

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ICP-OES KULLANILARAK BİTKİLERDEKİ MAKRO VE MİKRO
ELEMENTLERİN BİRLİKTE TAYİNİNDE ÇOK DEĞİŞKENLİ
KALİBRASYON TEKNİKLERİNİN UYGULANMASI**

Özlem Bengü DAŞ

KİMYA ANABİLİM DALI

**ANKARA
2013**

Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ICP-OES KULLANILARAK BİTKİLERDEKİ MAKRO VE MİKRO ELEMENTLERİN BİRLİKTE TAYİNİNDE ÇOK DEĞİŞKENLİ KALİBRASYON TEKNİKLERİNİN UYGULANMASI

Özlem Bengü DAŞ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Adnan KENAR

Bu çalışmada, bitkilerde bulunan bazı makro (Ca, K ve Mg) ve mikro (Cu, Fe, Mn ve Zn) elementlerin, ICP-OES cihazı kullanılarak, birlikte tayininde çok değişkenli kalibrasyon tekniklerinin uygulanması (CLS, PCR ve PLS1) ve bu yöntemle elde edilen sonuçların, tek değişkenli kalibrasyon teknikleriyle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Bitki yaprak örnekleri sülfürik asit ve hidrojen peroksit ile yaş yakma yöntemine göre çözünürleştirilmiştir. Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn elementlerinin ICP-OES ile tayin yönteminin doğruluğu standart referans şeftali yaprağı (NIST 1547) ile kontrol edilmiştir. Tek değişkenli kalibrasyon tekniğinde 7 farklı dalga boyunda, çok değişkenli kalibrasyon tekniğinde ise 129 farklı dalga boyunda çalışılmıştır. Kalibrasyon çözeltilerinin çapraz validasyonu sonucunda, çok değişkenli kalibrasyon tekniklerinden PLS1'in en iyi yöntem olduğu belirlenmiştir. Sentetik karışımlardan elde edilen % geri kazanım sonuçları tek değişkenli kalibrasyon tekniğinde; Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn için sırasıyla; 139,77; 126,92; 103,99; 69,10; 134,16; 124,19 ve 171,77; PLS1 yönteminde ise sırasıyla; 106,67; 99,75; 94,21; 95,54; 95,02; 99,00 ve 106,78 olarak bulunmuştur. %95 ve % 99 güven seviyesindeki t- testi sonucunda tek değişkenli kalibrasyon ile PLS1 yöntemi arasında anlamlı bir fark olduğu bulunmuş ve ICP-OES için PLS1 yönteminin daha uygun bir yöntem olduğu belirlenmiştir.

Şubat 2013, 65 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kemometri, çok değişkenli kalibrasyon, makro elementler, mikro elementler, bitki, birlikte tayin

ABSTRACT

Master Thesis

THE APPLICATION OF MULTIVARIATE CALIBRATION TECHNIQUES FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF MACRO AND MICRO ELEMENTS IN PLANTS USING ICP-OES

Özlem Bengü DAŞ

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Adnan KENAR

In this study, some of the macro (Ca, K ve Mg) and micro (Cu, Fe, Mn ve Zn) elements found in plants using ICP-OES device, the determination of the application of multivariate calibration techniques (CLS, PCR and PLS1) and the results obtained by this method is to compare the results of the univariate calibration techniques. Leaf samples were prepared by wet digestion method using H₂SO₄ and H₂O₂. Determination of Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn by ICP-OES method were checked with reference standard peach leaves (NIST 1547). As the univariate calibration technique was studied at 7 different wavelengths, multivariate calibration technique was studied at 129 different wavelengths. As a result of cross-validation of the calibration solutions, multivariate calibration techniques were the best, PLS1. The results of obtained from the % recovery of synthetic mixtures of univariate calibration technique for Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn and Zn were 139,77; 126,92; 103,99; 69,10; 134,16; 124,19 and 171,77 and at the PLS1 method 106,67; 99,75; 94,21; 95,54; 95,02; 99,00 and 106,78 respectively. As a result of student t-test at confidence level of 95% or 99%, significant differences were found between univariate calibration method and PLS1 and the PLS1 method was determined as a suitable method for ICP-OES.

February 2013, 65 sayfa

Key Words: Chemometrics, Multivariate Calibration, Macro Elements, Micro Elements, Plants, Simultaneous Determination

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimdeki çalışmalarımın planlanması ve yürütülmesinde yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Adnan KENAR' a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmalarım süresince bilgilerini, tecrübesini ve desteğini esirgemeyen bölüm başkanım Dr. Erdiñ UYSAL 'a ve Ziraat Yüksek Mühendisi Barış ALBAYRAK'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımda bilgilerini, tecrübesini ve dostluğunu tüm içtenliğiyle benimle paylaşan Ziraat Yüksek Mühendisi Nesrin KURTAR BOZBIYIK, Dr. Sevinç Seçil ERDOĞAN ve Ziraat Yüksek Mühendisi Burcu YAVUZ'a teşekkür ederim.

Yüksek lisansım süresince yardımlarını esirgemeyen yüksek lisans dönem arkadaşım, değerli meslektaşım Nedim GÜRLER'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca destek ve sevgilerini esirgemeyen canım anne ve babama teşekkür ederim.

ÖZLEM BENGÜ DAŞ

Ankara, Şubat 2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Bitki Analizlerinin Önemi	2
1.2 Bitki Analizlerinin Amacı.....	3
1.3 Bitki Analizlerinin Faydaları	5
1.4 Bitki Besin Elementlerinin Tanımı ve İşlevleri	6
1.4 Bitki Besin Elementleri Hakkında Genel Bilgiler	8
1.5.1 Bakır elementi	8
1.5.1.1 Bakır noksanlığında meydana gelen değişimler	9
1.5.1.2 Bakır fazlalığında meydana gelen değişimler	10
1.5.2 Kalsiyum elementi.....	10
1.5.2.1 Kalsiyum noksanlığında meydana gelen değişimler	10
1.5.2.2 Kalsiyum fazlalığında meydana gelen değişimler	11
1.5.3 Demir elementi	11
1.5.3.1 Demir noksanlığında meydana gelen değişimler.....	12
1.5.3.2 Demir fazlalığında meydana gelen değişimler.....	13
1.5.4 Potasyum elementi	13
1.5.4.1 Potasyum noksanlığında meydana gelen değişimler.....	13
1.5.4.2 Potasyum fazlalığında meydana gelen değişimler.....	14
1.5.5 Magnezyum elementi	14
1.5.5.1 Magnezyum noksanlığında meydana gelen değişimler	14
1.5.5.2 Magnezyum fazlalığında meydana gelen değişimler	15
1.5.6 Mangan elementi	15
1.5.6.1 Mangan noksanlığında meydana gelen değişimler	15
1.5.6.2 Mangan fazlalığında meydana gelen değişimler	16

1.5.7 Çinko elementi.....	16
1.5.7.1 Çinko noksanlığında meydana gelen değişimler	17
1.5.7.2 Çinko fazlalığında meydana gelen değişimler	17
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	18
3. KURAMSAL TEMELLER.....	22
3.1 Kemometri	22
3.2 Tek Değişkenli Kalibrasyon Tekniği	23
3.3 Çok Değişkenli Kalibrasyon Tekniği.....	23
3.3.1 Çok değişkenli kalibrasyon algoritmaları.....	24
3.3.1.1 Klasik en küçük kareler yöntemi.....	24
3.3.1.2 Ters en küçük kareler yöntemi	26
3.3.1.3 Temel bileşen regresyon yöntemi.....	27
3.3.1.4 Kısmi en küçük kareler yöntemi.....	28
3.4 İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES).....	31
3.4.1 ICP-OES cihazı	31
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	35
4.1 Kullanılan Cihazlar	35
4.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	36
4.3 Kullanılan Yaprak Numuneleri.....	36
4.4 Kullanılan Referans Madde Numunesi.....	36
4.5 Kalibrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması	37
4.5.1 Tek değişkenli kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması	37
4.5.2 Çok değişkenli kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması.....	37
4.6 Sentetik Numune Çözeltilerinin Hazırlanması.....	39
4.7 Yaprak Numunelerinin Analize Hazırlanması.....	39
4.8 Standart Referans Maddenin Hazırlanması.....	40
4.9 Standart Ekleme Yöntemine Göre Numune Hazırlama.....	40
4.10 ICP-OES ile Element Analizi	40
5. BULGULAR VE TARTIŞMA	42
5.1 Tek Değişkenli Kalibrasyonla Elde Edilen Sonuçlar	42
5.2 Çok Değişkenli Kalibrasyonla Elde Edilen Sonuçlar	43

5.2.1 Kemometrik yöntemlerin çapraz validasyonu	43
5.3 Sentetik Numune Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	52
5.4 Gerçek Numune Sonuçlarının Değerlendirilmesi	56
5.5 Standart Ekleme Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi	56
5.6 Standart Referans Madde ile Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi.....	56
6. SONUÇLAR	59
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ.....	65

SİMGELER DİZİNİ

ATP	Adenozin trifosfat
C	Konsantrasyon
CARTs	Sınıflandırma ve regresyon analizi
CHAID	Ki-kare otomatik etkileşim dedektörü
CLS	Klasik en küçük kareler metodu
DA	Diskriminant analizi
HCA	Kümeleme analizi
ICP-OES	İndüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektroskopisi
ILS	Ters en küçük kareler metodu
iPLS	Kısmi en küçük kareler regresyon aralığı
LIBS	Lazer kaynaklı arıza spektrometresi
m	Eğim
NIST	Ulusal standartlar ve teknoloji enstitüsü
PCA	Temel bileşen analizi
PCR	Temel bileşen regresyonu
pH	Hidrojen iyonu derişiminin eksi logaritması
PLS	Kısmi en küçük kareler metodu
PLSR	Kısmi en küçük kareler regresyonu
PRESS	Tahmin edilen hata karelerinin toplamı
R ²	Korelasyon Katsayısı
RRMSE	Kare köklerin ortalama hatası
SEC	Kalibrasyonun standart hatası
UV-VİS	Ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Bitki yapraklarında bakır noksanlığı.....	9
Şekil 1.2 Bitki yapraklarında kalsiyum noksanlığı	11
Şekil 1.3 Bitki yapraklarında demir noksanlığı.....	12
Şekil 1.4 Bitki yapraklarında potasyum noksanlığı	14
Şekil 1.5 Bitki yapraklarında magnezyum noksanlığı	15
Şekil 1.6 Bitki yapraklarında mangan noksanlığı	16
Şekil 1.7 Bitki yapraklarında çinko noksanlığı	17
Şekil 3.1 ICP-OES cihazının yapısı	31
Şekil 3.2 Atomlaşma ve uyarılmanın şematik gösterimi	32
Şekil 3.3 indüktif eşleşmiş plazmanın yapısı	33
Şekil 5.1 Bakır için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi	45
Şekil 5.2 Kalsiyum için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi.....	46
Şekil 5.3 Demir için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi	47
Şekil 5.4 Potasyum için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi	48
Şekil 5.5 Magnezyum için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi	49
Şekil 5.6 Mangan için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi	50
Şekil 5.7 Çinko için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi.....	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Bitki besin elementlerinin makro ve mikro olarak sınıflandırılması	6
Çizelge 1.2 Besin elementlerinin hareketliliği	7
Çizelge 1.3 Besin elementleri arasındaki etkileşimler	8
Çizelge 4.1 ICP-OES cihazının çalışma koşulları.....	35
Çizelge 4.2 Hazırlanan çözeltilerde kullanılan kimyasal maddeler	36
Çizelge 4.3 Tek değişkenli kalibrasyon çözeltilerindeki elementlerin derişimleri, mg/L	37
Çizelge 4.4 Çok değişkenli kalibrasyon çözeltilerindeki elementlerin seviye değerleri, mg/L	38
Çizelge 4.5 Çok değişkenli kalibrasyon çözeltileri için kemometrik tasarım.....	38
Çizelge 4.6 Çok değişkenli kalibrasyon çözeltilerindeki elementlerin derişimleri, mg/L	39
Çizelge 4.7 Çok değişkenli kalibrasyon yönteminde çalışılan dalga boyları.....	41
Çizelge 5.1a Standart referans madde ile doğruluk analizi.....	42
Çizelge 5.1b Sentetik numuneler ile doğruluk analizi	42
Çizelge 5.2 Kalibrasyon çözeltilerinin PRESS, SEC, R2 değerleri ve karşılaştırma grafiklerinin eğimi (m)	44
Çizelge 5.3 Sentetik numunelerin tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemlerinden elde edilen % geri kazanım sonuçları (N=5).....	53
Çizelge 5.4 Sentetik numunelerin tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemleri kullanılarak %95 güven seviyesinde elde edilen istatistiksel sonuçlar (N=5)	54
Çizelge 5.5 Sentetik numunelerin tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemleri kullanılarak %99 güven seviyesinde elde edilen istatistiksel sonuçlar (N=5)	55
Çizelge 5.6 Gerçek numunelerin %95 güven seviyesinde tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemi ile elde edilen sonuçları (N=5)	56
Çizelge 5.7 Tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemiyle standart ekleme teknîği kullanılarak elde edilen % geri kazanım sonuçları (N=5).....	57

Çizelge 5.8 Standart referans maddenin tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemlerinden elde edilen % geri kazanım sonuçları (N=5).....	58
--	----

1. GİRİŞ

Bir organizmanın gelişimi ve enerji kaynağı olarak ihtiyaç duyduğu kimyasal maddelere besin denilmektedir. Dünya üzerinde yaşayan her canlı gibi bitkilerde beslenmek zorundadır. Ancak, bitkiler diğer canlılardan farklı olarak geliştikleri ortamdan inorganik maddeleri alıp sentezleyerek organik madde yaparlar ve güneşin fiziksel enerjisini kimyasal gıda enerjisine dönüştürerek hayatsal faaliyetlerine devam ederler (Ülgen vd. 1980, Kacar ve Katkat 1998, Yıldız 2011).

Bitkinin başlıca besin kaynağı topraktır ve bitkiler besin kaynağı olan topraktan birçok element alır. Bitkilerin değişik organlarında 74 element olduğu belirlenmiştir. Ancak bunların çok az bir kısmı bitki gelişimi için mutlaka gerekli olan elementlerdir. Bitki gelişimi için mutlaka gerekli olan bitki besin elementlerine mutlak gerekli besin elementi denilmektedir. Bunlar; karbon (C), hidrojen (H), oksijen (O), azot (N), fosfor (P), potasyum (K), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), kükürt (S), demir (Fe), mangan (Mn), molibden (Mo), bakır (Cu), bor (B), çinko (Zn), klor (Cl), sodyum (Na), kobalt (Co), vanadyum (V) ve silisyum (Si)' dir (Kacar ve ark. 2002). Mutlak gerekli besin elementleri bitkideki bulunuş miktarlarına göre makro ve mikro besin elementleri olarak sınıflandırılmıştır. Bu tez çalışmasında makro besin elementlerinden Ca, Mg ve K; mikro besin elementlerinden ise Cu, Mn, Fe ve Zn üzerinde çalışılmıştır. Bu tez çalışmasında bitki besin elementi denildiğinde Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn elementlerinden bahsedilmiştir.

Bitkilerin sağlıklı gelişmeleri ve verim artışı için mutlak gerekli besin maddelerince dengeli beslenmesi gereklidir. Alınabilir formdaki besin elementlerinin bir veya daha fazlasının eksikliği toprak verimliliğini ve bitki gelişimini önemli oranda etkiler (Çetinkaya vd. 2010). Bu yüzden bitki analizleri, mutlak gerekli besin elementlerinin bitkideki miktarları hakkında bilgi sahibi olmak için önemlidir. Ayrıca bitki analizleri, gerek toprakta mevcut olan gerekse gübreye verilen besin maddelerinin bitkiye faydalı olup olmadığı, bitkiye alınımında bir problem ya da uygulanan gübreleme programının doğru olup olmadığı hakkında önemli bilgiler verir (Atalay 2009).

Bitki analizlerinde gravimetrik, volümetrik, fotometrik, alevfotometrik ve spektrometrik gibi yöntemler uygulanmaktadır (Kacar ve İnal 2008). Ancak günümüzde spektrometrik analiz yöntemleri sıklıkla tercih edilmektedir. Spektroskopik cihazlar pahalı, kullanımının zor ve zaman alıcı olması gibi dezavantajları olsa da, aynı anda birden fazla örneğin, birden fazla dalga boyunda analizine olanak sağlaması, duyarlılığının yüksek olması, değerlendirmenin çabuk ve kolay olması gibi nedenlerden dolayı tercih edilir. Son yıllarda analiz işlemlerinde doğruluğu, kesinliği ve güvenilirliği yüksek sonuçlara ulaşmak için yeni tekniklere ihtiyaç artmıştır. Enstrümantal yöntemlerin de gelişmesiyle birlikte veri sayısının artması istatistik ve matematiksel işlemlerin kullanımını gerektirmiştir. Bunun sonucu olarak da kemometrik yaklaşımlar analitik kimyada kullanılmaya başlanmıştır.

Bu tez çalışmasında bitkilerde bulunan makro ve mikro besin elementleri, ICP-OES cihazı kullanılarak, birlikte tayininde çok değişkenli kalibrasyon tekniklerinin uygulanması ve bu yöntemle elde edilen sonuçların tek değişkenli kalibrasyon teknikleri ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılması amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda tez kapsamındaki 7 element için birçok dalga boyunda okumalar yapılmış olup elde edilen verilere çok değişkenli kalibrasyon tekniklerinden, temel bileşen regresyonu (PCR), klasik en küçük kareler metodu (CLS) ve kısmi en küçük kareler metodu (PLS1) uygulanmıştır.

Bu çalışmanın amaçlarından bir diğeri de çok değişkenli kalibrasyon tekniklerini uygulayarak ICP-OES cihazının analitik performansını arttırmaktır.

1.1 Bitki Analizlerinin Önemi

Bitki analizleri, bitki gelişiminin ilk aşamalarında beslenme noksanlıklarının, fazlalıklarının ya da dengesizliklerinin ortaya konulmasında, gözle görülen belirtilerin doğrulanması ve buna göre gübre tavsiyesinde bulunulması açısından önemlidir. Ayrıca bitki analizleri ile bitkilerin mineral madde kapsamı belirlenebilir ve bitkinin yetiştirildiği toprağın verimlilik durumu da dolaylı olarak belirlenebilmektedir (Katkat ve Çil 1996).

Gübre, tarımsal üretimle topraktan uzaklaşan bitki besin elementlerini bitkinin yetişme ortamı olan toprağa geri kazandıran ve toprağın verimliliğini arttıran organik ve inorganik kökenli maddelerdir (Adiloğlu vd. 2010). Gübreleme ise, bitkinin ihtiyacı olan ile toprağın bitkiye verebileceği açığı karşılayacak miktarda besin elementinin ortama verilmesidir. Son yıllarda, gübre tavsiyesinde bitki analizlerinden de yararlanılmaktadır. Bitki analizleri, gelişme için mutlak gerekli olan besin elementlerinin bitki de normal gelişmeyi sağlayacak miktarda bulunmasına dayanmaktadır. Toprak analizlerini tamamlayıcı olan bitki analizleri, toprakta bulunan besin elementi miktarını değil, bitkinin alabildiği miktarları göstermektedir. Toprak analiz sonucunda toprakta yeterli miktarda besin elementi bulunsa bile bitki analizi sonucunda bu durum toprağın aksine yetersiz miktarda bulunabilir. Ayrıca besin elementleri toprakta yeterli miktarda bulunsa bile uygun oranlarda bulunmazlarsa bitki gelişmesinde bir duraklama ve gerileme ortaya çıkabilir. Bu nedenle yalnızca toprak analiz sonucuna göre değil, toprak analizi yanında bitki analizinin de yapılarak birlikte değerlendirilmesi hem gübre tavsiyesine hem de problemin çözümüne önemli katkılar sağlar (Kasap 2000).

