CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNORGANİK ARSENİK BİLEŞİKLERİNİN HPLC/UV YÖNTEMİ İLE TAYİNLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mertcan ÖKSÜZ

Anabilim Dalı : Kimya

Programı : Analitik Kimya

MANİSA 2014

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNORGANİK ARSENİK BİLEŞİKLERİNİN HPLC/UV YÖNTEMİ İLE TAYİNLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mertcan ÖKSÜZ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 03.06.2014

Tezin Savunulduğu Tarih : 19.06.2014

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Kenan DOST

Diğer Jüri Üyeleri : Prof.Dr. Emür HENDEN

Prof.Dr. Ali ÇELİK

MANİSA 2014

İÇİNDEKİLER……I
SEMBOL LİSTESİ……IV
ŞEKİL LİSTESİ……V
TABLO LİSTESİ……VII
KISALTMALAR LİSTESİ……IX
TEŞEKKÜR……X
ÖZET……XI
ABSTRACT……XII

1 GİRİŞ ... 1
2 GENEL BİLGİLER ... 3
2.1 Arsenik ... 3
2.2 Arsenik Bileşikleri ... 4
2.3 Sulu Ortamdaki Arsenik Bileşikleri ... 7
2.4 Arsenik Metabolizması ... 8
2.5 Arsenik Analiz Yöntemleri ... 9
3 UV/Vis SPEKTROFOTOMETRESİ ... 13
3.1 Tek Işın Yollu Spektrofotometre ... 14
3.2 Çift Işın Yollu Spektrofotometreler ... 14
3.2.1 Işın Kaynakları ... 16
3.2.2 Döteryum ve Hidrojen Lambalar ... 16
3.2.3 Tungsten Lamba ... 17
3.2.4 Ksenon Ark Lamba ... 17
3.3 Monokromatörler ... 18
3.4 Numune Kapları ... 18
3.5 Detektörler ... 19
4 YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİ ... 20
4.1 Hareketli Faz Hazneleri ve Çözücü Muamele Sistemleri ... 21
4.2 Pompalama Sistemleri ... 22
4.3 Numune Enjeksiyon Sistemleri ... 22

4.4 Sıvı Kromatografi Kolonları ... 23
4.4.1 Analitik Kolonlar ... 23
4.4.2 Emniyet Kolonları ... 24
4.5 Kolon Dolgu Maddelerinin Tipleri ... 25
4.6 Dedektörler ... 25
5 DENEYSEL KISIM ... 27
5.1 Cihazlar ve Diğer Malzemeler ... 27
5.2 Kullanılan Kimyasallar ... 29
5.3 Çözeltilerin Hazırlanışı ... 29
5.4 Yöntem ... 32
6 SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR ... 36
6.1 İnorganik Arsenik Bileşiklerinin UV/Vis Spektrofotometresi ile Türlendirilmesi ... 36
6.1.1 Ag-DDTC (gümüşdietilditiyokarbomat) Konsantrasyonunun Optimizasyonu ... 36
6.1.2 $NaBH_4$ Konsantrasyonunun Optimizasyonu ... 39
6.1.3 $NABH_4$ Hacmi Optimizasyonu ... 41
6.1.4 As(III) İçeren Çözeltilerde HCl Konsantrasyonunun Hidrür Oluşumu Üzerine Etkisi ... 43
6.1.5 HCl Konsantrasyonunun As(V)'in As(III)'e İndirgenmesi Üzerine Etkisi ... 45
6.1.6 Asidik Örneklerde As(V)'in As(III) Tayinine Etkisi ... 47
6.1.7 Tamponlanmış Örneklerde As(V)'in As(III) Tayinine Etkisi ... 49
6.1.8 İnorganik As(III) Tayini ... 50
6.1.9 Toplam İnorganik Arsenik Tayini ... 52
6.1.10 Antimon, Bizmut ve Kalay Girişimi ... 54
6.2 HPLC Çalışmaları ... 56
6.2.1 HPLC Sisteminde ODS Kolona Piridin Enjeksiyonu ... 56
6.2.2 HPLC Sisteminde CN Kolona Piridin Enjeksiyonu ... 56
6.2.3 HPLC Sisteminde CN Kolona Çeşitli Hareketli Fazlar ile Piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC Kompleks Çözeltisi Enjeksiyonu ... 57
6.2.4 Piridin, Ag-DDTC Çözeltisi ve Arsenik Kompleks Çözeltisinin Çeşitli Çözücüler ile Etkileşimi ... 57

