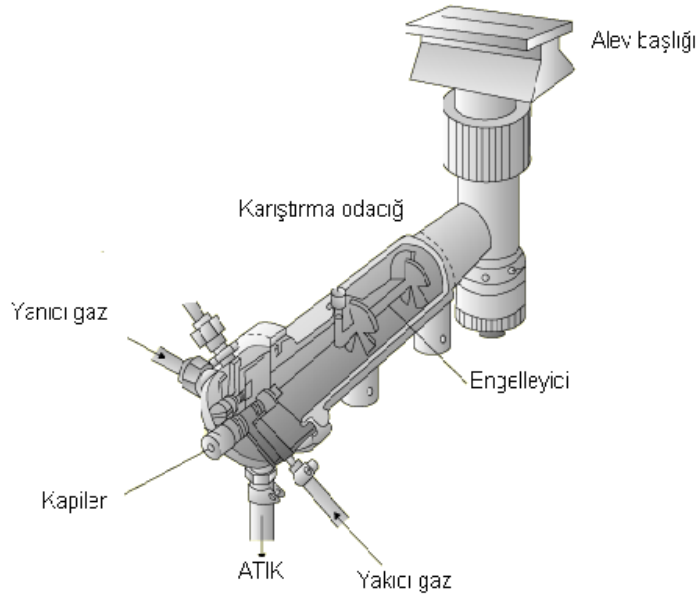


Şekil 2.10. Ön karıştırmaz (türbülent akımlı) alev başlığının şematik gösterimi.

Ön-karıştırmalı (laminer akımlı) başlıklarda ise, örnek çözeltisi yakıcı gaz akımı ile beraber bir boşluğun içine taşınır ve burada yanıcı gazla karşılaşır. Böylece bir aerosol oluşur ve bu aerosol yolu üzerindeki engellere çarparak çeşitli büyüklükteki damlacıklara dönüşür. Uygun büyüklükteki damlacıklar aleve taşınırken daha büyük damlacıklar sistemden dışarı atılır.

Ön-karıştırmalı alev başlıklarında Şekil 2.11'de görüldüğü gibi örnek çözeltisi yakıcı gazın yardımıyla kılcal borudan emilir. Örnekten gelen aerosoller muhtelif engellere çarparak sis haline getirilir ve yakıt gazları ile birlikte aleve taşınır. Örneğin büyükçe bir kısmı aleve taşınmaz ve atık olarak dışarı atılır.

Ön-karıştırmalı alev başlıklarının ışın yollarının daha uzun olması sebebiyle duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği daha iyidir. Örnek emiş hızının ve alev taşıma oranının düşüklüğü kullanılan beklerin yetersizliği nedeniyledir.



Şekil 2.11. Ön karıştırmalı (laminer akımlı) alev başlığı.

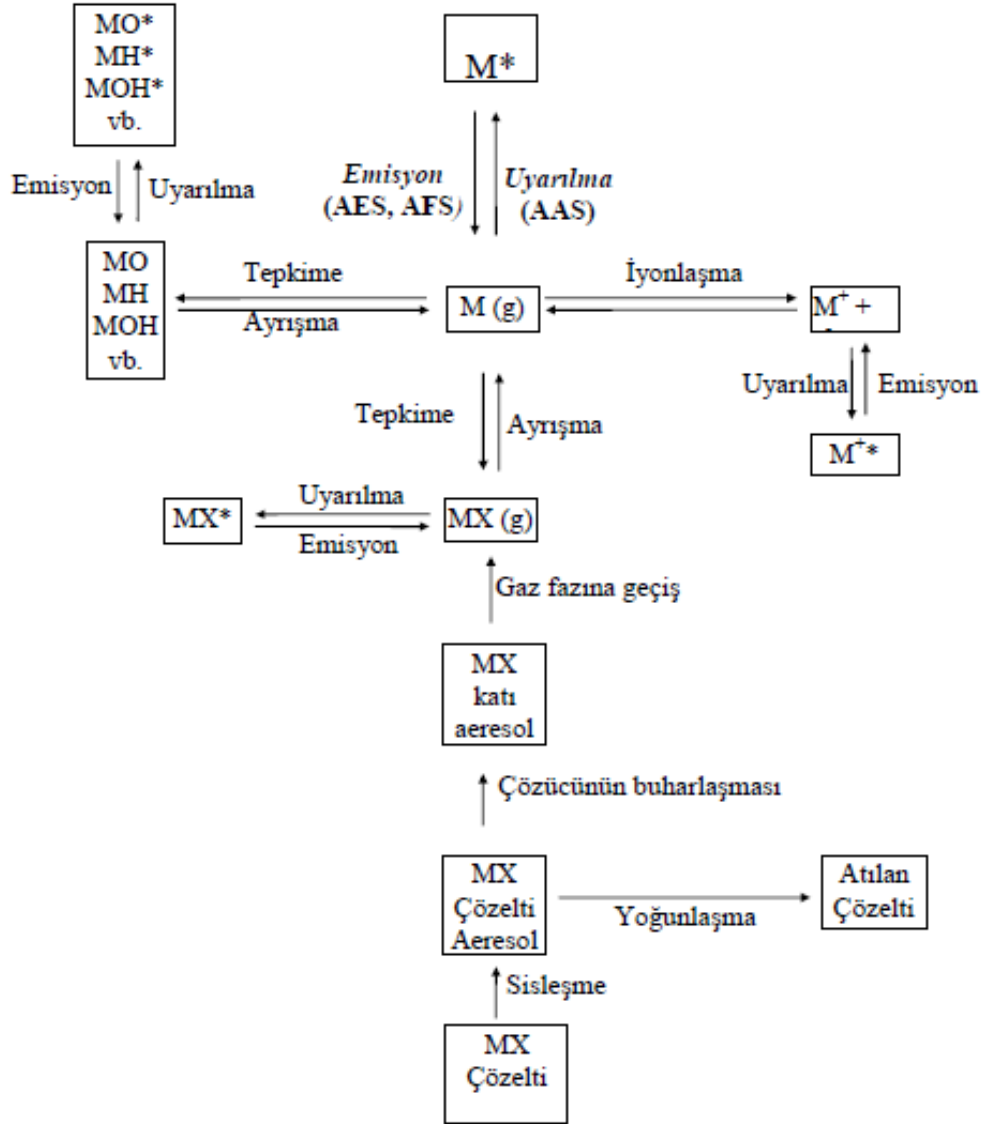
Yakıcı gaz yardımı ile emilen çözeltinin alev ulaşma oranı ve çözücünün buharlaşma hızı, örnek ve standart çözeltilerinin yoğunluk, viskozite ve yüzey gerilimi gibi fiziksel özellikleriyle atomlaştırıcıda kullanılan sisleştiricinin yapısına bağlı olarak değişse de alevli atomlaştırıcıların en büyük handikapı sınırlı sisleştirme verimliliğidir. Numunenin ancak %10-11 kadarı alevde ışın yoluna iletilebilmektedir [Yurtsever, 1984]. Alevli atomlaştırıcıların bir diğer dezavantajı da atomlaştırıcının (alev) atmosfere açık olması nedeni ile tayin edilecek element ile ışın kaynağı fotonlarının etkileşme sürelerinin çok kısa olmasıdır.

Örnekte bulunan iyonlardan, analiz elementinin temel hal enerji düzeyindeki atomlarını oluşturmak için kullanılan atomlaştırıcılardan alevli atomlaştırıcılarda ilk işlem; çözelti halindeki örneğin alevde püskürtülmesidir.

Sis halinde alevde ulaşan çözünmüş maddeleri içeren çözücü, alevde ısı etkisiyle buharlaşarak kurur. Çözücünün türüne ve oluşan damlacıkların büyüklüğüne bağlı olarak belli bir hızda buharlaşma olur. Oluşan katı tanecikler alev sıcaklığına göre şekil değiştirirler. Organik maddeler yanarken inorganik maddeler hem kendi aralarında hem de alev gazları ile tepkimeye girer. Buharlaşma sonucu gaz molekülleri yani tayin edilecek elementin tuzları, ısı etkisiyle atomlarına ayrılırlar. Bu serbest atomlar kaynaktan gelen ışınları absorplayarak uyarılırlar. Alevde meydana gelen bu karmaşık olaylar numunenin ilk halinden başlanarak alevde absorpsiyon aşamasına kadar Şekil 2.12'de şematik olarak özetlenmiştir.

Alevli AAS'de yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlikle analizler yapabilmek için alev şartlarının doğru olarak tespiti gerekir. Alevin yükseklik ve genişliğine bağlı olarak alevin sıcaklığı ve bileşimi az da olsa değişir. Bu nedenle tayin elementinin serbest atomlarının ve oksitlerinin oluşumuna ve çözeltideki anyonlara bağlı olarak absorpsiyonun ölçüleceği uygun alev profili seçilir. Örneğin; kolaylıkla serbest atomları oluşturulan ve hemen yükseltgenen Mg gibi elementler için alevin dip kısmında absorpsiyon ölçümü yapılırken, serbest atomların oluşumu ve yükseltgenmeleri güç olan Ag gibi elementler için alevin üst kısmında absorpsiyon ölçümü yapılır. Diğer elementler için de özelliklerine bağlı olarak alevin uygun bölgesi seçilmelidir.

Absorpsiyon ölçümünde bir diğer önemli faktör de alevde kullanılan yanıcı/yakıcı gazların oranıdır. Alevde yakıcı gazın stokiyometrik orandan fazla kullanılması halinde ortamda fazla oksijen olacağından kararlı oksitler oluşması kaçınılmazdır ve bu atomlaşma veriminin azalması demektir. Bunu önlemek yani ortamda oksijen kalmaması için, yakıcı gaz stokiyometrik orandan daha az kullanılmalı ve yakıtın tamamı yanmayacağı için de gerekli önlemler alınmalıdır.

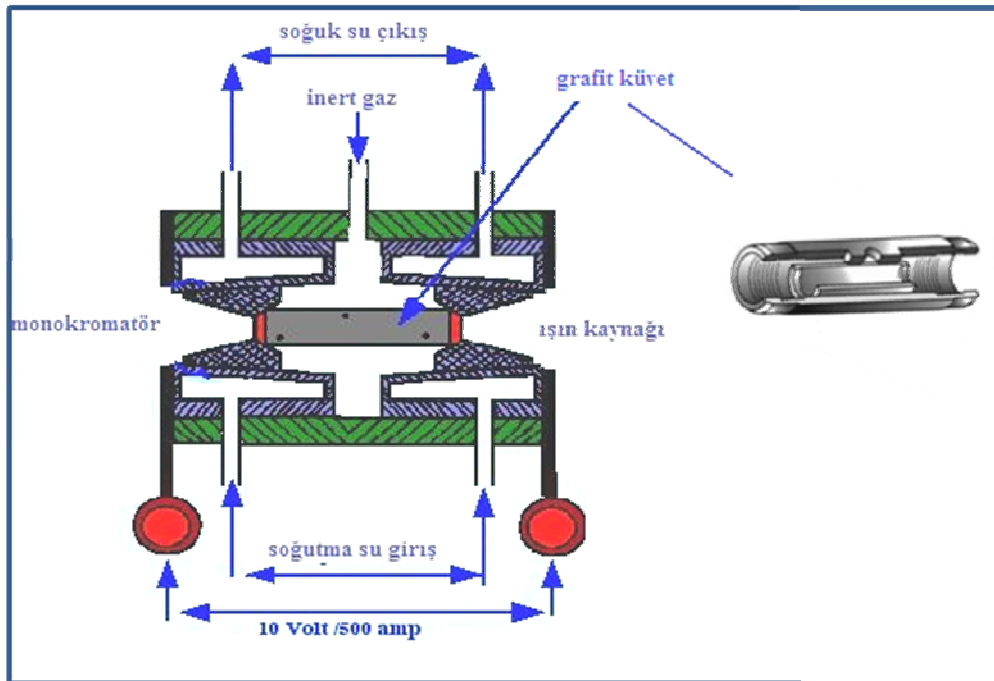


Şekil 2.12. MX çözeltisinin alevli atomlaştırıcıdaki evrelerinin şematik gösterimi. [Yalçınkaya, 2010].

Elektrotermal atomlaştırıcılar

Alevli atomlaştırıcıların en önemli dezavantajları olan, ön-karıştırmalı başlıklarda sisleştirme veriminin düşüklüğü ve ön-karıştırmaz başlıklarda atomlaşma veriminin düşüklüğü ile daha da önemlisi oluşan atomların ışın yolunda kalma süresinin kısalığı (10^{-4} s) nedeniyle atomlaşma için gereken ısının elektrik enerjisiyle sağlanması düşünülmüştür. Elektrotermal

atomlaştırıcılar içinde en yaygın olarak kullanılan grafit fırınlı atomlaştırıcılardır. İlk kez 1959 yılında L'vov tarafından kullanılan Grafit Fırın 1967 'de Massmann tarzı grafit fırın haline dönüştürülerek atomlar için sabit sıcaklık ortamı sağlanmıştır [Slavin ve Manning, 1980, L'vov, 1991, L'vov, 1996]. 1978'de L'vov grafit küvet içine platform yerleştirmiştir. Şekil 2.13'te Massmann tipi grafit fırın ve küvetin şematik gösterimi verilmiştir. Grafit fırınlı AAS'de kullanılan 10-30 μL numunenin tamamı atomlaştırılarak %100 atomlaşma verimi elde edilmektedir. Ayrıca atmosfere kapalı grafit küvet içinde oluşan atomların kaynaktan yayılan analit atomu emisyonu ile etkileşme süresi uzundur. Böylece duyarlık alev oranla yaklaşık 1000 kat yüksek dolayısı ile gözlenebilirlik sınırı ve tayin sınırı da (LOD/LOQ) düşüktür.



Şekil 2.13. Massmann tipi grafit fırın ve grafit küvetin şematik gösterimi

Fırın düşük voltajlı (10 V) ve yüksek akım şiddetli (500 A) elektrik ile ısıtılır. Sıcaklığın $3000\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'nin üstüne çıkabildiği, genellikle 5–10 mm çapında, 20–30 mm uzunluğunda ve 1 mm kalınlığında iki ucu açık silindir görünümündeki bu tüplere, grafit tüp veya grafit küvet denir. Numune küvet üzerindeki

delikten ve yüksek tekrarlanabilirlik elde edebilmek için mutlaka oto-örnekleyici kullanılarak ve sıçratılmadan tüp duvarına yerleştirilir.

Atomlaşma mekanizmasının alevden tamamen farklı olduğu grafit fırın veya elektrotermal atomlaştırıcıda atomlaşma bir kaç basamakta gerçekleşir. İlk önce sıvı örnek 1 veya 2 basamak halinde kurutulurak çözücünün buharlaşması sağlanır. Ardından gelen basamakta numune kül edilir ve hemen atomlaşma basamağı için akım artırılır ve tayin edilecek elementin serbest atomları oluşturulur. Son basamak temizlik için sıcaklığın iyice artırıldığı basamaktır. Atomlaşma basamağı dışında her aşamada grafit küvet içinden ve dışından inert gaz geçirilerek fırın ve küvetin yanması önlenir. Atomlaşma basamağında ise gaz akışı olmadığı için oluşan serbest atomlar 3-5 saniye boyunca ışın yolunda kalır ve duyarlılığın artmasını sağlar.

Grafit fırının başlıca avantajları;

- ng/mL düzeyindeki LOD ile alevden 1000 kata kadar daha duyarlıdır.
- Numune hacmi alevde en az bir kaç mL iken grafit fırında sadece 5-10 µL yeterli olmaktadır. Böylece toksik maddelerle çalışılmasında çevreye zarar en aza indirgenmektedir.
- Homojen hale getirilebildiği takdirde grafit fırınlı AAS ile bulamaç haline getirilmiş katı örneklerin analizleri de mümkündür. Aynı şekilde alevli tayinde sisleştiriciden başlayarak sorun oluşturabilen vizkozitesi yüksek numuneler için de grafit fırın çok uygundur.
- Vakum UV bölgesinde rezonans çizgisi olan elementlerin alevde tayinleri alev gazlarının bu bölgede absorpsiyon yapmaları nedeni ile mümkün olamazken grafit fırınla mümkündür.

- Alevde yanıcı gazların yaratabileceği sorunlar nedeni ile analiz süresince başında beklenilmesi zorunluluğu grafit fırında olmadığı için gerçek otomasyona olanak sağlamaktadır.

Bu avantajlarının yanında grafit fırının bazı dezavantajları da vardır. Bunlar;

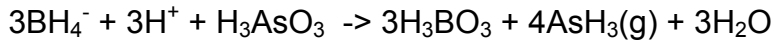
- En fazla 20-25 saniyede sonuç alınabilen alev oranla 2-3 dakika olan analiz süresinin uzunluğu,
- Grafit küvetlerin ve sistemin ilk kurulum maliyetinin yüksek oluşu,
- Yöntem oluşturulması ve özellikle kül etme ve atomlaşma sıcaklıklarının deneysel olarak tesbitinin uzmanlık gerektirmesi,
- Girişimlerin fazla, zemin absorpsiyonunun yüksek olması,
- Oto örnekleyici olmaksızın kesinliğinin iyi olmamasıdır.

Hidrür oluşturmali/Soğuk buhar atomlaştırıcılar

Bir atomlaştırma yönteminden çok numune gönderme tekniğidir. Özellikle As, Sb, Bi, Ge, Sn, Pb, Se, Te gibi kovalent hidrürü oluşturulabilen elementler için uygulanır. Grafit fırın ile ortalama 20 µL ile çalışılırken bu teknik 500-1000 µL hacimde çözelti ile çalışma imkanı sağlar. Ayrıca tayin edilecek element numune ortamından tamamen ayrılabilmesi için genellikle zemin düzeltici kullanımı gerekmez ve bu da gözlenebilir sınırını en az 10 kat düşürür. Yine bu yöntem uygulanarak türleme (As(III) ve As(V) vb) çalışması yapmak da mümkün olmaktadır.

Hidrür oluşturma tekniğinde, çözeltildeki element asidik ortamda kuvvetli bir indirgen (genellikle NaBH₄) eklenmesiyle uçucu hidrürüne dönüştürülür. Oluşan hidrür/sıvı karışımı bir gaz/sıvı ayırıcıdan geçirilir; sıvıdan ayrılan

hidrür bir inert gaz (Ar) ile süpürülerek atomlaştırıcıya gönderilir. Nitrür oluşumuna olanak tanımamak için N₂ kullanılmaz. Atomlaştırıcı olarak alev veya elektrikle ısıtılan kuvars T-tüp kullanılır. Kuvars tüp içinde ısıtılan hidrür atomlarına ayrışır. Arsenik için hidrür oluşum tepkimesi örnek olarak aşağıda verilmiştir.



Sadece civa (Hg) tayininde kullanılan soğuk buhar tekniği ise prensip olarak HGAAS'ye benzer. Bu teknikte hidrür oluşturulmaz. Civa oda sıcaklığında bile yeterli buhar basıncına sahip tek metal olduğundan atomlaşması için atomlaştırıcıya dışarıdan ısı enerjisi verilmesi gerekmez. Çözeltideki Hg, önce yükseltgenlerle muamele edilerek Hg(II) haline dönüştürülür. Sonra çözeltiliye indirgen (SnCl₂) eklenerek metalik hale indirgenir ve inert gaz ile kuvars T-tüpe taşınır. Burada SnCl₂ nin kullanılmasının nedeni yüksek duyarlılık ve çok az bir köpük oluşturmasıdır. Soğuk buhar denilmesi kuvars hücrenin ısıtılmamasındandır. Hücre hafifçe ancak 50-100 °C civarında ısıtılır, böylece hücrede su buharı oluşumu engellenerek duyarlılık kaybı önlenmiş olur.

2.2.5. Monokromatör

Oyuk katot lambalarından tek dalga boyulu ışınlar gelmesine rağmen, atomlaştırıcı ortamında birden fazla dalga boyunda ışınlar meydana gelmektedir. Bu nedenle atomlaştırıcıdan sonra tayin elementi hattının diğer hatlardan ayrılması gerekmektedir. Bu amaçla AAS cihazlarında monokromatör adı verilen ve prizma veya optik ağ içeren düzenekler kullanılmaktadır.

Atomik absorpsiyon spektrometrelerinde spektral hatların ayrılması sadece monokromatöre bağlı olmayıp oyuk katot lambasının emisyon hattı genişliğine (yaklaşık 0,002 nm) ve tayin elementinin rezonans absorpsiyon

hattı genişliğine (yaklaşık 0,005 nm) de bağlıdır. Yapılan araştırmalarda spektrumu en karmaşık elementler için bile, 0,2 nm ayırıcılığa sahip monokromatörlerin atomik absorpsiyon spektroskopisi için yeterli olduğu görülmüştür [Yalçınkaya, 2010].

Monokromatörün ana görevi ölçüm çizgisini katot malzemesinin emisyon çizgilerinden ve inert gazın çizgilerinden ayırmaktır. Ayırma prizmanın veya optik ağıın büyüklüğüne ve dağılım karakterine, spektrometrenin optik sistemiyle ve monokromatörün yarı genişliğiyle yakından ilgilidir. Bir monokromatörün ayırma gücü ise onun yakın absorpsiyon bantlarını veya yakın iki spektral hattı ayırma yeteneğine bağlıdır.

2.2.6. Dedektör

Atomik absorpsiyon spektrometrelerinde ışık sinyalini elektrik sinyaline çevirmek için fotoçoğaltıcılar kullanılır. Foto çoğaltıcı tüpler, ışığa duyarlı bir katot (fotokatot), oluşan gerilimi artıran emisyon katotları (dinotlar) ve anottan ibaret bir vakum fotoselidir. Katot Cs, Sb gibi kolay iyonlaşan bir alaşımla kaplıdır.

Monokromatörden gelen bir foton fotokatot yüzeyine çarparak bir elektron koparır ve bu elektron uygulanan gerilim farkı ile birinci dinota doğru çekilir ve dinot üzerine gerilimle orantılı kinetik enerji ile çarpar. Bu dinotdan çok sayıda ikincil elektron fırlar. Bu ikincil elektronlar hızlandırılarak ikinci dinoda çarparlar ve çok fazla sayıda elektron fırlatırlar. Bu işlem devam ederken sonuçta çok sayıda elektron anoda ulaşır ve devreden okunabilecek seviyede akım geçer. Sonuçta foton sinyali genliği oldukça yüksek olan elektronik sinyale çevrilmiş olur. Devreden geçen akım, dedektöre düşen ışık şiddeti ile orantılıdır.

Bir dedektörün

- ışığa karşı duyarlı olması,

- ışık şiddeti ile doğru orantılı bir sinyal üretmesi,
- üzerine düşen ışığa cevap verme, yani sinyal üretme süresinin kısa olması,
- kararlı olması ve
- üretilen elektriksel sinyalin yardımcı devrelerle çoğaltması istenir [Welz, 1985, Skoog ve ark., 1991, Yalçınkaya, 2010].

2.3. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler

Numunede tayin edilecek elementin yanısıra bulunan diğer elementler, moleküller ve iyonların atomlaştırıcıda oluşan serbest atomların sayısını değiştirmeleri ve hatların monokromatörün ayıramayacağı kadar yakın olması ile analiz sonuçlarında doğru değerden sapma gözlenir. Tayin edilen örneğin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile içinde bulunan türlerin absorpsiyon veya emisyon hatlarından kaynaklanan bu olaylara “girişim” denir.

Girişimler nedenlerine bağlı olarak fiziksel, kimyasal, iyonlaşma, spektral ve zemin olarak sınıflandırılabilir. Kimyasal girişimler, birim hacimde oluşan atom sayısını etkilediği halde, zemin ve spektral girişimler analitin sinyaline etki eder [Yıldız ve Genç, 1993, Welz, 1999, Skoog ve ark., 1999].

2.3.1. Fiziksel girişimler

Deneylerde kullanılan standart ve örnek çözeltilerinin viskozite, yüzey gerilimi ve yoğunluk gibi fiziksel özelliklerinin farklı olması halinde; birim zamanda aleve taşınan çözelti hacmi, sisleşme verimi ve alevin sıcaklığı değişir. Bu değişiklik, birim hacimde çözelti başına alevde elde edilen serbest atomların sayısının değişmesine neden olur. Bu nedenle karşılaştırılabilir sonuçlar alınamaz.

Fiziksel girişimler örnek ve standart çözeltilerin fiziksel özellikleri birbirine benzetilerek azaltılabilir. Bu da örneğin seyreltilmesiyle veya standart çözeltilerin de aynı ortamda hazırlanması ile sağlanabilir. Bunun yanında analiz elementi özütleme, iyon değiştirme, çöktürme gibi yöntemlerle ayrılarak fiziksel özellikleri standart çözeltilerinkine benzeyen bir ortama da alınabilir ve fiziksel girişimler azaltılabilir. Fiziksel girişimlerden kurtulmanın en iyi yöntemlerinden birisi de standart ekleme tekniğini kullanarak tayin yapmaktır.

2.3.2. Kimyasal girişimler

Kimyasal girişimler, atomlaştırıcının yüzeyindeki katı fazda veya elementin atomlaşması esnasında gaz fazında absorpsiyon değerini değiştiren çeşitli kimyasal tepkimelerin oluşması ile ortaya çıkar. Tayin elementinin moleküler halde zor ayrışan, zor buharlaşan bileşik oluşturması veya oluşan element atomlarının ortamdaki diğer atomlarla veya radikallerle tepkimeye girerek kolay buharlaşan bileşik oluşturması sonucu kimyasal girişimler gözlenir.

Birçok kimyasal girişim atomlaşma sıcaklığını artırarak veya kimyasal çevreyi değiştirerek giderilebilir. Böylece güç atomlaşan bileşenler parçalanabilir ve düşük sıcaklıkta girişim oluşturan bileşenler yok edilebilir.

Kimyasal girişimleri gidermenin diğer yolları şöyledir:

Tayin elementinin özütleme, iyon değiştirme, adsorpsiyon gibi yöntemlerle girişim yapan örnek ortamından ayrılması,

- Örnek ve standart çözeltilerin ortamlarının (matrikslerinin) birbirine benzetilmesi
- Örnek çözeltisine, girişim yapan iyon veya moleküllerle daha sağlam

yapı oluşturan maddeler katılarak tayin elementinin serbest kalmasının sağlanması,

- Tayin elementi ile daha kararlı yapı oluşturarak onun atomlaşmasını engelleyen türlerden korunmasını sağlayan maskeleyen reaktif katılması,
- Standart ekleme yönteminin uygulanması

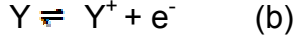
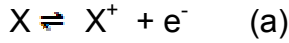
Alevsiz atomlaştırıcılarda inert ve indirgen bir ortam bulunduğundan, alevin özellikleri sebebiyle ortaya çıkan bazı kimyasal girişimler bunlarda görülmez.

2.3.3. İyonlaşma girişimi

Tayin edilecek elementler, atomlaştırıcının sıcaklığı ve iyonlaşma gerilimine bağlı olarak iyonlaşabilirler. İyonlaşma, temel haldeki serbest atom sayısını azaltır. İyonlarla, temel haldeki atomların spektral özellikleri aynı olmadığı için iyon lambadan gelen ışınları absorbe edemez ve tayin elementinin sinyali beklenenden küçük olur.

Yakıcı gaz olarak N_2O veya oksijenin kullanıldığı yüksek sıcaklık alevlerinde önemli oranlarda iyonlaşma meydana gelirken, hava-asetilen gibi daha düşük sıcaklıklarda iyonlaşma daha azdır. Bu nedenle, iyonlaşmanın etkisi düşük sıcaklıklı alevler kullanılarak azaltılabilir. Fakat bu yöntem bütün elementler için uygun değildir. Çünkü düşük sıcaklıklı alevde de kimyasal girişimler artabilir.