1.2 Bitki Analizlerinin Amacı

Bitki analizleri birden çok amaç için yapılmaktadır. Bunlar:

- Gübreleme programının belirlenmesi,
- Bitkide göz ile görülen belirtilerin teşhisi,
- Gizli kalmış noksanlıkların ortaya çıkarılması,
- Besin elementi noksanlığı görülen alanların belirlenmesi,
- Toprağa verilen besin elementlerinin bitkiler tarafından alınıp alınmadığının kontrolü,
- Besin elementleri arasındaki interaksiyonlarının belirlenmesi,
- Bitki bünyesinde oluşan olayların belirlenmesidir.

Bitki analizlerinin yapılması gübreleme programının doğru belirlenmesi açısından önemli ve gereklidir. Böylelikle bitkinin kontrollü beslenmesi sağlanabilmektedir. Gübreleme programının belirlenmesi de bitki gelişim süreci boyunca düzenli olarak bitki örneklerinin alınması ve analizlerinin yapılması ile mümkün olabilir. Gübreleme programı ile gübrelerin miktarı, gübreleme zamanı ve gübrenin verilme şeklini belirlemek amaçlanır (Kasap 2000).

Genellikle her bitki besin elementinin kendine özgü noksanlık belirtileri bulunmaktadır. Bu belirtiler bazı durumlarda göz ile belirlenecek kadar belirgin olabilir. Ancak bu noksanlıklar göz ile belirlenebilse bile bitki analizi yapılarak noksanlığın teşhisi mutlaka gereklidir. Bazı durumlarda ise göz ile belirlenebilen noksanlıklar oluşmadığı halde gizli kalmış noksanlıklar nedeniyle bitkilerde ürün azalması meydana gelir. Bu durumda ancak bitki analizleri sonucunda ortaya çıkarılabilir (Katkat ve Çil 1996).

Bitki besin elementi noksanlığı görülen alanlar, büyük ölçüde para ve zaman harcanarak yapılan tarla denemeleri ile belirlenebilmektedir. Ancak bitki analizleri daha kısa zaman ve daha az maliyetle bitki besin elementi noksanlığı görülen alanların belirlenmesine olanak sağlar (Katkat ve Çil 1996).

Toprak ve bitkilerdeki noksanlıkların giderilmesi amacıyla toprağa verilen besin elementlerinin bitkiler tarafından alınıp alınmadığı bitki analizleriyle kontrol edilmekte ve belirlenebilmektedir. Noksan olan besin elementi toprağa verildiği halde bitki bundan faydalanamıyorsa toprakta daha başka faktörlerin etkisi olduğu ve bu faktörler üzerinde durulması ve araştırılması gerektiği ortaya çıkmaktadır. Bu durum ancak bitki analizleri ile belirlenebilir (Kasap 2000).

Bitki bünyesindeki besin elementlerinin hareketliliğinin incelenmesi ve toplanma bölgelerinin belirlenmesinde bitki analizlerinden faydalanılmaktadır. Besin maddelerinin bitkideki toplanma yerlerinin bilinmesi metabolik aktivitenin nerede daha fazla olduğunun bilinmesi bakımından önemlidir.

1.3 Bitki Analizlerinin Faydaları

Bitki analizlerinden çeşitli faydalar sağlanmaktadır. Bunlar;

- Gübre kullanımının kontrolü,
- Bitkilerin kontrollü bir şekilde beslenmeleri,
- Bitkilerdeki gelişme bozukluklarının tespiti,
- Hasat zamanının tespiti,
- Toprakların besin elementi seviyelerinin tespitidir (Kasap 2000, Kacar ve İnal 2008).

Toprağa uygulanan gübreleme programının kontrolü farklı dönemlerde alınan bitki örneklerinin analizi ile mümkündür. Böylelikle uygulanan programın yararlılığı belirlenebilir (Kasap 2000).

Bitkilerin kontrollü bir şekilde beslenmesi ancak doğru bir şekilde gübrenmesi ile mümkündür. Her bitki türüne aynı gübre ve gübreleme programı uygulanması doğru değildir. Verimi arttırmak amaçlanırken tam tersi bir durum meydana gelebilir. Örneğin azotlu gübreleme bir bitki türünde verimi arttırabilirken başka bir bitki türünde verimi azaltabilir.

Bazı durumlarda gelişim normal seyrederken sadece bir bölgedeki bitkilerde gelişim bozuklukları görülebilir. Bu gibi durumlarda hem gelişimi normal seyreden bitkilerden hem de gelişim bozukluğu gözlemlenen bitkilerin yaprak ayası ve sapından örnek alınıp analizinin yapılması ile gelişim bozukluğunun tespiti yapılabilir (Kacar ve İnal 2008).

Yapılan araştırmalarla her bitki için istenen bitki besin elementleri değerlerinin farklı olduğu belirlenmiş ve hasat zamanları da bu değerlere göre belirlenmektedir. Belirli dönemlerde alınan yaprak örneklerinin analiziyle hasat zamanı tespit edilebilir.

1.4 Bitki Besin Elementlerinin Tanımı ve İşlevleri

Bitkiler su, organik madde ve bitki besin elementlerinden oluşmaktadır. Bunların miktarları bitkiden bitkiye değişmekle birlikte %70 'ini su, %27' sini organik madde ve %3' ünü ise bitki besin elementleri oluşturmaktadır (Kacar ve Katkat 1998).

Bitki besin elementleri, sentezlenmiş bileşikler olmayıp, bitkilerin yaşamları için gerekli olan ve doğada bulunan elementlerdir. Bitki besin elementleri bitkilerde bulunış miktarlarına göre makro ve mikro besin elementi olarak sınıflandırılır. Bitki besin elementlerinden bitki bünyesinde fazla miktarda bulunan ve bitki tarafından gereksinimi daha fazla olanlar makro, bitki bünyesinde daha az miktarda bulunan ve bitki tarafından gereksinimi daha az olanlar ise mikro elementlerdir (Çizelge 1.1).

Çizelge1.1 Bitki besin elementlerinin makro ve mikro olarak sınıflandırılması (Bergmann 1992)

Gübrelerle verilmeyen organik maddede bulunan temel elementler	Mutlak Gerekli Besin Elementleri		Bazı Bitkiler için Gerekli Elementler
	Makro Elementleri	Mikro Elementleri	
C H O	N P K S Ca Mg	Fe Zn Mn Mo Cu B Cl	Co Na Si Ni

Gübrelerle verilemeyen organik maddede bulunan C, H ve O; bitkiye karbondioksit ve su ile sağlanır (Katkat ve Kacar 1998). Bitkiler, diğer besin elementlerini ise topraktan veya gübrelerle sağlarlar.

Bazı bitki besin elementleri genç yapraklarda, yaşlı yapraklara göre daha yüksek miktarda bulunmaktadır. Bu durum bitkilerdeki hareketliliklerinden (mobilitelerinden) kaynaklanmaktadır. Hareketli olan bitki besin elementleri, yaşlı yapraklardan genç yapraklara taşınmakta böylelikle genç yapraklarda miktar olarak daha fazla bulunmaktadır. Hareketli olmayan bitki besin elementlerinin de yaşlı yapraktaki miktarları, genç yapraklara göre daha fazladır (Kacar ve Katkat 1998).

Hareketlilik (mobilité), besin noksanlıklarını belirlemede önemlidir. Bitkide, noksanlıktan sadece yaşlı yapraklar etkilenmişse hareketli bir element, genç yapraklar etkilenmişse hareketsiz bir element noksanlığı mevcuttur. Toprakta azot (N), potasyum (K), magnezyum (Mg) ve çinko (Zn) gibi elementler hareketli; kalsiyum (Ca), bakır (Cu), demir (Fe) ve mangan (Mn) gibi elementler hareketsizdir (Kacar vd. 2002).

Çizelge 1.2 Besin elementlerinin hareketliliği (Kacar vd. 2002)

Hareketli Elementler	Hareketsiz Elementler
Azot	Kalsiyum
Potasyum	Kükürt
Magnezyum	Demir
Fosfor	Bor
Klor	Bakır
Sodyum	
Çinko	
Molibden	

Besin elementlerinden sadece bir kısmı bitkinin yaşamını devam ettirebilmesi için mutlaka gereklidir. Bunlara da mutlak gerekli besin elementleri denilmektedir (Kacar vd. 2002). Besin elementlerine bitki için mutlak gerekli diyebilmemiz için;

- Besin elementinin kısmen veya tamamen yokluğunda, bitkinin gelişmesini tamamlayamaması veya ölmesi,
- Elementin noksanlık belirtisinin ancak o elementin bitkiye verilmesi ile giderebilmesi,

- Elementin yerini başka bir elementin alamaması,
- Elementin bitki metabolizmasında direk olarak yer almasıdır (Kacar vd. 2002).

Besin maddelerinden bazıları birbirinin alımını artırırken bazıları da azaltmaktadır (Kacar ve İnal 2008). Özbek (1981), yumuşak çekirdekli meyvelerde N fazlalığının K noksanlığına; P fazlalığının K, Fe ve Zn noksanlığına; K fazlalığının Mg ve Ca noksanlığına; Ca fazlalığının K, Fe ve Mn noksanlığına; Mg fazlalığının K noksanlığına yol açacağını bildirmektedir.

Çizelge 1.3 Besin elementleri arasındaki etkileşimler (Burt vd. 1998)

Alınan besin elementi	Alımı azalan besin elementi	Alımı artan besin elementi
NH ₄ ⁺	Mg, Ca, K, Mo	Mn, P, S, Cl
NO ₃ ⁻	Fe, Zn	Ca, Mg, K, Mo
P	Cu, Zn	Mo
K	Ca, Mg	Mn (asitli topraklarda)
Ca		Mn (asitli topraklarda)
Mg	Ca, K	Mo
Fe	Cu, Zn	
Zn	Cu	
Mn	Zn, Ca, Mo	

1.5 Bitki Besin Elementleri Hakkında Genel Bilgiler

1.5.1 Bakır elementi

Bitkiler, bakırı Cu²⁺ iyonu şeklinde bünyelerine alırlar ve bitkilerin bakır gereksinimleri oldukça düşüktür. Bakır, toprakta çözünebilir durumda ise bitkiye faydalı olur. Bakırın bitkilerdeki miktarını bitki türü, bitkinin olgunluk durumu, yaşı, mevsim ve toprak özellikleri etkilemektedir (Sağiroğlu ve Özdemir 1997, Kacar ve İnal 2008).

Bakır, hareketliliği düşük olan bir elementtir (Kacar ve Katkat 1998). Yapılan araştırmalar bakırın hareketliliğinin bitkideki miktarıyla yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Lonerangan 1975). Bakır miktarı yeterli olan bitkilerde, yapraklardan diğer bitki organlarına taşınması kolay olurken, bakır noksanlığı gösteren bitkilerde taşınma çok daha yavaş gerçekteşir (Kacar ve Katkat 1998).

Bakır bitkide, klorofil ve hücre duvarının oluşmasında görev alır. Fotosentezde etkilidir. Karbondioksit alımını düzenler. Birçok enzimin yapısında bulunur ve protein sentezi için önemlidir.

1.5.1.1 Bakır noksanlığında meydana gelen değişimler

Bakır noksanlığı genellikle kaba tekstürlü, yıkanmış ve aşırı kireçli topraklarda görölmektedir (Kacar ve İnal 2008).

Bakır noksanlığı olan bitkide; bodur büyüme, genç yapraklarda kıvrılıp bükölme, genç yapraklarda solma ile birlikte gövdede bükölme ve yana yatma gözlemlenir, hastalıklara karşı dayanıklılık azalır, genç yaprak uçlarında ve kenarlarında çürüme meydana gelir ve yapraklar büzük bir hal alır (Graham 1976, Bozcuk 1996, Kacar ve Katkat 1998).



şekil 1.1 Bitki yapraklarında bakır noksanlığı

1.5.1.2 Bakır fazlalığında meydana gelen değişimler

Bakır fazlalığı bitkide zehir (toksik) etkisi yapar ve bitkide kloroza (demir noksanlığından kaynaklanan yaprakların sararması hastalığıdır) sebep olur (Kacar ve Katkat 1998). Sommer (1945) yaptığı çalışmada bakır içeriği yüksek olan topraklardan bitkilerin yeterli miktarda demir alamadıklarını belirtmiştir. Bakır fazlalığı ayrıca, kök büyümesini olumsuz etkiler (Kacar ve Katkat 1998).

1.5.2 Kalsiyum elementi

Bitkiler tarafından kalsiyum Ca^{2+} iyonu formunda alınır. Kalsiyum bitki için mutlak gerekli bir elementtir ve bitki bünyesinde potasyumdan sonra en çok miktarda bulunan besin elementidir (Kacar ve İnal 2008).

Kacar ve Katkat (2007) yaptıkları araştırmada bitkilerde kalsiyum miktarının % 0.2-3.0 arasında değiştiğini, çoğu bitkiler için yeterli kalsiyum miktarının % 0.3-1.00 arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Bitkide kalsiyumun, hücre duvarını güçlendirme, hücre büyümesine ve uzamasına yardımcı olma, protein sentezini düzenleme, normal bir çiçeklenme ve kök gelişimini sağlama ve bitkinin hastalıklara, kuraklığa ve strese dayanımını artırma gibi görevleri vardır.

1.5.2.1 Kalsiyum noksanlığında meydana gelen değişimler

Toprak çözeltisinde Ca^{2+} un alınması kök uçlarında gerçekleşmektedir. Bu neden ile köklerin oluşumunu engelleyen düşük sıcaklık ve yetersiz havalanma gibi sebepler kalsiyum alımını etkileyerek noksanlığa sebep olur (Kacar ve Katkat 1998).

Kalsiyum elementinin hareketsiz olmasından dolayı noksanlık belirtileri genellikle büyüme noktalarında ve genç yapraklarda ortaya çıkar (Kacar ve İnal 2008).

En belirgin noksanlık belirtisi, meristematik dokularda gelişme gerilemesi meydana gelmesidir. Ayrıca bitkinin hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılığı azalır, genç

yapraklarda sararma ve şekil bozuklukları meydana gelir, noksanlığın daha ileri aşamalarında kahverengi nekrozlar gözlemlenir, kök gelişimi zayıflar, köklerin dayanıklılığı azalır, bitki dokusu ve meyveler hücre duvarı eridiğinden yumuşar (Kacar ve Katkat 1998).



Şekil 1.2 Bitki yapraklarında kalsiyum noksanlığı

1.5.2.2 Kalsiyum fazlalığında meydana gelen değişimler

Fazla kalsiyum; demir, fosfor, mangan ve bor gibi mikro besin maddelerinin alımlarını engeller ve bunlara ilişkin noksanlık belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olur (Ergene 1987).

1.5.3 Demir elementi

Doğada demirin çok bulunmasına ve bitkilerin demir ihtiyacının az olmasına rağmen çözünürlüğün ve dolayısıyla da alınabilirliğinin az olması nedeniyle demir noksanlığı görülür.

Demir toprakta Fe^{2+} ve Fe^{3+} iyonları halinde bulunur. Ancak bitki için yararlı olan Fe^{2+} iyonudur. Fe^{3+} iyonunun bitki metabolizması için yararlı hale gelebilmesi için Fe^{2+} iyonuna indirgenmesi gereklidir. Demirin indirgenme reaksiyonunu, toprağın kireç içeriği, yüksek pH, bikarbonat iyonlarının fazla miktarda varlığı (demirin hareketliliğini kısıtlayarak noksanlığa sebep olur), yüksek fosfat içeriği, diğer elementlerle (Cu, Zn, Co, Cr, Ni ve özellikle mangan) interaksiyon göstermesi gibi etmenler etkiler.

Kacar ve Katkat (2007) yaptıkları çalışmada, bitkilerde demirin 10-1000 mg kg⁻¹ arasında değişen miktarlarda bulunduğunu, bitki için yeterli demir miktarının 50-250 mg kg⁻¹ olduğunu ve 50 mg kg⁻¹'dan az demir içeren bitkilerde ise noksanlık belirtilerinin gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

Demirin bitkideki en önemli görevi klorofil sentezinde yer almasıdır. Bunun dışında solunum için önemlidir. Enzim ve koenzim görevi yapar ve enzimlerin elektron transferi için gereklidir.

1.5.3.1 Demir noksanlığında meydana gelen değişimler

Demirin noksanlık belirtileri, magnezyum elementinin noksanlık belirtilerine benzerlik göstermesine karşın demirin hareketsiz bir besin elementi olması nedeniyle yaşlı yapraklardan genç yapraklara taşınamamasından dolayı belirtiler genç yapraklarda gözlemlenirken, magnezyumda noksanlık belirtileri yaşlı yapraklarda ortaya çıkar.

Damarlar yeşil kalırken, damarlar arasında sararma meydana gelir. Eksikliğin şiddetli olduğu durumlarda tüm yaprak sararır daha sonra yaprak kurumaya başlar, önlem alınmazsa bitki kuruyarak ölür.



Şekil 1.3 Bitki yapraklarında demir noksanlığı

1.5.3.2 Demir fazlalığında meydana gelen değişimler

Demir fazlası bitki gelişmesinin zayıflamasına, çiçek oluşumunun azalmasına, yaprak uçlarının ölmesine neden olur.

1.5.4 Potasyum elementi

Bitkiler potasyumu K^+ iyonu şeklinde alırlar. Bitkilerin azottan sonra en fazla gereksinim duyduğu element potasyumdur. Bitki membranlarında yüksek miktarda iyonofor bulunmasından dolayı potasyum, bitki membranlarından daha hızlı ve fazla miktarda geçer (Kacar vd. 2008). Potasyum, azot ve fosfor gibi bitki yapısında değil, daha çok bitkinin bazı hayatsal olaylarında kendini hissettirir.

Potasyumun bitkide, bitkinin su potansiyelinin ayarlanması, protein, karbonhidrat ve yağların oluşmasını ve taşınmasını sağlar, aminoasitlerin proteinlere dönüşümü gibi görevleri vardır. Ayrıca potasyum bitkilerde birçok kalite unsurunu etkiler. Meyve kalitesi, renk, koku, aroma, dayanıklılık, sertlik, hastalıklara karşı dayanım ve depolama süresini etkileyen en önemli elementtir.

1.5.4.1 Potasyum noksanlığında meydana gelen değişimler

Potasyum hareketli bir elementtir. Bitkilerde yaşlı yapraklardan genç yapraklara taşınır. Bu nedenle genç yaprakların potasyum miktarları yaşlı yapraklara göre daha fazladır (Kacar vd. 2002). Dolayısıyla potasyum noksanlığı öncelikle yaşlı yapraklarda ortaya çıkar. Ancak noksanlık belirtileri hemen ortaya çıkmaz.

Potasyum noksanlığı yaprak kenarındaki dokularda sararma ve sonrasında koyu kahverengi yanıklar şeklinde gözlemlenir (Kacar ve Katkat 1998). Ayrıca potasyum noksanlığında bitkilerde turgor basıncı düşer, dokular gevşer, kuraklığa ve dona karşı dayanıklılık azalır, bitkinin hastalık, zararlı ve tuz zararına karşı dayanıklılığı azalır, meyve eti yumuşak, kof, meyve kabuğu kalın olur, meyve renk almada problem yaşar, aroma ve lezzet azalır, meyveler gelişme geriliği göstererek küçük kalır.



Şekil 1.4 Bitki yapraklarında potasyum noksanlığı

1.5.4.2 Potasyum fazlalığında meydana gelen değişimler

Yaşlı yapraklarda zamanından önce sararmalar görülür. Çiçekler küçük, yaprak rengi beyazımsı yeşil olur.

1.5.4 Magnezyum Elementi

Bitkiler tarafından magnezyum Mg^{2+} iyonu formunda alınır. Bitkilerde bulunan magnezyum miktarı genellikle % 0.02-2.5 arasında değişmektedir (Kacar ve İnal 2008). Magnezyum klorofilin merkez atomudur. Fotosentez için önemlidir. Bitkide, karbonhidrat metabolizması, ATP gurubunu içeren bir bileşik oluşturarak enzim yüzeyine bağlanıp karbonhidratların taşınmasını sağlamaktadır (Kacar ve Katkat 1998). Bitkinin fosfor alımını artırır.