İyonlaşma etkisi, ortama analiz elementinden daha kolay iyonlaşabilen başka elementler (Na, K, Cs gibi) katılarak giderilebilir. Böylece, öncelikle iyonlaşan element nedeniyle ortamın elektron yoğunluğu artacağından, tayin elementinin iyonlaşması engellenir. Tayin elementi X ve katılan element Y ise;



(b) denge tepkimesiyle ortamdaki elektron yoğunluğu artırılarak Le Chatelier prensibi uyarınca (a) denge tepkimesinin tekrar sola, serbest atomların yoğun olduğu duruma kayması sağlanarak tayin elementinin iyonlaşması azaltılabilir.

2.3.4. Spektral girişimler

Spektral girişimler, analiz elementi dışındaki türlerin absorpsiyon veya emisyon hatlarının, tayin elementinin hattı ile üst üste çakışması veya monokromatorün ayıramayacağı kadar yakın olması halinde ortaya çıkar. Oyuk katot lambalarının emisyon hatları çizgisel olduğundan hatların çakışması neticesinde bozucu etkinin meydana gelmesi çok nadir bir olaydır. Bu etkiler genellikle hatların 0,01 nm'den daha yakın olması durumunda ortaya çıkar. Örneğin 308,211 nm'de hattı olan vanadyum, 308,215 nm'de hattı olan alüminyum tayinini bozar. Bu durumda alüminyum 309,270 nm'de tayin edilerek bozucu etki giderilir. Genel olarak spektral girişim varsa, tayin elementinin bir başka hattı seçilir.

2.3.5. Zemin girişimi

Atomlaştırıcı ortamında oluşan molekül ve radikallerin absorpsiyon ve emisyon yapması ve küçük taneciklerin ışınları saçması nedeniyle tayin elementinin dalga boyunda ölçülen absorpsiyon değerlerinde artışlar meydana gelir. Zemin absorpsiyonu olarak adlandırılan bu etkiler mutlaka düzeltilmelidir. Zemin absorpsiyonunu düzeltmekte kullanılan bütün yöntemlerde toplam absorpsiyon değeri ölçülür ve zemin girişiminden kaynaklanan absorpsiyon değeri, toplam absorpsiyon değerinden çıkarılır.

Zemin girişimi bazı zemin düzeltme yöntemleri kullanılarak giderilebilir.

Bu yöntemler:

- Dalga boyu değiştirme,
 - Sürekli ışın kaynağı kullanma,
 - Zeeman yöntemi,
 - Smith-Hieftje yöntemi
- dir.

2.4. AAS tekniği ile nicel tayin

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, özellikle eser miktarlardaki metallerin nicel analizleri için çok yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Yaklaşık 70 elementin nicel tayini yapılabilir. AAS de kullanılan dalga boyu elementin temel haliyle ilintili olan ve duyarlığın en yüksek olduğu rezonans çizgisi de denilen dalga boyudur. Analitik kimyadaki tüm bağıl tekniklerde olduğu gibi AAS ile analizlerde de bilinen standartlar, derişimlerine karşı ölçülen sinyallerin grafiğe geçirildiği kalibrasyon grafiği tekniği kullanılarak numune içindeki elementin derişimi hesaplanır. Bunun için ilk yapılması gereken cihazın tüm değişkenlerinin en yüksek absorbands değerine ulaştığı en uygun çalışma şartlarının ayarlanmasıdır. Bu şartların tespitinden sonra normal veya dış kalibrasyon veya standart ekleme kalibrasyon tekniklerinden birinin uygulanması ile nicel analiz yapılır.

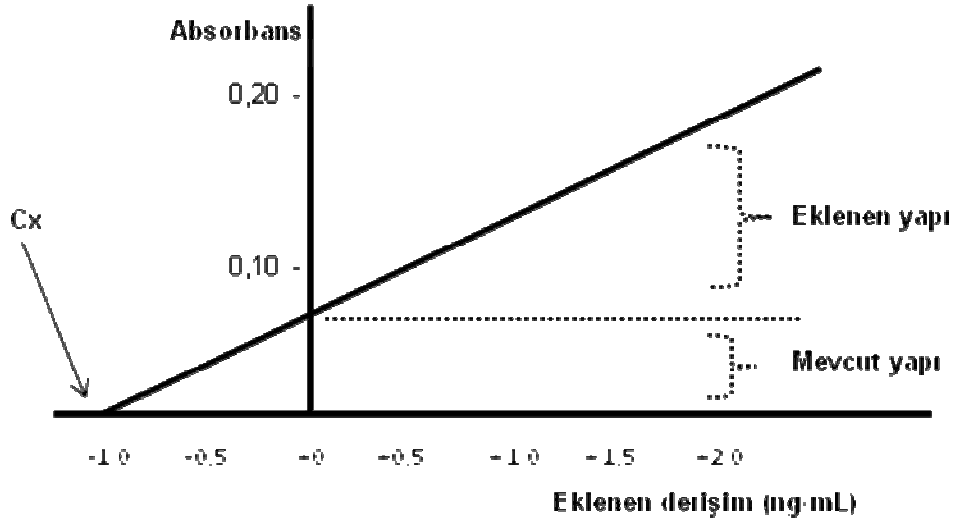
2.4.1. Normal kalibrasyon yöntemi

Analitik kimyada çeşitli kabullerden birkaçı da Beer kanunu için geçerlidir ve bunların sağlanması halinde örnekteki analitin derişimi ile soğurulan (absorplanan) ışın doğru orantılıdır. Bu oranın alt sınırı tayin sınırı üst sınırı ise doğrusallığın son bularak Beer yasaının geçerliliğini yitirdiği derişimdir.

Bu iki nokta arası derişimi bilinen standartlara karşı absorbanlar grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafiği çizilir. Bu yolla elde edilen kalibrasyon eğrisine normal kalibrasyon eğrisi denir. Tercih edilen durum hergün taze hazırlanmış standartlar ile kalibrasyon grafiğinin yeniden çizilmesidir. Ancak, en az bir standart ile kalibrasyon grafiği uzun süreli olarak kullanılabilir. Teknik kısa sürede çok sayıda örnek analizine olanak tanımaktadır.

2.4.2. Standart ekleme kalibrasyon yöntemi

Kullanılan standart çözeltilerinin ve çözünmüş numunelerin ortamlarının birbirinden çok farklı olması nedeniyle olabilecek girişimleri gidermek için standart ekleme yöntemi kullanılır. Bu yöntemin uygulanması ile numune kendi ortamı içinde değerlendirilmektedir. Bunun için numuneden eşit miktarda en az 3 kısım alınır ve birinci kısma sadece seyreltme çözeltisi diğerlerine ise bilinen derişimlerde standart analit çözeltisi eklenir. Her çözelti seyreltme çözeltisi ile aynı son hacme tamamlanır. Her bir çözeltinin absorbanı ayrı ayrı okunarak “eklenen derişimler” x eksenine ve bu derişimlere karşılık gelen absorbanlar da y ekseninde işaretlenerek Şekil 2.14’de görülene benzer standart ekleme doğrusu elde edilir. Analitik kimyanın kabullerinden biri de burada yer almaktadır. Buna göre eklenen standart çözelti içindeki elementin yapısı ile orijinal numunede mevcut elementin kimyasal yapısının aynı olduğu ve farklı olmasından kaynaklanacak hatanın kabul edilebilir düzeyde olduğu varsayılmıştır [Yurtsever, 1984].



Şekil 2.14. Tipik standart ekleme grafiği.

Eğer normal kalibrasyon doğrusunun eğimi ile standart ekleme doğrusu eğimleri birbirinden çok farklı ise, ortam uyumu için standart eklemenin mutlaka uygulanması gerekmektedir.

2.5. AAS'nin Analitik Performansı ile İlgili Terimler

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) ve ISO'nun (The International Organization for Standardization) önerilerine göre analitik spektroskopik yöntemlerde kullanılan analitik performansla ilgili bazı terimler ve tanımları aşağıda kısaca açıklanmıştır.

2.5.1. Duyarlık

Genelde kullanılan iki duyarlık tanımından en yaygın olanı yöntemin derişimdeki küçük değişimleri kaydetme kapasitesidir. Kalibrasyon duyarlığı kalibrasyon doğrusunun eğimidir. Diğeri ise analitik duyarlık olarak adlandırılır ve kalibrasyon doğrusu eğiminin standart sapmaya bölümüdür. Sadece atomik absorpsiyona özel olarak tanımlanmış duyarlık ise, tayin elementinin net % 1'lik absorpsiyonuna veya 0,0044'lük absorbans değerine

karşılık gelen derişimdir. Duyarlık, ışık kaynağı, alev sistemi ve atomlaşma verimi gibi faktörlere bağlıdır.

2.5.2. Seçimlilik/Seçicilik

Yöntemin seçimliliği; analiti örnekte analit ile girişim yapabilecek diğer bileşenlerden ayırdedip ölçme yeteneğidir.

Seçicilik, tayin edilecek analite duyarlı, söz konusu analite cevap üreten bir yöntem için kullanılır. Seçimlilik ise tayin edilecek element için ortamda bulunan ve girişim yaratabilecek diğer türlerin varlığında cevap üretebilen yöntem için kullanılır.

2.5.3. Doğruluk

Doğruluk, “gerçek” veya gerçek kabul edilen değere yakınlık olarak tanımlanır. Analizlerin hatasız olamayacağı bilindiğine göre mutlaka hatanın tanımlanması gerekmektedir. Doğruluk mutlak hata veya bağıl hata ile ifade edilir. Tayin elementi için ölçümün doğruluğu, belli bir güven aralığında belirsizliği tam olarak verilmiş belgeli referans maddeler veya farklı analitik yöntemler kullanılarak kontrol edilir.

2.5.4. Kesinlik

Yöntemin kesinliği, sonucun tekrarlanabilirliğinin bir ölçüsü olup analiz sonuçlarının birbirine yakınlığının bir derecesidir. Kesinliğin en yaygın kullanılan ölçüsü standart sapmadır (σ). Standart sapma, ölçüm sayısı 20’den büyükse, aşağıdaki eşitlik ile hesaplanır.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2}{N}}$$

Burada;

μ : Doğru Kabul edilen değer,

x_i : Her bir ölçümün sonucu,

N : Ölçüm sayısı

dır.

Ölçüm sayısı 20'den küçükse eşitliğin payda kısmında N-1 alınır.

Kesinlik, tekrarlanabilirlik ve uyarlık ile ifade edilir.

Tekrarlanabilirlik, aynı kişinin, aynı laboratuvarında, aynı cihazla, aynı yöntemi uygulaması ile elde edilen sonuçların birbirine yakınlığıdır.

Uyarlık ise laboratuvarlar arasındaki kesinlik değerini temsil eder. Bir analitik yöntemin uyarlığı; farklı araştırmacıların farklı laboratuvarlarda aynı yöntemi kendi analiz koşullarında uygulamaları sonucu bulunan sonuçların birbirine yakınlığıdır. Uyarlık, farklı laboratuvarlar kullanıldığından önemlidir. Örneğin; odanın sıcaklığı ve nemindeki farklılıklar, farklı özelliklere sahip araç ve gereçler, farklı tecrübeye sahip araştırmacılar, malzeme ve kullanılan malzemenin durumundaki çeşitlilikler gibi faktörler söz konusudur.

2.5.5. Gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı

Gözlenebilme sınırı (LOD) analitin belirli bir güven seviyesinde gözlenebilecek en düşük derişimidir. Diğer bir ifade şekliyle gözlenebilme sınırı tayin elementini içermeyen tanık örneklerden elde edilen absorbans değerlerinin standart sapmasının üç katına karşılık gelen derişimidir. Derişim, elde edilen sinyal büyüklüğünün bir ölçüsüdür. Dolayısı ile gözlenebilme sınırı duyarlığa bağlıdır. Ayrıca, gürültü denilen zemindeki değişmelere de bağlıdır. Bu nedenle çoğunlukla LOD, sinyalin (S) gürültüye (N) oranının üç olduğu, $S/N=3$, derişim olarak da kullanılır.

$$A = mC + n \quad (\text{I}) \quad \text{Kalibrasyon denklemi ise}$$

ve

$$A_{\text{LOD}} = + 3\sigma_t \quad (\text{II}) \quad \text{LOD ifadesi ise;}$$

Denklem (I) şöyle olacaktır;

$$C_{\text{LOD}} = \quad (\text{III})$$

A_{LOD} yerine ikinci denklemdeki ifadenin yerleştirilmesi ile

$$C_{\text{LOD}} = \frac{\bar{X}_t + 3\sigma_t - n}{m} \quad (\text{IV}) \quad \text{elde edilir.}$$

Burada;

$$\bar{X}_t$$

: Tanık çözelti absorban okumalarının ortalaması,

3 : Bir katsayıdır. (k olarak gösterilen katsayı istatistiksel kesinliğe bağlı olarak % 95 veya % 99,7 güven düzeyinde sırasıyla, 2 veya 3 olarak alınır)

σ_t : Tanık çözelti absorban okumalarının standart sapması,

n : Kalibrasyon kesim noktası (Bir başka ifadeyle C=0'a karşılık gelen absorban değeri)

m : Kalibrasyon doğrusunun eğimi (yöntemin duyarlılığı),

analit derişiminin sıfır olduğu duruma karşılık gelen n değeri ile yine kuramsal olarak analit içermediği varsayılan tanık çözeltinin absorban değeri yaklaşık olarak birbirine eşit kabul edilebilir.

n = kabul edilirse (IV) denklem

$C_{LOD} =$
olur.

Tayin sınırı (LOQ) analitik yöntemle analitin, uygun doğruluk ve kesinlikle tayin edilebilecek en düşük derişimidir. Gözlenebilme sınırında yüksek standart sapma nedeniyle nicel tayin yapılması mümkün değildir. Tayin sınırı gözlenebilme sınırının yaklaşık üç katıdır ve aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$C_{LOQ} = \frac{10\sigma_t}{m}$$

Bulunan LOQ değerinin sınıra yakın ya da sınırdaki hazırlanmış belli sayıda örnek analiz edilerek kontrol edilmesi gereklidir. Çizilen kalibrasyon doğrusunda doğrusal çalışma aralığının alt sınırı LOQ derişimidir [Green, 1996, Ertaş ve Kayalı, 2005, Grdinic ve Vukovic, 2004].

2.6. İndüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometrisi (ICP/MS) yöntemi

Oda sıcaklığındaki bir maddenin atomlarının çoğu temel haldedir. Temel haldeki atomlar bir enerji kaynağı ile uyarılarak, uyarılmış enerji düzeyine çıkarlar. Uyarılmış hal kararsız haldir ve uyarılmış atomun ömrü kısadır. Emisyon spektrofotometresi, uyarılmış enerji düzeyine çıkan atomların daha düşük enerjili düzeylerine geçişlerinde yaydıkları UV ve görünür bölge ışımalarının ölçülmesi ilkesine dayanır.

Katyon ve elektronlardan meydana gelen ve elektrik akımını ileten ortama plazma denir. Gaz halindeki iyon akımı olarak da tanımlanabilir. Plazmanın dışarıya yükü sıfırdır. Yani negatif yüklerin toplamı yaklaşık pozitif yüklerin toplamına eşittir. Plazmadaki katyonlar farklı katyonlardan meydana gelir. Örneğin argon plazmasında, argon katyonları, elektronlar ve analiz yapılan numuneden buharlaşan atomların katyonları bulunmaktadır. Numuneden buharlaşan atomların katyonları miktar olarak argon katyonları ve

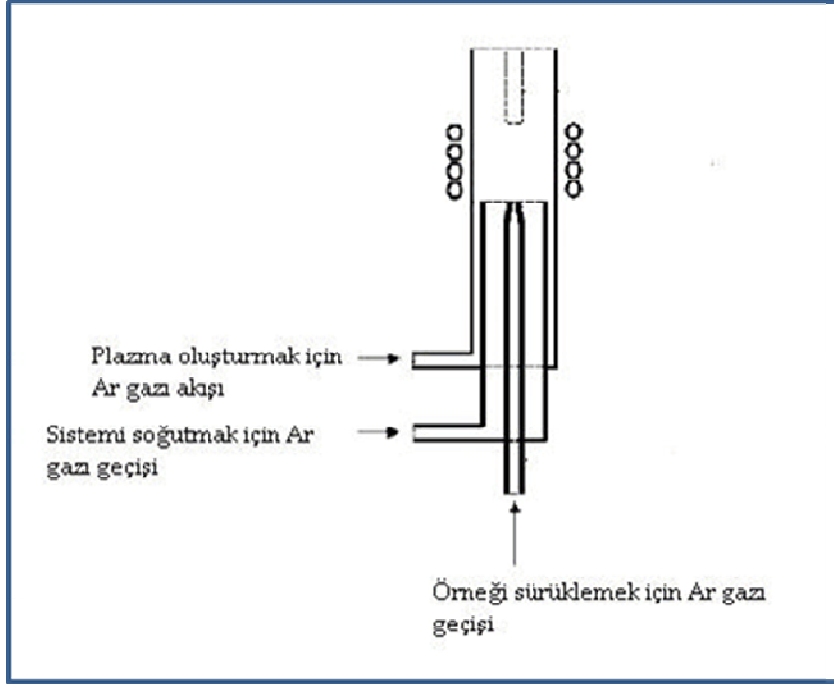
elektronlardan azdır. Bir plazmada argon iyonları oluştuktan sonra bu iyonlar, daha fazla iyonlaşma ile plazma halini sürdürülmesini sağlayacak bir düzeyde sıcaklık oluşturmak için bir dış kaynaktan yeterli güç absorplama yeteneğine sahiptir. Yani argon katyonları enerji absorplayarak ortamın sıcaklığı yaklaşık 10000 K de sabit olarak tutulur. Şekil 2.15' de plazmanın şekli gösterilmiştir.



Şekil 2.15. İndüktif olarak Eşleşmiş Plazma (ICP)

İndüktif olarak eşleşmiş plazma kaynağı Şekil 2.16 'da gösterildiği gibi iç içe geçmiş üç kuvars borudan (torch-torç) yapılmıştır. Bunların arasından dakikada 10-17 mL argon gazı geçer. En geniş borunun çapı 2,5 cm dir. Bu borunun üst kısmında suyla soğutulan radyo indüksiyon bobini bulunur. Radyo indüksiyon jeneratörünün gücü 27 veya 41 Mhz de 0.5-2 kW tır. Akan argonun iyonlaşması bir Tesla bobininden boşalım ile başlatılır. Oluşan iyon ve elektronlar indüksiyon bobini tarafından oluşturulan manyetik alan salınımları ile etkileşir. Bu etkileşim sonucunda iyonlar ve elektronlar aynı yöne doğru akmaya başlar. Ortamın bu akmaya karşı gösterdiği direnç ile ortamın sıcaklığı 10000 K'e kadar yükselir.

En içteki kuvars borudan geçen argon gazı akışıyla plazma içerisine örnek taşınır (Şekil 2.16).

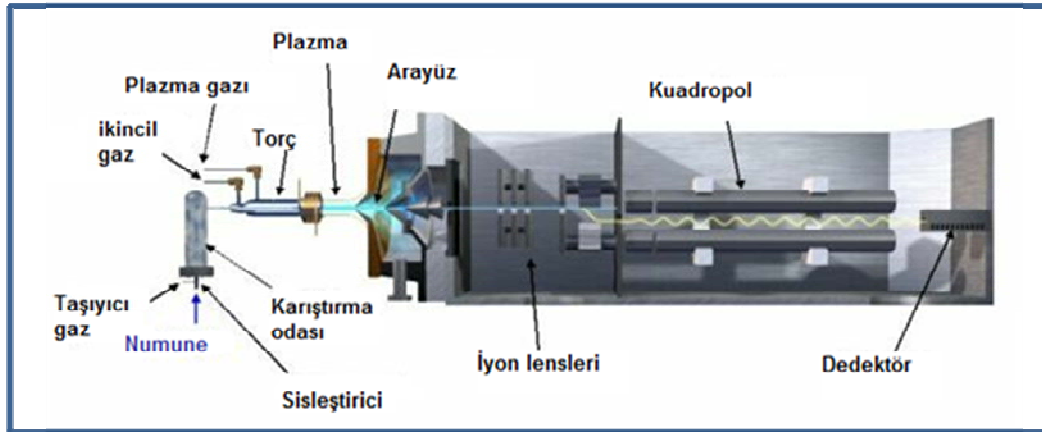


Şekil 2.16. İndüktif olarak Eşleşmiş Plazmada (ICP) torçun şematik gösterimi

Numune atomları taşıyıcı argon gazı sayesinde 4000-8000 K sıcaklığındaki bölgeye ulaşır. Burada yaklaşık 2 ms kalırlar.

İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometrisi, örneklerin bu yüksek sıcaklıktaki argon plazmaya gönderilerek moleküler bağların kırıldığı ve atomların iyonlaştırıldığı bir analitik tekniktir. İyonlar örnekleme ve ikinci aşama süzme (skimmer) konileri ara yüzünden geçerek vakuma alınır ve burada birleştirilmiş mercekleme sistemi (iyon lensleri) iyonları kuadropol kütle spektrometresine odaklar (Şekil 2.17). Burada iyonlar kütlelerine ayrılıp taramalı elektron çoğaltıcısı ile analiz edilir. Örnek, genel olarak çözelti halinde ve sisleştirici aracılığıyla cihaza gönderilir. ICP-MS çok hızlı bir şekilde farklı kütleleri ölçebildiği için, çoklu element ölçüm cihazıdır. Diğer bir

alternatif örnekleme tekniği ise, lazer aşındırma (laser ablation-LA) tekniğidir. Bu teknik kullanılarak katı örneklerin doğrudan analizi yapılabilir. Birçok katı örnek, çözme yoluyla veya LA-ICP-MS kullanılarak ölçülebilir. LA-ICP-MS kullanımının en önemli avantajı yarı-nicel analiz olup bilinmeyen örneklerin bileşimi hakkında fikir vermesidir.



Şekil 2.17. ICP-MS cihazının şematik gösterimi (Agilent cihazı).

ICP-MS katı ve sıvı örneklerde çok sayıda elementin hızlı, hassas ve doğru biçimde, nitel, nicel ve yarı-nicel analizlerinin yapılmasına olanak sağlayan ileri teknoloji ürünü bir analiz tekniğidir. Teknik, elektromanyetik indüksiyonla 10 000 K sıcaklığa ulaştırılan argon plazması tarafından örneğin

- İyonlaştırılması,
- İyonlaşan elementlerin kütle spektrometresi tarafından ayrılması ve
- element derişimlerinin elektron çoğaltıcı bir dedektör tarafından ölçülmesi esasına dayanır.

Tüm bu aşamalar ve örneklerdeki tüm elementlerin tayini birkaç dakikada tamamlanır. Kütle aralığı 5-270 akb ve gözlenebilme sınırı ng/L düzeyindedir. Günümüzde kullanılan cihazlarda gaz moleküllerinin bulunmasından kaynaklanan isobarik girişimlerden kaçınmak için çarpışma tepkime hücresi veya dinamik tepkime hücresi gibi farklı isimlerle

patentlenmiş oktapol kullanılmaktadır [Clayton ve ark., 2000, Jarvis ve ark., 1992].

3. DENEYSEL KISIM

3.1. Cihaz ve Malzemeler

3.1.1. Atomik absorpsiyon spektrometresi

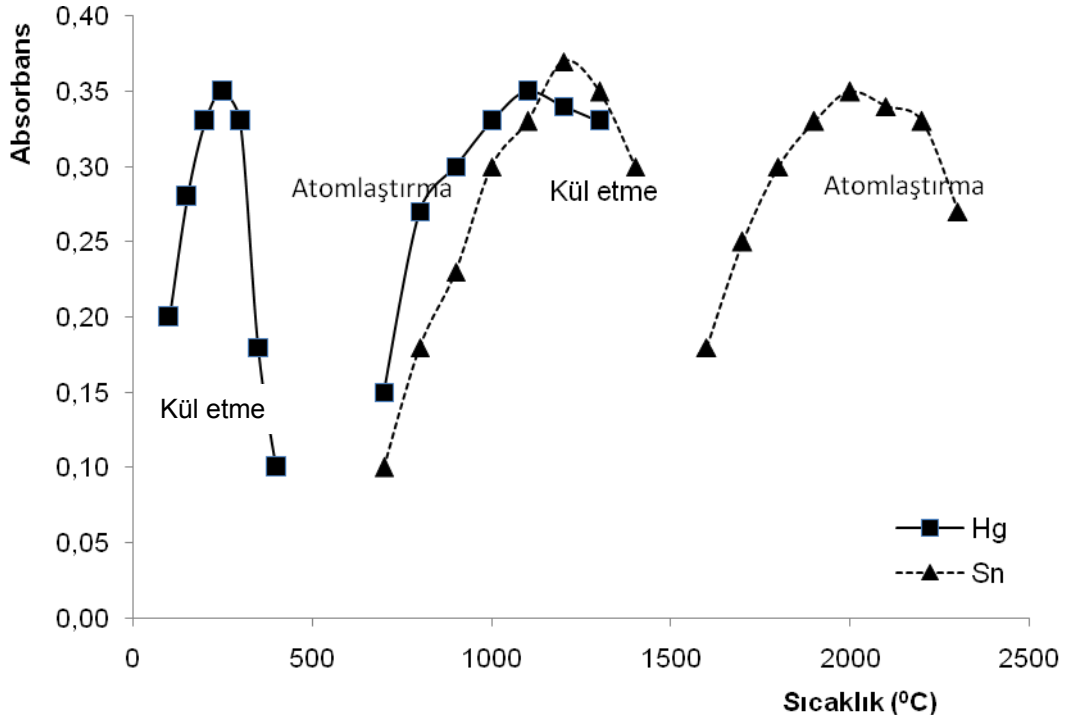
Bu çalışmada, Perkin Elmer Aanalyst 800 model elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi kullanıldı. Işın kaynağı olarak Perkin Elmer marka civa ve kalay oyuk katot lambaları (HCL) kullanıldı. Çalışmada Zeeman zemin düzeltme sistemi kullanıldı ve verilerin analizinde pik alanı değerlendirildi. Elektrotermal atomlaştırıcılı atomik absorpsiyon spektrometresi için genel cihaz çalışma koşulları ve deneysel olarak tespit edilen kül etme ve atomlaşma sıcaklık grafikleri civa ve kalay için sırasıyla, Çizelge 3.1, Çizelge 3.2 ve Şekil 3.1'de; grafit fırın sıcaklık programı ise Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.1. Civa için uygulanan AAS çalışma koşulları

Perkin Elmer Aanalyst 800 AAS	
Lamba	HCL, 6 mA
Dalga boyu	253,7 nm
NaBH ₄	% 5 (m/v)'lik, % 1,25 (m/v)'lik NaOH içinde

Çizelge 3.2. Civa tayini için GFAAS sıcaklık programı

Basamaklar	Sıcaklık (°C)	Süre (s)	Artış hızı (°C /s)	Argon akış hızı (mL/min)
Kurutma-1	100	15	5	250
Kurutma-2	110	15	5	250
Kül etme	250	20	10	250
Atomlaşma	1100	5	0	0
Temizleme	1600	3	1	250



Şekil 3.1. Civa ve kalay için saptanan kül etme ve atomlaştırma sıcaklık grafikleri

Çizelge 3.3. Kalay tayini için uygulanan AAS çalışma koşulları

Perkin Elmer Analyst 800 AAS	
Lamba	HCL, 20 mA
Dalga boyu	286,3 nm
NaBH ₄	% 3,5 (m/v)'lik, % 0,9 (m/v)'lik NaOH içinde

Çizelge 3.4. Kalay tayini için GFAAS sıcaklık programı

Basamaklar	Sıcaklık (°C)	Süre (s)	Artış hızı (°C /s)	Argon akış hızı (mL/min)
Kurutma-1	110	30	1	250
Kurutma-2	130	30	15	250
Kül etme	1100	20	10	250
Atomlaşma	2000	3	0	0
Temizleme	2300	3	1	250

3.1.2. İndüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometre (ICP/MS) cihazı

Toplam civa ve kalay tayinlerinde Agilent 7500a model indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometresi ve CETAC 500 oto örnekleyici kullanıldı. Cihaz çalışma koşulları civa ve kalay için sırasıyla, Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.5. Civa tayini için ICP-MS çalışma koşulları

Agilent 7500a ICP-MS	
RF gücü	1300 W
Ar Akış hızı (Dış)	16 L/min
Ar Akış hızı (Orta)	0,8 L/min
Ar Akış hızı (Sisleştirici)	0,5 L/min
Ar Akış hızı (Taşıyıcı)	0,4 L/min
Torch konumu	7,0 mm derinlik
	0,3 mm Düşey
	-0,1 mm Yatay
Ara yüz konileri ve çapları	Ni, 1,0 mm/0,4 mm
Tarama modu	pik-sekme
Sinyal toplama süresi	30 ms
Sinyal tipi	Pik alanı

Çizelge 3.6. Kalay tayini için ICP-MS çalışma koşulları

Agilent 7500a ICP-MS	
RF gücü	1200 W
Ar Akış hızı (Dış)	16 L/min
Ar Akış hızı (Orta)	0,8 L/min
Ar Akış hızı (Sisleştirici)	0,5 L/min
Ar Akış hızı (Taşıyıcı)	0,4 L/min
Torch konumu	8,0 mm derinlik
	0,1 mm Düşey
	-0,1 mm Yatay
Ara yüz konileri ve çapları	Ni, 1,0 mm/0,4 mm
Tarama modu	pik-sekme
Sinyal toplama süresi	30 ms
Sinyal tipi	Pik alanı

3.1.3. Mikrodalga fırın

Çalışma kapsamında toplam civa ve kalay tayinlerine numune hazırlamak için Anton Paar 3000 Multiwave model mikrodalga fırın kullanıldı. Civa ve kalay tayini için numune hazırlama deney koşulları Çizelge 3.7'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Toplam civa ve kalay tayinleri için numune çözünürleştirme aşamasında mikrodalga fırın çalışma koşulları

Basamaklar	Güç (W)	Artış süresi (min)	Süre (min)	Fan hız modu
1	250	5	10	1
2	500	5	10	1
3	750	5	20	1
4	0	5	10	3

Her basamakta sensörler ile sıcaklık ve basınç izlendi.

3.1.4. Gaz kromatografi cihazı

Çalışma kapsamında geliştirilen yöntem ile karşılaştırmak amacıyla yapılan tribütikalay tayinlerinde Agilent marka 6890 model gaz kromatograf (GC) cihazı kullanıldı. Kullanılan cihaz için çalışma koşulları Çizelge 3.8'de verilmiştir.

Çizelge 3.8. Tribütikalay (TBT) tayini için GC-FPD çalışma koşulları

Agilent 6890 GC-FPD	
Enjeksiyon bloğu	Bölüntüsüz, 150 °C
Kolon	HP 5msi (30 mx0,25 mm iç çapx0,25 µm film)
Taşıyıcı gaz ve akış hızı	He, 2 mL/min
GC fırın program	40 °C (1 min), 10 °C /min ile 200 °C (1 min)
Dedektör	FPD, 200 °C

3.1.5. pH metre

Bu çalışmada pH ölçümleri için, WTW marka 720 model dijital pH metre kullanıldı.

3.1.6. Analitik terazi

Bu çalışmada tartımlar için Precisa marka 125 model ve 0,1 mg hassasiyetli analitik terazi kullanıldı.

3.1.7. Deiyonize su sistemi

Bu çalışmanın tamamında 18,2 M \ddot{U} .cm'luk deiyonize su kaynağı olarak Millipore marka MilliQ Plus 185 model ultra saf su sistemi kullanıldı.

3.1.8. Manyetik karıştırıcı

Heidolph marka MR Hei-Standard model ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanılmıştır.

3.2. Reaktifler, Çözeltiler ve Kimyasal Maddeler

Analizler süresince kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta olup ön saflaştırmaya gerek olmaksızın kullanılmışlardır.

3.2.1. Civa stok çözeltisi, 992 \pm 3 μ g/mL

Bu çalışmada, civa stok çözeltisi (Inorganic Ventures) (%3,5 HNO₃ içinde) kullanılmıştır. Gereken tüm standart çözeltiler bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.2. Metilciva stok çözeltisi, 1000 μ g/mL

Bu çalışmada, % 95 saflıkta metilcivaklorür (MeHgCl) stok çözeltisi (Sigma - Aldrich kullanılmıştır. 1 g/L stok hazırlamak için tartılan miktar minimum hacimde metanol içinde çözülmüş ve de-iyonize su ile tamamlanmıştır.

Gereken tüm standart çözeltiler bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.3. Amonyumpirolidinditiyokarbamat (APDC) çözeltisi, 12 mg/L

Çalışmalarda %98 saflıkta HPLC kalite katı APDC (Sigma-Aldrich) kullanılarak 12 mg/L'lik APDC çözeltisi hazırlandı.

3.2.4. Tiyöüre çözeltisi, 15mg/L

Çalışmalarda % 99 saflıkta katı tiyöüre (Sigma-Aldrich) kullanılarak 15 mg/L'lik çözelti hazırlandı.

3.2.5. Sodyum borhidrür çözeltisi, %5 (m/v)

Çalışmalarda % 96 saflıkta katı NaBH_4 (Merck) kullanılarak MeHg tayinleri için %5 (m/v)'lik NaBH_4 çözeltisi hazırlandı. Çözeltinin kararlı olmasını sağlamak için çözücü olarak %1,25 (m/v)'lik NaOH çözeltisi kullanıldı. TBT tayinlerinde ise %3,5 (m/v)'lik NaBH_4 çözeltisi hazırlandı.

3.2.6. Sodyum hidroksit çözeltisi, %1,25 (m/v)

Çalışmalarda % 97 saflıkta katı NaOH (Merck) kullanılarak %1,25 (m/v) NaOH çözeltisi hazırlandı.

3.2.7. Asetik asit çözeltisi, 0,5 M

Çalışmalarda % 100 saflıkta - buzlu asetik asit (Merck) kullanılarak 0,5 mol/L asetik asit çözeltisi hazırlandı. Yoğunluğu 1,05 g/mL olan % 100'lük (m/m) derişik asitten 28,60 mL alınarak de-iyonize su ile 1 L'ye tamamlanmıştır. Gereken tüm diğer asetik asit çözeltileri derişimine göre ya derişik asitten ya da bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.8. Sodyum asetat çözeltisi, 0,5 M

Çalışmalarda % 99 saflıkta susuz, katı sodyum asetat (Merck) kullanılarak 0,5 mol/L sodyum asetat çözeltisi hazırlandı. 41,42 g tartılan sodyum asetat düşük hacimde de-iyonize su içinde çözülmüş ve de-iyonize su ile 1 L'ye tamamlanmıştır.

3.2.9. Palladyum nitrat stok çözeltisi, 10000 µg/mL

Bu çalışmada, paladyum nitrat stok çözeltisi (Inorganic Ventures) (% 10 HNO₃ içinde) kullanılmıştır. Gereken tüm standart çözeltiler bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.10. Nitrik asit çözeltisi, 0,5 mol/L

Yoğunluğu 1,40 g/mL olan % 65'lik (m/m) nitrik asit çözeltisinden (Merck) 17,4 mL alınarak su ile toplam hacim 500 mL'ye tamamlandı. Gereken tüm diğer nitrik asit çözeltileri derişimine göre ya derişik asitten ya da bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.11. Hidroklorik asit çözeltisi, 1,0 mol/L

Yoğunluğu 1,19 g/mL olan % 37'lik (m/m) hidroklorik asit çözeltisinden (Merck) 41,4 mL alınarak su ile toplam hacim 500 mL'ye tamamlandı. Gereken tüm diğer hidroklorik asit çözeltileri derişimine göre ya derişik asitten ya da bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.12. Metanol

Çalışmalarda % 99 saflıkta LC-MS kalite metanol (Merck - LiChrosolv) ve % 99,8 HPLC kalite metanol (J T Baker) kullanıldı.

3.2.13. Heksadekan

Çalışmalarda % 90 - 100 saflıkta sıvı heksadekan (J T Baker) kullanıldı.

3.2.14. Sodyum klorür

Çalışmalarda % 99 saflıkta katı sodyum klorür (Merck) kullanıldı.

3.2.15. Kalay stok çözeltisi, 1000 mg/L

Bu çalışmada, kalay stok çözeltisi (Inorganic Ventures) (%3,5 HNO₃ içinde) kullanılmıştır. Gereken tüm standart çözeltiler bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.16. Tribütilkalay stok çözeltisi, 115,200 mg/L

Bu çalışmada, % 96 saflıkta tribütilkalay klorür (TBTC) stok çözeltisi (Aldrich) kullanılmıştır. Gereken tüm standart çözeltiler bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.17. Borik asit çözeltisi, 0,04 M

Çalışmalarda % 98,5 saflıkta katı borik asit (Sigma) kullanıldı. 5,0217 g tartılan borik asit düşük hacimde de-iyonize su içinde çözülmüş ve de-iyonize su ile 2 L'ye tamamlanmıştır.

3.2.18. Orto-fosforik asit çözeltisi, 0,04 M

Bu çalışmada, % 85 saflıkta orto fosforik asit çözeltisi (Fisher) kullanılmıştır. Yoğunluğu 1,70 g/mL olan % 85'lik (m/m) orto-fosforik asit çözeltisinden 5,5 mL alınarak su ile toplam hacim 2000 mL'ye tamamlandı. Gereken tüm diğer

orto-fosforik asit çözeltileri derişimine göre ya derişik (15 M) asitten ya da bu stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.19. Sodyum Hidroksit çözeltilisi, 0,02 M

Çalışmalarda % 97 saflıkta pelet sodyum hidroksit (Sigma-Aldrich) kullanıldı. 82,4 mg tartılan sodyum hidroksit düşük hacimde de-iyonize su içinde çözülmüş ve de-iyonize su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.2.20. Hidrojen peroksit

Çalışmalarda % 30 saflıkta sıvı hidrojen peroksit (Merck) kullanıldı.

3.3. Numunelerin Hazırlanması

3.3.1. Su numunelerinin hazırlanması

Musluk suyu örnekleri laboratuvar musluklarından akan Ankara şebeke suyundan alındı. Deiyonize su, deiyonize su sisteminden (Kısım 3.1.7), atık sular Ankara Organize sanayiden ve şişelenmiş içme suyu ise Ankara ve civarındaki marketlerden satın alındı. Sular kendi kategorilerinde birleştirilerek homojen hale getirildi ve analizden önce sırasıyla, önce Whatman No:4 süzgeç kağıdından sonra 0,45 µm gözenekli nylon şırınga ucu membran filtreden süzüldü. Su numunesinden 10 mL alınıp, çözeltili hacmi, pH=5 olan 0,5 M asetik asit / sodyum asetat tamponu ile 25 mL ölçülü balonda işaret çizgisine kadar tamamlandı. pH değerleri 5'e ayarlandı. Gerektiğinde NaOH ve HCl kullanılarak ve pH metre ile ölçülerek pH değeri tam 5'e ayarlandı.

3.3.2. Midye numunelerinin hazırlanması

İzmir Gediz nehri ağzından toplanan ve soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılan midye örneklerinin kabukları soyulduktan sonra en az 1 kg'ı parçalayıcıda homojen hale getirildi. TBT'nin özütlenmesi için asidik özütleme işlemi uygulandı. Bunun için; 0,5 g midye örneği tartılarak 15 mL'lik santrifüj tüpüne alındı. Üzerine 5 mL metanolde hazırlanmış 0,12 M HCl eklendi ve 30 dakika ultrasonik banyoda özütlendi. 4000 rpm'de oda sıcaklığında 7-8 dakika santrifüj edildi. Üstteki sıvı kısım 50 mL'lik ölçülü balona alındı ve altta kalan kısım en az 2 kez daha aynı şekilde özütlenerek özütler birleştirildi. Çözelti hacmi, pH=5 olan 0,5 M asetik asit / sodyum asetat tamponu ile ölçülü balonda işaret çizgisine kadar tamamlandı. Çözelti ikiye bölündü. TBT tayini için kullanılmak üzere analiz öncesi ilk kısım çözeltinin pH değeri NaOH kullanılarak pH metre yardımıyla 6'ya ayarlandı. İkinci kısım çözeltinin pH değeri ise inorganik kalay tayini için derişik HCl kullanılarak pH metre yardımıyla 4'e ayarlandı.

3.3.3. Belgeli referans midye (ERM CE-477 Mussel tissue) örneğinin hazırlanması

Toz halindeki belgeli referans midye örneğinden 0,5 g tartılarak 15 mL'lik santrifüj tüpüne alındı. Üzerine metanolde hazırlanmış 0,12 M HCl'den 5 mL eklendi ve 30 dakika ultrasonik banyoda özütlendi. 4000 rpm'de oda sıcaklığında 7-8 dakika santrifüj edildi. Üstteki sıvı kısım 50 mL'lik ölçülü balona alındı ve altta kalan kısım en az 2 kez daha aynı şekilde özütlenerek özütler birleştirildi. Çözeltinin hacmi pH=5 olan 0.5 M asetik asit / sodyum asetat tamponu ile işaret çizgisine kadar tamamlandı. TBT tayini için kullanılmak üzere çözeltinin pH değeri analiz öncesi NaOH lullanılarak ve pH metre yardımıyla 6'ya ayarlandı.

3.3.4. Belgeli referans köpekbalığı kas dokusu (NRC DORM-2) örneğinin hazırlanması

Toz halindeki belgeli referans köpekbalığı kas dokusu örneğinden 0,5 g tartılarak 15 mL'lik santrifüj tüpüne alındı. Üzerine metanolde hazırlanmış 0,12 M HCl'den 5 mL eklendi ve 30 dakika ultrasonik banyoda özütlendi. 4000 rpm'de oda sıcaklığında 7-8 dakika santrifüj edildi. Üstteki sıvı kısım 50 mL'lik ölçülü balona alındı ve altta kalan kısım en az 2 kez daha aynı şekilde özütlenerek özütler birleştirildi. Çözeltinin hacmi pH=5 olan 0.5 M asetik asit / sodyum asetat tamponu ile işaret çizgisine kadar tamamlandı. iSn tayini için kullanılmak üzere çözeltinin pH değeri analiz öncesi HCl kullanılarak ve pH metre yardımıyla 4'e ayarlandı.

3.3.5. Balık numunelerinin hazırlanması

Balık örnekleri Ankara ve civarındaki marketlerden satın alındı. Farklı balıklar kendi cinslerinde birleştirilerek kuyrukları kopartıldı. Kafaları ile birlikte ve en az 1 kg'ı parçalayıcı kullanılarak homojen hale getirildi. MeHg'nin özütlenmesi için asidik özütleme işlemi uygulandı. Bu amaçla tartılan 1,0 g balık örneğinin üzerine 1,2 M HCl çözeltisinden 3 mL konarak 15 dakika ultrasonik banyoda çalkalandı. Sonra 4000 rpm'de oda sıcaklığında 15 dakika santrifüj edilerek üstteki sıvı kısım alındı. Alttaki kısım aynı şekilde bir kez daha özütlenerek özütler birleştirildi. Asetat tamponu ile 50 mL'lik ölçülü balonda işaret çizgisine kadar tamamlandı ve çözeltinin pH değeri MeHg tayini için 5'e, Hg tayini için ise 3,5'a NaOH ve HCl ile ve pH metre kullanılarak ayarlandı.

3.3.6. Belgeli referans balık (BCR-463 Tuna Fish) örneğinin hazırlanması

Toz halindeki belgeli referans balık örneğinden 0,1 g tartılarak üzerine 1,2 M HCl çözeltisinden 3 mL konarak 15 dakika ultrasonik banyoda çalkalandı. Sonra 4000 rpm'de oda sıcaklığında 15 dakika santrifüj edilerek üstteki sıvı kısım alındı, alttaki kısım aynı şekilde bir kez daha özütlenerek özütler

birleştirildi. Asetat tamponu ile 50 mL'lik ölçülü balonda işaret çizgisine kadar tamamlandı ve çözeltinin pH değeri MeHg tayini için 5'e, Hg tayini için ise 3,5'a NaOH ve HCl ile pH metre kullanılarak ayarlandı.

3.3.7. Toplam civa ve kalay tayinleri için örneklerin hazırlanması

Toplam civa veya kalay tayinleri öncesinde numunelerin analize hazırlanması aşamasında mikrodalga bombaları içine 0,5 g olarak tartılan su, balık veya midye numuneleri üzerine 5:1 oranında derişik HNO₃ ve H₂O₂ eklendi ve kapakları kapatıldı. Tüm gereken parçalarının yerleştirilmesinin ardından rotordaki yerlerine konan bombalar mikrodalga fırın içine yerleştirildi ve Çizelge 3.7 uyarınca çözünürleştirme işlemleri uygulandı. Programın tamamlanması ve soğutma işleminin ardından her bir bomba içeriği de-iyonize su ile 25 mL'lik ölçülü balonda işaret çizgisine kadar tamamlandı.

3.4. Kullanılan cam ve plastik malzemeler ile bazı araç gerecin temizlenmesi

Kullanılan tüm polietilen kaplar, cam malzemeler ve tepe boşluğu tüpleri daha önceki denemeler dikkate alınarak hiç saf (damıtık) su kullanılmadan, üç-dört kez de-iyonize su ile çalkalanıp %10 (v/v)'lik HNO₃ banyosunda en az 24 saat tutuldu. Asit banyosundan alınan kaplar yine hiç damıtık su kullanılmadan de-iyonize su ile 10-12 kez çalkalanarak ağız aşağı gelmek üzere oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Acil kullanım gerektiğinde boş etüvde 60 – 70 °C 'da kurutuldu.

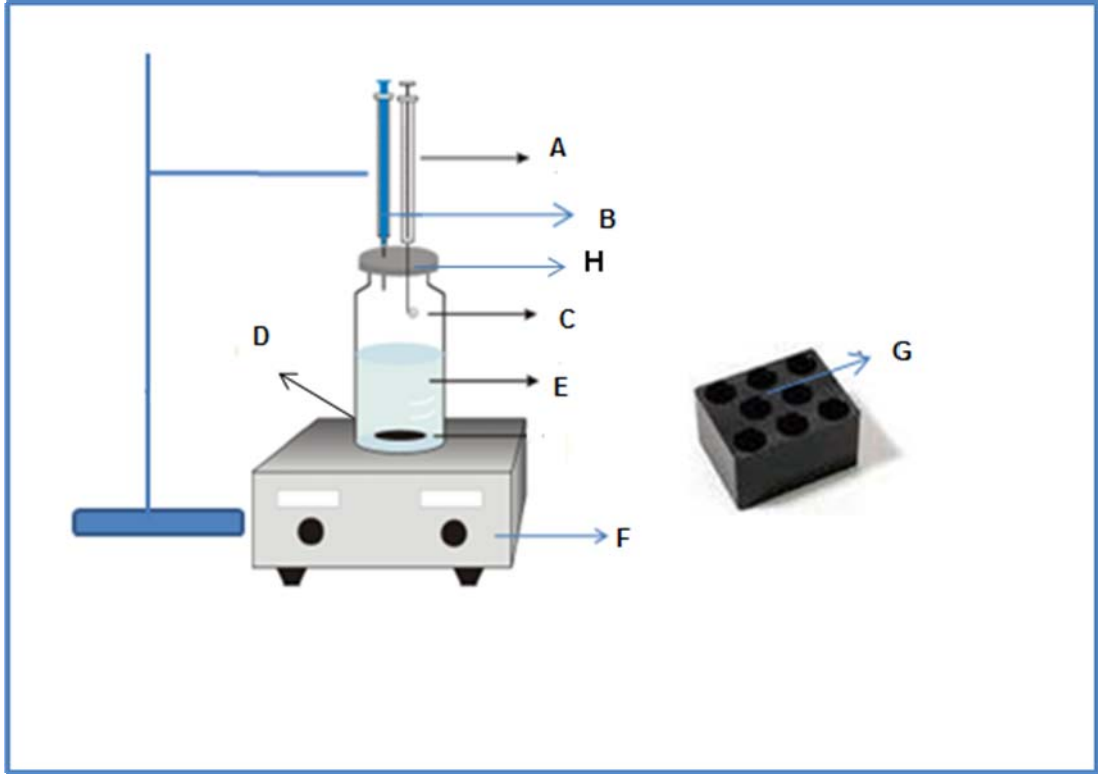
SDME çalışması sırasında mikro özütleme için kullanılan camdan yapılmış 10 µL'lik GC şiringası metanol ile temizlendi.

3.5. Tek Damla Mikro Özütleme (SDME) İşlemi

Çalışmanın amacına yönelik olarak tek damla mikro özütleme (SDME) yönteminin organometal bileşiklerinin tayininde kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla tayin edilmek üzere seçilen organometal bileşiklerinin model çözeltileri kullanılarak SDME tekniği ile özütleme için en uygun deney koşulları (özütleme süresi, toplayıcı reaktif seçimi vb.) belirlenmiştir. Belirlenen bu koşullarda geliştirilen yöntemin doğruluğu, kesinliği, gözlenebilme sınırı gibi analitik değişkenler de belirlenmiştir. Doğruluk, belgeli referans malzeme kullanılarak kontrol edilmiş, tekrarlanabilirlik ve seçicilik belirlenmiş ve yöntem gerçek örneklerle uygulanmıştır. Ayrıca inorganik kalay ve inorganik civa tayinleri için HG-AAS, toplam civa ve toplam kalay tayinleri için ICP/MS ve TBT tayini için GC/FPD uygulamaları da yapılmıştır. Ancak, HS-SDME-GFAAS için en uygun deney koşullarının tespit edilmesinden sonra, cihaz şartlarında değişiklik yapmamak için inorganik civa tayini için ICP-MS kullanılmıştır.

3.5.1. SDME işlem basamakları

Şekil 3.2'de şematik olarak gösterildiği üzere 10 mL 100ng/mL MeHg standart örneği (HAc/NaAc tampon çözelti içinde pH=5), 20 mL'lik tepe boşluk (HS) tüpüne alınır ve septumlu kapak özel aygıtı kullanılarak kapatılır. Septum üzerinden içinde 4 µL damla içinde toplayıcı faz ile (Pd(NO₃)₂ veya tiyoüre veya APDC) bulunan 10 µL'lik GC şırınga iğnesi içeri sokulur ve çözeltiliye değmeden sabitlenir. Damla şırınga iğnesi ucunda asılı halde ve HS tüpü içindeki çözelti sürekli karıştırılırken başka bir şırınga ile aynı septumdan çözeltiliye NaBH₄ enjekte edilir. NaBH₄ ile tepkime sonucunda MeHg(I)'in MeHgH haline türevlendirilmesi gerçekleştirilmiş olmaktadır. MeHgH, toplayıcı reaktif (tiyoüre, APDC) içeren damla içine hapsedilir/tutulur. Önce damla şırınga içine geri çekilir; sonra da şırınga septumdan geri alınır ve zenginleştirilmiş damlanın içindeki MeHgH grafit küvete aktarılarak AAS ile tayin edilir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. SDME uygulamasının şematik gösterimi.

- A: Ucunda damlanın tutulduğu 10 µL'lik GC şiringası,
- B: NaBH₄ çözeltisinin enjekte edildiği 2,5 mL'lik plastik şiringa,
- C: 4 µL toplayıcı reaktif içeren ve mikro özütleme yapılan DAMLA,
- D: Tepkimenin oluştuğu 20 mL'lik tepe boşluk (HS) tüpü ,
- E: MeHg⁺/TBT içeren numune çözeltisi,
- F: Manyetik karıştırıcı/ısıtıcı,
- G: 8 delikli SPME ısıtıcı tablası
- H: HS tüpü ağzındaki enjeksiyon sonrası iğne deliği kalmayan özel septum.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Tepe boşluklu tek damla mikro özütleme ve grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometri (HS-SDME-GFAAS) yöntemi ile metilciva tayini

Bu çalışma ile metilciva ve tribütikalay gibi bazı organometal bileşiklerin tayini için tepe boşluklu tek damla mikro özütleme grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometri (HS-SDME-GFAAS) yönteminin uygunluğu araştırılmıştır. Bu amaçla HS-SDME-GFAAS yöntemi ile metilciva (MeHg) ve tribütikalay (TBT) bileşiklerinin model çözeltileri kullanılarak özütleme için en uygun deney koşulları belirlenmiştir.

Bu çalışmaya toplayıcı reaktif olarak grafit fırında ortam düzenleyici olarak kullanımı yaygın olan Pd ile başlanmıştır. NaBH₄ den çıkan H₂ (g) etkisi ile Pd (II) nin indirgenmesi gerçekleşir. Damla yüzeyinde metalik paladyum üzerinde hidrürün oluşması beklenir. Pd bu aşamada hem alışımlı grafit fırın ortam düzenleyici işlevini hem de oluşan hidrürleri hapsedme işlevini yerine getirmektedir.

Toplayıcı reaktif araştırmaları sırasında Pd kullanımı esnasında girişim etkisi kapsamında ortama katılan hidrür oluşturan elementlerden Pb, Cd, As ve Se varlığında elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. 100 ng/mL Pb, 250 ng/mL Cd, 500 ng/mL As, ve 500 ng/mL Se eklenmiş ve 0, 25, 50 ve 100 ng/mL metilciva standart ekleme uygulanarak sentetik çözeltiler hazırlanmıştır.

Çizelge 4.1. Toplayıcı reaktif Pd ile yöntemin seçiciliğinin su numunelerinde hidrür oluşturabilen Pb, Cd, As ve Se varlığında araştırılması

Eklene derişim MeHg ng/mL	Bulunan Derişim MeHg ng/mL (HS-SDME-GFAAS)	% Hata (HS-SDME-GFAAS)
+0	< LOD	
+25	16±1	36
+50	39±4	22
+100	74±4	26

Sonuçlar ($\bar{x} \pm s$) olarak hesaplanmıştır (N=3).

Özellikle ortama hidrür oluşturan diğer iyonların eklendiği koşullarda Pd ile geri kazanımlar düşük bulunmuştur. Bu nedenle, organik ve inorganik civa bileşikleri için seçimli bir analiz yöntemine ulaşmak amacıyla Pd yerine tiiyöre ve amonyum pirolidinditiyokarbamat (APDC) kullanılmıştır. Ortam pH'sının öneminin anlaşılması ile asetik asit/asetat tampon çözeltisi kullanılmıştır. Çalışmalar sonunda seçimli tayin için en yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlikteki sonuçlar farklı NaBH₄ derişimi uygulamaları ile elde edilmiştir.

Çalışmalar sırasında katım yapılan su, balık ve su, midye örneklerinin analizlerinde sırasıyla, toplam civa ve kalay tayinleri de uygulanmıştır. Toplam kalay ve civa tayini için HG-AAS yöntemi yerine AAS cihazında HS-SDME analizlerinde kullanılan GF-AAS şartlarında değişiklik yapmamak amacıyla ICP-MS kullanılmıştır.



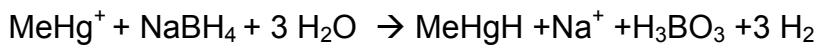
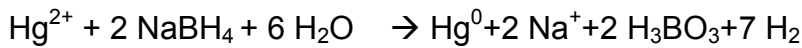
Şekil 4.1. Civanın HS-SDME-GFAAS ile ve seçimli tayini için belirlenen ve kükürt içeren toplayıcı reaktifler

Numunede organik ve inorganik civanın birlikte bulunduğu durumda HS-SDME-GFAAS kullanılarak seçimli bir tayin gerçekleştirebilmek için yöntem oluşturulması amacıyla ve tiyöüre ve APDC'ın (Şekil 4.1.) toplayıcı reaktif olarak seçilerek analiz şartları tek tek araştırılmıştır.