1.5.4.1 Magnezyum noksanlığında meydana gelen değişimler

Magnezyum bitkide hareketli bir elementtir ve bitkinin yaşlı yapraklarından genç yapraklarına taşınır. Bundan dolayı noksanlık belirtileri öncelikle yaşlı yapraklarda gözlemlenir. Ayrıca diğer elementler de interferans etki gösterip magnezyum noksanlığına neden olabilirler. Örneğin topraktaki fazla potasyum, kalsiyum ve amonyum, magnezyum noksanlığına neden olur (Kacar ve İnal 2008).

Noksanlığın belirtileri olarak ana damarlar yeşil, damar araları sarıdır. Bazen kahverengi kurumalar görülür, meyve sapı zayıflar ve meyve dökülmesi fazlaşır, klorofil miktarı düşer ve fotosentez geriler ve verim azalır.



Şekil 1.5 Bitki yapraklarında magnezyum noksanlığı

1.5.4.2 Magnezyum fazlalığında meydana gelen değişimler

Magnezyum fazlalığı ile sık karşılaşılmaz ve potasyum alımını engeller. Ayrıca ağaçların kök gelişmesini olumsuz etkiler.

1.5.6 Mangan elementi

Bitkiler manganı Mn^{2+} iyonu şeklinde bünyelerine alırlar. Mangan hareketliliği az olan bir elementtir bundan dolayı noksanlık belirtileri ilk olarak genç yapraklarda gözlemlenir (Kacar ve Katkat 1998).

Toprak pH' sı bitkinin mangan alımını etkileyen bir faktördür. Uygun pH' da mangan alımı çok kolay olmakta, yüksek pH'lı topraklarda ise mangan noksanlığı görülmektedir.

Mangan bitkide klorofil oluşumuna yardım eder. Bitkide enzimatik ve fizyolojik olaylarda katalizör görevi üstlenir. Karbonhidratların suya ve karbondioksit parçalanmasında ve solunum olaylarında görev almaktadır.

1.5.6.1 Mangan noksanlığında meydana gelen değişimler

Mangan noksanlığında bitki yapraklarında sararmalar görülür. Bunun nedeni bitkinin yeterince klorofil oluşturamamasıdır (Kacar ve İnal 2008).

Bitkilerde büyüme gerilemesi veya bodur büyüme görülür. Kloroplast oluşumu bozulur ve hücreler küçülür. Bitki bünyesinde aminoasitlere dönüşüm durur. Dokuların ve meyvelerin şeker seviyesi düşük kalır. Bu yüzden meyveler tatlanmaz ve meyve küçük kalır (Kacar ve Katkat 1998).



Şekil 1.6 Bitki yapraklarında mangan noksanlığı

1.5.6.2 Mangan fazlalığında meydana gelen değişimler

Mangan fazlalığı demir noksanlığına neden olur.

1.5.7 Çinko elementi

Bitkiler tarafından çinko Zn^{2+} iyonu şeklinde alınır. Bitki metabolizması için çinkonun az miktarda bulunması yeterlidir. Çinko, orta dereceli asitli topraklarda çözünür. Organik madde bakımından fakir topraklarda noksanlığı yaygındır (Atalay 1982).

Toprak pH' sı diğer besin elementlerinin alımında etkili olduğu gibi çinko alımında da etkilidir. Lindsay (1979) yaptığı araştırma da toprak pH' sının 5 ile 7 olduğu aralıklarda artan her bir pH birimi için toprak çözeltisinde çinko derişiminin azaldığını belirlemiştir.

1.5.7.1 Çinko noksanlığında meydana gelen değişimler

Çinko noksanlığında bodur büyüme en sık rastlanan bir durumdur. Yapraklar yeşil rengini korurken, damarlar arası açık yeşil, sarı veya beyaza dönebilir. Noksanlığında kök büyümesi gözlemlenir ve kök salgıları artar, meyve ağaçlarında ve sürgün uçlarında boğumlar arası kısalmır, yapraklar küçülerek rozet oluşumu gözlemlenir (Kacar ve Katkat 1998).



Şekil 1.7 Bitki yapraklarında çinko noksanlığı

1.5.7.2 Çinko fazlalığında meydana gelen değişimler

Fazla inko bitkilerde önce kloroza, sonra da bitkinin ölümüne neden olur.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Bu bölümde; ICP-OES cihazının bitki ve gıda ürünlerinde makro ve mikro elementlerin belirlenmesinde kullanımı, çalışma şartları ve seçilen dalga boyları ile ilgili literatür özetleri yer almaktadır.

Çağran vd. (2009) yaptıkları çalışmada menengiç meyvesi, sabunu ve sakızımsı ekstratında ICP-OES ile Al, As, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ge, Hg, In, K, La, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Pd, Sb, Sc, Se, Si, Sn, Sr, Te, Ti, V, W ve Zn olmak üzere 36 tane element tayin etmişlerdir. Cihazın çalışma şartlarını plazma gaz akışını (Ar) 15 L/min, yardımcı gaz akışı (Ar) 0,2 L/min ve sisleştirici gaz akışını (N₂) 0,8 L/min olarak belirlemişlerdir. Ayrıca bu elementlerden Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn için dalga boylarını sırasıyla 327,393; 317,933; 238,204; 766,490; 285,213; 259,372 ve 213,857 olarak belirlemişlerdir.

Thiel vd. (1996) çalışmalarında beyaz şarapta 15 elementin (B, V, Al, Sr, Ba, Rb, Na, P, Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn) doğrudan analizini ICP-OES cihazı ile yapmışlardır. Cihazın çalışma şartlarını plazma gaz akışını (Ar) 13 L/min, yardımcı gaz akışı (Ar) 1,2 L/min ve sisleştirici gaz akışını (N₂) 0,48 L/min olarak belirlemişlerdir. Ayrıca bu elementlerden Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn için dalga boylarını sırasıyla 324,7; 317,9; 259,9; 766,4; 279,0; 257,6; 213,8 olarak belirlemişlerdir.

Froes vd. (2009) yaptıkları çalışmada meyve suyunda bulunan içlerinde Cu, Fe, Mn ve Zn olmak üzere 13 tane mikro elementin, ön çözünürleştirme yapmadan ICP-OES ile doğrudan tayinini geliştirmişlerdir. ICP-OES ile çalışma koşullarını plazma gaz akışını (Ar) 15 L/min, yardımcı gaz akışı (Ar) 0,2 L/min ve sisleştirici gaz akışını (N₂) 0,4-1,1 L/min olarak belirlemişlerdir. Analiz verilerine F ve t testi uygulamışlar ve %95 güven seviyesinde bütün elementler için korelasyon katsayısını 0,99 dan yüksek bulmuşlardır. % geri kazanım değerleri ise %80 ile 120 aralığında bulunmuştur.

Larrea-Marin vd. (2010) bu çalışmalarında 4 farklı ülkeden (Fransa, Kore, İspanya ve Japonya) aldıkları, insanlar tarafından yiyecek olarak tüketilen yosunların (*Laminaria and Porphyra*) makro ve mikro (iz) element belirlenmesinde ICP-OES ile metot

validasyonu yapmışlardır. Cihazın çalışma koşullarını 12 tane makro ve mikro element (Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Sr ve Zn) için plazma gaz akışını (Ar) 15 L/min, yardımcı gaz akışı (Ar) 1 L/min ve sisleştirici gaz akışını (N₂) 0,6 L/min olarak belirlemişlerdir. Ayrıca Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn için dalga boylarını sırasıyla 324,752; 317,933; 259,939; 766,490; 280,271; 259,372 ve 213,857 olarak belirlemişlerdir. Metot validasyonu için NIST 1547 şeftali yaprağını kullanmışlardır.

Cheng vd. 2012 de yaptıkları çalışmada arpa da Fe, Mg, Ca ve Mn iz elementlerini ve Pb, Cd, Cu ve Zn ağır metallerini ICP-OES ile belirlemişlerdir. Arpa örneklerini HNO₃ ve HClO₄ yaş yakma yöntemiyle hazırlamışlardır. Yöntemden elde edilen % geri kazanım sonuçları % 3,3 'den daha az standart sapma ile % 91,0 ile %106,3 arasında olduğunu göstermiştir. Bu elementler için üçer dalga boyunda çalışılmış ve en iyi R² değerine sahip olan dalga boyları seçmişlerdir. Bunları Fe, Mg, Ca, Mn, Cu ve Zn için sırasıyla 238,204; 279,533; 396,847; 257,610; 324,754; 213,857 olarak belirlemişlerdir. ICP-OES yönteminin arpa da eser elementlerin eş zamanlı tayininde duyarlı, hızlı, basit ve doğruluğunun yüksek bir yöntem olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Bu kısımda ICP-OES cihazı ve diğer spektrometreler ile çok değişkenli kalibrasyon yöntemini içeren çalışmalara yer verilmiştir.

Nunes vd. 2010 yılında yaptıkları çalışmada Brezilya da yetişen ve ekonomik açıdan önem taşıyan şeker kamışı yapraklarındaki makro (P, K, Ca ve Mg) ve mikro (B, Cu, Fe, Mn ve Zn) besin elementlerinin belirlenmesi için LIBS (lazer kaynaklı arıza spektrometresi) cihazını kullanmışlardır. Kantitatif belirlemeleri tek değişkenli ve PLSR (partial least squares regression), iPLS (interval partial square error) gibi kemometrik yöntemler kullanılarak yapılmıştır. Kalibrasyon modelleri için 26 tane örnek kullanılmış ve doğrulama 15 test örneği kullanılarak yapılmıştır. Karşılaştırmak amacıyla mikrodalga fırında çözünürleştirilen örnekleri ICP-OES cihazında okumuşlardır. % 95 güven seviyesinde t testi sonuçlarına göre LIBS ve ICP-OES cihazlarından elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır.

Griffiths vd. 2000 yılında yaptıkları çalışmada ICP-OES kullanarak kompleks karışımlardaki Pt, Pd ve Rh belirlenmesinde tek değişkenli ve çok değişkenli (PLS1)

tekniklerini karşılaştırmışlardır. Tek değişkenli kalibrasyon tekniğinde RRMSEs değerleri Pt, Pd ve Rh için test solüsyonları ve gerçek numuneler için sırasıyla 19; 15 ve 54 % ve 13; 18 ve 88 % bulmuşlardır. Çok değişkenli kalibrasyon tekniğinde ise RRMSEs değerleri Pt, Pd ve Rh için test solüsyonları ve gerçek numuneler için sırasıyla 5,8; 3,0 ve 3,5 % ve 32; 7,4 ve 76 % olarak bulmuşlardır. Tek değişkenli kalibrasyon tekniğinde Pt, Pd ve Rh için 214,423; 248,892 ve 343,489 nm belirlemişlerdir. Çok değişkenli kalibrasyon tekniğinde ise 128 tane dalga boyunda çalışmışlardır. Cihazın çalışma şartlarını plazma gaz akışını (Ar) 16 L/min, yardımcı gaz akışı (Ar) 0,5 L/min ve taşıyıcı gaz akışını (N₂) 0,93 L/min olarak belirlemişlerdir. İki kalibrasyon tekniğinde yüksek derişimlerde PLS1'in iyi sonuçlar verdiğini ancak düşük derişimlerde gürültü sebebiyle iyi verim alınamadığı sonucuna ulaşmışlardır.

Ni vd. 2007 yılında Fe²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ ve Mn²⁺ içeren karışımların çok değişkenli kalibrasyon teknikleri (CLS, PCR ve PLS) uygulanarak eş zamanlı olarak UV-VIS spektrofotometre ile belirlemek için çalışma yapmışlardır. Kalibrasyon çalışma aralığı Fe, Cu, Zn ve Mn için sırasıyla 0,025-0,6; 0,05-0,8; 0,025-0,8; 0,05-0,8 olarak belirlemişlerdir. Önerilen yöntem 300-450; 450-600 ve 300-600 nm olmak üzere üç ayrı dalga boyu aralıklarında sentetik karışımlara uygulanmıştır. Çalışma sonucunda 300 ile 600 nm dalga boyu çalışma aralığında, PLS kalibrasyon modelinin en iyi sonuçları verdiğini bulmuşlardır. Bu modelin, farmakolojik preparatlar, tavuk yemi ve su örneklerinde bu dört metalin belirlenmesinde uygulanabileceğini bulmuşlardır.

Bu kısımda ICP-OES cihazı kullanılarak kümeleme, temel bileşen analizi gibi diğer çok değişkenli kalibrasyon tekniklerini içeren literatürlere yer verilmiştir.

Boeting vd. 2010 yılında İspanyol kaplan fındığından (Chufa) yapılan horchata içeceğinin mineral element içeriklerini ICP-OES kullanarak belirlenmesinde temel bileşen analizi (PCA), sınıflandırma ve regresyon ağaçları (CARTs) ve diskriminat analizi (DA) farklı kemometrik yöntemleri doğru bir sınıflandırma elde etmek için değerlendirmişlerdir. Her üç yöntemle de ev yapımı ve uzun ömürlü ticari örnekleri ayırt etmek mümkün olduğunu söylemişlerdir. Ancak CARTs ve DA daha iyi sonuç verdiğini bulmuşlardır.

Gonzalves vd. 2010 yılında argan yağında bulunan 16 elementin (Na, Mg, Al, Fe, K, Ca, Ti, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Pr, Sm, Er ve Bi) ICP-OES ile belirlenmesinde çok değişkenli kalibrasyon metodlarından kümeleme analizi (HCA), temel bileşen analizi (PCA), ki-kare otomatik etkileşim dedektörü kullanılarak sınıflandırma ağaçları (CHAID) ve diskriminant analizi (DA) kullanılarak araştırılmışlardır. Ayrıca elemental içerik yönünden yemeklik yağlar sınıflandırılmıştır. HCA analizi, ayçiçeği yağını diğerlerinden ayırabiliyorken, zeytin yağı, tohum ve soya yağını ayırmakta zorlandığını, PCA analizinin ayçiçeği yağı, soya ile tohum yağı ve argan ile zeytin yağı olmak üzere üç gruba ayırdığını, CHAID analizinin tüm bitkisel yağları ayırabildiğini, DA analizinin ise ortalama % 93,65 gibi bir hassasiyette sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmacılar, DA analizi ile daha başarılı sonuçlar elde etmişlerdir.

3. KURAMSAL TEMELLER

3.1 Kemometri

Numerik yöntemler olarak da adlandırılan kemometri; günümüzde bilgisayar, yazılım, istatistik, uygulamalı matematik ve kimya özellikle de analitik kimya da kompleks sistemlerin çözümü için kullanılan yeni bir disiplin olarak doğmuştur. Aynı zamanda kemometri analitik problemlerin çözümünde çok boyutlu ve çok değişkenli parametrelerin kullanıldığı yeni çalışma alanları açılmasını sağlamıştır (Üstündağ 2003, Dinç 2007).

Kemometri kelime olarak, 1970'li yıllarda istatistik ve matematiksel yöntemler ile birlikte bilgisayar ve yazılımların kullanıldığı kimyadaki uygulamaları için sözü edilmeye başlanmıştır. Kemometri kavramı ilk kez İsveçli Svante Wold ve Amerikalı Bruce R. Kowalski tarafından ortaya atılmış ve 1974 yılında uluslararası kemometri derneği tarafından bu disiplinin ilk resmi açıklaması yapılmıştır (Dinç 2007).

Kemometri genel olarak, çeşitli yöntemlerle elde edilen kimyasal verilere matematiksel tekniklerin uygulanması ile bu verilerden daha fazla yararlı bilgilerin özümsemesi olarak tanımlanabilir. Bir başka şekilde kemometri, istatistik ve matematik ile birlikte bilgisayar kullanarak kimyasal verilerin işlenmesini kapsayan bir kimya disiplindir şeklinde tanımlanabilir (Ertaş 2009).

Son yıllarda bilgisayar sistemlerinin gelişmesi ile birlikte analitik kimyada veri sayısında artış yaşanmış ve bu verilerin işlenmesi ve değerlendirilmesinde istatistiğe ihtiyaç duyulmuştur. Günümüzde kemometri sadece verilerin değerlendirilmesinde değil, deney tasarımlarının yapılmasında yol gösterici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kimyasal analizlerde, kimyasal verilerden gerçek bilginin ekstraksiyonunu veya gizli kalmış bilgilerin açığa çıkmasını sağlayan güçlü bir araçtır (Dinç 2007).

Kemometrik yöntemlerle, birbiri ile etkileşim yapan iki veya daha fazla aktif bileşiği içeren kompleks karışımların kantitatif analizi hiçbir kimyasal ön ayırma işlemi gereksizdir hızlı, doğru ve hassas olarak gerçekleştirilebilmektedir.

Kemometri de önemli olan programlama ve hesaplama. Bu hesaplamaları elle yapmak mümkün olmadığı için bilgisayar programlarına ihtiyaç vardır. Hesaplamalar için çoğunlukla Excel, Matlab veya başka paket programlar kullanılmaktadır.

3.2 Tek Değişkenli Kalibrasyon Tekniği

Tek değişkenli kalibrasyon, sıfıncı dereceden kalibrasyon olarak tanımlanır ve tek bir analitin derişiminin belirlenmesi için bir cihazdan elde edilen belirli bir dalga boyundaki ölçümlerini içerir. Bu kalibrasyon metodu cihaz sinyalinin hiçbir girişim olmaksızın sadece ilgili bileşene bağlı olduğu esasına dayanır. Ancak pratikte bu mümkün değildir. Gerçek örnekler birden fazla bileşenli olmasının yanı sıra girişim yapan veya bozucu etki gösterebilen başka bileşenleri de içerebilirler (Özdemir 2009).

Tek değişkenli kalibrasyon, kalibrasyon ve tahmin olmak üzere iki basamaktan oluşur. Kalibrasyon basamağında içerikleri önceden tam olarak bilinen standart örneklerin cihaz sinyalleri ile derişimleri arasındaki ilişkiyi veren kalibrasyon modeli oluşturulur. Tahmin basamağında ise içeriği bilinmeyen analit için cihaz sinyali alınıp kalibrasyon basamağında oluşturulan kalibrasyon modeli kullanılarak bu analitin derişimi hesaplanır (Özdemir 2009).

Tek değişkenli kalibrasyon modelleri Beer kanununa göre lineer kabul edilir ve analit derişiminin (c) belirli bir frekanstaki cihaz sinyali (r) arasındaki ilişki:

$$r = f(c) + e_r \quad (3.1)$$

kalibrasyon fonksiyonu ile tanımlanır (Özdemir 2009).

3.3 Çok Değişkenli Kalibrasyon Tekniği

Çok değişkenli kalibrasyon tekniği, her örnek için birden fazla dalga boyundaki ölçümleri ve birden fazla cihaz sinyali içerirler. Çok değişkenli kalibrasyon tekniği, tek değişkenli kalibrasyon tekniğinin aksine, örneklere girişim yapan türlerin var olabileceğini kabul eder. Bu yöntem birçok dalga boyu ile analiz yapılmasına olanak

sağladığı için girişim yapan türleri nedenleriyle belirleyemese de, girişim yapan türleri belirlemek ve bunları elimine etmek mümkündür (Özdemir 2009).

Günümüzde problemleri tek bir yönüyle ele almak çok doğru bir yaklaşım değildir. Çok değişkenli kalibrasyon tekniğiyle kimyasal verileri birçok faktörü dikkate alarak, bilgileri gerçek oluşumuna göre inceleyip, çözümlere ulaştırmak mümkündür. Modern enstrümantel cihazlardan kompleks karışımların analizinde herhangi bir ön ayırma işlemi gerekmeden birden fazla analitik sinyal elde edilebilmesi, istatistiksel ve matematiksel algoritmaların kimyasal verilere uygulanmasını gerekli kılmıştır (Üstündağ 2003, Dinç 2007).