Toplayıcı reaktifin seçimi ve en uygun deney koşullarının belirlenmesinin ardından oluşturulan hidrür ortamındaki NaBH_4 derişimi ve pH'nın değiştirilmesi ile seçimli bir ayırma elde edilmesi yönünde çalışmalar da yapılmıştır.

Metilciva da tribütilkalay gibi iyonik yapısı nedeniyle uçucu değildir ve doğrudan tayinleri kolay olmadığı için türevlendirilmeleri gereklidir. En sık başvuru yöntem hidrürlerinin oluşturulmasıdır.

Hidrür oluşumunda NaBH_4 varlığında Hg^{2+} ve MeHg^+ türevlendirmesi basamakları şöyle gelişmektedir;



[Babko ve ark., 2001].

Çalışmada HS-SDME yöntemine etkisi olabilecek deneysel değişkenler başlıca şunlardır;

- Analiz ortamı sıcaklığı,
- Tampon derişimi ve pH,
- NaBH₄ derişimi,
- Damlanın hacmi,
- Toplayıcı reaktifin derişimi,
- Numune hacmi,
- Mikro özütleme süresi,
- Tuz derişimi

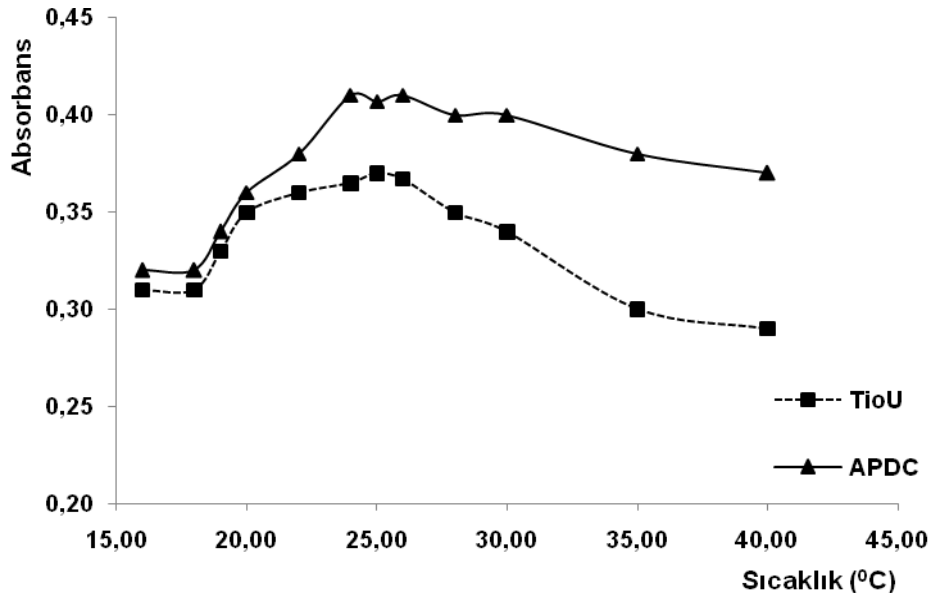
Belirlenen en uygun koşullarda, geliştirilen yöntemin doğruluğu, kesinliği ve gözlenebilme sınırı gibi analitik değişkenler de belirlenmiştir. Doğruluk için belgeli referans malzemeler kullanılmıştır. Kesinlik için küme-içi ve kümeler-arası tekrarlanabilirlik çalışmaları yapılmıştır. En uygun deney koşulları belirlenerek geliştirilen ve geçerli kılma çalışmaları yapılan yöntem farklı tekniklerin uygulanması ile doğrulanmış ve gerçek numunelere de uygulanmıştır.

Optimize edilen deney koşulları içinde “toplayıcı reaktifin derişimi” ve “mikro özütleme süresinin” en etkin değişkenler olduğu daha tez çalışmasının ön çalışmaları aşamasından başlanarak gözlenmiştir. Ayrıca civa için “ortam sıcaklığı” da kritik analitik değişken olmaktadır.

4.1.1. Analiz ortamı sıcaklığının etkisi

Genel olarak AAS’de hidrür oluşturmali Hg tayinlerinde hidrür oda sıcaklığında oluşturularak 100 °C’a ısıtılmış kuvars atomlaşma bölmesine taşınmaktadır. Bu çalışmada HS-SDME ile MeHg özütlenmesine sıcaklığın etkisi irdelenmiştir. Bunun için 10mL, 100 ng/mL’lik metilciva çözeltisi kullanılmış ve Şekil 3.1’de gösterildiği gibi, manyetik karıştırıcılı ısıtıcı tabla üzerine yalıtımlı SPME ısıtma bloğu yerleştirilmiştir. Blokdaki deliklerden birine içerisindeki şırınganın ucunda, deriştirilecek analiti içeren

mikrodamların yer aldığı tepe boşluğu (HS) tüpü yerleştirildi. Mikro özütlemenin gerçekleştiği bu tüp içindeki analiz ortamı 16 °C ile 40 °C arası sıcaklıklarda tutuldu. Her sıcaklık için Madde 3.5.1'de verilen HS-SDME işlemi tiyoüre ve APDC kullanılarak uygulandı. Sonuçlar Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. HS-SDME-GFAAS ile metilciva tayininde civa absorbansına sıcaklığın etkisi (100 ng/mL MeHg)

Şekil 4.2'den görüleceği üzere en yüksek absorbans değerlerine hem tiyoüre hem de APDC varlığında 23-27 °C arasında ulaşılmıştır. Buna göre çalışmada analiz ortam sıcaklığı olarak 23-25 °C seçilmiş ve sonraki deneylerde bu sıcaklık uygulanmıştır.

4.1.2. Tampon derişimi ve pH'nın etkisi

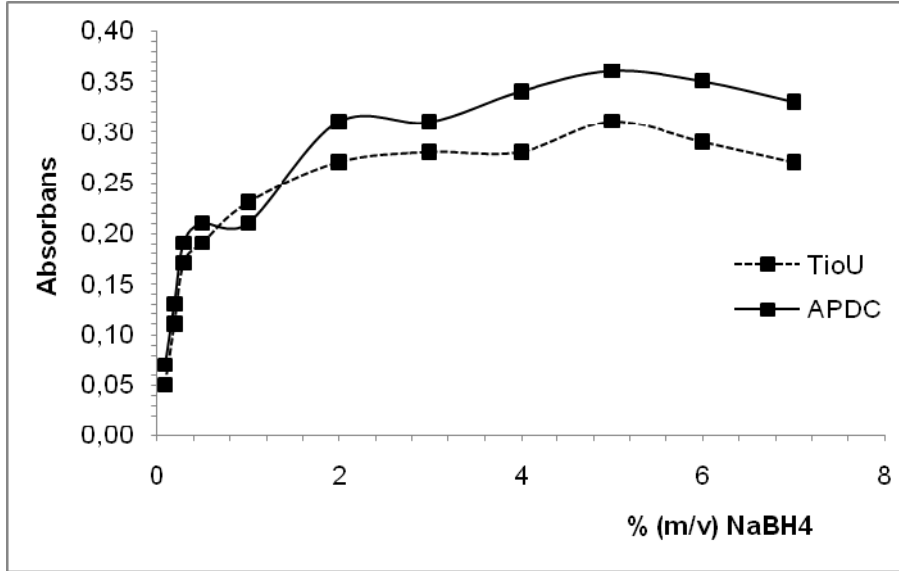
En uygun pH değerinin tespiti için çözeltilerin pH'sı 1-10 arasında Britton-Robinson tamponu kullanılarak ayarlandı. Britton – Robinson tamponu olarak bilinen 0,04 mol/L borik asit, 0,04 mol/L fosforik asit ve 0,04 mol/L asetik asit çözelti karışımları hazırlanarak 0,02 mol/L NaOH ile istenen pH değerleri için ayarlandı. Çok düşük ile çok yüksek pH'larda özütleme veriminin iHg için

düştüğü, pH 4 - 8 aralığında ise MeHg absorbands değerlerinde önemli değişiklikler olmadığı gözlemlendi.

Buna göre daha sonraki çalışmalarda pH 5 olarak seçilmiş ve uygulanmıştır. Çalışmalarda asetik asit/sodyum asetat tampon çözeltisi kullanılmıştır. Söz konusu tamponun hidrür oluşumu aşamasında kullanımı Bin ve ark. çalışmalarından beri bilinmektedir. Seçilen tampon çözeltisinin derişimi 0,1 – 2,0 M asetik asit/sodyum asetat derişim aralığında denenmiş ve 0,5 mol/L çalışma derişimi olarak seçilmiş ve sonraki çalışmalarda uygulanmıştır.

4.1.3. NaBH₄ derişiminin etkisi

Sodyum borhidrürün metilciva absorbandsına etkisinin irdelenmesi için 0,1 – 7 % (m/v) aralığı deneysel olarak tarandı. Bu tarama sırasında analiz ortamı sıcaklığı 23-25 °C ve pH 5 idi. Elde edilen verilere göre %5 (m/v) NaBH₄ varlığında hem tiyoüre hem de APDC ortamında civa için en yüksek absorbands değerleri elde edilmektedir. NaBH₄, HG-AAS çalışmalarda da uygulandığı şekliyle kararlılığının sağlanması ve sürdürülmesi amacıyla NaOH çözeltisi içinde hazırlanmıştır.



Şekil 4.3. HS-SDME-GFAAS ile metilciva tayininde civa absorbansına NaBH_4 derişiminin etkisi (100 ng/mL MeHg)

Şekil 4.3'den görüleceği üzere çalışmada en uygun NaBH_4 derişimi olarak %5 (m/v) NaBH_4 (%1,25 (m/v) NaOH içinde) seçilmiş ve sonraki çalışmalarda uygulanmıştır.

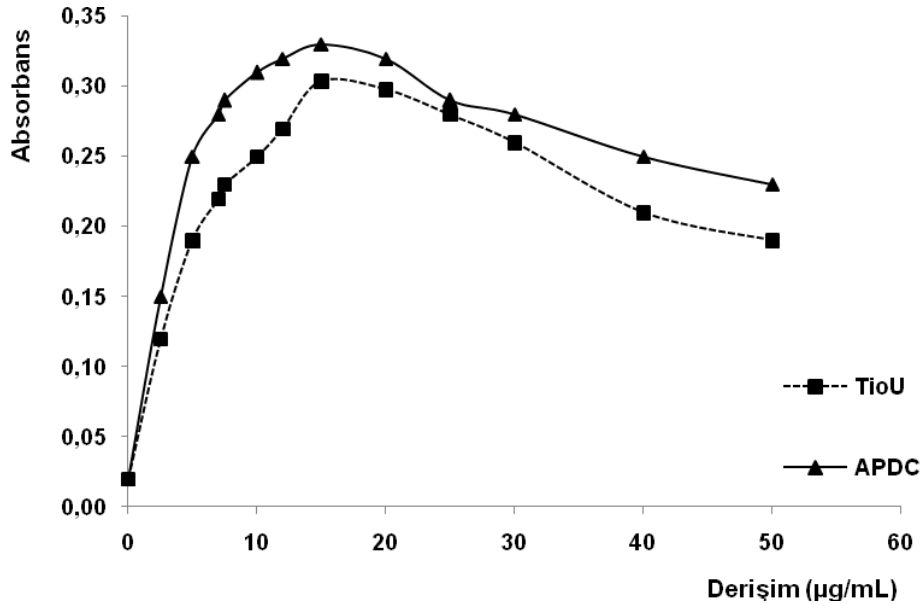
4.1.4. Damla hacminin etkisi

Diğer deney koşulları pH, sıcaklık ve NaBH_4 derişimi için en uygun değerler seçildi. Damla hacminin mikro özütleme verimine etkisini gözlemek amacı ile 1,0 – 5,0 μL hacim aralığı denendi. Seçilen toplayıcı reaktifler tiyoüre ve APDC ile en yüksek absorbans değerleri 3,5 – 4,0 μL aralığında elde edildi. Bu hacimden daha fazlasındaki denemelerde absorbansda düşme başlarken, 4,2 μL 'den fazla damla hacimlerinde ise damlanın şırınga ucunda tüm özütleme süresi boyunca tutulması mümkün olmamaktadır.

Tepe boşluğu ile temastaki damlanın hacminin artmasıyla özütleme veriminin artması nedeniyle çalışmalarda 4,0 μL damla hacmi kullanıldı.

4.1.5. Toplayıcı reaktif derişiminin etkisi

Tiyöüre veya APDC derişimi tüm analizdeki en önemli iki değişkenden biridir. Toplayıcı reaktif olarak kullanılan tiyöüre veya APDC derişiminin asılı duran mikrodamlaya etkisinin en uygun olduğu derişimi bulmak üzere elde edilen veriler Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Tiyöüre derişimi 15-20 $\mu\text{g/mL}$ arasında APDC derişimi ise 12-15 $\mu\text{g/mL}$ düzeyinde iken civa için en yüksek absorbands değerlerini vermektedir.



Şekil 4.4. HS-SDME-GFAAS ilr MeHg tayininde toplayıcı reaktif derişiminin etkisi (100 ng /mL MeHg).

Buna göre çalışmalarda toplayıcı reaktif derişimi 15 $\mu\text{g/mL}$ TioU ve 12 $\mu\text{g/mL}$ APDC olarak seçilmiş ve sonraki çalışmalarda uygulanmıştır.

4.1.6. Örnek çözeltisi hacminin etkisi

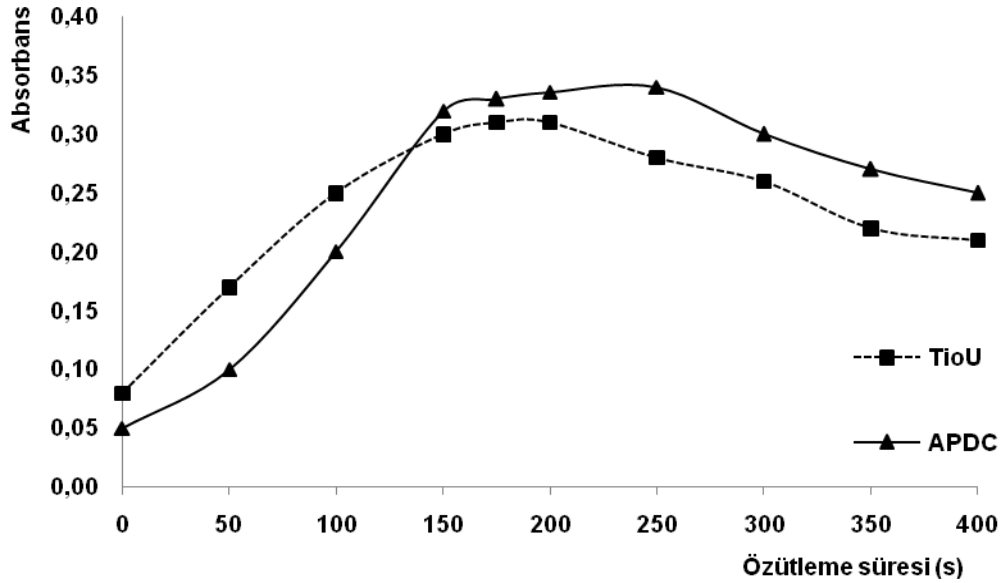
Örnek çözelti hacminin mikro özütlemeye etkisi bir kaç farklı tepe boşluk tüpü için denendi. Bu amaçla 10, 20 ve 40 mL hacim kapasiteli tepe boşluk

tüplerinde 1 - 30 mL örnek hacim aralığı tarandı. 20 mL'lik tüpte 10 -14 mL örnek aralığı için absorbands ve özütleme verimi açısından en yüksek veriler elde edilmiştir.

Buna göre sonraki çalışmalar için 20 mL'lik tüp ve 10 mL örnek hacmi en uygun değer olarak seçilmiş ve sonraki çalışmalarda kullanılmıştır.

4.1.7. Mikro özütleme süresinin etkisi

İkinci önemli değişken olan özütleme süresi için yapılan araştırma sonuçları Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Tepe boşluğu, numune çözeltisi ve damla arasında dengenin kurulması gerekmektedir. Bu amaçla 10 mL, pH=5 sıcaklık 25°C 100 ng/mL MeHg çözeltisinde yaklaşık olarak tiyoüre için 175 s, APDC için ise 250 s'den sonra absorbands azalmaya başlamaktadır.



Şekil 4.5. HS-SDME-GFAAS ile MeHg tayininde mikro özütleme süresinin etkisi (100 ng /mL MeHg).

Buna göre çalışmalarda özütleme süresi olarak tiyoüre ve APDC için sırasıyla, 175 s ve 250 s seçilmiş ve sonraki çalışmalarda uygulanmıştır.

4.1.8. Karıştırma hızının etkisi

Karıştırma hızının mikro özütleme verimine etkisi de araştırılmıştır. Bu amaçla, 10 mL, pH=5 sıcaklık 25⁰C, %5(m/v) NaBH₄ eklenmiş 100 ng/mL MeHg çözeltisi 100-1000 rpm arasındaki hızlarda karıştırılarak analizler yapılmıştır. Yaklaşık 600 rpm'e kadar gözlenen absorban artışları fark yaratmadığı için mikro özütleme süresi ile birlikte değerlendirilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür. Yüksek hızdaki karıştırma, tepe boşluğu – çözelti – damla dengesinin kurulma süresini belli oranda kısaltmaktadır. Hızın daha fazla artması ise, çözülden sıçramaların başlaması nedeniyle damlanın kopmasına neden olmaktadır.

Buna göre, çalışmalarda mikro özütleme sırasında karıştırma hızı olarak 450-500 rpm seçilmiş ve uygulanmıştır.

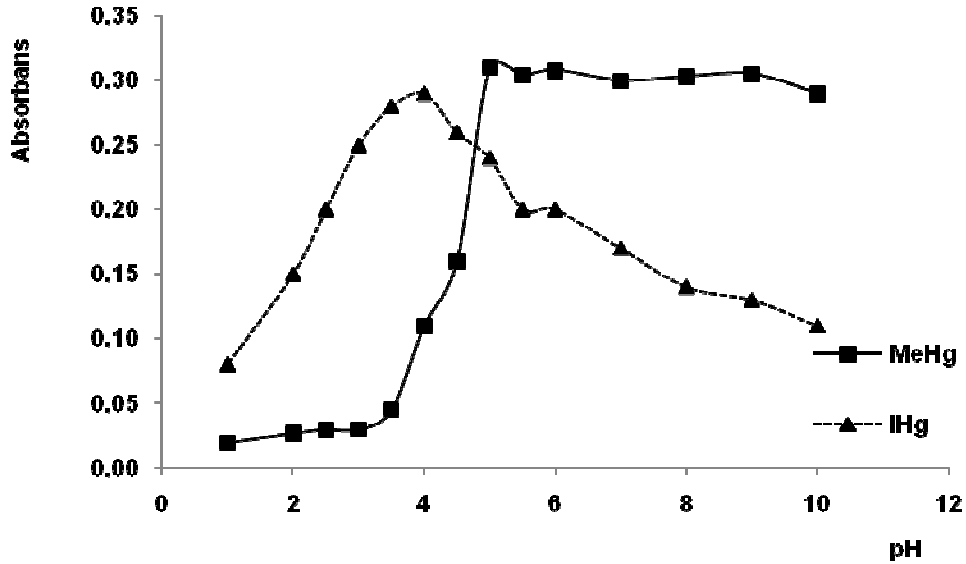
4.1.9. Tuz (NaCl) derişiminin etkisi

Örnek çözeltisine eklenecek tuz, çözeltinin iyonik şiddetini arttıracak böylece Hg'nın sulu fazdaki çözünürlüğü düşerek organik fazdaki derişimi artacaktır [Pena ve ark., 2008]. Tuzla çöktürme (Salting-out effect) etkisi denilen bu beklentiye göre ortama % 0 – 20 (m/v) NaCl olacak şekilde katı NaCl eklenmiştir. HS-SDME-GFAAS'de karşılaşılan durum beklendiği gibi ayırmanın artması yönünde gelişmişse de, % 5 (m/v)'lik tuz oranından sonra damlacığın yapısında bozunmalar, mikro özütleme veriminde düşüş gözlenmiştir.

Buna göre çalışmalarda özütleme verimini artırmak için tuz oranı % 5 olarak (m/v) (0,5 g NaCl kullanılarak) seçilmiş ve sonraki çalışmalarda uygulanmıştır.

4.1.10. Seçimli MeHg ve iHg tayini

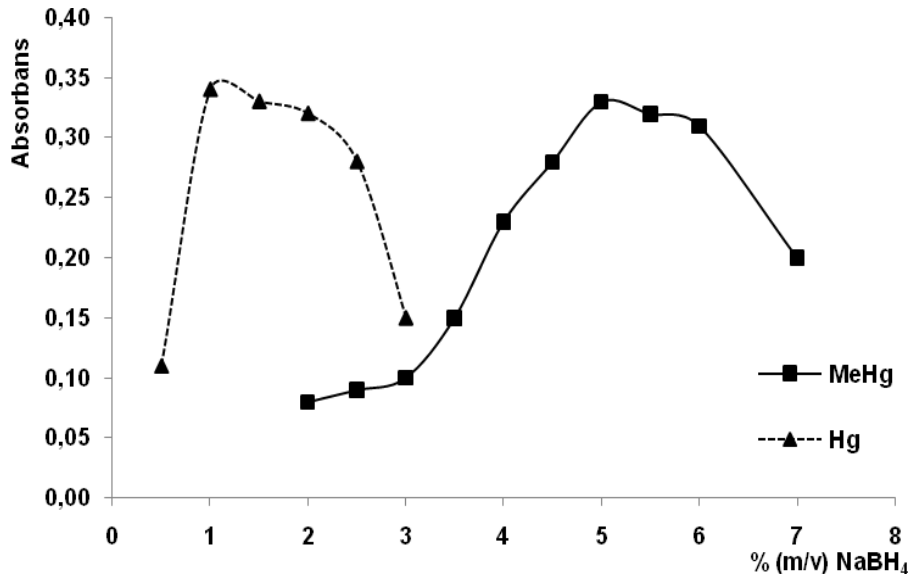
Yapılan çalışmalar sonucunda metilciva ve inorganik civanın birlikte bulunduğu ortamlarda farklı NaBH_4 derişimleri ve pH değerleri kullanmak kaydı ile yöntemin istenen düzeyde seçici, girişimlerden uzak ve kabul edilir düzeyde geri kazanım oranları ile sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Seçimli tayin kapsamında pH'nın ve NaBH_4 derişiminin seçimliliğe etkisi incelenmiştir. Çalışmaların sonuçları Şekil 4.6 ve Şekil 4.7 'de gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Metilciva ve civanın HS-SDME-GFAAS ile seçimli tayininde pH'nın etkisi (12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ APDC, 2,5 % (m/v) NaBH_4 , 100 ng /mL MeHg ve 100 ng /mL Hg).

Deneyler sonunda elde edilen tüm veriler her iki tür için de dikkate alınarak ortalama değerler seçilmiştir. Buna göre 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ APDC, 2,5 % (m/v) NaBH_4 , 250 s mikroözütleme süres, 500 rpm karıştırma hızı, %5 (m/v) NaCl varlığında 100 ng /mL MeHg ve 100 ng /mL Hg ile seçimli tayine uygun pH değeri araştırılmıştır. Elde edilen ve Şekil 4.6'da gösterilen sonuçlara göre MeHg ve iHg'nin ortamda birlikte buldukları durumda tayin yapabilmek için

daha yüksek verim nedeniyle APDC toplayıcı reaktif olarak kullanılmış ve MeHg ve iHg için pH değeri sırasıyla, 5 ve 3,5 olarak seçilmiş ve uygulanmıştır. Buna göre pH 5'de MeHg ve iHg'nin toplamı tayin edilmiş ve pH 3,5'a ayarlanarak ise sadece iHg tayini gerçekleştirilmiştir. İki analiz sonucunun farkından MeHg tayini mümkün olmaktadır.



Şekil 4.7. Metilciva ve civanın HS-SDME-GFAAS ile seçimli tayininde NaBH₄ derişiminin etkisi (12 µg/mL APDC, pH=4, 100 ng/mL MeHg ve 100 ng/mL Hg).

Ortam pH'sı yaklaşık 4 olarak hazırlanarak elde edilen Şekil 4.6'ya göre MeHg ve inorganik Hg'nin ortamda birlikte buldukları durumda NaBH₄ derişimini ayarlayarak seçimli tayin yapabilmek olası görülmektedir. MeHg, pH'nın 5 olduğu durumda ve %5(m/v)'lik NaBH₄ derişiminde en yüksek absorbansı verirken, iHg hemen hemen hiç absorpsiyon yapmamaktadır. Benzer şekilde iHg, pH'nın 3,5 olduğu durumda ve %1(m/v)'lik NaBH₄ çözeltisi varlığında en yüksek absorbans değerini vermektedir. Bu derişimde MeHg absorbansı oldukça düşüktür ve ihmal edilebilecek düzeydedir. Bu nedenle, seçimli tayin ve tütleme çalışmasında MeHg ve iHg için sırasıyla, %

5 (m/v) NaBH₄ ve % 1 (m/v) NaBH₄ en uygun derişim olarak seçilmiş ve uygulanmıştır.

Analizde etkin olan tüm değişkenlerin tek tek irdelenmesiyle elde edilen en uygun deney koşulları Çizelge 4.2 'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2. HS-SDME-GFAAS ile metilciva ve inorganik civa tayini için deney koşulları

Değişkenler		Değerler	
		Tiyoüre	APDC
Ortam Sıcaklığı (°C)		23-25	23-25
pH	MeHg ⁺	5	5
	Hg ²⁺	3,5	3,5
NaBH ₄ derişimi (%m/v)	MeHg ⁺	5	5
	Hg ²⁺	---	1
Damla hacmi (µL)		4	4
Toplayıcı madde derişimi (mg/L)		15	12
Örnek çözelti hacmi (mL)		10	10
Mikro özütleme süresi (s)		175	250
Karıştırma hızı (rpm)		450-500	450-500
NaCl (%m/v)		5	5

4.2. HS-SDME-GFAAS yöntemi ile metil civa tayininin geçerli kılınması (validasyon) çalışmaları

Çalışmada, HS-SDME yöntemi uygulanarak metilciva tayini için yöntem geliştirilmesi aşamasında kullanılan iki farklı toplayıcı reaktif, tiyoüre ve APDC için yöntemin geçerli kılınması kapsamında gerçekleştirilen deney sonuçları aşağıda açıklanmıştır.

Geçerli kılma değişkenleri olarak belirlenen değişkenler şunlardır;

- Gözlenebilme ve tayin sınırı,
- Kesinlik,
- Doğrusallık,
- Doğruluk,
- Seçicilik

4.2.1. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ)

Gözlenebilme sınırını belirleyebilmek için 23-25 °C sıcaklıkta 20 mL'lik tüpte 0,5 g NaCl içeren ve 0,5 M asetat/asetik asit tamponu ile pH'sı 5'e ayarlanmış çözeltiliye az miktarda (sinyal görülebilecek kadar) MeHg eklenmiş ve 1,5 mL %5 (m/v) NaBH₄ çözeltisi şırınga edilerek 10 mL tanık numune hazırlanmıştır. 450-500 rpm'de 175 veya 250 s sürekli karıştırılarak, 4,0 µL 15 mg/L TioU veya 12 mg/L APDC içeren damlaya özütlenmiştir. Böylece 21 kez analiz edilen tanık çözelti absorban değerlerinin standart sapmasının 3 katına karşılık gelen gözlenebilme sınırı (LOD) 3_{σ_t}/m bağıntısı ile hesaplanmıştır. Tanık çözelti sinyallerinin standart sapmasının 10 katına karşılık gelen tayin sınırı (LOQ) ise 10_{σ_t}/m bağıntısı ile hesaplanmıştır.

Buna göre MeHg için toplayıcı reaktifin tiyoüre olduğu koşullarda LOD 6,21 ng/mL (N=21) ve toplayıcı reaktifin APDC olduğu koşullarda LOD 5,03 ng/mL (N=20) olarak hesaplanmıştır.

4.2.2. Kesinlik

Ölçüm sonucunun kesinlik ölçüsü, tekrarlanabilirlik (r) ve/veya uyarlık (R) cinsinden ifade edilir. Bunun için referans bir örnek veya laboratuvarında hazırlanan bir örnek kullanılır. Tekrarlanabilirlik kalite kontrol (KK) örnekleri sonuçlarındaki küme içi ve kümeler arası farklılık olarak tanımlanır. Bu amaçla MeHg'nin SDME yöntemi kullanılarak tayininin kesinlik çalışmaları için 2 tane laboratuvar içi KK örneği hazırlanmıştır. Bunlardan KK 01 kodlu olan 100 µg/L ve KK 02 kodlu olan 200 µg/L MeHg içermektedir. Bunlarla 8 adet bağımsız (küme içi) analiz yapılmış ve işlem 3 gün (kümeler arası) üst üste taze hazırlanan KK malzemeleri ile tekrarlanmıştır. Ölçüm sonuçlarının bağıl standart sapmaları hesaplanmıştır.

$$\% \text{ BSS} = \frac{S}{\bar{X}} 100$$

Analize ait kesinlik değerleri aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir. Küme-içi tekrarlanabilirlik sonuçları Çizelge 4.3'de, 3 gün boyunca yapılan kümeler arası tekrarlanabilirlik sonuçları ise Çizelge 4.4 - 4.6'da gösterilmiştir. Sonuçların ortalamaları elde edilen en az 8 tayin sonucu ile saptanmış ve % bağıl standart sapma bazında karşılaştırılmıştır. Kabul edilebilir kesinlik, 2 standart sapma ile yani % 95 güven düzeyinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.3. Tiyoüre veya APDC toplayıcı reaktifleri ile elde edilen küme-içi tekrarlanabilirlik sonuçları

Toplayıcı reaktif	TioU		APDC	
	100 µg/L	200 µg/L	100 µg/L	200 µg/L
Katılan MeHg derişimi				
Ortalama	91,93	190,79	93,64	192,41
N	8	8	8	8
S	3,59	5,31	3,14	5,25
%BSS	3,91	2,78	3,35	2,73
% Geri kazanım	91,93	95,40	93,64	96,21

Çizelge 4.4. Tiyoüre veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 1'nci gün verileri

Gün 1				
Toplayıcı reaktif	TioU		APDC	
	100 µg/L	200 µg/L	100 µg/L	200 µg/L
Katılan MeHg derişimi				
Ortalama	91,93	190,79	93,64	192,41
S	3,59	5,31	3,14	5,25
% BSS	3,91	2,78	3,35	2,73
% Geri Kazanım	91,93	95,40	93,64	96,21

Çizelge 4.5. Tiyöüre veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 2'nci gün verileri

Gün 2				
Toplayıcı reaktif	TioU		APDC	
Katılan MeHg derişimi	100 µg/L	200 µg/L	100 µg/L	200 µg/L
Ortalama	90,78	190,60	92,89	193,07
S	3,35	5,02	3,24	5,29
% BSS (r)	3,70	2,63	3,49	2,74
% Geri kazanım	90,78	95,30	92,89	96,54

Çizelge 4.6. Tiyöüre veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 3'ncü gün verileri

Gün 3				
Toplayıcı reaktif	TioU		APDC	
Katılan MeHg derişimi	100 µg/L	200 µg/L	100 µg/L	200 µg/L
Ortalama	91,82	190,60	93,52	192,65
S	3,51	5,34	3,17	5,11
% BSS (r)	3,82	2,80	3,39	2,65
% Geri kazanım	91,82	95,29	93,52	96,32

Geçerli kılma çalışması sırasında kümelerarası tekrarlanabilirlik kapsamında gerçekleştirilerek 3 gün boyunca elde edilen sonuçlar arasında kesinlik açısından fark olup olmadığının gösterilmesi amacı ile F-testi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7’de gösterilmiştir.

$F_{\text{hesaplanan}}$ değerinin $F_{\text{çizelge}}$ değerinden küçük olması %95 güven seviyesinde her iki ölçümdeki standart sapma sonucunun birbirinden farklı olmadığını gösterir.

Çizelge 4.7. Kümeler arası tekrarlanabilirlik ölçümlerinin karşılaştırılması, F – testi

F-testi 100 µg/L						
	G1/G2		G1/G3		G2/G3	
Toplayıcı reaktif	TioU	APDC	TioU	APDC	TioU	APDC
$F_{\text{hesaplanan}}$	1,148	1,065	1,046	1,019	1,098	1,045

$$F_{\text{hesaplanan}} = S_2^2 / S_1^2$$

$$\text{Serbestlik derecesi} = N-1 = 7$$

$$F_{(\text{çizelge}) 7:7} = 3,787$$

G1: Gün 1, G2:Gün 2, G3: Gün 3

Çizelge 4.7’ye göre hesaplanan F değerlerinin çizelge değerlerinden küçük olduğu görülmektedir. Bu sonuç istatistiksel olarak günler arası tekrarlanabilirlik sonuçları arasında %95 olasılıkla bir fark olmadığını göstermektedir.

Şu halde, yapılan çalışmalar ile elde edilen sonuçlara göre yöntemin kesinliği oldukça yüksektir. Bu çalışmalarda elde edilen ve Çizelgelerde de gösterildiği üzere metilciva için bağıl standart sapma (BSS) % 4’den daha düşüktür.

Uyarlık çalışması için laboratuvarlararası karşılaştırma gerektiği için uyarlık bu geçerli kılma çalışması kapsamındaki değişkenlerden birisi olarak seçilmemiştir.

4.2.3. Doğrusal çalışma aralığı

Metilciva için elde edilen kalibrasyon eğrileri çalışma kapsamında optimize edilen ve Çizelge 4.2'de görülen deneysel koşullarda tiyoüre varlığında 305 ng/mL'ye, APDC varlığında ise 355ng/mL'ye kadar doğrusaldır. Buna göre doğrusal çalışma aralığının alt sınırı LOQ, üst sınır ise kalibrasyon eğrisinde doğrusallığın sonlandığı sınır olarak alınmıştır. Metilciva için doğrusal çalışma aralığı tiyoüre varlığında 20 ng/mL – 305 ng/mL ve APDC varlığında 17 ng/mL – 355 ng/mL arasında bulunmuştur.

MeHg için kalibrasyon grafiğinin denklemi;

Tiyoüre : $A = 0,0029 [\text{MeHg}^+] + 0,0184$; $R^2=0,996$

APDC : $A = 0,0031 [\text{MeHg}^+] + 0,0178$; $R^2=0,998$

Burada;

A : Absorbans,

$[\text{MeHg}^+]$: Metilciva derişimi (ng/mL)

dir.

4.2.4. Doğruluk

HS-SDME-GFAAS yönteminin metilciva tayini için uygun deneysel koşulların belirlenmesinden (Çizelge 4.2) sonra, yöntemin doğruluğunu araştırmak amacıyla belgeli referans madde (CRM) analizleri yapılmıştır. Bu amaçla analiz edilmek üzere içinde metilciva ve toplam civanın ayrı ayrı belgelendirildiği ton balığı (BCR-463 Tuna Fish) seçilmiştir. Numune Kısım 3.3.5 ve Kısım 3.3.6'da açıklandığı gibi hazırlanmış ve MeHg ile toplam Hg önerilen yöntem kullanılarak, ayrıca toplam Hg ICP/MS ile analiz edilmiştir.

%95 güven seviyesinde 7 ölçüm sonucu Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Buna göre belgeli referans madde analizinde tiyoüre ve APDC ile % 3 den daha küçük bağıl hata ile metilciva tayini yapılmıştır. Analizlerde tiyoüre ve APDC için, bağıl standart sapmalar sırasıyla, % 5 ve % 4 den daha küçük bulunmuş, geri kazanımlar ise sırasıyla, % 97 ve % 101 olarak gerçekleşmiştir.

4.2.5. Yöntemin seçiciliği (girişim etkisi) ve gerçek numunelere uygulanabilirliği

Geliştirilen yöntemin geçerli kılınması araştırılırken önemli değişkenlerden biri de girişim etkisinin saptanmasıdır. Bu amaçla su örneklerine diğer iyonlar ilave edilerek sentetik örnekler hazırlanmıştır. Deiyonize su, şehir şebeke suyu, şişelenmiş içme suyu ve balık örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada eklenecek elementler tespit edilirken "TS 266 İnsani tüketim amaçlı sular" standardı da dikkate alınmıştır. Buna göre örneklere her biri 100 ng/mL Zn ve Mo; her biri 300 ng/mL Mn, Cu, Cr, Fe ve 10 µg/mL Ca, 50 µg/mL Mg, 100 µg/mL K ve 250 µg/mL Na eklenmiştir. 0, 20, 40 ve 80 ng/mL metilciva ve inorganik civa halinde standart katma uygulanarak örnekler hazırlanmıştır. Bu örnekler önerilen yöntemle en uygun deney koşullarında analiz edilmişlerdir. APDC toplayıcı reaktifi ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. Belgeli referans madde ton balığı (BCR-463 Tuna Fish) analizi

Analit (Yöntem)		Belge Değeri (µg/g)	Bulunan değer (µg/g) (ortalama ± ts/√N)	Bağlı Hata (%)	Bağlı standart sapma (%)	Geri kazanım (%)
MeHg (HS-SDME-GFAAS)	Tiyöüre	3,04 ± 0,16	2,96 ± 0,13	- 2,63	4,61	97,38
	APDC		3,08 ± 0,10	+ 1,32	3,59	101,3
Hg (HS-SDME-GFAAS)	APDC	2,85 ± 0,16	2,78 ± 0,08	- 2.46	3.05	97.54
Hg (ICP-MS)	MW özütleme		2,84 ± 0,11	- 0,35	3,87	99,6

%95 güven seviyesinde 7 ölçüm sonucudur.

Çizelge 4.9. Yöntemin seçiciliğinin Zn, Mn, Cu, Cr, Fe, Mo, Na, Ca, Mg, K varlığında farklı su numuneleri ile araştırılması^{a,b}. Girişim etkisi.

Eklenen derişim (Hg + MeHg) ng/mL	Bulunan Derişim MeHg ^c ng/mL	Bağıl Hata %	Bulunan Derişim iHg ^d ng/mL	Bağıl Hata %	Bulunan Derişim Toplam Hg ^e ng/mL	Bağıl Hata %
Deiyonize su						
+0	< LOD		< LOD		< LOD	
+20	19±1	-5	18±1	-10	39±1	-2
+40	37±2	-8	38±2	-5	79±2	-1
+80	75±4	-6	75±4	-6	162±4	+1
Şişelenmiş içme suyu						
+0	< LOD		< LOD		< LOD	
+20	18±1	-10	19±1	-5	39±1	-2
+40	37±2	-8	39±2	-2	81±2	+1
+80	75±4	-6	76±4	-5	160±5	-
Şehir şebeke çeşme suyu						
+0	< LOD		< LOD		< LOD	
+20	18±1	-10	18±2	-10	40±1	-
+40	36±2	-10	36±3	-10	79±2	-1
+80	75±4	-6	74±5	-8	162±2	+1
Balık örnekleri						
+0	< LOD		< LOD		< LOD	
+20	21±4	+5	22±3	+10	42±3	+5
+40	37±4	-8	38±5	-5	80±3	-
+80	79±4	-1	79±5	-1	161±3	+

^a Sonuçlar ($\bar{x} \pm S$) olarak hesaplanmıştır (N=3).

^b APDC ile alınan sonuçlardır tiyoüre ile de benzer sonuçlar alınmıştır.

^c 5%(m/v) NaBH₄, pH=5 iken HS-SDME-GFAAS yöntemi ile MeHg tayin edilmiştir

^d 1%(m/v)NaBH₄ ve pH=3,5 iken HS-SDME-GFAAS yöntemi ile iHg tayin edilmiştir

^e Toplam Hg ICP-MS yöntemi ile tayin edilmiştir.

Oluşturulan hidrürün ölçülmesi temeline dayanan bir yöntemle çalışıldığı için bu aşamada diğer hidrür oluşturan elementlerin varlığında yöntemin girişim etkisinden uzak olup olmadığının araştırılmasının da gerekli olduğu düşünülmüş ve benzer çalışma hidrür oluşturma potansiyeli yüksek iyonlar ile tekrarlanmıştır. Bu amaçla su örneklerine her biri 100 ng/mL As, Se, Sb, her biri 200 ng/mL Pb, Cd, 300 ng/mL Bi ve her biri 500 ng/mL Ge, Ga eklenmiştir. 0, 25, 50 ve 75 ng/mL metilciva ve inorganik civa halinde standart katma uygulanarak sentetik çözeltiler hazırlanmıştır. Toplayıcı reaktif olarak tiyoüre kullanılmış ve geliştirilen yöntemle MeHg ve iHg tayinleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. Yöntemin seçiciliğinin su numunelerinde hidrür oluşturabilen Pb, Cd, As, Se, Ge, Ga, Bi, Sb varlığında araştırılması^{a,b}.

Eklenen derişim (Hg + MeHg) ng/mL	Bulunan Derişim MeHg ^c ng/mL	Bağlı Hata (%)	Bulunan Derişim iHg ^d ng/mL	Bağlı Hata (%)	Bulunan Derişim Toplam Hg ^e ng/mL	Bağlı Hata (%)
Deiyonize su						
+0	< LOD		< LOD		< LOD	
+25	23±3	-8	23±2	-8	50±1	+1
+50	47±3	-6	48±4	-4	99±2	-1
+75	70±5	-7	69 ±4	-8	152±3	+1
Şişelenmiş içme suyu						
+0	< LOD		< LOD		< LOD	
+25	23±3	-8	23±3	-8	50±1	
+50	47±3	-6	46±4	-8	101±2	+1
+75	70±5	-7	69±5	-8	152±3	+1
Şehir şebeke çeşme suyu						
+0	< LOD		< LOD		< LOD	
+25	22±2	-12	22±2	-12	49±1	-2
+50	45±3	-10	45±4	-10	100±2	
+75	70±6	-7	68±6	-9	151±3	+1
Balık örnekleri						
+0	< LOD		< LOD		< LOD	
+25	23±3	-8	22±3	-12	50±1	
+50	47±5	-6	44±4	-12	99±3	-1
+75	71±7	-5	69±7	-8	149±4	-1

^a Sonuçlar ($\bar{x} \pm S$) olarak hesaplanmıştır (N=3).

^b Tiyoüre ile alınan sonuçlardır. (APDC ile benzer sonuçlar alınmıştır)

^c 5 % (m/v) NaBH₄, pH=5 iken HS-SDME-GFAAS yöntemi ile MeHg tayin edilmiştir.

^d 1 % (m/v) NaBH₄ ve pH=3,5 iken HS-SDME-GFAAS yöntemi ile iHg tayin edilmiştir.

^e Toplam Hg ICP-MS yöntemi ile tayin edilmiştir.

4.2.6. Önerilen yöntem için belirlenen performans değerleri özeti

HS-SDME-GFAAS ile MeHg^+ tayini için belirlenen performans değerleri Çizelge 4.11'de gösterilmiştir. HS-SDME-GFAAS ile MeHg^+ tayini için geliştirilen yöntemin geçerli kılınması kapsamında elde edilen diğer performans değerlerinin sonuçları da Çizelge 4.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. MeHg⁺ için Tiyoüre ve APDC ile elde edilen analitik performans değerleri - 1

Toplayıcı Reaktif	Kalibrasyon denklemi	R ²	LOD(3σ)(N) (ng/mL)	LOQ(10σ)(N) (ng/mL)	Doğrusal Aralık (ng/mL)	BSS(N) (%)	Zenginleştirme Oranı
Tiyoüre	Y=0,0029[MeHg ⁺]+0,0184	0,996	6(21)	20(21)	20-305	3,91(8)	30
APDC	Y=0,0031[MeHg ⁺]+0,0178	0,998	5(20)	17(20)	17-355	3,35(8)	35

Çizelge 4.12. MeHg⁺ için Tiyoüre ve APDC ile elde edilen analitik performans değerleri - 2

Toplayıcı Reaktif	KESİNLİK (% Gerikazanım)(N)(%RSD)		DOĞRULUK (%BH)	SEÇİMLİLİK	
	Küme içi tekrarlanabilirlik(N)	Kümeler arası tekrarlanabilirlik (X̄) (N) (%RSD)	BCR-463 Tuna Fish (%GK)(N)	pH	% (m/v) NaBH ₄
Tiyoüre	91,93 (8) 3,91	91,93 90,78 91,82 (91,51) (8) 3,81	- 2.63 (97,38) (7)	3,5 (Hg)	1
APDC	93,64 (8) 3,35	93,64 92,89 93,52 (93,35) (8) 3,42	+ 1.32 (101,30) (7)	5,0 (MeHg)	5

%95 güven seviyesinde alınan ölçüm sonuçlarının ortalamalarıdır.

Uygulamalardaki N değerleri çizelgede belirtilmektedir.

4.3. Tepe boşluklu tek damla mikro özütme ve grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometri (HS-SDME-GFAAS) yöntemi ile tribütilkalay tayini

Kısım 4.1 de belirtildiği gibi, bu çalışma ile metilciva ve tribütilkalay gibi hedeflenen bazı organometal bileşiklerinin tayini için tepe boşluklu tek damla mikro özütme grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometri (HS-SDME-GFAAS) yönteminin uygunluğu araştırılmış ve bu yöntem ile metilciva (MeHg) ve tribütilkalay (TBT) bileşiklerinin model çözeltileri kullanılarak özütme için en uygun deney şartları belirlenmiştir.

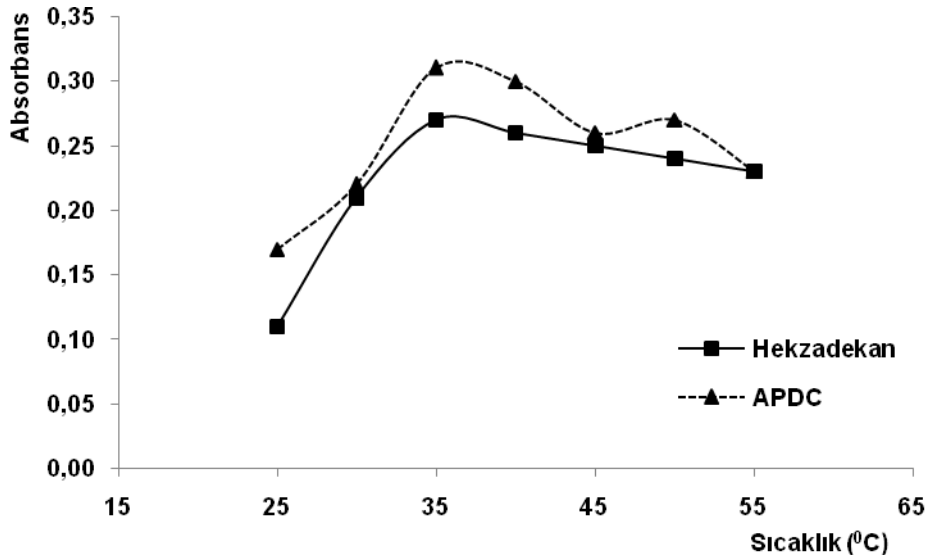
Çalışmada yönteme etkisi olabilecek deneysel değişkenler başlıca şunlardır;

- Analiz ortamı sıcaklığı,
- Tampon derişimi ve pH,
- NaBH₄ derişimi,
- Damlanın hacmi,
- Toplayıcı reaktifin derişimi,
- Numune hacmi,
- Mikro özütme süresi,
- Tuz eklenmesi

Metilciva da olduğu gibi tribütilkalay için de bu deneysel şartlarda, geliştirilen yöntemin doğruluğu, kesinliği ve gözlenebilme sınırı gibi analitik değişkenleri belirlenmiştir. Doğruluk için belgeli referans malzemeler kullanılmış; kesinlik için küme-içi ve kümeler-arası tekrarlanabilirlik çalışmaları yapılmıştır. En uygun deney koşulları belirlenerek geliştirilen ve geçerli kılma çalışmaları yapılan yöntem GC/FPD ve ICP/MS gibi farklı tekniklerin uygulanması ile doğrulanmış ve gerçek numunelere de uygulanmıştır.

4.3.1. Analiz ortamı sıcaklığının etkisi

AAS'de hidrür oluşturmali Sn tayinlerinde hidrür oda sıcaklığında oluşturularak 900 °C ısıtılmış kuvars atomlaşma bölgesine taşınmaktadır. SDME sırasında TBT özütlenmesinde sıcaklığın etkisi irdelenmiş ve elde edilen veriler Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Bunun için 50 ng/mL TBT kullanıldı ve Şekil 3.1'de gösterildiği gibi, manyetik karıştırıcılı ısıtıcı tabla üzerine yalıtımlı SPME ısıtma bloğu yerleştirildi. Blokdaki deliklerden birine içerisindeki şırınganın ucunda, deriştirilecek analiti içeren mikrodamlanın yer aldığı tepeboşluğu (HS) tüpü yerleştirildi. Mikro özütlemenin gerçekleştiği bu tüp içindeki analiz ortamı 25 – 60 °C arası sıcaklıklarda tutuldu.



Şekil 4.8. HS-SDME-GFAAS ile TBT tayininde sıcaklık etkisi (50 ng/mL TBT).

Bu verilere göre çalışmada analiz ortam sıcaklığı olarak heksadekan için 30 °C ve APDC için 30 -35 °C olarak seçilmiş ve uygulanmıştır.

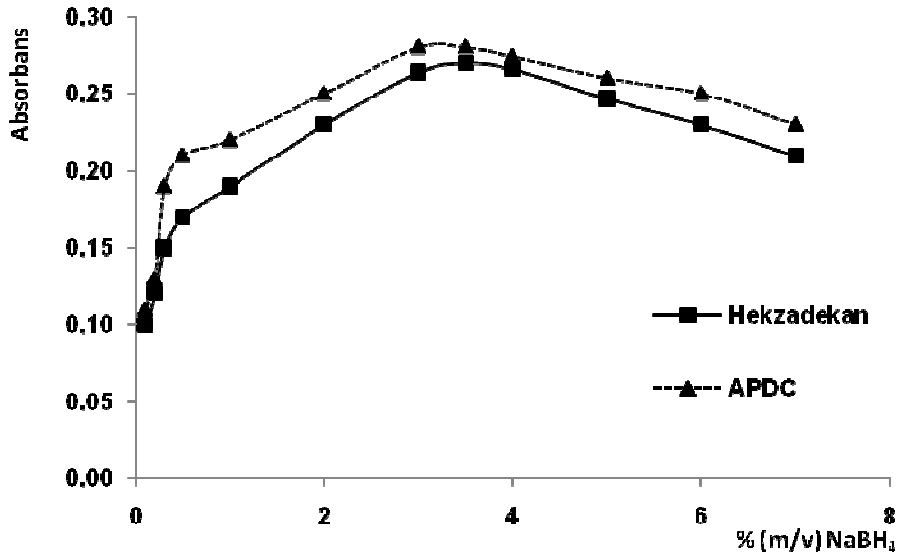
4.3.2. Tampon derişimi ve pH'nın etkisi

TBT tayini için klasik GC-FPD uygulamalarında da en sık kullanılan tampon çözelti asetik asit/asetat tamponudur. HS-SDME-GFAAS ile TBT tayininde en uygun asetik asit/ sodyum asetat tampon derişiminin ve pH'nın tesbiti için her iki toplayıcı reaktifle de deneyler yapıldı. En uygun pH değerinin tesbiti için çözeltinin pH'sı 1-10 arasında Britton – Robinson tamponu olarak bilinen 0,04 mol/L borik asit, 0,04 mol/L fosforik asit ve 0,04 mol/L asetik asit çözelti karışımları hazırlanarak 0,02 mol/L NaOH ile istenen pH değerleri için ayarlandı. Düşük ve yüksek pH'larda özütleme veriminin düştüğü, pH 4 - 6 aralığında absorbans değerlerinde önemli değişiklik olmadığı gözlemlendi. Seçilen asetik asit/sodyum asetat tampon çözeltisinin derişimi 0,1 – 1,0 M derişim aralığında denendi ve 0,1 M çalışma derişimi olarak seçilmiş ve sonraki çalışmalarda bu değer uygulanmıştır.

Çalışmada hem heksadekan ve hem de APDC için analiz ortam pH'sı 4 olarak seçilmiş ve uygulanmıştır. Ayrıca seçilen asetat tamponu ile pH 4,5'dan sonra hem Sn / TBT seçimli tayinine olanak vermemiş hem de TBT sinyalinde düşme görülmüştür. Bu nedenle en uygun pH değeri olarak 5 seçilmiş ve sonraki çalışmalarda bu değer uygulanmıştır.

4.3.3. NaBH₄ derişiminin etkisi

Sodyum borhidrürün etkisinin irdelenmesi için % 0,1 – 7 (m/v)'lik NaBH₄ çözeltisi ile deneyler yapıldı. Elde edilen veriler Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Buna göre yaklaşık % 4 (m/v)'e kadar olan NaBH₄ derişim aralığında hem heksadekan hem de APDC ortamında absorbans değerlerinde sürekli artış gözlemlendi. Bundan sonrasında ise göreceli olarak absorbans değerlerinde düşme başladı. Ayrıca saptanan bu derişimde farklı hacimde NaBH₄ uygulaması da yapılmış ama analit (TBT) absorbansında daha fazla bir artış gözlenmemiştir.



Şekil 4.9. HS-SDME-GFAAS le TBT tayininde NaBH₄ derişiminin etkisi (50 ng/mL TBT).

Bu nedenle %3,5 (m/v) NaBH₄ derişimi en uygun derişim olarak seçildi ve sonraki çalışmalarda bu derişim kullanıldı.

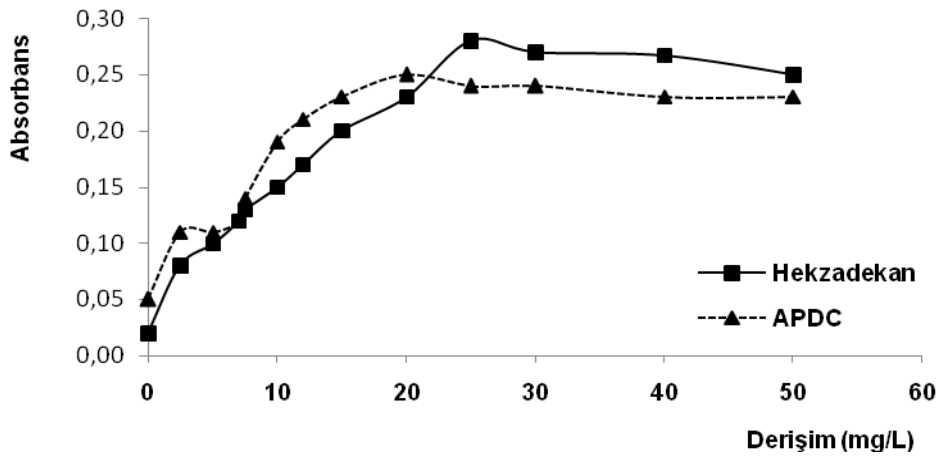
4.3.4. Damla hacminin etkisi

Damla hacminin mikro özütleme verimine etkisini gözlemek amacı ile 1,0 – 5,0 µL hacim aralığı denendi. Seçilen toplayıcı reaktifler heksadekan ve APDC ile en yüksek absorbans değerleri 3,0 – 3,3 µL aralığında elde edildi. Bu hacimden daha fazlasındaki denemelerde absorbansda düşme başlarken en fazla 3,4 µL den başlayarak ise damlanın şırınga ucunda tüm özütleme süresi boyunca tutulması mümkün olmamaktadır.