Çok değişkenli kalibrasyon tekniğinin, birden fazla seçilen kritik dalga boyunda çalışmayı sağlamasından dolayı hatalı dalga boylarını elimine etmenin mümkün olması, iki veya daha fazla aktif bileşik içeren örneklerin analizinin mümkün olması, yöntemin uygulanması için doğrudan absorbans değerlerinin ölçülmesinin yeterli olması gibi avantajları vardır. Kalibrasyon setlerini hazırlamanın zorluğu ve zaman alıcı olması, soyut matematiksel ve istatistiksel işlemleri içermesi, karmaşık matris hesaplamaları, Matlab gibi zor bilgisayar programlarının kullanılması dezavantajları arasında sayılabilir (Üstündağ 2003, Özdemir 2009).

Çok değişkenli kalibrasyon algoritmalarından bazıları, temel bileşen regresyonu (principal component regression, PCR), klasik en küçük kareler metodu (classical least-squares, CLS), ters en küçük kareler metodu (inverse least-squares, ILS), kısmi en küçük kareler metodudur (partial least-squares, PLS) (Kaya 2007, Özdemir 2009).

3.3.1 Çok değişkenli kalibrasyon algoritmaları

3.3.1.1 Klasik en küçük kareler yöntemi

Klasik en küçük kareler yöntemi, Beer-Lambert yasasının enstrümantel cihazlardan elde edilen verilerden oluşan lineer denklem sistemlerine uygulanması esasına dayanır ve absorbans değerlerinin derişime bağlı olarak değiştiğini kabul eder. K matris metodu olarakta bilinir.

Beer-Lambert yasasına göre ;

$$A = K \cdot C \quad (3.2)$$

denklemini lineer denklem sistemleri gibi ifade edersek,

$$A_{\lambda 1} = K_{1,\lambda 1} C_1 + K_{2,\lambda 1} C_2 + \dots + K_{C,\lambda 1} C_C + E_{\lambda 1} \quad (3.3)$$

$$A_{\lambda 2} = K_{1,\lambda 2} C_1 + K_{2,\lambda 2} C_2 + \dots + K_{C,\lambda 2} C_C + E_{\lambda 2} \quad (3.4)$$

$$A_{\lambda 3} = K_{1,\lambda 3} C_1 + K_{2,\lambda 3} C_2 + \dots + K_{C,\lambda 3} C_C + E_{\lambda 3} \quad (3.5)$$

.....

$$A_{\lambda n} = K_{1,\lambda n} C_1 + K_{2,\lambda n} C_2 + \dots + K_{C,\lambda n} C_C + E_{\lambda n} \quad (3.6)$$

Yukarıdaki denklemi daha basit bir şekilde gösterecek olursak,

$$A = K \cdot C + E \quad (3.7)$$

şeklindedir. En küçük kareler yöntemini basitçe gösterecek olursak,

$$A_{p \times q} = K_{p \times j} C_{j \times q} \quad (3.8)$$

$$K = (A_{p \times j} C_{q \times j}) \times (C_{p \times j} C_{q \times j}^T)^{-1} \quad (3.9)$$

$$K^* = (K_{j \times p}^T K_{p \times j})^{-1} K_{j \times p}^T \quad (3.10)$$

$$C_{j \times p} = K^* \cdot A_{\text{örnek}} \quad (3.11)$$

Burada A: ölçülen absorbans, K: ölçüm için seçilen noktalardaki katsayılar, K*: CLS kalibrasyon katsayısı, C: analiz edilen bileşiğin derişimi, E ise matristeki spektral hatalardır (Öztürk 2003, Üstündağ 2003, Dinç 2007).

Klasik en küçük kareler yönteminin avantajları: hesaplamalar hızlıdır, PCR ve PLS' ye göre daha basit bir algoritmaya sahiptir, dalga boyu seçimi gerektirmez, geniş bir spektral alanda birden fazla sayıdaki dalgaboyunu absorbans ölçümleri kalibrasyonda kullanılabilir, spektral zemin anında düzeltilerek hata oranı azaltılabilir (Üstündağ 2003, Dinç 2007, Özdemir 2009).

Klasik en küçük kareler yönteminin dezavantajları: kalibrasyon karışımlarının derişimlerinin her bileşen için bilinmesi gerekir, birbiriyle girişim yapan bileşenlerin olduğu karışımların analizi için uygun değildir (Üstündağ 2003, Dinç 2007).

3.3.1.2 Ters en küçük kareler yöntemi

Ters en küçük kareler yöntemi (ILS), Beer Lambert yasasının ters ifadesinin lineer denklem sistemine uygulanmasını içerir. Bu yöntem derişimin absorbansa bağlı olarak değiştiğini kabul eder (Özdemir 2009).

$$C = P \times A \quad (3.12)$$

Bu formülden yola çıkılarak;

$$C_1 = P_{11} A_1 + P_{12} A_2 + \dots + P_{1W} A_W \quad (3.13)$$

$$C_2 = P_{21} A_1 + P_{22} A_2 + \dots + P_{2W} A_W \quad (3.14)$$

$$\dots$$
$$C_C = P_{C1} A_1 + P_{C2} A_2 + \dots + P_{CW} A_W \quad (3.15)$$

yazılabilir. Yukarıdaki denklemlerde A ölçülen absorbans, P kalibrasyon katsayısı ve C ise analiz edilen bileşimin derişimidir. Yöntemin basit algoritmasını yazacak olursak;

$$C_{k \times q} = P_{k \times p} \times A_{p \times q} \quad (3.16)$$

$$P = (C_{k \times q} A^T (A_{p \times q} A_{q \times p}^T)^{-1} \quad (3.17)$$

$$C_{\text{Örnek}} = P_{k \times p} A_{p \times q} \quad (3.18)$$

ILS yönteminin ölçülen absorbans değerleri formülden yerine koyulduğunda doğrudan derişimi hesaplamaya olanak tanınması, analiz edilen bileşenlerin bilinmesi şartıyla bu kalibrasyon modeli kompleks karışımların analizine olanak tanınması gibi avantajları vardır. Ancak kalibrasyon için kullanılan dalga boyunun seçimi zor ve zaman alıcı olması, dalga boylarının sayısı kalibrasyon numunelerinin sayısı ile sınırlanan modeller kullanılması, kalibrasyon numunelerinin hazırlanması ve bir ön kalibrasyon aracılığıyla ölçümün zor olması gibi dezavantajları vardır (Dinç 2007).

3.3.1.3 Temel bileşen regresyon yöntemi

Yöntemin esası, derişim seti için ölçülen absorbans verilerinin dekompozisyonu ile birbirine dik doğrular elde edilmesine dayanır. Bu elde edilen doğrular kurulacak kalibrasyonun koordinat sistemidir (Dinç 2007).

PCR algoritması Martens ve Naes (1984) tarafından verilen şemaya göre açıklanmaktadır. PCR kalibrasyonu, önce analiz edilecek maddenin varyans-kovaryansı bulunur ve varyans-kovaryans saçılma matriksinin öz vektörleri ve öz değerleri hesaplanır. Öz değere karşılık gelen öz vektör kalibrasyonun lineer bileşenidir.

PCR algoritmasında genel lineer regresyon denklemi:

$$C = a + b \cdot A \quad (3.19)$$

şeklinde gösterilir. Burada C analitin derişimi, a sabit sayı, b ise temel bileşenlerin ve C-loading matriksinin (q) çarpımından elde edilir.

$$b = P \cdot q \quad (3.20)$$

Burada P öz vektörün matriksidir. Öz vektör, kolon matriksi en uygun öz değere denk gelmektedir. Formüldeki q vektörü C-loadings olarak adlandırılır ve T (sayı matriksi) üzerinden C'nin regresyonu ile tayin edilir:

$$q = D \cdot T^T \cdot Y_0 \quad (3.21)$$

Formüldeki D diagonal matriks olup her bir öz değer tersine eşittir. t₁ sayı matriksi:

$$t_1 = A_0 \cdot P_1 \quad (3.22)$$

formülünden hesaplanır. Ortalama absorbans ve derişim, A₀ ve C₀ ile gösterilebilir. Burada a sabiti genel lineer regresyon denkleminde yola çıkılarak:

$$a = C_0 - A_0^T \cdot b \quad (3.23)$$

formülünden hesaplanabilir. Her aşamada elde edilen değerler (3.19) formülünde yerine koyulursa numunede bilinmeyen derişim hesaplanabilir (Dinç 2007).

Temel bileşen regresyonunun avantajları; dalga boyu seçimi gerektirmez ve bütün spektral alanlarda ya da spektral alanının geniş bir bölgesinde çalışma olanağı sağlar, çok bileşen analiz için kullanılabilir, PCR data işlemleri için ve kalibrasyondaki katsayıların hesaplanmasında ILS regresyon işleminin kullanılmasını sağlar, ancak analiz edilecek bileşenler bilindiği takdirde kompleks karışımlarda kullanılabilir, kalibrasyon için ölçülen absorbanların dekompozisyon işleminden sonra uygun öz vektörlere karşılık seçilen öz değerlerin deneysel ortamdan ve ölçüm aletlerinden gelen gürültünün eliminasyonunu sağlar (Üstündağ 2003).

Temel bileşen regresyonunun dezavantajları; hesaplamalar klasik yöntemlere göre daha yavaştır, yöntemin optimizasyonu temel kalibrasyon komponentlerinin bazılarının bilinmesini gerektirir, kalibrasyonlar için temel alınan vektörler analiz edilecek bileşenlere karşılık gelmeye bilir, genellikle çok sayıda kalibrasyon numunesinin kullanılması doğru bir kalibrasyon için gereklidir, kalibrasyon numunelerinin hazırlanması bileşenlerin derişimleri ile doğrusallıktan uzaklaşmaları nedeniyle zordur (Üstündağ 2003).

3.3.1.4 Kısmi en küçük kareler yöntemi

Kemometrik kalibrasyon yöntemleri arasında en yaygın olarak kullanılanı PLS yöntemidir. Yöntemin esası bağımlı ve bağımsız değişkenlerin dekompozisyonuna dayanır. Günümüzde kompleks kimyasal karışımların analizinde PLS1 ve PLS2 olmak üzere iki metod kullanılır. PLS1 metodu, bileşenleri tek tek inceler, PLS2 metodu ise bütün bileşenleri aynı anda inceler ve PLS1' den elde sonuçların, PLS2' den elde edilen sonuçlardan daha iyi olduğu görülmüştür (Üstündağ 2003, Dinç 2007, Özdemir 2009).

Kısmi en küçük kareler yönteminde, yeni koordinat sisteminde spektral şiddetler ILS modeli kullanılarak analit derişimleri ile ilişkilendirilir. Bu modelleme:

$$c = Tv + e_c \quad (3.24)$$

şeklinde gösterilir. Bu formülde c $m \times 1$ bileşen derişim vektörü, v $h \times 1$ spektral şiddetleri bileşen derişimine ilişkilendiren vektör ve e_c analizlenen komponentlerin referans değerindeki hatalara ait $m \times 1$ vektörüdür. v için çözüm ters en küçük kareler yöntemindeki gibi en küçük kareler çözümdür. Ancak T matrisinin sütunları ortogonal ve diagonal ($T^T T$) matrisinin tersi trivialdir. V_h vektörü:

$$V_h = (T^T T)^{-1} T^T c \quad (3.25)$$

şeklinde hesaplanır. V_h en küçük karelerle hesaplanan değerdir.

Veri düzenlemelerinden sonra eş zamanda tek bileşen analizi için bir CLS kalibrasyon modeli seçilir. Daha sonra PLS1 algoritması tahmin edilen birincil ağırlıklı loading vektör olan \hat{w}_h ifadesinde h yerine 1 konulmasıyla başlar.

$$\hat{W}_h = A^T c (c^T c)^{-1} \quad (3.26)$$

Bu denklemde \hat{W}_h analiz edilen bileşene ait saf bileşen spektrumlarının birinci derecede tahminini temsil eden $n \times 1$ vektörüdür. Bu ağırlıklı loading vektör daha sonra ILS tahmin metodu ile \hat{t}_h skor vektörünü oluşturmada kullanılır.

$$\hat{t}_h = A \hat{W}_h \quad (3.27)$$

lineer en küçük kareler regresyonu ile bu skor vektör bileşen derişimi ile ilişkilendirilebilir. Skorlar regresyon katsayısı \hat{V}_h :

$$\hat{V}_h = \hat{t}_h^T c (\hat{t}_h^T \hat{t}_h)^{-1} \quad (3.28)$$

Formülüne göre hesaplanır. Hesaplanan regresyon katsayısı daha sonra derişim artıklarını elde etmede kullanılır. Ko-lineerlik problemlerini çözmek için PLS loading vektörü b_h , A için yeni bir modelle hesaplanır. Bir kere daha en küçük kareler yöntemi ile hesaplanan b_h vektörünü bulmak için kullanılır.

$$\hat{b}_h = \hat{t}_h^T A (\hat{t}_h^T \hat{t}_h)^{-1} \quad (3.29)$$

Burada b_h $n \times 1$ PLS loading vektörüdür. t_h skor vektörü ile b_h PLS loading vektörünün transpozisini çıkararak kalibrasyon spektrumlarına birinci PLS hesaplamak mümkündür. A matrisinden tahmini PLS matrisi çıkartılarak birinci residual matris hesaplanır. Skalar regresyon katsayısı V_h nin skor ile çarpılması ve sonucun orijinal derişim vektöründen çıkarılması, derişim vektörü içindeki residuallerin hesaplanması ile aynı şekilde yapılır.

$$E_A = A - \hat{t}_h \hat{b}_h^T \quad (3.30)$$

Bu denklem A ve c için residualleri sağlar.

$$e_c = c - \hat{V}_h \hat{t}_h \quad (3.31)$$

Bu kalibrasyon basamağındaki ilk iterasyonun sonudur. Bu süreç istenen birçok loading vektör için h' yi parçalayarak algoritmanın başındaki ilk CLS kalibrasyon modelinde c yerine e_c , A yerine E_A konarak hesaplanır.

PLS1 algoritmasının tahmin aşaması son kalibrasyon katsayıları olan b_j 'nin hesaplamalarını içerir. b_f hesaplandıktan sonra analitin ve spektrumlarının ortalama derişimini kullanarak yeni örneğin derişimini hesaplamak mümkündür.

$$b_f = \hat{W} (\hat{B} \hat{W}^T)^{-1} \hat{V} \quad (3.32)$$

Yukarıdaki denklem PLS1 'in tahmin aşamasını göstermektedir. \hat{W} ve \hat{B} sırasıyla \hat{w}_h ve \hat{b}_h vektörlerini içerir. Son tahmin eşitliği ise;

$$\hat{c} = a^T b_f + c_o \quad (3.33)$$

şeklindedir. Formüldeki c tahmin edilen bilinmeyen örnek derişimi, a bu örneğin spektrumu ve c_o ise kalibrasyon örneklerinin ortalama derişimleridir (Öztürk 2003, Özdemir 2009).

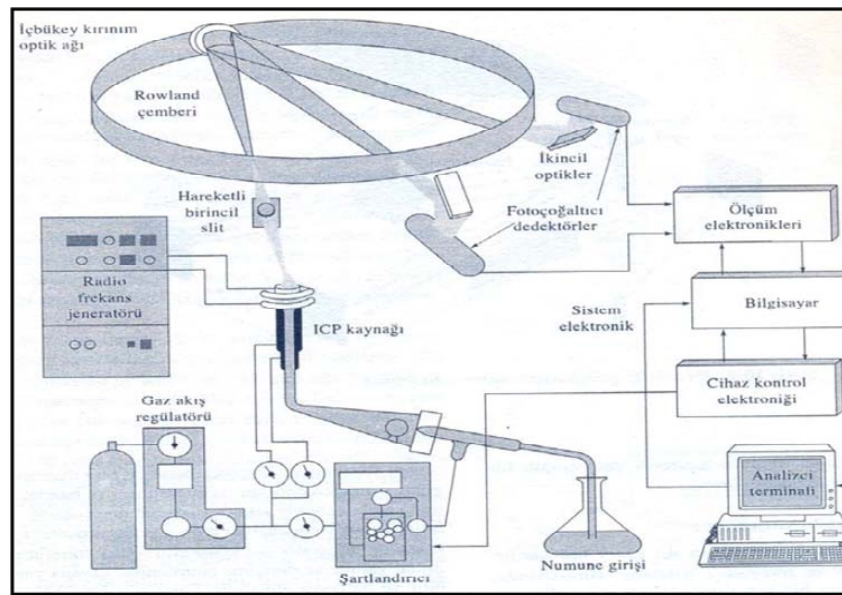
Kısmi en küçük kareler yönteminin avantajları; PLS kalibrasyonu CLS ve ILS hesap tekniklerini de kapsar, tek aşamalı dekompozisyon ve regresyon işlemi gerektirir ve kalibrasyonda kullanılan öz vektörler analiz edilen bileşenler ile en geniş ortak spektral değişimin olduğu bölgede doğrudan ilişkilidir, analiz edilecek bileşenlerin bilinmesi şartıyla kompleks karışımlarda da kullanılabilir, PCR 'dan daha iyi sonuç verir (Üstündağ 2003, Dinç 2007).

Kısmi en küçük kareler yönteminin dezavantajları; PLS hesaplamaları diğer yöntemlere göre daha yavaştır. Aşırı derecede soyuttur anlaşılması ve yorumlanması zordur, kalibrasyon numunelerinin hazırlanması bileşenlerin derişimleri ile doğrusallıktan uzaklaşmalarından dolayı zordur (Üstündağ 2003, Dinç 2007).

3.4 İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma - Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES)

3.4.1 ICP-OES Cihazı

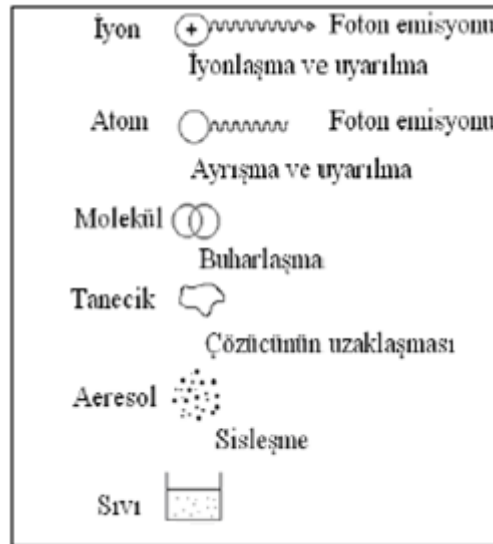
Cihazın çalışma esası, çözelti durumundaki örneğin yüksek sıcaklıktaki plazmaya püskürtülmesiyle gaz fazına geçen ve atomlaşan elementlerin plazmada uyarılmış duruma geçmesinden sonra yaydıkları ışını uygun bir dedektörle ölçerek çözeltideki elementlerin miktarını belirlenmesine dayanır (Kacar ve İnal 2008).



Şekil 3.1 ICP-OES cihazının yapısı (Daşdemir 2008)

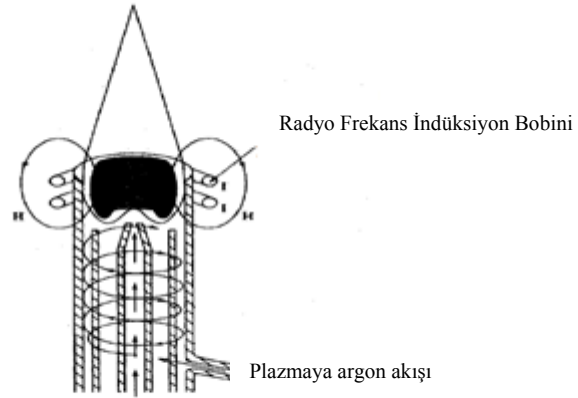
ICP-OES cihazı atomik emisyon spektrometresinin yüksek sıcaklıktaki plazma ile donatılmasıyla geliştirilmiştir. Plazma, katyon ve elektronları içeren ve elektrik akımını ileten gaz karışımı olarak tanımlanır. ICP-OES cihazında plazmayı çoğunlukla inert bir gaz olan argon gazı oluşturur (Şekil 3.3).