Tepe boşluğu ile temasdaki damlanın hacminin artmasıyla özütleme veriminin de artması beklentisi ve deneysel olarak elde edilen verilere dayanarak TBT çalışmalarda 3,0 µL damla hacmi kullanıldı.

4.3.5. Toplayıcı reaktif derişiminin etkisi

Heksadekan veya APDC derişimi tüm analiz değişkenleri arasında en önemli iki tanesinden biridir. Toplayıcı reaktif olarak kullanılan heksadekan veya APDC derişiminin asılı duran mikrodamlaya etkisinin en uygun olduğu derişimi bulmak için 0 – 50 mg/L derişim aralığında toplayıcı reaktif ile TBT için absorbands değerleri okunmuştur. Elde edilen veriler Şekil 4.11’de gösterilmiştir. Heksadekan derişimi 25-40 mg/L arasında APDC derişimi ise 20-25 mg/L düzeyinde iken en yüksek absorbands değerleri elde edilmektedir.



Şekil 4.10. HS-SDME-GFAAS ile TBT tayininde toplayıcı reaktif derişiminin etkisi (50 ng/mL TBT).

Buna göre çalışmalarda toplayıcı reaktif derişimi heksadekan için 30 mg/L ve APDC için 25 mg/L seçilmiş ve sonraki deneylerde kullanılmıştır.

4.3.6. Örnek hacminin etkisi

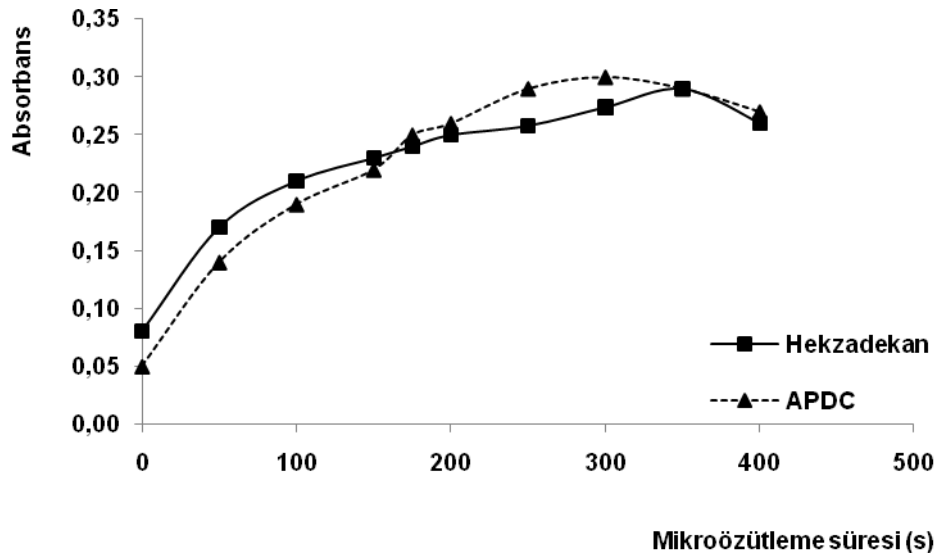
Örnek hacminin mikro özütlemeye etkisinin gözlenmesi amacıyla denemeler yapıldı. TBT’nin iyonik yapısına bağlı olarak uçuculuğunun sınırlı olması beklendiği için 20 mL hacimli tüplerde 5 - 15 mL numune hacim aralığı

tarandı. 20 mL lik tüpde 7 - 10 mL aralığındaki örnek hacimleri için absorbands ve özütleme verimi açısından en yüksek değerler elde edilmiştir.

Buna göre sonraki çalışmalarda 20 mL'lik tüp ve 10 mL örnek hacmi seçilmiş ve kullanılmıştır.

4.3.7. Mikro özütleme süresinin etkisi

İkinci önemli değişken olan özütleme süresi için yapılan araştırmanın sonuçları Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Tepe boşluğu, numune çözeltisi ve damla arasında dengenin kurulması gerekmektedir. Buna göre yaklaşık olarak heksadekan ve APDC için sırasıyla, 350 ve 300 s sonra absorbands azalmaya başlamıştır.



Şekil 4.11. HS-SDME-GFAAS ile TBT tayininde mikro özütleme süresinin etkisi (50 ng/mL TBT).

Buna göre çalışmada mikro özütleme süresi heksadekan için 350 s ve APDC için 300 s olarak seçilmiş ve sonraki çalışmalarda uygulanmıştır.

4.3.8. Karıştırma hızının etkisi

Karıştırma hızının mikro özütleme verimine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla 100-1000 rpm arasındaki karıştırma hızlarında TBT tayini yapılmıştır. Yaklaşık 700 rpm'e kadar absorbandsa artışlar gözlenmiştir.. Yüksek hızdaki karıştırma tepe boşluğu – çözelti – damla dengesinin kurulma süresini belli oranda kısaltmaktadır. Hızın daha fazla artması ise çözülden sıçramaların başlaması nedeniyle damlanın kopmasına neden olmaktadır.

Buna göre çalışmada 600 rpm karıştırma hızı olarak seçilmiş ve sonraki çalışmalarda uygulanmıştır.

4.3.9. Tuz (NaCl) derişiminin etkisi

Numuneye eklenecek tuz, çözeltinin iyonik gücünü arttıracak böylece kalayın sulu fazdaki çözünürlüğü düşecek ve organik fazdaki derişimi artacaktır [Pena ve ark, 2008]. Bu beklentiye göre ortama 0 – 20 % (m/v) aralığında NaCl eklenmiştir. HS-SDME-GFAAS'de karşılaşılan durum beklendiği gibi ayırmanın artması yönünde gelişmemiştir. Absorbansda artış gözlenmemiştir.

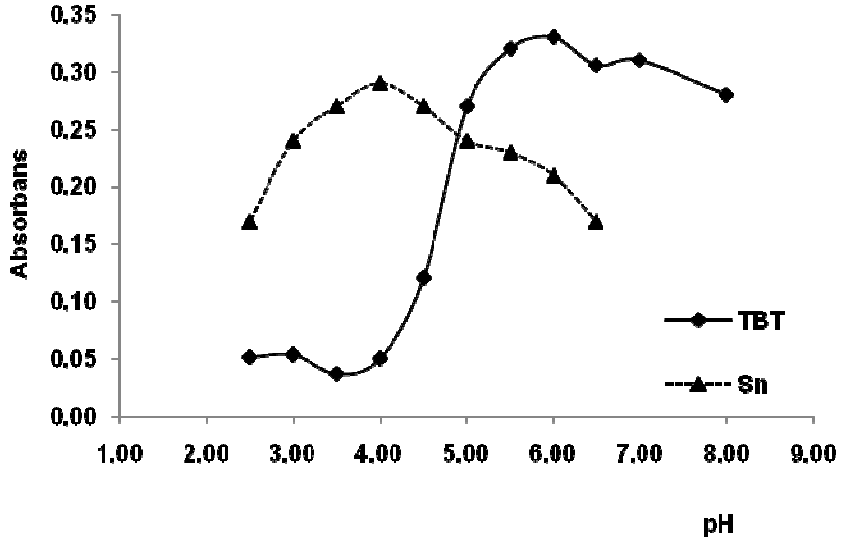
Bu sonuca göre çalışmada NaCl kullanılmamıştır.

4.3.10. Seçimli TBT ve Sn tayin araştırması

Seçimli tayin için APDC toplayıcı reaktifi ile TBT ve Sn'ın birlikte bulunduğu bir örnekle analitler için okunan absorbands değerlerinin pH ile değişimi incelenmiştir (Şekil 4.12).

Yapılan çalışmalar sonucunda tribütikalay ve inorganik kalayın birlikte bulunduğu ortamlarda farklı pH'larda yöntemin istenen düzeyde seçici,

girişimlerden uzak ve kabul edilir düzeyde geri kazanım oranları ile sonuçlar verebileceği gözlenmiştir.



Şekil 4.12 Tribütilkalay ve kalayın HS-SDME-GFAAS ile seçimli tayininde pH etkisi (50 ng/mL TBT ve 50 ng/mL Sn).

Buna göre TBT ve inorganik kalayın (iSn) ortamda birlikte buldukları durumda seçimli tayin yapabilmek için pH, TBT ve iSn için sırasıyla, 6 ve 4 olarak seçilmiş ve uygulanmıştır

Analizde etkin olan tüm değişkenlerin tek tek irdelenmesiyle elde edilen en uygun deney koşulları Çizelge 4.13 'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.13. HS-SDME-GFAAS ile tribütilkalay tayini analiz koşulları

Değişkenler		Değerler	
		Heksadekan	APDC
Ortam Sıcaklığı (°C)		30	30-35
pH	TBT	6	6
	iSn	4	4
NaBH ₄ derişimi (%m/v) TBT		3,5	3,5
Damla hacmi (µL)		3	3
Toplayıcı reaktif derişimi (mg/L)		30	25
Numune hacmi (mL)		10	10
Mikro özütleme süresi (s)		350	300
Karıştırma hızı (rpm)		600	600
NaCl (mg/L)		–	–

Ayrıca tribütilkalay tayini için geliştirilen HS-SDME-GFAAS yöntemi yanısıra toplam kalay tayininin ICP-MS ile ve TBT'nin GC-FPD ile elde edilen geri kazanımları karşılaştırılmış ve Çizelge 4.14'de gösterilmiştir. TBT nin GC-

FPD ile tayininde türevlendirme maddesinin NaBH_4 olduğu şartlarda tekrarlanabilir sonuçlar alınamamıştır.

Çizelge 4.14. Ayıklanmış iri kara midyede TBT tayininde HS-SDME-GFAAS ve GC-FPD ile geri kazanım sonuçları.

Eklenen derişim (TBT) ng/mL	Bulunan Derişim TBT 3,5 % (m/v) NaBH_4 pH=6 ng/mL (HS-SDME-GFAAS)	Bağıl Hata (%)	Bulunan Derişim TBT 3,5 % (m/v) NaBH_4 pH=6 ng/mL (GC-FPD)	Bağıl Hata (%)
Ayıklanmış iri kara midye				
+0	0,037±0,01		<LOD	
+10	11±2	+ 10	9±1	- 10
+20	18±2	- 10	17±3	- 15
+40	41±4	+2,5	31±4	- 22,5

Sonuçlar ($\bar{x}\pm s$) N=3 olarak hesaplanmıştır.

4.4. HS-SDME-GFAAS yöntemi ile tribütil kalay tayininin geçerli kılınması (validasyon) çalışmaları

Çalışmada, HS-SDME yöntemi uygulanarak tribütilkalay (TBT) tayini için yöntem geliştirilmesi aşamasında kullanılan iki farklı toplayıcı reaktif, heksadekan ve APDC için yöntemin geçerli kılınması kapsamında gerçekleştirilen deney sonuçları aşağıda açıklanmıştır.

Geçerli kılma değişkenleri olarak belirlenen değişkenler şunlardır;

- Gözlenebilme ve tayin sınırı,
- Kesinlik,
- Doğrusallık,
- Doğruluk,
- Seçicilik

4.4.1. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ)

Gözlenebilme sınırını belirleyebilmek için 30-35 °C sıcaklıkta 20 mL'lik tüpte NaCl olmaksızın ve 0,1 M asetat tampon çözelti ile pH'sı 4'e ayarlanmış, içine az miktarda TBT eklenmiş ve 1 mL % 3,5 (m/v) NaBH₄ şırınga edilerek 10 mL tanık numune hazırlanmıştır. 600 rpm'de 3,0 µL 30 mg /L heksadekan içeren damla ile 350 s veya 3,0 µL 25 mg /L APDC içeren damla ile 300 s sürekli karıştırılarak özütlenmiştir. Böylece 19-20 kez analiz edilen tanık numune absorbans değerlerinin standart sapmasının 3 katına karşılık gelen gözlenebilme sınırı (LOD) 3 ó/m bağıntısı ile hesaplanmıştır. Tanık numune sinyallerinin standart sapmasının 10 katına karşılık gelen tayin sınırı (LOQ) ise 10 ó /m bağıntısı ile hesaplanmıştır.

Buna göre TBT için toplayıcı reaktifin heksadekan olduğu koşullarda LOD 0,5 ng/mL (N=20) ve toplayıcı reaktifin APDC olduğu koşullarda LOD 0,8 ng/mL (N=20) olarak hesaplanmıştır.

4.4.2. Kesinlik

Ölçüm sonucunun kesinlik ölçüsü, tekrarlanabilirlik (r) ve/veya uyarlık (R) cinsinden ifade edilir. Bunun için referans bir örnek veya laboratuvarında hazırlanan bir örnek kullanılır. Tekrarlanabilirlik Kalite Kontrol KK numuneleri sonuçlarındaki küme içi ve kümelerarası farklılık olarak tanımlanır. Bu

amaçla TBT'nin SDME yöntemi kullanılarak tayininin kesinlik çalışmaları için 2 tane laboratuvar içi KK malzemesi hazırlanmıştır. Bunlardan KK 01 kodlu olan 25 µg/L ve KK 02 kodlu olan 50 µg/L TBT içermektedir. Bunlarla 8 adet bağımsız (küme içi) analiz yapılmış ve işlem 3 gün (kümeler arası) üst üste taze hazırlanan KK malzemeleri ile tekrarlanmıştır. Ölçüm sonuçlarının bağıl standart sapmaları hesaplanmıştır.

$$\% \text{ BSS } (r) = \frac{S}{\bar{X}} 100$$

Analize ait kesinlik değerleri Çizelge 4.14 - 4.17'de verilmiştir. Küme-içi tekrarlanabilirlik sonuçları Çizelge 4.14'de, 3 gün boyunca yapılan kümeler arası tekrarlanabilirlik sonuçları ise Çizelge 4.15 - 4.17'de gösterilmiştir. Sonuçların ortalamaları elde edilen en az 8 tayin tekrarı ile saptanmış ve ortalama gerikazanım hesaplanarak yöntemin kesinliği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.15. Heksadekan veya APDC toplayıcı reaktifleri ile elde edilen küme-içi tekrarlanabilirlik sonuçları

Toplayıcı reaktif	Heksadekan		APDC	
	25 µg/L	50 µg/L	25 µg/L	50 µg/L
Katılan TBT derişimi				
Ortalama	23,73	47,72	23,14	45,03
N	8	8	8	8
S	1,23	2,40	1,70	1,35
%BSS	5,20	5,03	7,32	3,00
% Geri kazanım	94,92	95,44	92,55	90,06

Çizelge 4.16. Heksadekan veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 1'nci gün verileri

Gün 1				
Toplayıcı reaktif	Heksadekan		APDC	
Katılan TBT derişimi	25 µg/L	50 µg/L	25 µg/L	50 µg/L
Ortalama	23,73	47,72	23,14	45,03
S	1,23	2,40	1,70	1,35
% BSS	5,20	5,03	7,32	3,00
% Geri kazanım	94,92	95,44	92,55	90,06

Çizelge 4.17. Heksadekan veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 2'nci gün verileri

Gün 2				
Toplayıcı reaktif	Heksadekan		APDC	
Katılan TBT derişimi	25 µg/L	50 µg/L	25 µg/L	50 µg/L
Ortalama	23,53	47,30	22,98	46,20
S	1,40	1,70	1,31	2,27
% BSS	5,94	3,60	5,70	4,91
% Geri kazanım	94,11	94,54	91,93	92,40

Çizelge 4.18. Heksadekan veya APDC toplayıcı reaktifleri ile kesinlik için gerçekleştirilen 3 günlük kümeler-arası tekrarlanabilirlik analizleri 3'ncü gün verileri

Gün 3				
Katılan TBT derişimi	Heksadekan		APDC	
Katılan TBT derişimi	25 µg/L	50 µg/L	25 µg/L	50 µg/L
Ortalama	23,69	46,60	22,77	44,90
S	1,49	2,16	1,75	2,16
% BSS	6,31	4,64	7,68	4,81
% Geri kazanım	94,76	93,27	91,07	89,79

Yapılan çalışmalar ile elde edilen sonuçlara göre yöntemin kesinliği oldukça yüksektir. Bu çalışmalarda elde edilen ve çizelgelerde de gösterildiği üzere tribütilkalay için bağıl standart sapma (BSS) % 8'den daha düşüktür.

Uyarlık çalışması için laboratuvarlararası karşılaştırma gerektiği için bu geçerli kılma çalışması kapsamındaki değişkenlerden birisi olarak seçilmemiştir.

4.4.3. Doğrusal çalışma aralığı

TBT için kalibrasyon grafiğinin denklemi şöyledir;

Heksadekan : $A = 0,0342 [TBT] - 0,0178$; $R^2=0,9995$

APDC : $A = 0,0111 [TBT] - 0,0142$; $R^2=0,9961$

Burada;

A : Absorbans,
[TBT] : Tribütilkalay derişimi (ng/mL)
dir.

Kalibrasyon grafiği çalışma kapsamında optimize edilen ve izelge 4.12'de belirtilen deneysel koşullarda heksadekan için 55 ng/mL'ye, APDC için ise 40 ng/mL'ye kadar doğrusaldır. Doğrusal alışma aralığının alt sınırı LOQ, st sınır ise kalibrasyon eğrisinde doğrusallığın sonlandığı (LOL) sınırıdır. Buna göre doğrusal çalışma aralığı izelge 4.20'de özetlendiği üzere heksadekan için 1,6 – 55 ng/mL APDC için 2,5 – 40 ng/mL'dir.

4.4.4. Doğruluk

HS-SDME-GFAAS yönteminin tribütilkalay tayini için uygun şartlarının belirlenmesinden (izelge 4.12) sonra, yöntemin doğruluğunu araştırmak amacıyla belgeli referans madde (CRM) analizleri yapılmıştır. Bu amaçla analiz edilmek üzere içinde bulunan TBT'nin belgelendiği midye dokusu (ERM-CE 477 Mussel tissue) ve içinde bulunan Sn'in belgelendiği köpekbalığı kas dokusu (NRC DORM-2) CRM olarak seçilmiştir. Numune Kısım 3.3.2, Kısım 3.3.3 ve Kısım 3.3.4'da açıklandığı gibi hazırlanmış ve TBT ve iSn önerilen yöntem kullanılarak, ayrıca toplam kalay da ICP/MS ile analiz edilmiştir.

%95 güven seviyesinde TBT ve iSn için elde edilen tayin sonuçları izelge 4.19'da verilmiştir.

Buna göre belgeli referans madde analizinde heksadekan ve APDC ile % 4 den daha küçük bağıl hata ile TBT tayini yapılmıştır. Analizlerde heksadekan ve APDC için, bağıl standart sapmalar % 5 den daha küçük bulunmuş, geri kazanımlar ise % 97 olarak gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.19. Belgeli referans maddeler ile analiz sonuçları.

Analit (Yöntem)		Belge Değeri (µg/g)	Bulunan değer (µg/g) (ortalama± ts/√N)	Bağlı Hata (%)	Bağlı standart sapma (%)	Geri kazanım (%)
TBT ^a (HS-SDME-GFAAS)	Heksadekan	2,20 ± 0,19	2,12 ± 0,10	-3,51	4,88	96,49
	APDC		2,13 ± 0,09	-3,25	4,57	96,75
iSn ^b (HS-SDME-GFAAS)	Heksadekan	0,023	0,021 ± 0,001	-8,69	5,33	91,31
Sn ^b (ICP-MS)	MW özütleme	0,023	0,023 ± 0,001	0	4,35	100

^a %95 güven seviyesinde 7 ölçüm sonuçları.

^a TBT tayini için midye dokusu (ERM-CE 477 Mussel tissue) analiz edilmiştir.

^b Kalay tayini için köpekbalığı kas dokusu (NRC DORM-2) analiz edilmiştir.

4.4.5. Yöntemin seçiciliği (girişim etkisi) ve gerçek numunelere uygulanabilirliği

Geliştirilen yöntemin geçerli kılınması araştırılırken önemli değişkenlerden biri de girişim etkisinin saptanmasıdır. Bu amaçla su ve midye örneklerine katım yapılmıştır. Deiyonize su, şehir şebeke çeşme suyu, atık su ve midye örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada eklenecek elementler belirlenirken fabrika atıkları açısından Tehlikeli Atıkların Kontrolü Yönetmeliği EK-11A kapsamında “Atıkların Düzenli Depo Tesislerine Depolanabilme Kriterleri” de gözönüne alınmıştır. Buna göre örneklere her biri 100 ng/mL As, Hg, her biri 200 ng/mL Pb, Cd her biri 300 ng/mL Cr, Cu ve her biri 500 ng/mL Zn, Ni ile 10 µg/mL Ca, 50 µg/mL Mg, 100 µg/mL K ve 250 µg/mL Na eklenmiştir. 0, 5, 10 ve 20 ng/mL TBT ve inorganik kalay halinde standart katma uygulanarak örnekler hazırlanmıştır. Örnekler önerilen yöntemle ve en uygun deney koşullarında analiz edilmişlerdir. APDC toplayıcı reaktifi ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.20’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.20. Yöntemin seçiciliğinin As, Pb, Cd, Cr, Cu, Ni, Hg, Zn, Na, Ca, Mg, K varlığında farklı su ve midye numuneleri ile araştırılması^{a,b}.

Eklenen derişim (Sn+TBT) ng/mL	Bulunan Derişim TBT ^c ng/mL	Bağlı Hata (%)	Bulunan derişim iSn ^d ng/mL	Bağlı Hata (%)	Bulunan Derişim Toplam Sn ^e ng/mL	Bağlı Hata (%)
Deiyonize su						
+0	< LOD		< LOD		< LOD	
+5	5±0,5	-	5±0,5	-	10±0,2	-
+10	9±1	-10	9±1	-10	19±1	-5
+20	19±1	-5	18±1	-10	40±2	-
Şehir şebeke suyu						
+0	< LOD		< LOD		< LOD	
+5	5±0,5	-	5±0,5	-	10±0,2	-
+10	9±1	-10	9±1	-10	18±1	-10
+20	19±1	-5	19±2	-5	39±2	-2
Atık su						
+0	0,05±0,01		0,103±0,014		0,157±0,02	
+5	5±0,5	-	5±0,5	-	10±0,2	-
+10	9±1	-10	11±1	+10	20±1	+
+20	18±1	-10	19±2	-5	39±2	-2
Kara midye						
+0	0,034±0,006		0,122±0,016		0,171±0,02	
+5	4±00,5	-20	4±0,5	-9	9±0,2	-10
+10	9±1	-10	9±1	-10	19±1	-6
+20	19±2	-5	19±2	-5	39±2	-2

^a Sonuçlar ($\bar{x}\pm S$) olarak hesaplanmıştır (N=3).

^b APDC ile alınan sonuçlardır. (Heksadekan ile benzer sonuçlar alınmıştır)

^c 3,5 % (m/v) NaBH₄ pH=6 iken HS-SDME-GFAAS yöntemi ile TBT tayin edilmiştir.

^d 3,5 % (m/v) NaBH₄ pH=4 iken HS-SDME-GFAAS yöntemi ile iSn tayin edilmiştir.

^e Toplam Sn ICP-MS yöntemi ile tayin edilmiştir.

4.4.6. Önerilen yöntem için belirlenen performans değerleri özeti

HS-SDME-GFAAS ile TBT tayini için elde edilen performans değerleri Çizelge 4.21 'de gösterilmiştir. HS-SDME-GFAAS ile TBT tayini için geliştirilen yöntemin geçerli kılınması kapsamında elde edilen diğer performans değerlerinin sonuçları da Çizelge 4.22'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.21. TBT için heksadekan ve APDC ile elde edilen analitik performans değerleri-1

Toplayıcı Reaktif	Kalibrasyon denklemi	R ²	LOD(3σ)(N) (ng/mL)	LOQ(10σ)(N) (ng/mL)	Doğrusal Aralık (ng/mL)	BSS(N) (%)	Zenginleştirme Oranı
Heksadekan	Y= 0,0338 [TBT] - 0,0067	0,9968	0,5(20)	1,6(20)	1,6-55	5,03(8)	55
APDC	Y= 0,0111 [TBT] - 0,0142	0,9961	0,8(20)	2,5(20)	2,5-40	3,13(8)	34

Çizelge 4.22 TBT için heksadekan ve APDC ile elde edilen analitik performans değerleri-2

Toplayıcı Reaktif	KESİNLİK (% Gerikazanım)(N)(%RSD)		DOĞRULUK (%BH)	SEÇİMLİLİK	
	Küme içi tekrarlanabilirlik(N)	Kümelere arası tekrarlanabilirlik (X) (N) (%RSD)	ERM-CE 477 Midye dokusu Tissue (%GK)(N)	pH	% (m/v) NaBH ₄
Heksadekan	95,44 (8) 5,03	95,44 94,54 93,27 (94,41) (8) 4,42	+ 3,51 (96,49) (7)	4	3,5
APDC	90,06 (8) 3,00	90,06 92,40 89,79 (90,75) (8) 4,24	+ 3,25 (96,75) (7)	4	3,5

%95 güven seviyesinde alınan ölçüm sonuçlarının ortalamalarıdır.
Ölçüm sayıları (N) tabloda gösterilmektedir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Ağır metal ve minerallerin yaşamımızda vazgeçilmez olduklarının anlaşıldığı son yıllarda artan hastalıklar ve bunlara karşı en doğru ve güçlü savunmanın sağlıklı beslenme olduğunun ortaya çıkması ile kesinlik kazanmıştır. Bu farkındalığın beraberinde ise analitik kimya alanında geçtiğimiz on yıllardır önem kazanan metal türlemesi tayinleri daha da öne çıkmıştır. Zararlı veya toksik ayrımının toplam element tayini ile değil ancak doğru kimyasal yapıların tayinleri ile yapılması gerektiği bilinmektedir. Bu tür analizler ise mutlaka iki cihazın peşpeşe kullanımını gerektirmektedir. Önce kromatografik yöntemlerle organik maddelerin ayrılmasının ardından tayin için AAS ve/veya ICP-MS kullanılması yaygındır. Bazı tayinler de çok yaygın kullanımı olmayan dedektörler ile yapılabilmektedir. Çalışmayla ilgili olarak buna verilebilecek örnek tribütil kalay tayini için GC-FPD kullanımındır. Organometaller özellikle son yıllarda tayinleri açısından önem kazanmaktaysa da aynı sorunlar geçerliliğini korumaktadır. Bu açıdan henüz tayinleri çok yaygın değildir.

Bu tezde, sıvı-sıvı özütleme tekniğine dayalı tek damla mikro özütleme tekniği kullanılarak metilciva ve tribütilkalayın özellikle inorganik yapılarının da varlığında seçimli olarak tayini için yöntem geliştirilmiştir. Yöntem, tayin edilecek elementin hidrürünün oluşturularak grafit fırınlı AAS'ye taşınması biçiminde gerçekleştirilmiştir. Bu tez kapsamında organometallerin tek damla mikro özütleme tekniği ile zenginleştirilmesi ve tayini için farklı toplayıcı reaktifler denenmiştir.

Her reaktif için ve seçilen her iki organometal için analiz koşulları tek tek çalışılarak belirlenmiştir. Bunlar başlıca sıcaklık, tampon derişimi ve pH, NaBH₄ derişimi, damla hacmi, toplayıcı reaktif derişimi, örnek hacmi, mikro özütleme süresidir. Yöntem için girişim etkisi, kısa ve uzun süreli tekrarlanabilirlik analizleri ile kesinlik, doğruluk, gözlenebilme sınırı (LOD),

tain sınırı (LOQ) ve doğrusal çalışma aralıkları belirlenerek geçerli kılma (validasyon) çalışması tamamlanmıştır. Geliştirilen yöntem, seçilen organometallerin bazı çevre ve gıda örneklerindeki tainleri için başarı ile uygulanmıştır.

Geliştirilen yöntem Ankara şebeke çeşme suyu, marketlerde satılan şişelenmiş içme (kaynak) suları ve laboratuvar tipi deiyonize su sisteminden elde edilen ultrasaf su örneklerinde ve marketlerde satılan balık örneklerinde metilciva, inorganik civa tainlerine uygulanmıştır. Aynı yöntem gerekli uyarlamalar yapılarak laboratuvar tipi deiyonize su sisteminden elde edilen ultrasaf su, Ankara şebeke çeşme suyu ve İzmir Gediz ağzından toplanan iri kara midye örneklerinde tribütikalay tainlerinde uygulanmıştır. Geliştirilen ve geçerli kılınan yöntemin doğruluk kontrolleri belgeli referans malzemeler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Henry kanununa göre beklentimiz analiz ortam sıcaklığı arttıkça, tepe boşluğundaki buhar basıncının da artacağı ve bu yolla, analitin damlaya özütlenmesinin artmasıdır. [Fragueiro ve ark., 2004]. Çalışmamızda görüldüğü üzere analiz ortam sıcaklığı arttıkça mikro özütleme verimi azalmaktadır. Bu da sıcaklık artışının daha baskın olduğunu göstermektedir. Özütlenen damlanın dağılım katsayısı artan sıcaklıkla ters orantılı olarak azalmaktadır. Bu nedenle belli sıcaklıktan sonra örneği ısıtmak metilciva hidrürün uçuculuğunun daha fazla artırılmasını sağlamamaktadır. Şekil 4.1'de gösterildiği gibi MeHg için mikro damladaki analit derişimi sıcaklık yaklaşık 25, 26 °C'a kadar arttırıldığında artış göstermekte daha sonrasında ise hidrürün termal kararsızlığı başlamaktadır. Benzer şekilde TBT için de heksadekan ve APDC için sırasıyla, 30 °C ve 35 °C'dan sonra kararsızlık görülmüştür.

Hidrür oluşturmali AAS analizlerinden bilindiği üzere hidrür oluşumu aşamasında en önemli faktörlerden birisi ortamın pH'sıdır. Ayrıca

özütlemelerde olduğu üzere SDME'de de tampon seçimi ve pH önemli bir faktördür. Bazik pH'larda mikro özütleme performansı düşmüştür. Tampon derişiminin artırılması ile şırınga ucundaki damlanın kararlılığı bozulmaktadır. Buna artan tampon derişimi ile doğru orantılı olarak tüp içindeki basıncın da artması neden olmaktadır. MeHg tayininde çözeltinin pH'sı HCl, asetik asit ve sodyum asetatla ayarlandı. pH'nın 4 ve üzerine çıkması ile özellikle TBT-APDC absorbansında ani ve büyük düşüşler gözlenmiştir. Bunun kalay hidroksit oluşumundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. TBT ve inorganik kalayın seçimli özütlenmesi Şekil 4.12'de gösterildiği üzere farklı pH'larda mümkün olmaktadır.

Hidrür oluşurken tüpdeki sulu çözeltinin asit derişimi artarsa daha fazla NaBH_4 gerekmektedir. NaBH_4 derişiminin artışı ise aşırı yoğun hidrojen oluşumu demektir. Bu da Şekil 4.6 'da MeHg için görüldüğü gibi absorbans düşmesine neden olmaktadır. TBT için Şekil 4.9'da görüldüğü gibi NaBH_4 derişiminin etkisi ile yaklaşık % 3,5 (m/v) oranında en yüksek sinyal elde edildiği yönündedir.

Tepe boşluğundaki damlanın yüzeyinin artmasıyla özütleme veriminin de artması beklenmiştir. Deneysel olarak da böyle gözlenmiştir. Mikro özütleme sırasında sürekli karıştırılan çözeltinin üstündeki gaz fazı kısmında ve şırınga ucunda asılı tutulan damlanın hacminin artması damlanın kararlılığının azalmasına neden olmaktadır. Kararlı halde, kopmadan kalabilen damla hacmi açısından en uygun şartlar deneysel olarak taranmış ve MeHg için 4 μL , TBT için 3 μL uygun değerler olarak tesbit edilmiştir. MeHg için 4,2 μL den TBT için ise yaklaşık 3,4 μL den daha büyük damlanın şırınga ucunda tüm özütleme süresi boyunca tutulması kesinlikle mümkün olmamıştır.

Çalışmadaki tüm değişkenler içinde en etkin iki değişkenden biri toplayıcı reaktifin derişimidir. Numune çözeltisinden toplayıcı reaktif damlasına kütle aktarımı sırasında en fazla analit geri kazanımını sağlamak açısından en

önemli etkenlerden birisi toplayıcı reaktifin cinsi ve derişimidir. Çalışılan 4 farklı toplayıcı reaktifden (Pd, Tiyöüre, APDC, heksadekan) sadece tiyöüre ve APDC metilciva için heksadekan ve APDC ise tribütikalay için uygun bulunmuştur. Grafiklerden de görüleceği üzere toplayıcı reaktifin olmadığı ortamda mikro özütleme de gözlenmemektedir. Sonuçlar incelendiğinde, metilciva tayininde tiyöüre ve APDC için sırasıyla, 15 mg/L ve 12 mg/L kullanıldığında hedeflenen mikro özütlemenin gerçekleşeceği görülmektedir. Tribütikalay tayininde heksadekan ve APDC için sırasıyla, 30 mg/L ve 25 mg/L ile hedeflenen mikro özütlemenin gerçekleşeceği görülmektedir.

Örnek çözelti hacmi de SDME için uygun şartların bulunması kapsamında araştırılmıştır. Artan örnek çözelti hacmine karşılık azalan tepe boşluğunda analit derişiminin artması nedeniyle belli hacimden sonra absorbands değerlerinde düşme başlamaktadır. Belli bir hacimden daha fazla örnek kullanımı halinde absorbandsda azalma yani TBT gibi uçuculuğu düşük bileşimin örneğinin hacminin artması ile mikro özütleme geri alımında düşmeler gözlenmiştir. Örnek çözelti hacminin artması ile konveksiyonun ve analitin tepe boşluğuna taşınımının zorlaşması buna neden olmaktadır. Ayrıca örnek çözelti hacminin çok artması ile damlaya yakınlaşacağı için sıçramanın artması da beklenmelidir. Mikro özütleme sürecinde tepe boşluğu ile numune çözeltisi arasında ve toplayıcı reaktif arasında dengenin kurulması gerekmektedir. Tekralanabilir çalışmalar elde edilmesi için dengenin kurulmasını beklemek zorunludur. Elde edilen sonuçların kesinlik ve doğruluğuna göre örnek çözelti – tepe boşluğu arasında ve tepe boşluğu – damla arasındaki denge oldukça hızlı oluşmaktadır. Bu dengenin kurulması metilciva için tiyöüre ile yaklaşık 3 dakika, APDC ile ise yaklaşık 4 dakikadır. TBT için heksadekan ve APDC ile 5 dakikadır.

SDME çalışmalarında, toplayıcı reaktif damlasını çevreleyen yüzeyin kalınlığı analitin kütle aktarımını etkileyeceğinden çözeltiyi karıştırma hızı özütleme dinamiklerini etkileyecektir. Çalışma sonucuna göre MeHg için 500-550 rpm

ve üstü yüksek karıştırma hızlarında mikro özütlemeye beklenen oranda artış olmaması bu değişkenin mikro özütleme süresi ile birlikte değerlendirilmesinin uygun olacağını düşündürmüştür. Yüksek hızdaki karıştırma, tepe boşluğu – çözelti – damla dengesinin kurulma süresini belli oranda kısaltmaktadır. Hızın daha fazla artması ise çözüldüden sıçramaların başlaması nedeniyle damlanın kopmasına neden olmaktadır. Buna göre karıştırma hızını MeHg için 500 rpm TBT için ise 600 rpm üzerine çıkarmadan mikro özütleme süresinin belirlenmesi için deneyler yapılmıştır.

Ayırma sırasında özellikle apolar ve birbiri ile karışmayan organik çözücüler için yaygın olarak kullanılan amonyum, sodyum, potasyum ve magnezyum tuzlarının (klorür veya sülfat halinde) katılmasının etkilerindeki benzerliğin denenmesi düşünülmüştür. Tuz katılması ile hidrofobik organik bileşenlerin sulu fazdan alınarak SPME fiberleri ya da SPE kartuşları üzerine adsorplanması sağlanmaktadır. Benzer etkinin SDME'de de oluştuğunun gözlenmesi amacı ile APDC için denemeler yapılmıştır. Tepe boşluğunda (HS) gerçekleştirmeye çalıştığımız gaz-fazı ayırması sırasında eklenen inorganik tuzun sulu çözeltideki uçucu bileşiklerin aktiflik katsayısını arttıracak ve bu yolla tepe boşluğu gaz fazı değişimini de arttıracak düşünülmektedir [Pena ve ark, 2008]. Numuneye eklenecek tuz, çözeltinin iyonik şiddetini arttıracak böylece Hg/Sn 'ın sulu fazdaki çözünürlüğü düşerek ve organik fazdaki değişimi artacaktır. Bu beklentiye göre ortama %0 – 20 (m/v) NaCl eklenmiştir. 10 mL numune her farklı tuz miktarı için 3 paralel olarak hazırlanmış ve HS-SDME-GFAAS' de analiz edilmiştir. Sonuçlar beklendiği gibi tuz miktarının artışı ile ayırmanın artması yönünde gelişmiş fakat tuz değişiminin belli bir değişimden sonraki artırılması aynı zamanda damlanın yapısında bozunmaya ve dolayısı ile mikro özütleme veriminde de düşmeye neden olmuştur. Bu nedenle en uygun değişim olarak çalışmada %5 (m/v) NaCl kullanılmıştır. Benzer şekilde TBT tayini için de tuz katılması denenmiş fakat absorbandsa artış kaydedilmediği için bu kısımda tuz kullanılmamıştır.

Toplam civanın ICP-MS ile tayini için elde edilen LOD 35 ng/L dir. MeHg için GFAAS ile elde edilen LOD 175 ng/mL; APDC ile HS-SDME-GFAAS ile elde edilen LOD 5 ng/mL (N=21) dir. GFAAS'ye göre MeHg için HS-SDME-GFAAS ile duyarlık artış oranı yaklaşık olarak 35 kattır.

Civa tayini için GFAAS bu elemente olan düşük duyarlığı nedeniyle uygun yöntem değildir. Ayrıca karmaşık ortamlarda da civa bileşiklerinin uçuculuğu nedeniyle yüksek sıcaklığa çıkılmasına ortam düzenleyici olması halinde dahi olanak vermemektedir. Buna göre HS-SDME-GFAAS ile MeHg⁺ tayininde APDC 'nin daha duyarlı olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

Toplam kalayın ICP/MS ile tayini için hesaplanan LOD 22 ng/L' dir. TBT'nin GFAAS ile tayininde elde edilen LOD değeri 27 ng/mL; heksadekan ile HS-SDME-GFAAS ile elde edilen LOD 0,5 ng/mL (N=20) dir. Buna göre, TBT tayini için uygulanan iki yöntem karşılaştırıldığında duyarlık artış oranı olarak yaklaşık 55 kattır.

Uyarlık çalışmasında laboratuvarlararası karşılaştırma gerektiği için uyarlık bu geçerli kılma çalışması kapsamındaki değişkenlerden birisi olarak seçilmemiştir. Çalışmanın kesinliği 3 ardışık günde yapılan tekrarlanabilirlik çalışmaları ile gerçekleştirilmiştir. Küme içi tekrarlanabilirlik için aynı gün içinde 8 ayrı numunenin paralelleri ile analiz edilmesi sonucunda aynı gün tekrarlanabilirlik ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Kümeler arası ve uzun süreli tekrarlanabilirlik için üç gün boyunca 8 ayrı numunenin paralel halinde yapılan analiz sonuçlarının ortalamalarından geri kazanım oranının standart sapmaları hesaplanmıştır. Yapılan çalışmalar ile elde edilen sonuçlara göre yöntemin kesinliği oldukça yüksektir. (Geri kazanım oranının standart sapması tekrarlanabilirliğin bu çalışmalarda elde edilen ve deneysel kısımdaki çizelgelerde de gösterildiği üzere metilciva için bağıl standart sapma (BSS) % 4'den daha düşüktür.

Önerilen yöntemin doğruluğu belgeli referans madde ile kontrol edilmiştir. Bu amaçla MeHg için BCR-463 Tuna Fish (ton balığı) ve TBT için ERM-CE 477 Mussel Tissue (midye dokusu) kullanılmıştır. Belgeli referans madde ile hem 5 noktalı standart katma kalibrasyonu hem de normal kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve eğimler arasında fark olmadığı tespit edilerek yöntemin gerçek numunelere uygulanması aşamasında normal kalibrasyon tekniği kullanılmıştır. Aynı belgeli referans malzeme toplam civa tayini sırasında da ve farklı NaBH_4 / HCl derişimleri ile yapılan seçimli tayin araştırmaları ve doğrulamaları sırasında da kullanılmıştır. Belgeli referans madde analizinde tiyoüre ve APDC ile % 3 den daha küçük bağıl hata ile metilciva tayini yapılmıştır. Analizlerde tiyoüre ve APDC için, bağıl standart sapmalar sırasıyla, % 5 ve % 4 den daha küçük bulunmuş, geri kazanımlar ise sırasıyla, % 97 ve % 101 olarak gerçekleşmiştir.

Toplayıcı reaktif denemeleri sırasında ve girişim etkisi kapsamında yapılan çalışmalarda ortama katılan hidrür oluşturan elementlerden Pb, Cd, As ve Se toplayıcı reaktif olarak Pd kullanıldığı analizlerde % 65 - 74 oranlarına kadar düşen geri kazanım sonuçları vermiştir. Mizuike'nin belirttiği gibi %90 geri kazanım ağır metal tayinlerinde kabul edilen alt sınırdır [Mizuike, 1983]. Tiyoüre ve APDC'nin toplayıcı reaktif olarak seçilmesindeki önemli etkenlerden birisi de bu analizlerin sonuçları olmuştur.

HS-SDME-GFAAS ile MeHg ve TBT tayinleri için geliştirilen yöntemin geçerli kılınması araştırılırken önemli değişkenlerden biri de girişim etkisinin saptanmasıdır. Bu amaçla su ve midye örneklerine katım yapılmıştır. MeHg tayinlerinde gerçek numune olarak laboratuvarımızda üretilen deiyonize su, yine laboratuvar içindeki çeşmelerden alınan şehir şebeke suyu ve Ankara'nın farklı semt marketlerinden satın alınan şişelenmiş içme suları ve balıklar kullanılmıştır. Seçimlilik-girişim etkisinin araştırılması için çalışmada "TS 266 İnsani tüketim amaçlı sular" standardı dikkate alınmıştır. Buna göre örneklere 100 - 300 ng/mL düzeyinde Zn, Mn, Cu, Cr, Fe, Mo, 10 - 250

$\mu\text{g/mL}$ düzeyinde Na, Ca, Mg, K eklenmiş ve metilciva, inorganik civa ve toplam civa halinde standart katma uygulanarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7'de gösterilmiştir. Benzer şekilde ama sadece hidrür oluşturabilen 8 element ile yapılan çalışmanın sonuçları da Çizelge 4.8'de yer almıştır. Buna göre HS-SDME-GFAAS'nin seçimliliği çalışmalarında hem diğer iyonlar varlığında hem de hidrür oluşturan elementler varlığında özellikle deiyonize su ile yöntemin geri kazanımı % 92'nin altına, şişe sularında ve balıklarda ise % 91'in altına düşmemektedir. Şebeke suyunda en düşük geri kazanım oranı % 85 olarak gerçekleşmektedir.

TBT tayinlerinde gerçek numune olarak laboratuvarıda üretilen deiyonize su, yine laboratuvar içindeki çeşmelerden alınan şehir şebeke suyu ve Ankara Organize Sanayi Bölgesinden alınan atık suları ve İzmir yöresinin iri siyah midyeleri kullanılmıştır. Çalışmada fabrika atıkları açısından Tehlikeli Atıkların Kontrolü Yönetmeliği EK-11A kapsamında "Atıkların Düzenli Depo Tesislerine Depolanabilme Kriterleri" gözönüne alınarak örneklere As, Pb, Cd, Cr, Cu, Ni, Hg, Zn ile deniz suyu açısından da Na, Ca, Mg, K eklenmiş ve standart katma uygulanarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.17'de gösterilmiştir. Buna göre geri kazanımlar ortalama olarak % 90 dan büyüktür. Üç tekrar için hesaplanan bağıl standart sapma atık su ve kara midyelerde özellikle katım yapılmamış numunelerde %14'e kadar çıksa da genel olarak %10 dan küçüktür. Bu sonuçlara göre yöntemin doğruluğu ve kesinliği TBT için de geçerlilik çalışmaları açısından yeterlidir.

Farklı pH ve özellikle NaBH_4 derişimi uygulanarak MeHg ve Hg nın seçimli olarak tayinleri başarı ile gerçekleştirilmiştir. Deneysel verilere göre seçilen ve uygulanan asetik asit/sodyum asetat tampon çözeltisi derişiminin 0,5 mol/L üzerine çıkması ile mikrodamla kararlılığının bozulduğu gözlenmiştir. Bu nedenle uygulanan 0,5 mol/L tampon çözelti derişimi ile her iki türün de (MeHg ve iHg) numune ortamında bulunması halinde yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlikte seçimli tayin için farklı pH değerleri uygulanması gerekliliği

gözlenmiştir. pH 5 iken toplam civa (MeHg ve iHg) tayini gerçekleştirilirken pH 3,5 da iHg tayin edilerek farkdan MeHg tayinine ulaşılabilmektedir. Bu koşullarda elde edilen özellikle deiyonize su ile yöntemin geri kazanımı % 92'nin altına düşmemektedir. Şebeke suyunda en düşük geri kazanım oranı % 89 olarak gerçekleşmektedir.

Elde edilen tüm bağıl hata, geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri analitik kimya açısından kabul edilebilir sınırlar içindedir. Sonuçlar, çalışmanın hedefine ulaştığını yani söz konusu örnek ortamlarında girişimden etkilenmeksizin yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlik ile metil civa ve inorganik civanın seçimli olarak tayin edilebileceğini göstermektedir.

Yöntemin geçerli kılınması çalışmaları kapsamında yapılan doğruluk analizlerinde belgeli referans madde olarak ERM-CE 477 kodlu midye kullanılmıştır. 7 paralel numune 3 günlük kesinlik çalışması sırasında tekrarlı çalışılmıştır. Hergünün sonuçları birbirini tekrarlar olarak gerçekleşmiştir. Elde edilen sonuçlara göre heksadekan ve APDC ile % 4 den daha küçük bağıl hata ile TBT tayini yapılmıştır. Analizlerde heksadekan ve APDC için, bağıl standart sapmalar % 5 den daha küçük bulunmuş, bağıl hatalar %4 den küçük, geri kazanımlar ise yaklaşık % 97 olarak gerçekleşmiştir.

Analitik kimya laboratuvarlarında artık organik çözücülerin numune hazırlama aşamasında ve çokça kullanılması tercih edilmediği için mikro özütlemeler çok önem kazanmaktadır. Organokalay bileşikleri içinde en zararlı olan bütikalay bileşiklerinden tribütikalayın (TBT) SDME ile ve alışlageldiği gibi gaz kromatografisi (GC) yerine GFAAS ile tayini çalışmalarımız başarılı olmuştur.

Buna göre, bu tez çalışması kapsamında geliştirilen ve geçerli kılınan yöntemin yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlik ile sonuç verdiği görülmekte olup literatürde yer alan benzer konudaki çalışmaların LOD sonuçları ile de

karşılaştırılabilir düzeydedir. Bu amaçla yapılan derleme Çizelge 5.1’de gösterilmiştir. Önerilen yöntem özellikle AAS kullanımı için uygulanmıştır. Peşpeşe kullanılan karmaşık cihazlar ile elde edilen LOD değerleri kadar düşük LOD değerleri elde edilememiştir. Ancak ülkemizde hemen hemen her laboratuvarında bulunan AAS ile bu düzeyde tayinlerin yapılabilmesi bile çok önemlidir.

Çizelge 5.1. Önerilen yöntemin literatürdeki yakın çalışmalar ile karşılaştırılması

Analit	Ortam	Yöntem	Toplama Reaktifi	LOD (ng/L)	% BSS	Duyarlık artış oranı ^a	Kaynak
TBT	Sediment	HS-SDME-GC-MS	Dekan	3	3,6	-	Colombini, 2004
TBT	Biyolojik örnekler	HS-SDME-GC-ICP-MS	Dekan	0,8-1,8 (NaBET ₄) 20-480 (NaBH ₄)	1,1-5,3 4,4-10,1	-	Xiao, 2008
MeHg	Balık	HS-SDME-ETAAS	Pd(II)	4000	7	40	Gil, 2005
MeHg	Su	Direkt-SDME-HPLC	[C ₆ MIM][PF ₆]	11,0	5,3	27	Pena-Pereira, 2009
MeHg	Balık	HS-SDME-GFAAS	Tiyoüre	6000	4,6	30	Bu çalışma
			APDC	5000	3,6	35	
TBT	Midye	HS-SDME-GFAAS	Heksadekan	500	5,03	55	Bu çalışma
			APDC	800	3,13	34	

^a Önerilen yöntem ile elde edilen LOD'nin diğer benzer yöntemlerle elde edilen LOD ile karşılaştırılması sonucu bulunan orandır (Bkz sayfa 129-130).

5.1. Genel Değerlendirme

Tez kapsamında geliştirilerek geçerli kılınan HS-SDME-GFAAS yöntemi türetildiği sıvı-sıvı mikro özütleme uygulamaları içinde organometallerin tayinine belkide en uygun olandır. Ne yazık ki henüz çok fazla uygulaması bulunmamaktadır. Numune hazırlama her zaman çok önemlidir ama özellikle eser düzeyde tayinlerde daha da önemli olmaktadır. Uygulanacak yöntemin hızlı, ekonomik, kolay ve yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlikte olması istenir. Mikro özütlemenin en önemli özelliği ve tercih edilme nedeni elbette kullanılan çözücü miktarının düşüklüğü ve özütleme sırasında karmaşık cihazlara gerek olmadığı gibi yerinde (in-situ) türevlendirmeye olanak tanınmasıdır. Zayıf noktaları ise sınırlı damla yüzeyi ve kinetiğin yavaşlığıdır.

Geliştirilen bu yöntemle bu tezde;

- Organometallerin tayinlerinin de artık yaygınlaşacağı,
- Mutlaka kromatografi kullanılması gerekmeyeceği,
- Tayin analiti organometalin yanısıra seçimli olarak inorganik yapıların da kolayca tayin edileceği,
- Toplam element tayinine mahkum olunmayacağı sonucuna varılmıştır.

Yöntemin,

- kesinliği,
- doğruluğu,
- tekrarlanabilirliği,
- gözlenebilme sınırı analitik kimya açısından kabul edilebilir düzeydedir.

5.2. Öneriler

Yöntem;

- Mutlaka farklı ortamlar ve organometaller için denenmelidir,
- Aynı ortam ve organometaller için farklı toplayıcı reaktifler denenmelidir
- Ülkemizde hemen her laboratuvarıda AAS olduğu ve laboratuvar koşulunda uygulanması kolay olduğu için seçimlilik açısından farklı denemeler mutlaka yapılmalı ve yöntemin türleme için ilk seçenek olması sağlanmalıdır.

Yöntem, mutlaka sağlık tematik alanına katkı sağlayacak boyuta taşınmalıdır.

Çünkü

- Pek çok ölümcül hastalığın temel nedeninin kötü beslenme daha da önemlisi kanserojenlerin yoğun olduğu gıdaların tüketilmesi olduğu artık kesin olarak bilinmektedir.
- Kanserojenler tehdidinden korunabilmek için hızlı, kolay, ucuz ama mutlaka yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlikte yöntemlerin uygulanması gereklidir.
- Avrupa Birliği başta olmak üzere tüm ülkelerin yönetmeliklerinde yer almaya başlayan bu tehlikeli türlerin tayanlerinin ülkemizde de yapılır olması ve standartlarımızda yer verilmesinin sağlanmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Amaral, A.F.S., Arrudaa, M., Cabrala, S., Rodriguesa, A.S., "Essential and non-essential trace metals in scalp hair of men chronically exposed to volcanogenic metals in the Azores, Portugal", *Environm. Intern.*, 34(8): 1104-1108 (2008).

Anthemidis, A.N., Adam, A.S.I., "Development of on-line single drop micro extraction sequential injection system for electrothermal atomic absorption spectrometric determination of trace metals", *Anal. Chim. Acta*, 632: 216-220 (2009).

Arthur, C.L., Pawliszyn, J."Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers", *Anal. Chem.*, 62(19): 2145-2148 (1990).

ATSDR Toxicological profile for mercury (update). US Department of Health and Human Services, Public Health Service, **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**, MERCURY CAS # 7439-97-6 (1999) Atlanta, GA

Babko, S.V., Montgomery, J.I., Battleson, D.M., Whitworth, C.G., sears, J., Sunner, J., Gingery, D., "Mercury speciation analysis by gas chromatography/ electron impact/mass spectrometry", **Waste Management Symposium**, WM'01 Conference, February 25-March 1, Tuscon, Arizona (2001).

Bagheri, H., Naderi, M."Immersed single-drop microextraction–electrothermal vaporization atomic absorption spectroscopy for the trace determination of mercury in water samples", *J.Hazard.Mater.*, 165(1-3): 353-358 (2009).

Baker, J.P., "'Mercury, vaccines, and autism: one controversy, three histories". *Am. J. Public Health*, 98 (2): 244–53 (2008).

Bartlett, A.J., Borgmann, U., Dixon, D. G., Batchelor, S.P., Maguire, R. J., "Toxicity and bioaccumulation of tributyltin in *Hyalella azteca* from freshwater harbour sediments in the Great Lakes Basin, Canada", *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 62(6): 1243–1253 (2005).

Batley, G.E., "Trace Element Speciation: Analytical Methods and Problems". **CRC Press Inc**, United States. (1991).

Bigham, M., Copes, R., "Thiomersal in vaccines: balancing the risk of adverse effects with the risk of vaccine-preventable disease". *Drug Safety*, 28 (2): 89–101 (2005).

Bin, H., Gui-bin, J., Zhe-ming, N., "Determination of methylmercury in biological samples and sediments by capillary gas chromatography coupled with atomic absorption spectrometry after hydride derivatization and solid phase microextraction", *J. Anal. At. Spectrom.*, 13: 1141–1144 (1998).

Britton, H.T.K. Robinson, R.A., " Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal", *J. Chem. Soc.*, 1456-1462 (1931).

Boyer, I.J., "Toxicity of dibutyltin, tributyltin and other organotin compounds to humans and to experimental animals". *Toxicology*, 55: 253- 298 (1989).

Bulut, V.N., Duran, C., Tufekci, M., Elci, L., Soylak, M., " Speciation of Cr(III) and Cr(VI) after column solid phase extraction on Amberlite XAD-2010", *J. Hazard. Mater.*, 143(1-2): 112-117 (2007).

Byrddy, F.A., Caruso, J.A., "Trace metals speciation by HPLC with plasma source mass spectrometry detection", *Environ. Health Perspect.*, 103: 21-23 (1995).