Cihaza genellikle sıvı fazda verilen numune aerosol tanecikleri halinde yüksek sıcaklıktaki plazmaya (10000K) gönderilir. Plazmada aerosol tanecikleri sırasıyla kurur, parçalanır, atomlaşır, iyonlaşır ve uyarılır (Şekil 3.2). Bunun sonucunda elementler kendilerine özgü ışın yayarlar. Bu ışın şiddeti elementlerin derişimleriyle doğru orantılıdır ve bir emisyon spektrometresi ile ölçülür (Daşdemir 2008, Atakuru 2009).



Şekil 3.2 Atomlaşma ve uyarılmanın şematik gösterimi (Daşdemir 2008)

İndüktif olarak eşleşmiş plazma, iç içe geçmiş üç kuartz borudan (torch) yapılmıştır ve en geniş boru çapı 2,5 cm' dir. En dıştaki boru, 15 L/min hızla argon gazı taşır ve böylelikle plazmayı besler, korur ve soğumasını sağlayarak kuartz tüpünün erimesini önler. Ortadaki boru, organik numunelerle çalışırken yardımcı gaz olarak plazmaya 1L/min argon gazı taşır. En içteki boru ise 0,3-1,5 L/min aralığında numuneyi plazmaya taşır (Kacar ve İnal 2008, Atakuru 2009, Keleşoğlu 2011).



Şekil 3.3 İndüktif eşleşmiş plazmanın yapısı (Kacar ve İnal 2008)

ICP cihazında monokromatör ve polikromatör olmak üzere iki spektrometre bulunmaktadır. Monokromatör, bir tane ikincil yarığa sahip olduğundan sadece bir dalga boyunda ölçüm yapabilir. Polikromatör ise seçilen her bir analit için ikincil bir yarığa sahip olduğundan numunedeki elementler aynı anda tayin edilebilir (Daşdemir 2008, Keleşoğlu 2011).

ICP-OES cihazının; analiz sonuçlarının doğruluğunun, kesinliğinin ve duyarlılığının yüksek olması, düşük derişimlerde çalışma imkanı sağlaması, girişimlerin çok az olması gibi avantajları vardır (Kacar ve İnal 2008).

ICP-OES cihazlarında; numune çözeltisinin ve gazın plazmaya akışındaki düzensizlikler, optik aksamda kaymalar ve elektronik aksamdaki düzensizlikler veya sistemin kilitlemesi gibi problemlerle karşılaşılabilir. Ayrıca kullanılan argon gazının kalitesi de çok önemlidir. Düşük kalitedeki argon gazının kullanımında plazma oluşumu zor olur veya hiç oluşmaz (Kacar ve İnal 2008).

ICP' deki girişimler diğer enstrümantel cihazlara kıyasla yok denecek kadar azdır. ICP tekniğindeki bazı temel girişimler şunlardır;

Ortam girişimi: Numunedeki katı miktarı, yüzey gerilimi ve viskozite numune giriş sisteminin etkinliğini yakından etkiler. Numune ve standart çözeltiler arasındaki bu farklılıklar sisleştirici alım hızı ve plazmaya transfer olan maddenin etkinliğinde farklılıklar meydana getirebilir. Ortam girişimleri; ortam benzetilmesi, iç standart veya standart ekleme metotlarının kullanımıyla giderilebilir (Daşdemir 2008, Keleşoğlu 2011).

Kimyasal girişimler: Plazmanın yüksek sıcaklıkta olmasından dolayı kimyasal girişimler engellenmiş olur. Bu sıcaklık (10000K), birçok kimyasal bağın parçalanması ve bileşiklerin atomlara ayrışması için yeterlidir (Daşdemir 2008, Keleşoğlu 2011).

Fiziksel girişim: Numune tüketimi, numune taşınma hızındaki değişimler ve damlacık oluşum işlemleri sebebiyle oluşur. Numune tüketim hızı çok düşük olduğundan ICP üzerinde belirgin bir etkisi yoktur. Numune akış hızı ise ICP de peristaltik pompa ile kontrol edildiğinden fiziksel girişimler en aza düşürülür. Numune alım hızı, numune viskozitesinden bağımsız hale gelir (Daşdemir 2008, Keleşoğlu 2011).

İyonlaşma girişimleri: Numune içerisindeki analit haricindeki türlerin elektron alışverişinden ve tayin edilecek türlerin atom veya iyon derişimlerinin değişmesinden kaynaklanır. İyonlaşmış argon gazının elektronca zengin olması yüksek sıcaklık ortamının iyonlaşma etkisini tamponlar ve ICP de oluşan iyonlaşma oranının sabit kalmasını sağlar (Daşdemir 2008, Keleşoğlu 2011).

Zemin değer ve spektral girişimler: Zemin değer girişimleri; uyarma kaynağının analitin dalga boyunda ışık yaymasından kaynaklanır. Spektral girişimler ise, numunedeki herhangi bir elementin analitin dalga boyuna yakın emisyon hattına sahip olduğu durumlarda oluşur. Spektral girişimler, doğru dalga boyu seçimi, zemin değer düzeltilmesi ve girişim yapan elementin uzaklaştırılmasıyla en aza indirgenebilir (Daşdemir 2008, Keleşoğlu 2011).

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1 Kullanılan Cihazlar

Deneyleerde kullanılan kalibrasyon ve numune çözeltilerinin hazırlanmasında 20 µL-200 µL ve 100 µL-1000 µL hacimli thermo marka otomatik pipetler kullanıldı. Çözeltilerin hazırlanmasında TKA pacific-UP/UPW ve TKA genpure UV marka ultrasaf su cihazları kullanıldı ($18,3 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}=0,055 \text{ }\mu\text{S/cm}$). Bitki örneklerinin tartımında scaltec marka hassas terazi kullanıldı. Öğütme işlemleri Bosch marka öğütme cihazı ile yapıldı. Yakma işlemleri Digester 5620 marka blok yakma ünitesi ile yapıldı. Çözeltilerdeki elementlerin atomik emisyon şiddeti ölçümleri Varian 720-ES serisi ICP optik emisyon spektrometresi ile yapıldı.

Çizelge 4.1 ICP-OES cihazının çalışma koşulları

Parametreler	
Güç	1kW
Plazma gaz akışı (Ar)	15L/min
Yardımcı gaz akışı (Ar)	1,5L/min
Sisleştirici gaz akışı (Ar)	0,75L/min
RF jeneratörü	40MHz
Pompa hızı	15rpm

4.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çizelge 4.2 Hazırlanan çözeltilerde kullanılan kimyasal maddeler

Kullanılan kimyasal maddeler	Temin edildiği firma	Safılık derecesi
Argon gazı	-	% 99,9
Hidrojen peroksit	Merck	% 35
Sülfürik asit	Merck	% 97
% 4'lük HNO ₃ 'de Cu, 1000 mg/L Cu standardı	SCP Science	% 99,9
% 4'lük HNO ₃ 'de CaCO ₃ , 1000 mg/L Ca standardı	SCP Science	% 99,9
% 4'lük HNO ₃ 'de Fe tozu, 1000 mg/L Fe standardı	SCP Science	% 99,9
% 4'lük HNO ₃ 'de KNO ₃ , 1000 mg/L K standardı	SCP Science	% 99,9
% 4'lük HNO ₃ 'de Mg metali, 1000 mg/L Mg standardı	SCP Science	% 99,9
% 4'lük HNO ₃ 'de mangan asetat, 1000 mg/L Mn standardı	SCP Science	% 99,9
% 4'lük HNO ₃ 'de Zn metali, 1000 mg/L Zn standardı	SCP Science	% 99,9

4.3 Kullanılan Yaprak Numuneleri

Deneylerde kullanılan yaprak numuneleri Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsünün araştırma bahçesinden temin edildi.

4.4 Kullanılan Standart Referans Madde Numunesi

Deneylerde kullanılan standart referans madde numunesi olarak NIST 1547 şeftali yaprağı kullanıldı. Bu materyalin elementel içeriği Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn 'den sırasıyla 0,037, 156, 2,18, 243, 43,2, 0,98 ve 0,179 mg/L 'dir.

4.5 Kalibrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması

4.5.1 Tek değişkenli kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması

Tek değişkenli kalibrasyon çözeltileri, seyreltme yöntemiyle hazırlanmıştır. 1000 mg/L Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn içeren standartlardan gerekli miktarlar alınarak Çizelge 4.3'de belirtilen Std-10 standardı hazırlandı ve diğer standartlar bu standarttan seyreltilerek hazırlandı.

Çizelge 4.3 Tek değişkenli kalibrasyon çözeltilerindeki elementlerin derişimleri, mg/L

Standard	Cu	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Zn
Std-1	0,006	0,586	0,006	0,586	0,098	0,004	0,004
Std-2	0,012	1,172	0,012	1,172	0,195	0,008	0,008
Std-3	0,023	2,344	0,023	2,344	0,391	0,016	0,016
Std-4	0,047	4,688	0,047	4,688	0,781	0,031	0,031
Std-5	0,094	9,375	0,094	9,375	1,563	0,063	0,063
Std-6	0,188	18,75	0,188	18,75	3,125	0,125	0,125
Std-7	0,370	37,50	0,370	37,50	6,250	0,250	0,250
Std-8	0,750	75,00	0,750	75,00	12,500	0,500	0,500
Std-9	1,500	150,00	1,500	150,0	25,000	1,000	1,000
Std-10	3,000	300,00	3,000	300,0	50,000	2,000	2,000

4.5.2 Çok değişkenli kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması

Çok değişkenli kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanmasında kemometrik kalibrasyon deney tasarımı kullanıldı (Brereton 1997). Kalibrasyon çözeltileri için 1000 mg/L'lik Ca, K ve Mg standartları kullanıldı ve 1000 mg/L'lik Cu, Fe, Mn ve Zn standardından seyreltilerek 20 mg/L'lik ara stok Cu, Fe, Mn ve Zn standartları hazırlandı. Kemometrik kalibrasyon deney tasarımı, Çizelge 4.4'teki derişim seviye değerlerini içeren 25 farklı derişimlerde Çizelge 4.5'teki dizayna ve Çizelge 4.6'daki derişimlere

göre hazırlanan kalibrasyon çözeltileri ana ve ara stok standartlarından gerekli miktarda 50 ml'lik balon jodelere alınıp ultra saf su ile hacmine tamamlandı.

Çizelge 4.4 Çok değişkenli kalibrasyon çözeltilerindeki elementlerin seviye değerleri, mg/L

Tasarım	Cu	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Zn
-2	0,010	10	0,010	10	1	0,010	0,010
-1	0,020	50	0,020	50	5	0,020	0,020
0	0,100	100	0,100	100	10	0,100	0,100
1	1,000	200	1,000	200	25	1,000	1,000
2	2,000	300	3,000	300	50	2,000	2,000

Çizelge 4.5 Çok değişkenli kalibrasyon çözeltileri için kemometrik tasarım

	Cu	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Zn
T1	0	0	0	0	0	0	0
T2	0	-2	-2	2	-1	2	0
T3	-2	-2	2	-1	2	0	-1
T4	-2	2	-1	2	0	-1	-1
T5	2	-1	2	0	-1	-1	1
T6	-1	2	0	-1	-1	1	2
T7	2	0	-1	-1	1	2	1
T8	0	-1	-1	1	2	1	0
T9	-1	-1	1	2	1	0	2
T10	-1	1	2	1	0	2	2
T11	1	2	1	0	2	2	-2
T12	2	1	0	2	2	-2	1
T13	1	0	2	2	-2	1	-2
T14	0	2	2	-2	1	-2	0
T15	2	2	-2	1	-2	0	1
T16	2	-2	1	-2	0	1	1
T17	-2	1	-2	0	1	1	-1
T18	1	-2	0	1	1	-1	-2
T19	-2	0	1	1	-1	-2	-1
T20	0	1	1	-1	-2	-1	0
T21	1	1	-1	-2	-1	0	-2
T22	1	-1	-2	-1	0	-2	-2
T23	-1	-2	-1	0	-2	-2	2
T24	-2	-1	0	-2	-2	2	-1
T25	-1	0	-2	-2	2	-1	2

Çizelge 4.6 Çok değişkenli kalibrasyon çözeltilerindeki elementlerin derişimleri, mg/L

	Cu	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Zn
T1	0,1	100	0,1	100	10	0,1	0,1
T2	0,1	10	0,01	300	5	2	0,1
T3	0,01	10	3	50	50	0,1	0,02
T4	0,01	300	0,02	300	10	0,02	0,02
T5	2	50	3	100	5	0,02	1
T6	0,02	300	0,1	50	5	1	2
T7	2	100	0,02	50	25	2	1
T8	0,1	50	0,02	200	50	1	0,1
T9	0,02	50	1	300	25	0,1	2
T10	0,02	200	3	200	10	2	2
T11	1	300	1	100	50	2	0,01
T12	2	200	0,1	300	50	0,01	1
T13	1	100	3	300	1	1	0,01
T14	0,1	300	3	10	25	0,01	0,1
T15	2	300	0,01	200	1	0,1	1
T16	2	10	1	10	10	1	1
T17	0,01	200	0,01	100	25	1	0,02
T18	1	10	0,1	200	25	0,02	0,01
T19	0,01	100	1	200	5	0,01	0,02
T20	0,1	200	1	50	1	0,02	0,1
T21	1	200	0,02	10	5	0,1	0,01
T22	1	50	0,01	50	10	0,01	0,01
T23	0,02	10	0,02	100	1	0,01	2
T24	0,01	50	0,1	10	1	2	0
T25	0,02	100	0,01	10	50	0,02	2

4.6 Sentetik Numune Çözeltilerinin Hazırlanması

Sentetik numune çözeltileri, 1000 ve 20 mg/L'lik Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn standartlarından sırasıyla 0,2; 80; 0,8; 100; 30; 0,3 ve 0,5 mg/L içerecek hacimde alınarak 50 ml'lik balon jøjeye koyulup ultrasaf su ile hacmine tamamlandı.

4.7 Yaprak Numunelerinin Analize Hazırlanması

Laboratuara getirilen bitki yaprak örneği, yıkanıp temizlendikten sonra kese kağıtlarına koyulup etüvde 48 saat 65°C de kurutuldu. Kurutulmuş bitki örnekleri, öğütme makinasında öğütüldü.

Yaprak örnekleri sülfürik asit ve hidrojen peroksit yaş yakma yöntemiyle hazırlandı (Kacar ve İnal 2008). Öğütülmüş bitki örneğinden 0,5 g tartıldı ve 100 ml'lik yakma tüpüne koyuldu. Üzerine büret aracılığıyla 3,5 ml derişik H₂SO₄ ilave edildi. Hafifçe çalkalayarak bitki örneğinin asitle ıslanması sağlandıktan sonra 30 dakika beklendi ve üzerine 3,5 ml % 30 'luk H₂O₂ ilave edildi. Daha sonra blok yakma ünitesine yerleştirilerek 350 °C de 30 dakika yakıldı. Tüpler yakma ünitesinden çıkarıldı ve soğuması beklendi. Soğuyan tüplere 2 ml % 30'luk H₂O₂ ilave edildi ve tüpler yakma setine yerleştirilip tekrar 30 dakika yakıldı. Bu işleme renksiz bir çözelti elde edilinceye kadar devam edildi. Renksiz, berrak bir çözelti elde edilince yakma setinden çıkarılan tüpler soğuduktan sonra üzerine ultra saf su ilave edilerek 50 ml'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine ultra saf su ile tamamlandı.

4.8 Standart Referans Maddenin Hazırlanması

Standart referans madde (NIST 1547), gerçek yaprak numuneleri ile aynı çözünürleştirme yöntem kullanılarak hazırlandı.

4.9 Standart Ekleme Yöntemine Göre Numune Hazırlama

Aynı bitki yaprak numunesinden 0,5 g tartıldı ve yaprak numuneleri ile birlikte aynı işlemler uygulandı. Ancak ultra saf su ile 50 ml'lik balon jøjeye aktardıktan sonra üzerine Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn standartlarından sırasıyla 0,1; 50; 0,2; 50; 10; 0,2; 0,2 mg/L olacak şekilde uygun hacimlerde ilave edildi ve hacmine tamamlandı.

4.10 ICP-OES ile Element Analizi

Hazırlanan çözeltilerin nicel analizi ICP-OES cihazı ile yapıldı. Cihaz tek değişkenli kalibrasyon çözeltileri (Çizelge 4.3) ile kalibre edildi daha sonra sırasıyla standart referans yaprak numuneleri, çok değişkenli kalibrasyon çözeltileri (Çizelge 4.6), sentetik numuneler, yaprak numuneleri ve standart eklenmiş yaprak numunelerinin okuması yapıldı. Tek değişkenli kalibrasyon çalışmasında, cihaz için önerilen ve en yüksek emisyon şiddeti veren dalga boyları seçildi. Bunlar: Cu 324,754; Ca 317,933; Fe 238,204; K 766,491; Mg 280,270; Mn 257,610 ve Zn 213,857 'dir. Çok değişkenli

kalibrasyon yöntemi için ise toplamda 129 tane dalga boyunda okuma yapıldı (Çizelge 4.7). Hesaplamalar ise Matlab programında yazılmış CLS, PCR ve PLS1 program modülleri ile yapılmıştır.

Çizelge 4.7 Çok değişkenli kalibrasyon yönteminde çalışılan dalga boyları

Cu	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Zn
199,970	183,738	234,350	321,715	182,731	185,264	202,548
204,380	183,944	234,830	344,637	202,582	191,446	206,200
212,604	210,324	238,204	344,738	277,827	192,061	206,423
213,598	211,276	238,863	404,414	277,983	257,610	207,908
217,895	219,779	239,563	404,721	278,142	259,372	208,733
217,941	220,861	240,489	633,178	278,297	260,568	209,693
218,172	315,887	241,052	645,870	279,078	261,020	209,994
218,963	317,933	258,588	662,367	279,553	261,815	210,442
219,227	318,127	259,837	693,527	279,800	262,561	213,857
219,959	370,602	259,940	693,876	280,270	263,817	277,085
219,975	373,690	260,709	766,491	285,213	270,170	280,086
221,458	393,366	261,187	769,897	293,651	270,573	307,590
222,778	396,847	261,382		294,199	279,482	328,233
222,887	422,673	262,567		309,299	279,827	330,258
223,009	430,253	263,105		309,689	280,108	330,294
224,262	443,496	263,132		333,667	293,305	334,502
224,427	445,478	273,358		383,230	293,931	334,557
224,700	612,222	275,574		383,829	294,921	472,215
324,754	616,217	370,792			344,199	636,234
327,395	643,907	373,713			346,032	

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1 Tek değişkenli Kalibrasyonla Elde Edilen Sonuçlar

Madde 4.10'a göre yapılan emisyon şiddeti ölçümlerinden, tek değişkenli kalibrasyon çözeltileri ile yapılan kalibrasyon sonucu standart referans madde için ve sentetik numune için elde edilen sonuçlar, % geri kazanım değerleri ve yapılan hatalar hesaplandı (Çizelge 5.1a ve b).