Cao, J., Liang, P., Liu, R., "determination of trace lead in water samples by continuous flow microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry", *J. Hazard. Mater.*, 152: 910-914 (2008).

Caruso, J.A., Montes-Bayon, M, "Elemental speciation studies – new directions for trace metal analysis", *Ecotox. Environ. Safe.*, 56(1): 148 – 163 (2003).

Chamsaz, M., Arbab-Zavar, M.H., Nazari, S., "Determination of arsenic by electrothermal atomic absorption spectrometry using headspace liquid phase microextraction after in situ hydride generation", *J. Anal. At. Spectrom.*, 18: 1279-1282 (2003).

Charalabaki, M., Psillakis, E., Mantzavinos, D., Kalogerakis, N., "Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater treatment plant effluents using hollow fibre liquid-phase microextraction" *Chemosphere*, 60: 690-698 (2005).

Clayton, B'H., Brisbin, J.A., Sutton, K. L. and Caruso., J. A., "New approaches for elemental speciation using plasma mass spectrometry." *Am. Lab.*, 32(3):17-32 (2000).

Craig, P., "Organometallic Compounds in the Environment", *Longman Group Ltd.*, Harlow, 229-253 (1986).

Craig, P.J, Organometallic compounds in the environment, principles and reaction, 2nd ed, **John Wiley & Sons**, U.K. (2003).

Colombini, V., Bancon-Montigny, C., Yang, L., Maxwell, P., Sturgeon, R.E., Mester, Z.," Headspace single drop microextraction for the detection of organotin compounds", **Talanta.**, 63: 555-560 (2004).

Çekiç, S.D., Filik, H., Apak, R., "Use of an o-aminobenzoic acid-functionalized XAD-4 copolymer resin for the separation and preconcentration of heavy metal(II) ions", **Anal. Chim. Acta** 505: 15-24 (2004).

Dadfarnia, S., Green, I., McLeod, C.W., "On-line preconcentration and determination of lead by fibrous alumina and flow injection–atomic absorption spectrometry" **Anal. Proc.**, 31: 61 (1994).

De Diego, A., Tseng, C.M., Stoichev, T., Amouroux, D., Donard, O. F. X., "Interferences during mercury speciation determination by volatilization, cryofocusing, gas chromatography and atomic absorption spectroscopy: comparative study between hydride generation and ethylation techniques". **J. Anal. At. Spectrom.**, 13: 623 – 629 (1998).

Dietz, C., Sanz, J., Sanz, E., Muñoz-Olivas, R., Cámara, C., "Current perspectives in analyte extraction strategies for tin and arsenic speciation. Review", **J. Chromatogr. A**, 1153: 114–129 (2007).

Dogru, M., Guven, R.G., Erdogan, S., "The use of *Bacillus subtilis* immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent in trace metal determination", **J Hazard. Mater.**, 149(1): 166-173 (2007).

Dopico-García, M.S., Valentão, P., Jagodzińska, A., Klepczyńska, J., Guerra, L., Andrade, P.B. and Seabra, R.M., "Solid-Phase Extraction Versus Matrix Solid-Phase Dispersion: Application to White Grapes", **Talanta**, 74(1): 20-31, (2007).

Ebdon, L., Pitts, L., Cornelis, R., Crews, H., Donard, O.F.X., Quevauviller, P., "Trace Element Speciation for Environment, Food and Health", 1st Ed **Royal Society of Chemistry**, UK, 2001.

Encinar, J.R., González, P.R., Alonso, J.I.G., Sanz-Medel, A., " Isotopically-labelled compounds for validating organometallics speciation analysis", **TRAC , Trend. Anal. Chem.**, 22(2): 108-114, (2003).

Ertuş, Ö.S., Kayalı, A., "Analitik yöntem geçerliliğine genel bir bakış - an overview on analytical method validation", **Ankara Ecz. Fak. Derg.**, 34(1): 37 – 57 (2005).

European Council Directive 76/464/EEC on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the Community **European Council Directive** (OJ L 129, 18.05.1976, p. 23) (1976).

European Council Directive 2006/11/EC of the European Parliament and the Council on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the **European Council Directive** (Codified version) (OJ L 64, 04.03.2006, p. 52) (2006).

European Council Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for Community action in the field of water policy, " **Water Framework Directive**", (OJ L 327, 22.12).(2000).

European Council Directive 76/769/EEC, "Restrictions on the marketing and use of organostannic compounds for the purpose of adapting its Annex I to technical progress" (notified under document number C(2009) 4084) (2009/425/EC) **European Council Directive** (2009).

European Commission Regulation 466/2001/EC (amended by Regulation 221/2002/EC) **European Commission Regulation** (2001).

European Food Safety Authority, **The EFSA Journal**, 102: 1-119, (2004).

FAO/WHO **Joint Expert Committee on Food Additives** (JECFA), 61st meeting, "Summary and Conclusions"(2003).

Fan, Z., Zhou, W., "Dithizone-chloroform single drop microextraction system combined with electrothermal atomic absorption spectrometry using Ir as permanent modifier for the determination of Cd in water and biological samples", **Spectrochim. Acta B**, 61: 870-874 (2006).

Fragueiro, S., Lavilla, I., Bendicho, C., "Headspace sequestration of arsine onto a Pd(II) containing aqueous drop as a preconcentration method for electrothermal atomic absorption spectrometry", **Spectrochim. Acta Part B**, 59: 851-855 (2004).

Fragueiro, S., Lavilla, I., Bendicho, C., "Hydride generation headspace single drop microextraction electrothermal atomic absorption spectrometry method for determination of selenium in waters after photoassisted prereduction", **Talanta**, 68: 1096-1101 (2006).

Fromme, H., Mattulat, A., Lahrz, T., and Ruden, H., "Occurrence of organotin compounds in house dust in Berlin (Germany)", **Chemosphere**, 58(10): 1377–1383 (2005).

Ghaedi, M., Fathi, M.R., Marahel, F., Ahmadi, F., "Simultaneous preconcentration and determination of copper, nickel, cobalt and lead ions content by flame atomic absorption spectrometry", **Fresen. Environ. Bull.**, 14: 1158-1163. (2005).

Ghaedi, M., Ahmadi, F., Karimi, H., Gharaghani, S., "Preconcentration and Extraction of Copper on Activated Carbon using 4- Amino-2, 3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazoline or 4-(4- methoxy benzylidenimin) thiophenole", **J. Korean Chem. Soc.**, 50: 23–31 (2006).

Gil, S., Fragueiro, S., Lavilla, I., Bendicho, C., "Determination of methylmercury by electrothermal atomic absorption spectrometry using headspace single drop microextraction with in situ hydride generation", **Spectrochim. Acta B**, 60: 145-150 (2005).

Gil, S., de Loos-Vollebregt, T.C., Bendicho, C., " Optimization of a single drop microextraction method for multielemental determination by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry following in situ vapor generation", **Spectrochim. Acta B**, 64: 208-214 (2009).

Grdinic, V., Vukovic, J., "Prevalidation in pharmaceutical analysis, part 1, Fundamentals and critical discussion", **J. Pharm. Biomed. Anal.**, (35): 489-512 (2004).

Green, J.M., "A practical guide to analytical method validation", **Anal. Chem. News & Features**, (1): 305A-309A (1996) .

Gomez-Ariza, J. L., Morales, E. , Giraldez, I., Sanchez-Rodas D., Velasco A., "Sample treatment in chromatography-based speciation of organometallic pollutants", **J. Chromatogr. A**, 938: 211–224 (2001).

Hoch, M., "Organotin compounds in environment - an overview", **Appl. Geochem.**, 16: 719-743 (2001).

Huck, W., Bonn, G. K., " Recent Developments in Polymer-Based Sorbents for Solid Phase Extraction", **J. Chromatogr. A**, 885: 51-72 (2000).

Jarvis, K. E.; Gray, A. L.; and Houk, R. S. Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Chapman and Hall**: New York. (1992).

Jeannot, M.A., Cantwell, F.F., "Solvent microextraction into a single drop", ***Anal. Chem.***, 68(13): 2236-2240 (1996).

Jeannot, M.A., Cantwell, F.F., "Mass transfer characteristics of solvent extraction into a single drop at the tip of a syringe needle", ***Anal. Chem.***, 69: 235-239 (1997).

Jiang, H., Hu, B., Chen, B., Zu, W., "Hollow fiber liquid phase microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination of ethylmercury in human hair and sludge samples", ***Spectrochim. Acta B***, 63: 770–776 (2008).

Jiang, H., Hu, B., "Determination of trace Cd and Pb in natural waters by direct SDME combined with GFAAS", ***Microchim. Acta***, 161: 101–107 (2008).

Jones-Lepp, T.L., Vamer, K.E., Hilton, B.A., "Speciation and detection of organotins from PVC pipe by micro-liquid chromatography-electrospray-ion trap mass spectrometry", ***Appl. Organomet. Chem.***, 15(12): 933-938 (2001).

Kalfa, O. M., Yalcinkaya, O., Turker, A. R., "Synthesis of nano B₂O₃/TiO₂ composite material as a new solid phase extractor and its application to preconcentration and separation of cadmium", ***J. Hazard. Mater.***, 166: 455-461(2009).

Kungolos, A., Hadjispyrou, S., Samaras, P., Petala, M., Tsiridis, V., Aravossis, K., Sakellaropoulos, G. P., "Assessment of toxicity and bioaccumulation of organotin compounds" Proceedings of the 7th ***International Conference on Environmental Science and Technology***, pp. 499 – 505, 2001

Kuşçu, M., "Akış enjeksiyon analizi ile su numunelerinden kurşunun giderilmesi ve zenginleştirilmesi", Yüksek Lisans Tezi, ***Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, (2008).

Landmeyer, J., Tanner, T.L., Watt, B.E., "Biotransformation of tributyltin to tin in freshwater river-bed sediments contaminated by an organotin release", ***Environ. Sci. Technol.***, 38: 4106-4112 (2004).

Lambropoulou, D. A., Psillakis, E., Albanis, T.A., Kalogerakis, N., "Single-drop microextraction for the analysis organophosphorus insecticides in water". ***Anal. Chim. Acta***, 501: 3-10 (2004).

Li, L., Hu, B., Xia, L., Jiang, Z., "Determination of trace Cd and Pb in environmental and biological samples by ETV-ICP-MS after single drop microextraction", ***Talanta***, 70: 468-473 (2006).

Liang, P., Liu, R., Cao, J., "Single drop microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for determination of lead in biological samples", *Microchim. Acta*, 160: 135-139 (2008).

Lin, M.Y., Whang, C.W., "Microwave-assisted derivatization and single drop microextraction for gas chromatographic determination of Cr(III) in water", *J. Chromatogr. A*, 1160: 336-339 (2007).

Liu, H., Dasgupta, P.K., "Analytical chemistry in a drop", *TRAC Trend. Anal. Chem.*, 15(9): 468-475 (1996).

Liu, J.F., Chi, Y.G., Jiang, G.B., "Screening the extractability of some typical environmental pollutants by ionic liquids in liquid-phase microextraction", *J. Sep. Sci.*, 28: 87-91 (2005).

Liu, W., Lrr, H.K., "Continuous-Flow Microextraction exceeding 1000-fold concentration of dilute analytes", *Anal. Chem.*, 72: 4462-4467 (2000).

L'vov, B.V., "A personal view of the evolution of graphite furnace atomic absorption spectrometry", *Anal. Chem.*, 63(19): 924A-931A (1991).

L'vov, B.V., "Forty years of electrothermal atomic absorption spectrometry. Advances and problems in theory", *Spectrochim. Acta B*, 52: 1239-1245 (1997).

McCarty, L.S., Borgert, C.J., "Review of the toxicity of chemical mixtures: Theory, policy, and regulatory practice", *Regul. Toxicol. Pharm.*, 45: 119-143 (2006).

Magos, L., "Handbook on the toxicology of metals" (2nd Ed), Editors; Friberg, L., Nordberg, G.F., Vouk, V., *Elsevier*, New York, 568-593 (1986).

Mizuike, A., "Enrichment techniques for inorganic trace analysis", *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg, New York, 5,6 (1983).

Monperrus, M., Rodriguez Martin-Doimeadios, R.C., Scancar, J., Amouroux, D., Donard, O.F.X., "Simultaneous sample preparation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis of monomethylmercury and tributyltin in a certified oyster tissue", *Anal. Chem.*, 75 (16): 4095-4102 (2003).

Monperrus, M., Guyoneaud, R., Tessier, E., Duran, R., Goni, M., Amouroux, D., Donard, O.F.X., Caumette, G., "Mercury methylation rates in coastal sediments versus microbial diversity and specific activity", *J. Phys. IV France*, 107: 883-886 (2003).

Monperrus, M., Krupp, E., Amouroux, D., Donard, O.F. Rodriguez Martin-Doimeadios, R.C., "Potential and limits of speciated isotope-dilution analysis for metrology and assessing environmental reactivity". *Trend. Anal. Chem.*, 23: 261-272 (2004).

Morit, M., Yoshinag, J., Edmonds, J.S., "The determination of mercury species in environmental and biological samples (technical report)", *Pure & Appl. Chem.*, 70(8): 1585-1615 (1998).

NRC-The US National Research Council "Established an intake limit, Committee on the Toxicological Effects of Methylmercury", *US NRC* (2000).

Nazari, S., "Determination of trace amounts of Cd by modified graphitefurnace atomic absorption spectrometry after liquid phase microextraction", *Microchem. J.*, 90: 107-112 (2008).

Negri, P., Hales, L.T., Battershill, C., Wolff, C., Webster, N.S., "TBT contamination identified in Antarctic marine sediments", *Mar. Pollut. Bull.*, 48(11-12): 1142-1144 (2004).

Nikolaou, A.D., Gatidou, G.M., "A one-year survey of organotin compounds in the reservoirs supplying the drinking water treatment plants of Athens, Greece", *Desalination*, 210(1-3): 24-30 (2007).

NRC, National Research Council. Toxicological Effects of Methylmercury. Committee on The Toxicological Effects of Methylmercury, Board on Environmental Studies and Toxicology (2000).

Omae, I., "Organotin antifouling paints and their alternatives", *Appl. Organomet. Chem.*, 17(2): 81-105 (2003).

Parkinson, D. R., Bruheim, I., Christ, I., Pawliszyn, J." Full automation of derivatization-solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry with a dual-arm system for the determination of organometallic compounds in aqueous samples". *J. Chromatogr. A*, 1025: 77-84 (2004).

Pawliszyn, J., "Sampling and sample preparation for field and laboratory", *Elsevier*, Amsterdam, 479-502 (2002).

Pena Pereira, F. J., Bendicho, C., Kalogerakis, N., Psillakis, E., "Headspace single drop microextraction of methylcyclopentadienyl-manganese tricarbonyl from water samples followed by gas chromatography-mass spectrometry" *Talanta*, 74: 47-51 (2007).

Pena, F., Lavilla, I., Bendicho, C., "Immersed single drop microextraction interfaced with sequential injection analysis for determination of Cr(VI) in natural waters by electrothermal atomic absorption spectrometry", ***Spectrochim. Acta B***, 63: 498-503 (2008).

Pena-Pereira, F., Lavilla, I., Bendicho, C., "Miniaturized preconcentration methods based on liquid-liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review", ***Spectrochim. Acta B***, 64:1-15 (2009).

Psillakis, E., Kalogerakis, N., "Application of solvent microextraction to the analysis of nitroaromatic explosives in water samples", ***J. Chromatogr. A***, 907: 211-219 (2001).

Psillakis, E., Kalogerakis, N., "Developments in single drop microextraction", ***TRAC Trend. Anal. Chem.***, 21(1): 54-63 (2002).

Psillakis, E., Kalogerakis, N., "Developments in liquid phase microextraction", ***TrAC Trends Anal. Chem.***, 22: 565-574 (2003).

Psillakis, E., Kalogerakis, N., "Hollow-Fibre Liquid-Phase Microextraction of phthalate esters from water", ***J. Chromatogr. A***, 999: 145-153 (2003).

Ratola, N., Alves, A., Kalogerakis, N., Psillakis, E., "Hollow fibre liquid phase microextraction: A simple and fast cleanup step used for PAHs determination in pine needles" ***Anal. Chim. Acta***, 618(1): 70-78 (2008).

Richardson, W.L., Ryason, P.R., Kautsky, G.J., Barusch, M.R., "Organolead antiknock agents - Their performance and mode of action", ***Symposium (International) on Combustion***, 9(1): 1023-1033 (1963).

Rodríguez Martín-Doimeadios, R.C., Tessier, E., Amouroux, D., Guyoneaud, R., Duran, R., Caumette, P., Donard, O.F.X., "Mercury methylation/demethylation and volatilization pathways in estuarine sediment slurries using species-specific enriched stable isotopes", ***Mar. Chem.***, 90: 107-123 (2004).

Sadiki, L.I., Williams, D.T., "a study on organotin levels in Canadian waters distributed through PVC pipes", ***Chemosphere***, 38: 1541-1548 (1999).

Schubert, P., Rosenberg, E., Grasserbauer, M., "Comparison of sodium tetraethylborate and sodium tetra(n-propyl)borate as derivatization reagent for the speciation of organotin and organolead compounds in water samples", ***Fresen. J. Anal. Chem.***, 366(4): 356-360 (2000).

Shioji, H., Tsunoi, S., Harino, H., Tanaka, M., "Liquid phase microextraction of tributyltin and triphenyltin coupled with gas chromatography tandem mass spectrometry", **J. Chromatogr. A**, 1048: 81-88 (2004).

Shum, Sam. C.K., Houk, R.S., "Elemental speciation by anion exchange and size-exclusion chromatography with detection by inductively coupled plasma mass spectrometry with direct injection nebulization", **Anal. Chem.**, 65(21): 2972-2976, (1993).

Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A., "Enstrümantal Analiz İlkeleri". **Bilim Yayıncılık** (1998).

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., "Analitik Kimya Temelleri, Cilt 1", **Bilim Yayıncılık**, Ankara, 619-620 (1999).

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., "Analitik Kimya Temelleri, Cilt 2", **Bilim Yayıncılık**, Ankara, 619-620 (1999).

Slavin, W., Manning, D.C., "The L'vov platform for furnace atomic absorption analysis", **Spectrochim. Acta B**, 35(11-12): 701-714 (1980).

Soylak, M., Tuzen, M., Narin, I., " Solid phase extraction of iron and lead in environmental matrices on amberlite xad-1180/pv", **Quim. Nova**, 29(2): 203-207,(2006).

Spehar, R. L., Fiandt, J.T. , Anderson, R. L. and DeFoe, D. L., "Comparative toxicity of arsenic compounds and their accumulation in invertebrates and fish", **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 9(1): 53-63 (1980).

Staniszewska, M., Radke, B., Namiesnik, J., Bolalek, J., "Analytical methods and problems related to the determination of organotin compounds in marine sediments", **Intern. J. Environ. Anal. Chem.**, 88(11): 747-774 (2008).

Stein, E.D., Cohen, Y., Winer, A.M., "Environmental distribution and transformations of mercury compounds", **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.**, 26: 1-43, (1996).

Szpunar, J., McSheedy, S., Polec, K., Vacchine, V., Mounicou, S., Rodriguez, I., Lobinski, R., "Gas and liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry detection for environmental speciation analysis-advances and limitations", **Spectrochim. Acta B**, 55(7): 779-793 (2000).

Tankeviciute, A., Kazlauskas, R., Vickackaite, V., "Headspace extraction of alcohols into a single drop". **Analyst**, 126: 1674 – 1677 (2001).

Theis, A.I., Waldack, A.J., Hansen, S.M., Jeannot, M.A., "Headspace solvent microextraction", ***Anal. Chem.***, 73: 5651-5654 (2001).

Vazquez M.J.; Abuin M.; Carro A.M.; Lorenzo R.A.; Cela R., "Experimental design approach for the extraction of methylmercury from certified reference materials using microwave energy", ***Chemosphere***, 39(7): 1211-1224, (1999).

Venkatesh, G., Singh, A.K., "2-[[1-(3,4-Dihydroxyphenyl)methylidene]amino]benzoic acid immobilized Amberlite XAD-16 as metal extractant", ***Talanta***, 67(1): 187-194, (2005).

Vidal, L., Canals, A., Kalogerakis, N., Psillakis, E., "Headspace single-drop microextraction for the analysis of chlorobenzenes in water samples" ***J. Chromatogr. A***, 1089: 25-30 (2005).

Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S., "Enstrümantel Analiz Yöntemleri", ***Hacettepe Üniversitesi Yayınları*** A.64, Ankara (1993).

Watanabe, M., Hashimoto, S., Fujita, K., Otsuki, A., "Offshore Environment of the KOPME Sea Area after the War-Related Oil Spill", ***Terra Scientific Publishing Company*** (TERRAPUB) 231-244 Tokyo, (1998).

Welz, B., Atomic Absorption Spectrometry, Second Ed. ***Wiley-VCH, Verlag GmbH & Co. KgaA***, Weinheim 19-349 (1985).

Welz, B., Sperling, M. "Atomik Absorption Spectrometry", ***Wiley-VCH, Verlag GmbH & Co. KgaA***, Weinheim (1999).

Welz, B., Becker-Ross, H., Florek, S., Heitmann, U., "High-Resolution Continuum Source AAS The better way to do atomic absorption spectrometry", ***Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA***, Weinheim (2005).

Wu, Y., Hu, B., Hou, Y., "Headspace single drop and hollow fiber liquid phase microextractions for HPLC determination of phenols", ***J. Sep. Sci.***, 31(21): 3772-3781 (2008).

Xia, L., Hu, B., Jiang, Z., Wu, Y., Liang, Y., "Single drop microextraction combined with low-temperature electrothermal vaporization ICP/MS for the determination of trace Be, Co, Pd, Cd in biological samples", ***Anal. Chem.***, 76: 2910-2915 (2004).

Xiao, Q., Hu, B., He, M., "Speciation of butyltin compounds in environmental and biological samples using headspace single drop microextraction coupled with gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry", ***J. Chromatogr.A***, 1211: 135-141 (2008).

Xu, L., Basheer, C., Lee, H.K., "Developments in single-drop microextraction Advances in Sample Preparation - Part I", **J Chromatogr. A**, 1152(1-2): 184-192 (2007).

Yalçinkaya, Ö. "Bazı eser elementlerinaluminyum oksit/tek duvarlı karbon naotüp ve zirkonyum oksit/bor oksit nano malzemeleri kullanılarak katı faz özütleme tekniği ile zenginleştirilmesi ve tayini", Doktora Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, (2010).

Yurtsever, D., "Determination of zinc in human serum and plasma with discrete nebulization AAS and computer interface" , Yüksek lisans Tezi, **ODTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü**, (1984).

Zhou, Q., Liu, J., Cai., Y., Liu, G., Jiang, G., "Micro-porous membrane liquid–liquid extraction as an enrichment step prior to nonaqueous capillary electrophoresis determination of sulfonylurea herbicides" , **Microchem. J.**, 74: 157–163 (2003).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı :SARICA, Deniz (Yurtsever)
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 25.05, Ankara
 Medeni hali : Evli, bir kızım var
 e-mail : dysarica@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	ODTÜ /Kimya Bölümü	1984
Lisans	ODTÜ/ Kimya Bölümü	1982
Lise	TED Ankara Koleji	1976

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2010 -	LÖSEV Gıda Araştırma Lab	Laboratuvar Direktörü
1995 -2010	TÜBİTAK/ATAL	Uzman Araştırmacı
1993-1995	HAVELSAN	Proje Koordinatörü
1986-1990	MTU/Michigan Tech Univ	Research Scientist
1982-1986	ODTÜ/ Kimya Bölümü	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce (Çok iyi); Almanca (iyi)

Yayınlar - Bildiriler

- 1.** Sarıca, D.Y., “Comparative Methods For The Determination of Selenium in Chicken Eggs, Raisin And Dried Figs Produced in Turkey”, 5th Black Sea Conference on Analytical Chemistry, Fatsa, 2009.
- 2.** Budak, Ş.Ö., Avcı, B., Sarıca, D.Y., Senyuva, H.Z., “Pul biber’de toksijenik küflerin izolasyonu, tanımlanması ve oluşturduğu sekonder metabolitler ile kurşun (Pb) ve nitrat’ın karakterizasyonu”, 7th Turkish Toxicology Association Congress with International Participants, Ankara, 2009.
- 3.** Sarıca, D.Y., Türker, A.R., “Selenium and Arsenic Determinations via Hydride Generation Headspace Single Drop Microextraction (HS-SDME) Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry”, XI Ulusal Spektroskopi Kongresi-GÜ, Ankara 2009.
- 4.** Sarıca, D. Y., Avcı, B., Eldemir, N., “Selenium determination by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrophotometry (HG-AAS) in Chicken Eggs, Raisin and Dried Figs Produced in Turkey”, 3rd International Congress on Food & Nutrition, Antalya 2009.
- 5.** Yakupoğlu, D., Güray, T., Sarıca, D.Y., Kaya, Z., “Determination of Airborne Lead Contamination in Cichorium intybus L. in an Urban Environment”, Turk. J. Botany, 32: (319-324), 2008.
- 6.** Sarıca, D.Y., Türker, A.R.,” Method Validation for the Determination of Lead in raw cow’s milk by Electrothermal Atomic absorption Spectrometry (ETA-AAS) “, Annali di Chimica, 97: (983-993) 2007.
- 7.** Sarıca, D.Y., Erol, E., Türker, A.R.,” On-Line Speciation and Determination Of Cr(III) And Cr(VI) By High Performance Liquid Chromatography Coupled With Atomic Absorption Spectrometry (HPLC-AAS)”, J.Sep. Sci.,29 : (1600-1606) 2006.
- 8.** Sarıca, D.Y., Erol, E., Türker, A.R.,” On-Line Speciation and Determination Of Cr(III) And Cr(VI) By High Performance Liquid Chromatography Coupled With Atomic Absorption Spectrometry (LC-AAS)”, 10th Workshop on Progress in Analytical Methodologies in Trace Metal Speciation, p:100, Luksemburg 2005
- 9.** Sarıca, D.Y., Akım, D., Özden, T., “Determination of Zinc in aerosol samples using Discrete Nebulization FAAS”, Turk J. Chem, 26(2) (263-269) 2002.

10. Senyuva, H., Sarıca, D.Y., Özden, T., “Simultaneous determination of Fe(II) and Fe(III) in pharmaceutical samples by post column derivatization / HPLC”, Turk J. Chem, 26(3) (425-430) 2002.
11. Sarıca, D.Y., Ertaş, N.,” Flow Injection Analysis for Boron Determination by using Methyl Borate generation and FlameAtomic Emission Spectrometry”, Turk J. Chem, 25 (305-310) 2001.
12. Senyuva, H.Z., Sarıca, D.Y., Özden, T., “High performance liquid chromatographic determination of Oxytetracycline residue in cured meat products”, Turk J. Chem, 24 (395-400) 2000.

Projeler

1. FP6- STREP Project “DEVELONUTRI - Development of high throughput approaches to optimise the nutritional value of crops and crop-based foods” 2010
2. Sanin, S., Sarıca, DY., Uzun, Ş., Çeliker, V., Aypar, Ü., TÜBİTAK Projesi, ÇAYDAG-104Y273 “Yeni nesil anestezi gazlarının örnek toplama ve analizleri için metod validasyonu, geliştirilmesi ve karşılaştırılması” Ekim 2008
3. Bizsel, N., Sarıca, DY., TÜBİTAK Projesi, ÇAYDAG-107Y228, “ Gediz nehri ağzında Selenyum dağılımı“, Haziran, 2008

Hobiler

Müzik, yürüyüş, bilgisayar, okumak, klasik müzik, sinema, ailemle birlikte olmak.