Çizelge 5.1a Standart referans madde ile doğruluk analizi

Elementler	Standart Referans Madde		% Geri kazanım	% Hata
	Bilinen (mg/L)	Bulunan (mg/L)		
Cu	0,037 ± 0,004	0,03 ± 0,0005	79,9 ± 1,2	+18,9
Ca	156 ± 2,0	110,7 ± 9,5	71,0 ± 6,1	+29,0
Fe	2,18 ± 0,1	1,1 ± 0,2	52,6 ± 9,2	+42,2
K	243 ± 3,0	134,3 ± 9,6	55,2 ± 3,9	+44,7
Mg	43,2 ± 0,8	35,2 ± 0,4	81,4 ± 0,9	+18,5
Mn	0,98 ± 0,03	0,7 ± 0,02	70,0 ± 1,9	+29,6
Zn	0,179 ± 0,004	0,07 ± 0,003	41,3 ± 23,1	+58,6

Çizelge 5.1b Sentetik numuneler ile doğruluk analizi

Elementler	Sentetik numune		% Geri kazanım	% Hata
	Bilinen (mg/L)	Bulunan (mg/L)		
Cu	0,2	0,28 ± 0,005	139,7 ± 2,7	+ 40
Ca	80	101,5 ± 1,0	126,9 ± 1,2	+ 26,9
Fe	0,8	0,83 ± 0,04	104,0 ± 4,7	+ 3,7
K	100	69,1 ± 2,0	69,1 ± 2,0	-30,9
Mg	30	40,2 ± 0,8	134,1 ± 2,6	+ 34,1
Mn	0,3	0,37 ± 0,005	124,2 ± 1,6	+ 23,3
Zn	0,5	0,8 ± 0,03	171,8 ± 6,1	+ 40,7

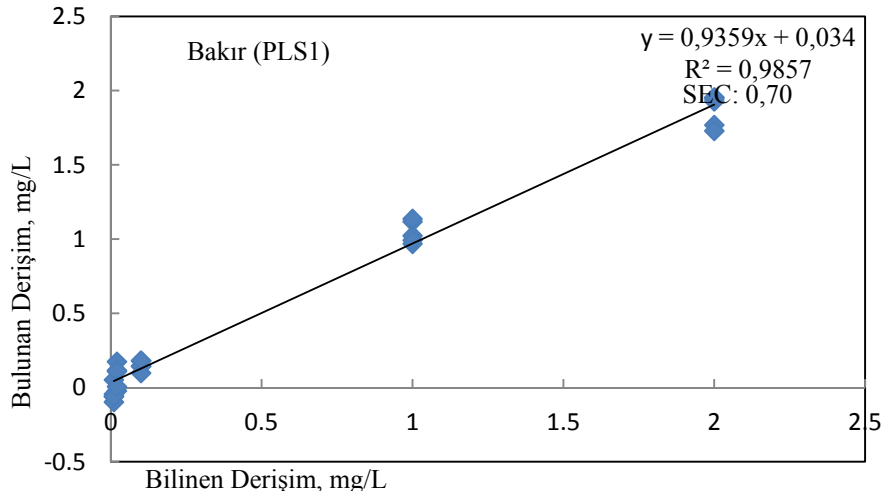
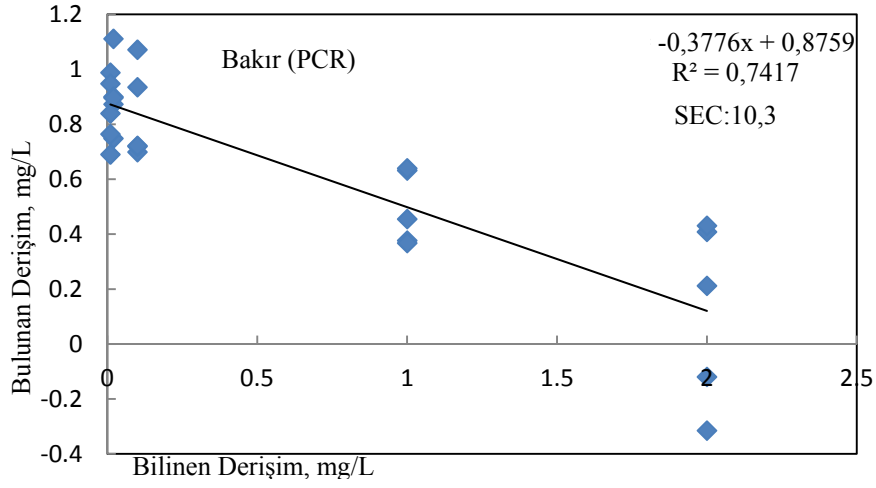
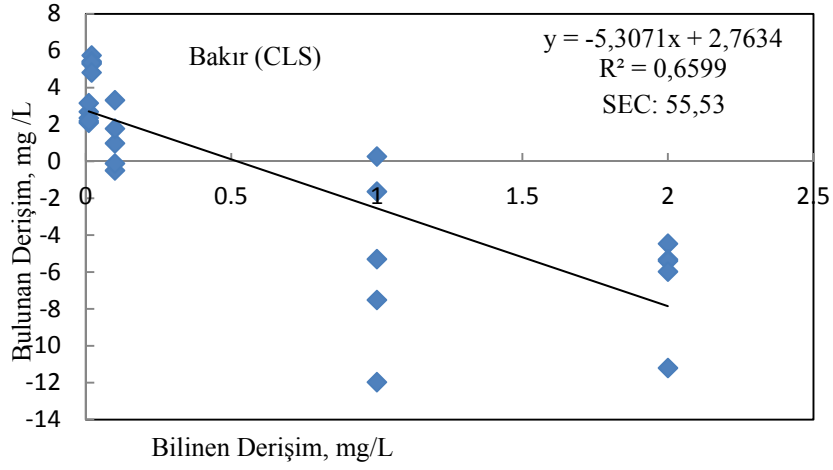
5.2 Çok Değişkenli Kalibrasyonla Elde Edilen Sonuçlar

5.2.1 Kemometrik Yöntemlerin Çapraz Validasyonu

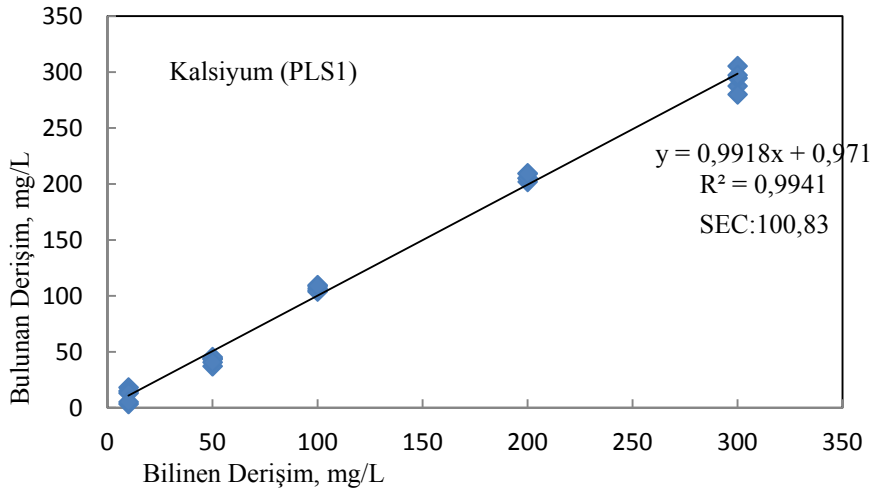
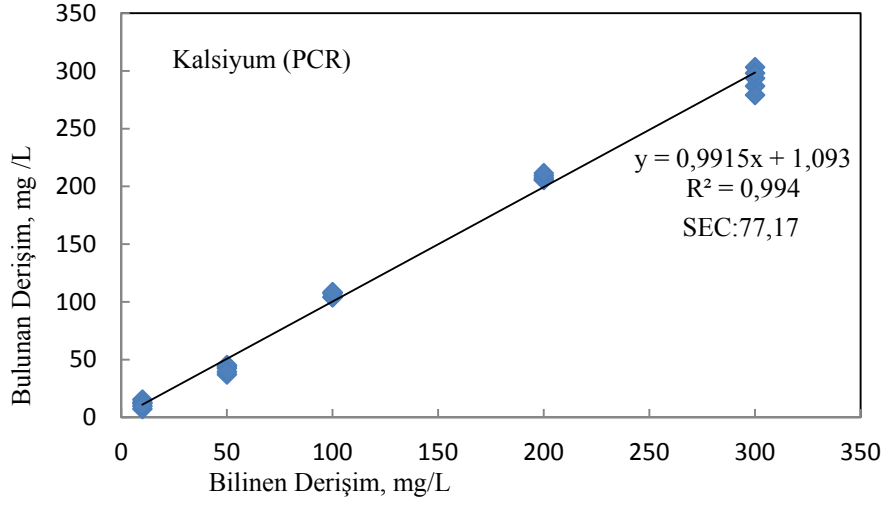
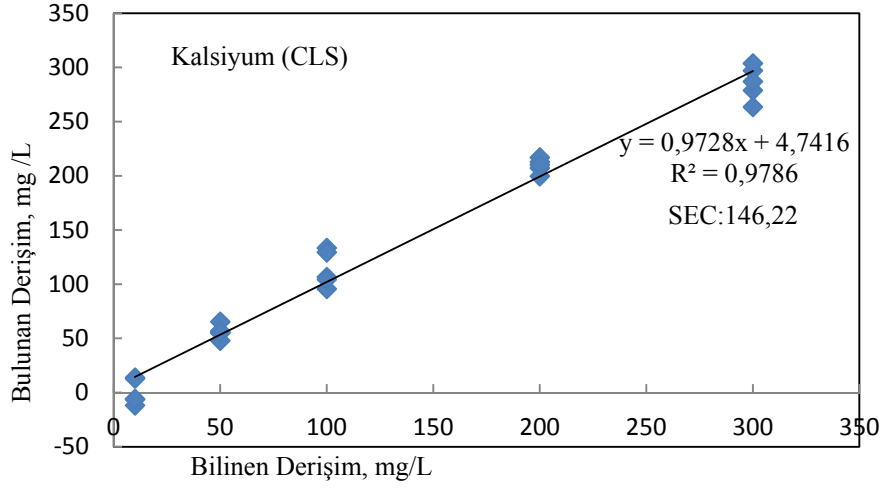
Çok değişkenli kalibrasyonda kullanılan kalibrasyon çözeltileri (training set) ile kemometrik yöntemlerden CLS, PSR ve PLS1 yöntemleri kullanılarak her element için çapraz validasyon işlemi yapılarak bir kalibrasyon yapıldı ve kalibrasyon çözeltilerinin element derişimleri bu kalibrasyondan tekrar hesaplandı. Çapraz validasyon işleminde, toplam 25 tane kalibrasyon çözeltilisine ait verilerden her defasında bir çözeltiliye ait veriler çıkarılarak geride kalan 24 tanesi ile kalibrasyon yapıldı ve bu kalibrasyon kullanılarak 25. çözeltilinin element derişimi hesaplandı. Bu işlem 25 defa tekrar edilerek, kalibrasyon çözeltilerini oluşturan 25 tane çözeltilinin derişimleri çapraz validasyon işlemi ile hesaplanmış oldu. Daha sonra bu çözeltilerin bilinen derişimleri, hesaplanan tahmin değerlerine karşı grafiğe geçirildi. Bu grafikler Şekil 5.1, Şekil 5.2, Şekil 5.3, Şekil 5.4, Şekil 5.5, Şekil 5.6 ve Şekil 5.7 'de görülmektedir. Ayrıca grafiklerin eğimleri bu çözeltilerin tahmin edilen hata kareleri toplamı (Predicted Residual Error Sum of Squares, PRESS), korelasyon katsayısı (R^2), kalibrasyonun standart hatası (Standard Error of Calibration, SEC) ve karşılaştırma grafiklerinin eğimi (m) hesaplandı. Bu değerler Çizelge 5.2 'de verilmiştir.

Çizelge 5.2 Kalibrasyon çözeltilerinin PRESS, SEC, R² değerleri ve karşılaştırma grafiklerinin eğimi (m)

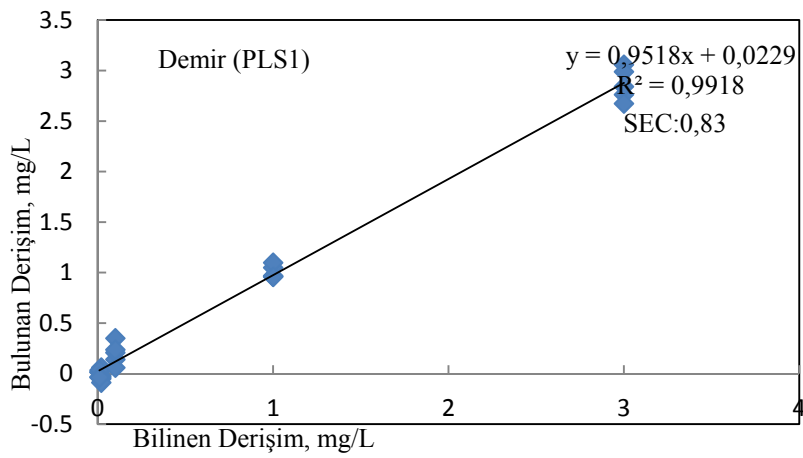
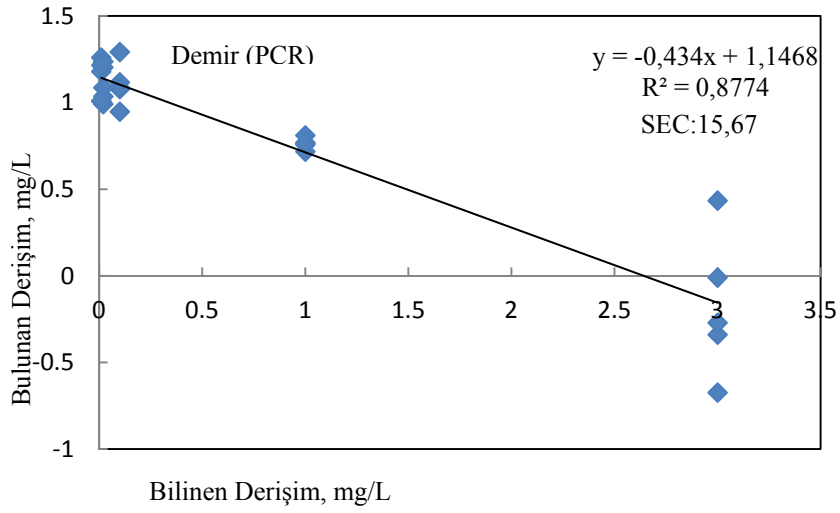
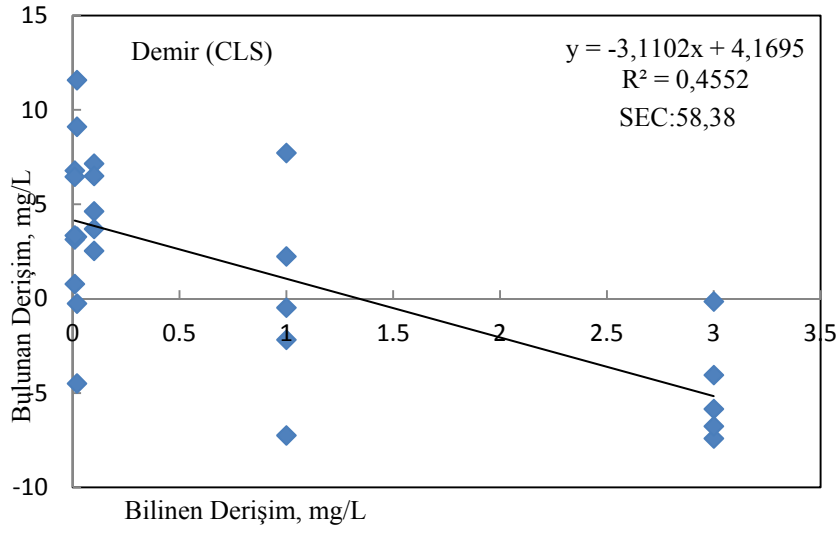
Yöntem	Element	PRESS	SEC	Eğim (m)	R ²
CLS	Cu	21586,30	55,53	-5,3071	0,6599
	Ca	149655,10	146,22	0,9728	0,9786
	Fe	23860,28	58,38	-3,1102	0,4552
	K	405390,5	240,65	1,0259	0,9480
	Mg	6601,914	30,71	0,9817	0,9674
	Mn	2043,01	17,08	-0,4699	0,0656
	Zn	18874,33	51,92	-3,0967	0,2482
PCR	Cu	742,856	10,3	-0,3776	0,7417
	Ca	41688,36	77,17	0,9915	0,9940
	Fe	1718,966	15,67	-0,434	0,9774
	K	250559,5	189,19	0,968	0,9639
	Mg	1305,07	13,65	0,9919	0,9935
	Mn	749,070	10,34	-0,3809	0,7168
	Zn	770,683	10,49	-0,4133	0,8814
PLS1	Cu	6,423	0,70	0,9359	0,9857
	Ca	40666,1	100,83	0,9918	0,9941
	Fe	8,297	0,83	0,9518	0,9918
	K	165774,5	101,79	0,9757	0,9765
	Mg	714,795	8,06	1,0018	0,9964
	Mn	4,441	0,74	0,9404	0,9910
	Zn	11,088	0,92	0,9357	0,9723



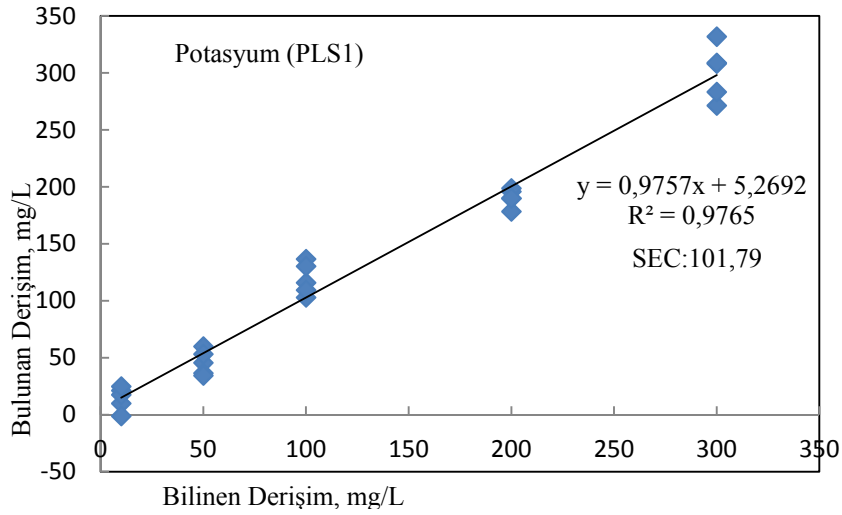
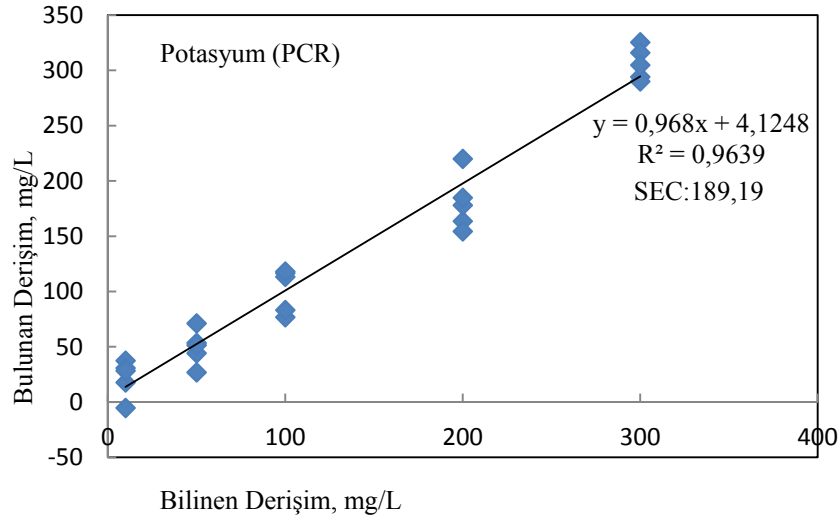
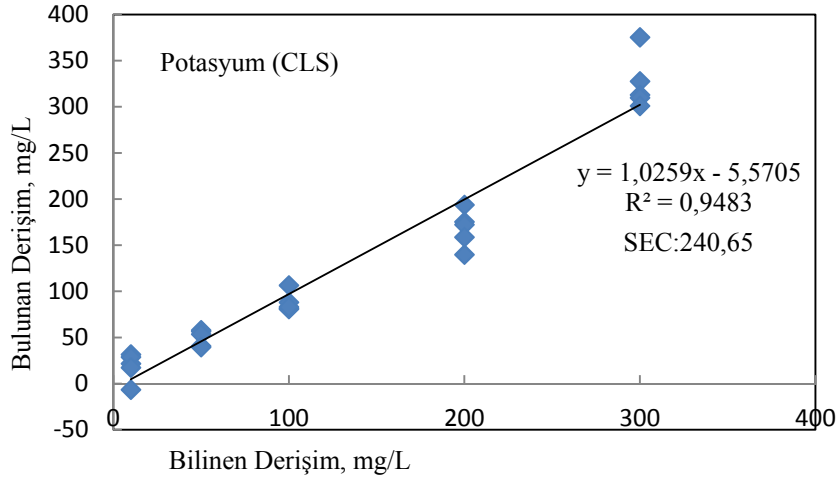
Şekil 5.1 Bakır için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi



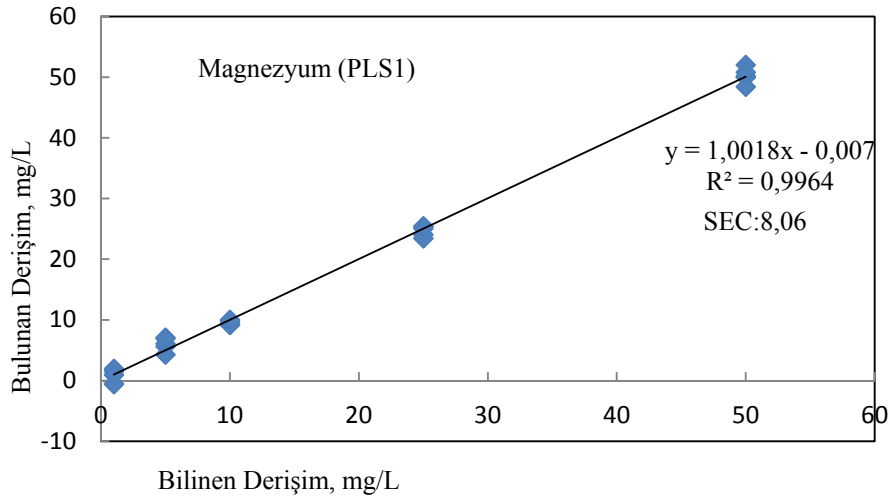
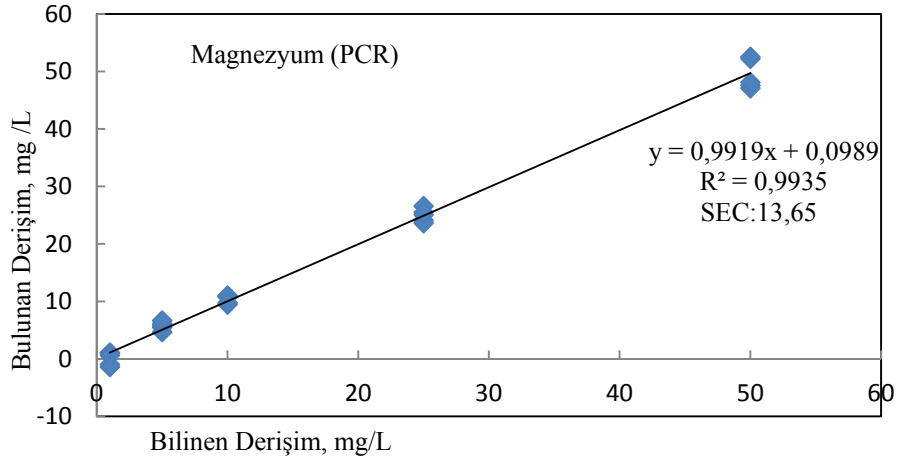
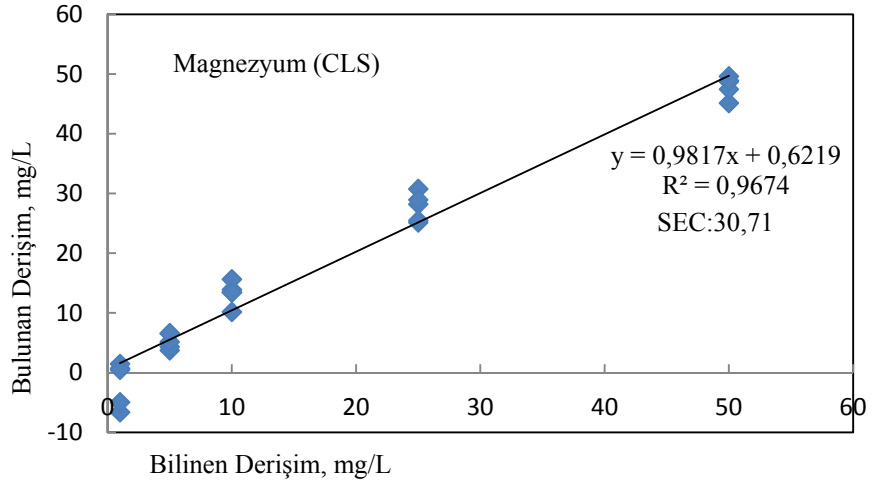
Şekil 5.2 Kalsiyum için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi



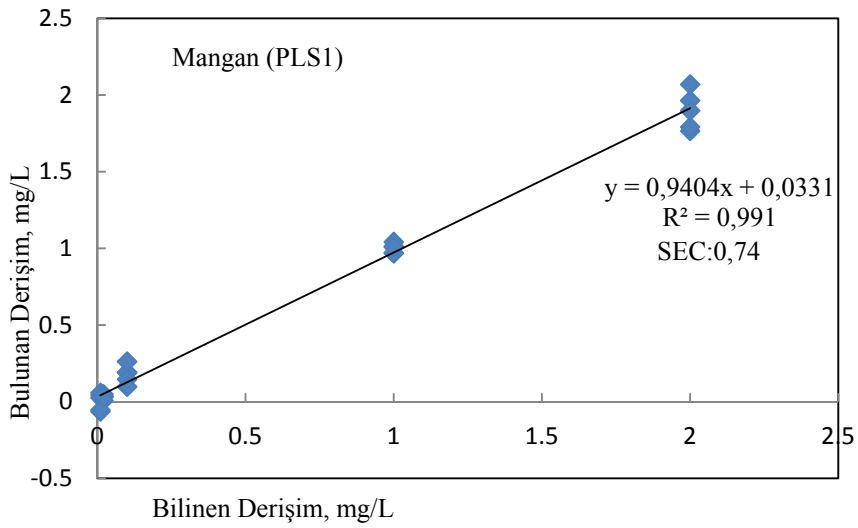
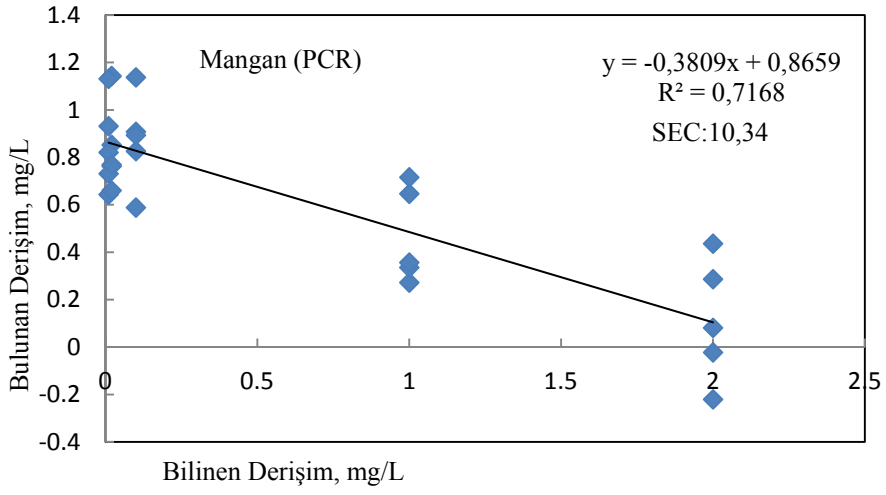
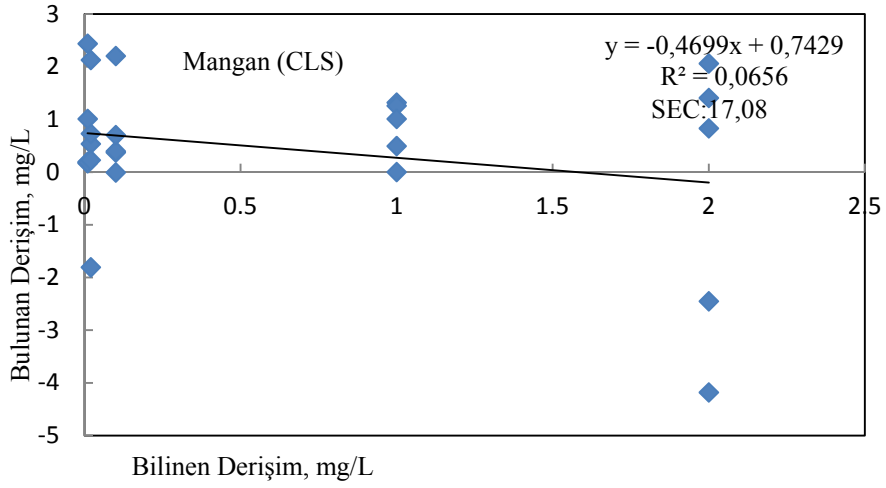
Şekil 5.3 Demir için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi



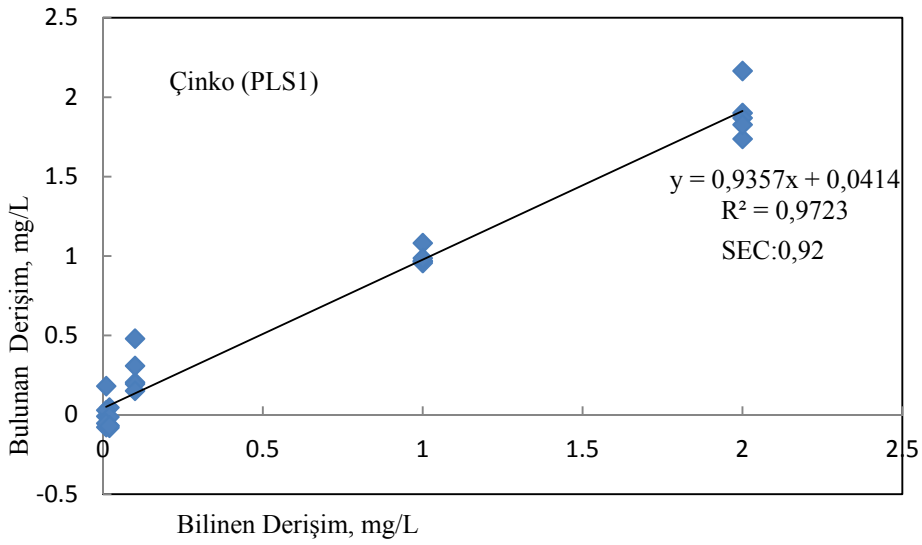
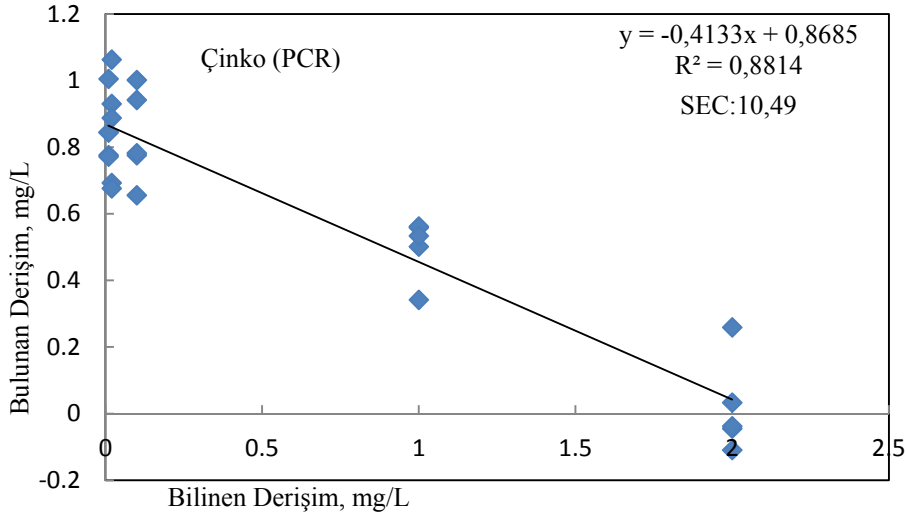
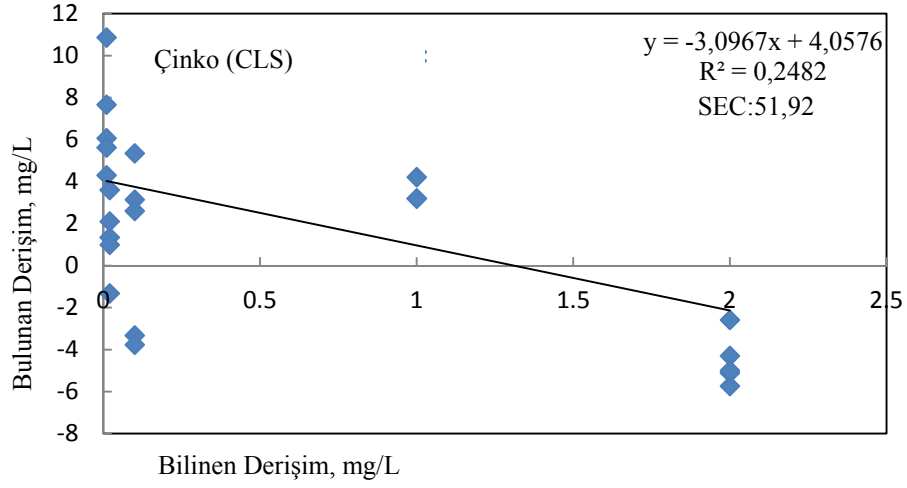
Şekil 5.4 Potasyum için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi



Şekil 5.5 Magnezyum için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi



Şekil 5.6 Mangan için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi



Şekil 5.7 Çinko için karşılaştırma grafikleri CLS, PCR ve PLS1 yöntemi

Farklı yöntemler için çizilen karşılaştırma grafiklerinden, eğimi 1'e en yakın olan en küçük PRESS ve SEC değerlerine sahip yöntemin PLS1 yöntemi olduğu görülmektedir. Bu sebeple bundan sonra numuneler üzerinde yapılan çalışmalarda hesaplamalar PLS1 yöntemi ile yapılacak ve sonuçlar tekli kalibrasyon yöntemi ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılacaktır.

5.3 Sentetik Numune Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Hazırlanan sentetik numunelerin tek değişkenli ve çok değişkenli kalibrasyon yöntemlerinden (PLS1) elde edilen sonuçlarına göre % geri kazanım sonuçları hesaplandı. Daha sonra %95 ve %99 güven aralıklarında gerçek değerler ile tahmin değerleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığına bakıldı. Bu değerler Çizelge 5.3 'de verilmiştir.

Sentetik numunelerin % geri kazanım sonuçları incelendiğinde, PLS1 yönteminin daha iyi sonuçlar verdiği görülmektedir.

İstatiksel t testi sonuçları incelendiğinde %95 güven seviyesinde, tek değişkenli kalibrasyon yönteminde gerçek değerler ile tahmin değerleri arasında, 7 elementten (Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn) demir elementinde anlamlı bir fark olmadığı, diğer elementlerde anlamlı fark olduğu bulunmuştur. PLS1 yönteminde ise bakır, kalsiyum, potasyum ve mangan da anlamlı bir farkın olmadığı; demir, magnezyum ve çinko da ise anlamlı bir farkın olduğu sonucuna ulaşıldı. %99 güven seviyesindeki sonuçlar incelendiğinde ise tek değişkenli kalibrasyon yönteminde gerçek değerler ile tahmin değerleri arasında demir elementinde anlamlı bir fark olmadığı, diğer elementlerde anlamlı fark olduğu bulunmuştur. PLS1 yönteminde ise bütün elementlerde gerçek ve tahmin değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Bunlara ait hesaplamalar Çizelge 5.4 ve Çizelge 5.5 de verilmiştir.

Çizelge 5.3 Sentetik numunelerin tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemlerinden elde edilen % geri kazanım sonuçları (N=5)

Elementler	Bilinen (mg/L)	Bulunan (mg/L)		% Geri kazanım	
		Tek değişkenli	PLS1	Tek değişkenli	PLS1
Cu	0,2	0,28 ± 0,005	0,2 ± 0,02	139,7 ± 2,7	106,6 ± 9,5
Ca	80	101,5 ± 1,0	79,8 ± 1,8	126,9 ± 1,2	99,7 ± 2,2
Fe	0,8	0,83 ± 0,04	0,7 ± 0,04	104 ± 4,7	94,2 ± 5,1
K	100	69,1 ± 2,0	95,5 ± 5,6	69,1 ± 2,0	95,5 ± 5,6
Mg	30	40,2 ± 0,8	28,5 ± 0,9	134,1 ± 2,6	95,02 ± 3,2
Mn	0,3	0,37 ± 0,005	0,29 ± 0,01	124,2 ± 1,6	99,0 ± 2,4
Zn	0,5	0,8 ± 0,03	0,5 ± 0,02	171,8 ± 6,1	106,8 ± 4,7

Çizelge 5.4 Sentetik numunelerin tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemleri kullanılarak %95 güven seviyesinde elde edilen istatistiksel sonuçlar (N=5)

Elementler	Bilinen (mg/L)	Bulunan (mg/L)		$\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$		$t_{deneyset} = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{N}} < t_{kritik}$	
		Tek değişkenli	PLS1	Tek değişkenli	PLS1	Tek değişkenli	PLS1
Cu	0,2	0,28 ± 0,005	0,21 ± 0,02	0,28 ± 0,006	0,21 ± 0,02	35,7 > 2,78	1,11 < 2,78
Ca	80	101,5 ± 1,0	79,8 ± 1,8	101,5 ± 1,2	79,8 ± 2,2	47,2 > 2,78	0,25 < 2,78
Fe	0,8	0,83 ± 0,04	0,7 ± 0,04	0,8 ± 0,04	0,7 ± 0,05	1,76 < 2,78	2,79 > 2,78
K	100	69,1 ± 2,0	95,5 ± 5,6	69,1 ± 2,5	95,5 ± 7,0	34,5 > 2,78	1,76 < 2,78
Mg	30	40,2 ± 0,8	28,1 ± 0,9	40,2 ± 0,9	28,5 ± 1,2	29,1 > 2,78	3,47 > 2,78
Mn	0,3	0,37 ± 0,005	0,29 ± 0,01	0,37 ± 0,006	0,29 ± 0,01	31,3 > 2,78	2,23 < 2,78
Zn	0,5	0,8 ± 0,03	0,5 ± 0,02	0,8 ± 0,037	0,5 ± 0,02	26,8 > 2,78	3,35 > 2,78

Çizelge 5.5 Sentetik numunelerin tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemleri kullanılarak %99 güven seviyesinde elde edilen istatistiksel sonuçlar (N=5)

Elementler	Bilinen (mg/L)	Bulunan (mg/L)		$\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$		$t_{deneyset} = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{N}} < t_{kritik}$	
		Tek değişkenli	PLS1	Tek değişkenli	PLS1	Tek değişkenli	PLS1
Cu	0,2	0,28 ± 0,005	0,21 ± 0,02	0,28 ± 0,01	0,21 ± 0,04	35,7 > 4,60	1,11 < 4,60
Ca	80	101,5 ± 1,0	79,8 ± 1,8	101,5 ± 2,1	79,80 ± 3,74	47,2 > 4,60	0,25 < 4,60
Fe	0,8	0,83 ± 0,04	0,7 ± 0,04	0,83 ± 0,08	0,75 ± 0,08	1,76 < 4,60	2,79 < 4,60
K	100	69,1 ± 2,0	95,5 ± 5,6	69,1 ± 4,1	95,54 ± 11,62	34,5 > 4,60	1,76 < 4,60
Mg	30	40,2 ± 0,8	28,1 ± 0,9	40,2 ± 1,6	28,5 ± 1,97	29,1 > 4,60	3,47 < 4,60
Mn	0,3	0,37 ± 0,005	0,29 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,29 ± 0,02	31,3 > 4,60	2,23 < 4,60
Zn	0,5	0,8 ± 0,03	0,5 ± 0,02	0,8 ± 0,06	0,53 ± 0,04	26,8 > 4,60	3,35 < 4,60

5.4 Gerçek Numune Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tek değişkenli ve çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri, gerçek yaprak örneklerine de uygulandı. İki yöntemden elde edilen sonuçlar incelendi. Her iki yöntem içinde gerçek numunelerin güven aralıkları hesaplandı (Çizelge 5.6).

Çizelge 5.6 Gerçek numunelerin %95 güven seviyesinde tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemi ile elde edilen sonuçları (N=5)

Elementler	Gerçek yaprak numuneleri			
	Tek değişkenli	$\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$	PLS1	$\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$
Cu	1,6 ± 0,07	1,6 ± 0,08	1,4 ± 0,05	1,4 ± 0,06
Ca	34,1 ± 1,1	34,1 ± 1,4	18,7 ± 1,4	18,7 ± 1,8
Fe	0,5 ± 0,04	0,5 ± 0,04	0,6 ± 0,04	0,6 ± 0,05
K	73,9 ± 1,3	73,9 ± 1,6	135,9 ± 4,3	135,9 ± 5,4
Mg	9,1 ± 0,3	9,1 ± 0,4	6,4 ± 0,08	6,4 ± 0,1
Mn	0,13 ± 0,005	0,13 ± 0,006	0,002 ± 0,01	0,002 ± 0,01
Zn	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01

5.5 Standart Ekleme Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Gerçek yaprak numunelerine belirlenen miktarlarda standart ilave edilerek hazırlanan numuneleri ICP-OES cihazında elde edilen sonuçlarında her iki yöntem için % geri kazanım değerleri hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5.7 de verilmiştir.

5.6 Standart Referans Madde ile Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Standart referans maddenin tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemlerinden elde edilen sonuçlarından % geri kazanım değerleri hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5.8 de verilmiştir.

Çizelge 5.7 Tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemleriyle standart ekleme tekniği kullanılarak elde edilen % geri kazanım sonuçları (N=5)

Elementler	İlave edilen (mg/L)	Bulunan (mg/L)				% Geri kazanım	
		Gerçek numuneler		Standart ilaveli numuneler		Tek değişkenli	PLS1
		Tek değişkenli	PLS1	Tek değişkenli	PLS1		
Cu	0,1	1,6 ± 0,07	1,4 ± 0,05	1,7 ± 0,04	1,5 ± 0,04	120,9 ± 61,4	100,7 ± 10,7
Ca	50	34,1 ± 1,1	18,7 ± 1,4	90,3 ± 0,8	84,0 ± 2,5	112,4 ± 2,1	130,5 ± 7,5
Fe	0,2	0,5 ± 0,04	0,6 ± 0,04	0,8 ± 0,02	1,1 ± 0,05	139,6 ± 24,3	187,9 ± 39,8
K	50	73,6 ± 1,3	135,9 ± 4,3	115,8 ± 3,7	189,4 ± 7,7	83,8 ± 6,1	106,9 ± 9,8
Mg	10	9,1 ± 0,3	6,4 ± 0,08	24,2 ± 0,4	15,6 ± 0,3	151,1 ± 6,9	91,8 ± 3,1
Mn	0,2	0,13 ± 0,005	0,002 ± 0,01	0,3 ± 0,003	0,29 ± 0,01	120,4 ± 3,3	145,1 ± 7,8
Zn	0,2	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,4 ± 0,01	0,36 ± 0,02	130,0 ± 5,1	105,2 ± 10,1

Çizelge 5.8 Standart referans maddenin tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemlerinden elde edilen % geri kazanım sonuçları (N=5)

Elementler	Bilinen (mg/L)	Referans Madde (Bulunan, mg/L)		% Geri kazanım	
		Tek değişkenli	PLS1	Tek değişkenli	PLS1
Cu	0,037 ± 0,004	0,03 ± 0,0005	0,1 ± 0,05	80 ± 1,2	322,8 ± 133,5
Ca	156 ± 2,00	110,7 ± 9,5	117,1 ± 0,4	71 ± 6,1	75,0 ± 0,3
Fe	2,18 ± 0,14	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2	52,7 ± 9,2	45,7 ± 7,8
K	243 ± 3,00	134,3 ± 9,6	195,1 ± 1,7	55,2 ± 3,9	80,7 ± 0,2
Mg	43,2 ± 0,80	35,2 ± 0,4	23,2 ± 0,3	81,4 ± 0,9	53,8 ± 0,7
Mn	0,98 ± 0,03	0,7 ± 0,02	0,08 ± 0,05	70,0 ± 1,9	8,7 ± 5,1
Zn	0,179 ± 0,004	0,074 ± 0,003	0,18 ± 0,006	41,3 ± 23,1	98,2 ± 3,2

6. SONUÇLAR

Bu çalışma da ICP-OES ile elementel analizde çok değişkenli kalibrasyon teknikleri geliştirildi. Geliştirilen CLS, PCR ve PLS1 tekniklerinden hangisinin daha iyi olduğunu belirlemek amacıyla kalibrasyon çözeltilerinin çapraz validasyonu yapıldı. Çapraz validasyon sonucundaki derişimler, tahmin değerlerine karşı grafiğe geçirildi. Bu grafiklerden doğrunun eğimi her bir element için incelendiğinde, tahmin ve gerçek değerleri arasındaki uyumun en iyi PLS1 yönteminde olduğu sonucuna ulaşıldı.

Çapraz validasyonlardan elde edilen grafiklerden R^2 ve SEC değerleri de hesaplandı. R^2 değerlerinin 1'e yakın olması sebebiyle veri saçılmasının en düşük olduğu yöntemin PLS1 olduğu görüldü. SEC değerleri her bir element için incelendiğinde en düşük SEC değerlerini PLS1 yönteminin verdiği görüldü. Çapraz validasyon sonuçlarına göre kemometrik CLS, PCR ve PLS1 yöntemleri arasından PLS1 yöntemi seçildi.

Tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemlerinin karşılaştırılmasında, sentetik numunelerin ICP-OES cihazında okunmasından elde edilen derişimler (bulunan) kullanıldı. Tek değişkenli kalibrasyonda Cu için 324,754; Ca için 317,933; Fe için 238,204; K için 766,491; Mg için 280,270; Mn için 257,610 ve Zn için 213,857 dalga boylarında çalışıldı. PLS1'de ise tamamı Çizelge 4.7 de verilen Cu için 199-327 dalga boyu aralığında 20 adet; Ca için 183-643 dalga boyu aralığında 20 adet; Fe için 234-373 dalga boyu aralığında 20 adet; K için 321-769 dalga boyu aralığında 12 adet; Mg için 182-383 dalga boyu aralığında 18 adet; Mn için 185-346 dalga boyu aralığında 20 adet ve Zn için 202-636 dalga boyu aralığında 20 adet olmak üzere toplam 129 adet dalga boylarında çalışıldı.

Çizelge 5.3'de verilen sentetik numunelerin tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 yöntemi için geri kazanım verimleri incelendiğinde, PLS1'den elde edilen sonuçların tek değişkenli kalibrasyon sonuçlarından daha iyi olduğu gözlemlendi. Bu sonuç literatürlerle uyumludur (Griffiths 2000).

Tek değişkenli kalibrasyon yöntemi ile PLS1 yöntemi t testi kullanılarak karşılaştırıldı. % 95 ve % 99 güven seviyesinde PLS1 yönteminin, tek değişkenli kalibrasyon yönteminden daha iyi sonuçlar verdiği sonucuna ulaşıldı (Çizelge 5.4 ve Çizelge 5.5).

Standart referans maddenin, Çizelge 5.8 'deki tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 metodlarından elde edilen % geri kazanım sonuçları incelendiğinde PLS1 yönteminde 3 elementin tek değişkenli kalibrasyon yöntemine göre daha iyi sonuçlar verdiği gözlemlendi. Bu sonuçlar hakkında yeterli bir açıklama yapılamamakla birlikte numune içinde bulunup analizi yapılmayan diğer türlerin bozucu etki yapmış olabileceği düşünölmektedir.

Bu tez çalışmasında uygulanan yöntemlerin gerçek yaprak numunelerine uygulanabilirliği açısından da çalışmalar yapıldı. Standart ilaveli numunelerden % geri kazanım hesaplandı. Çizelge 5.7 'deki tek değişkenli kalibrasyon ve PLS1 metodların standart ekleme yöntemi ve gerçek numunelerin farkından elde edilen % geri kazanım sonuçları incelendiğinde PLS1 yönteminde 4 elementin tek değişkenli kalibrasyon yöntemine göre daha iyi sonuçlar verdiği gözlemlendi. Bu sonuçlarında birbirlerine karşı bozucu etki yaptığı düşünölmektedir.

KAYNAKLAR

- Adiloğlu, S., Sümer, A., Adiloğlu, A. 2010. 2000’li yıllarda Türkiye’de azotlu gübre üretim ve tüketim. Ege Üniversitesi ziraat fakültesi dergisi yayını, 5.bitki besleme kongre bildiriler kitabı, 695 s., İzmir.
- Atakuru, İ. 2009. Emet ve Hisarcık bölgesi sularında arsenik ve bor tayini. Yüksek lisans tezi. Dumlupınar Üniversitesi Kimya Bölümü, Kütahya.
- Atalay, İ., 1982. Toprak coğrafyası. Ege üniversitesi sosyal bilimler yayınları No:8, İzmir.
- Atalay, İ. Z., 2010. Toprak verimliliği teşhis yöntemlerinin karşılaştırılması. Ege Üniversitesi ziraat fakültesi dergisi yayını, 5.bitki besleme kongre bildiriler kitabı, 695 s., İzmir.
- Bergmann, W. 1992. Nutritional disorders of plants. Development, visual and analytical diagnosis; pp. 1-741. Gustav Fischer Verlag Jena. Stuttgart.
- Boeting, K., Benzo, Z. A. Cervera, M. L.,Guardia, M. 2010. Authentication of the protected designation of origin horchata de Valencia through the chemometric treatment of mineral content. Journal Analytical Methods 2010 Vol. 2 No. 11 pp. 1723-1728. Institute of organic and analytical Chemistry, Johannes Gutenberg-University of Mainz, Duesbergweg 10-14, D-55128 Mainz, Germany.
- Bozcuk, S.M. 1986. Bitki fizyolojisi (Metabolik. Olaylar). Hatteoglu Yayınları, 176 s, Ankara.
- Brereton, R.G. 1997. Multilevel Multifactor Desings for Multivariate Calibration, Analyst,, 122 (1521-1529)
- Burt, C., O’Connor, K., Ruehr, T. 1998. Fertigation. The irrigation training & research center, 320 s.
- Cheng, Q., Yaobin Y., Xuelion, W. 2012. Analysis of Trace elements in hullless by ICP-OES. Journal of agricultural science and technology (Beijing) Vol.14 No.3 pp 94-100.
- Çetinkaya, O., Sümer, A., Sungur, A., Adiloğlu, S., Akbulak, C. 2010. Aşağı Kara Menderes Havzası Topraklarının Alınabilir Fe, Cu, Zn, Mn Durumu ve Yersel Dağılımı. Ege Üniversitesi ziraat fakültesi dergisi yayını, 5.bitki besleme kongre bildiriler kitabı, 695 s., İzmir.
- Daşdemir, F. 2008. Şimşir bitkisinin hava kirliliğine sebep olan eser element takibinde bioizleyici olarak kullanılabilirliğinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya Bölümü, Ankara.

- Dinç, E., Üstündağ, Ö. 2006. Lineer regresyon fonksiyonlarına dayalı çok değişkenli kalibrasyonlar ve analitik uygulamaları. Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi dergisi cilt 26, sayı 2, s.87-111, Ankara.
- Dinç, E. 2007. Kemometri çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi dergisi cilt 27, sayı 1, s. 61-92, Ankara.
- Ergene, A. 1987. Toprak biliminin esasları ders kitabı. Atatürk Üniversitesi yayınları No: 635, Ziraat Fakültesi Yayın No: 289, Seri No: 47.
- Ertaş, H. 2009. Kemometriye giriş. II. Kemometri yaz okulu ders notları, Ege Üniversitesi, Kimya bölümü, İzmir.
- Froes, R.E.S., Neto, W.B., Naveira R.L.P., Silva N.C., Nascentes C.C. ve Silva J.B.B. 2009. Multivariate optimization by exploratory analysis applied to the determination of microelements in fruit juice by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. 4s, Brazil.
- Geta Kimya, 2007. Web sitesi. <http://www.tarimmarketi.com/BitkiBesinEksiklikleri>. Erişim Tarihi: 04.04.2012.
- Gilbert, F.A. 1952. Copper in Nutrition. Advances in Agronomy Vol. IV. S. 156. Ed. A.G. Norman Academic Press. New York.
- Gonzalves, A., Armenta, S., Guardia, M. 2010. Adulteration detection of argan oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. Department of Analytical Chemistry, Research Building, University of Valencia, 50th Dr. Moliner St., E-46100 Burjassot, Valencia, Spain. Journal of food Chemistry 2010 Vol. 121 No. 3 pp 878-886.
- Graham, R.D. 1976. Anomalous water relations in copper-deficient wheat plants. Aust. J. Plant Physiol. pp. 229-236.
- Griffiths, M.L., Svozil, D., Worsfold, P.J., Denham, S., Evans, E.H. 2000. Comparison of traditional and multivariate calibration techniques applied to complex matrices using inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. Department of Environmental Sciences, Plymouth Environmental Research Centre, University of Plymouth, Drake Circus, Plymouth, Devon, UK , PL4 844.
- Grotti, M. 2004. Improving the analytical performances of inductively coupled plasma optical emission spectrometry by multivariate analysis techniques. Department of Chemistry and Industrial Chemistry, University of Genoa. Italy.
- Kacar, B., Katkat, V., 1998. Bitki besleme. Uludağ Üniversitesi güçlendirme vakfı yayını, yayın no: 127, 595 s, Bursa.

- Kacar, B., Katkat, V., Öztürk, Ş. 2002. Bitki fizyolojisi. Uludağ Üniversitesi güçlendirme vakfı yayını, yayın no: 74, 563 s, Bursa.
- Kacar, B., İnal, A., 2008. Bitki analizleri, Cilt 1., Nobel yayını, 892 s, Ankara.
- Karacan, M.S., Çağran, F. 2008. Multielement determination in fruit, soap and gummy extract of pistacia terebinthus L. By ICP-OES. Department of chemistry, Arts and Sciences Faculty, Gazi University, Ankara.
- Kasap, Y. 2000. Haran üniversitesi ziraat fakültesi toprak bölümü bitki analiz dersi ders notları 5s. Gaziosmanpaşa.
- Katkat, V., Çil, N. 1996. Bitki besleme ve uygulama kılavuzu. Uludağ Üniversitesi yayınları, 96 s. Bursa.
- Kaya, B. 2007. Kombine farmasötik preparatlardan telmisartan ve hidroklorotiazid'in kemometrik kalibrasyon yöntemleriyle aynı anda miktar tayinleri. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Bölümü, Ankara.
- Keleşoğlu, T. 2011. Trabzon ve yöresinde üretilen/tüketilen tereyağlarında bazı elementlerin atomik absorpsiyon spektrometri (AAS) ve indüktif eşleşmiş plazma-optik emisjonspektrometri (ICP-OES) ile tayinleri. Yüksek lisans tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü, Trabzon.
- Larrea-Marin, M.T., Pomares- Alfonso M.S., Gomez-Juaristi M., Sanchez-Muniz F.S., ve Rodenas de la Rocha S. 2010. Validation of an ICP-OES method for macro and trace element determination in Laminaria and Porphyra seaweeds from four different countries. 7s, İspanya.
- Lindsay, W.L. 1979. Plant root and its environment, p 189. Am. Soc. of Agr., Madison. Winc.
- Lonerangan, J.F. 1975. The availability and adsorption of trace elements in soilplant systems and their relation to movement and concentrations of trace elements in plants. In. Trace Elements in Soil-Plant-Animal Systems. (D.J.D. Nicholas and A.R.Egan, eds.) Academic Press, pp. 109-134. London.
- Miller, J., Miller, J. 2004. Analitik kimyacılar için istatistik ve kemometri (çeviri: A. Uyanık), 5. Baskı. Gazi yayını, 312 s, Ankara.
- Ni, Y., Wang, Y., Kokot, S. 2007. Application of multivariate calibration methods for the simultaneous multiwavelength spectrophotometric determination of Fe (II), Cu (II), Zn (II) ve Mn (II) in mixtures. China and Australia.

- Nunes, L. C., Braga, J. W. B., Trevizan, L. C., Souza, P. F., Carvalho, G. G. A., Santos Junior, D., Poppi, R. J., Krug, F. J. 2010. Optimization and validation of a LIBS method for the determination of macro and micro nutrients in sugar cane leaves. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, Vol. 25 No.9 pp 1453-1460.
- Özbek, N. 1981. Meyve Ağaçlarının Gübrenmesi. Tarım ve Orman Bakanlığı Yayınları. 280 s. Ankara.
- Özdamar, K. 2004. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi (çok değişkenli analizler), 5. Baskı, kaan kitabevi, 528 s, Eskişehir.
- Özdemir, D. 2009. Çok değişkenli kalibrasyon metodları. II. Kemometri yaz okulu ders notları, İzmir İleri Teknoloji Enstitüsü, Kimya bölümü, İzmir.
- Öztürk, B. 2003. Monitoring the esterification reactions of carboxylic acids with alcohols using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration methods. Yüksek lisans tezi. İzmir İleri teknoloji Entitüsü, Kimya Bölümü, İzmir.
- Sağıroğlu, A., Özdemir, Z. 1997. Biyojeokimyasal prospeksiyon. *Jeoloji mühendisliği dergisi*, sayı 51.
- Sommer, A.L. 1945. Copper and plant growth. *Soil Science* 60; pp. 71-80.
- Tektar, 1999. Web sitesi. <http://www.tektar.com.tr>. Erişim Tarihi: 04.04.2012.
- Thiel, G., Danzer, K. 1996. Direct analysis of mineral componenets in wine by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). Anorganik ve Analitik Kimya Enstitüsü, Jena, Germany.
- Ülgen, N., Yurtsever, N., Alkan, B. 1980. Gübre ve gübreleme. Köyişleri ve Kooperatifler Bakanlığı Toprak-Su Genel Müdürlüğü, Genel yayın No: 88, Çiftçi yayınları No: 4, Ankara.
- Üstündağ, Ö. 2003. Hidroklorotiazid içeren farmasötik preparatlardaki etken maddelerin kemometrik yöntemlerle miktar tayinleri. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Bölümü, Ankara.
- Yıldız, Y. 2011. Kazova topraklarının mikro element içeriklerinin mesafeye bağlı değişiminin analizi ve bazı toprak özellikleri arasındaki ilişkiler. Yüksek lisans tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Toprak Anabilim Dalı, 92 s., Tokat.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Özlem Bengü DAŞ

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi: 01.01.1987

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise: Mehmetçik Süper Lisesi (2004)

Lisans: Kırıkkale Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü (2009)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (Eylül 2010-Şubat 2013)

Çalıştığı Kurum ve Yıl

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Kimyager
Mart 2011- halen