6.2.5 CN Kolon Çalışmaları 59
6.2.6 ODS Kolon Çalışmaları 59
6.2.7 HPLC-UV/Vis Sisteminde Absorpsiyon Taraması 60
6.2.8 As-DDTC Kompleks Çözeltisinin Kolondaki Durumu 61
6.3 Bazı Maddelerin As(III) ile Etkileşiminin UV/Vis Spektrofotometresiyle İncelenmesi 62
6.3.1 Difenilfosfonilklorür (DPPC) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi 62
6.3.2 Piridinyum-4-toluensülfanat (PPTS) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi 66
6.3.3 Tetrabutilamonyumklorür (TBACl) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi 67
6.3.4 Toluen-4-sülfonikasit (PTSA) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi 71
6.3.5 Disodyumfenilfosfat (DSPP) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi 72
6.3.6 Amonyumprolidinditiyokarbomat (APDC) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi 74
6.3.7 Tetrabutilamonyumbromür (TBAB) ile AsO_3^{3-} ve AsO_4^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi. 75
7 SONUÇLAR VE ÖNERİLER 76
8 KAYNAKLAR 78
9 ÖZGEÇMİŞ 82

SEMBOL LİSTESİ

AsH_3	Arsin
As_2O_3	Arsenik(III) oksit
AsO_3^{3-}	Arsenit
AsO_4^{3-}	Arsenat
$CH_3AsO(OH)_2$	Monometilarsonik asit
$(CH_3)_2AsO(OH)$	Dimetilarsinik asit
K_2HPO_4	Dipotasyumhidrojenfosfat
KH_2PO_4	Potasyumhidrojenfosfat
$NaBH_4$	Sodyumborhidrür
$SnCl_2.2H_2O$	Kalay(II) klorürdihidrat
$SbCl_3$	Antimon(III) klorür
A	Absorbans
K	Kelvin
L	Litre
M	Molarite
R^2	Korelasyon katsayısı
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
µg	Mikrogram
ng	Nanogram
pg	Pikogram
µm	Mikrometre
nm	Nanometre

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1. Yüksek konsantrasyonda inorganik arsenik içeren içme suyunun neden olduğu Arsenicosis hastalığı…… 1
Şekil 2.1. Ağır metallerin insana ulaşım yolları……. 4
Şekil 2.2. İnorganik arsenik türlerine ait Pourbaix diyagramı……. 8
Şekil 3.1. Çift ışın yollu bir UV/Vis cihazı…….. 15
Şekil 4.1. HPLC cihazının şematik gösterimi…… 21
Şekil 5.1. Peristaltik pompalı sürekli akış sistemi……..... 27
Şekil 5.2. UV/Vis Spektrofotometre cihazı……. 27
Şekil 5.3. HPLC Cihazı……..... 28
Şekil 5.4. Özel olarak tasarlanmış el yapımı cam As-DDTC kompleks oluşum hücresi…… 28
Şekil 5.5. Özel olarak tasarlanmış el yapımı cam arsenik hidrür oluşum hücresi…….. 29
Şekil 5.6. Kompleks oluşum sisteminin şematik gösterimi……..... 34
Şekil 5.7. Kompleks oluşum sisteminin fotoğrafı…….. 34
Şekil 6.1. Saf piridin çözücüsü içerisinde hazırlanan % 0.005 (m/v) Ag-DDTC çözeltisine ait UV/Vis spektrumu…… 37
Şekil 6.2. Ag-DDTC konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili toplu spektrum…… 37
Şekil 6.3. Ag-DDTC konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi……. 38
Şekil 6.4. $NaBH_4$ konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili toplu spektrum…… 39
Şekil 6.5. $NaBH_4$ konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi…….. 40
Şekil 6.6. $NaBH_4$ (% 1 (m/v)) hacminin As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili toplu spektrum……..... 41
Şekil 6.7. $NaBH_4$ (% 1 (m/v)) hacminin As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi…… 42
Şekil 6.8. As(III) çözeltilerindeki HCl konsantrasyonunun AsH_3 oluşumu üzerine etkisi ile ilgili toplu spektrum……... 43
Şekil 6.9. As(III) çözeltilerindeki HCl konsantrasyonunun AsH_3 oluşumu üzerine etkisi…… 44
Şekil 6.10. HCl konsantrasyonunun As(V)'in As(III)'e indirgenmesi üzerine etkisi ile ilgili toplu spektrum…… 45
Şekil 6.11. HCl konsantrasyonunun As(V)'in As(III)'e indirgenmesi üzerine etkisi…….. 46
Şekil 6.12. 0.15 M HCl ortamında hazırlanan örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisi ile ilgili toplu spektrum…… 47
Şekil 6.13. 0.15 M HCl ortamında hazırlanan örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisi…… 48

Şekil 6.14. As(III) tayini için kullanılan standart çözeltilere ait kalibrasyon grafiği…….. 51
Şekil 6.15. Toplam arsenik tayini için kullanılan standart çözeltilere ait kalibrasyon grafiği. 53
Şekil 6.16. As(III) tayininde antimon, bizmut ve kalay girişimine ilişkin toplu spektrum…… 54
Şekil 6.17. HPLC sisteminde ODS kolondan alınan çözeltilerin renkleri…….. 61

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Bazı önemli organik ve anorganik arsenik bileşikleri…….. 5

Tablo 2.2. Bazı önemli arsenik mineralleri ve bulunduğu yerler…….. 6

Tablo 3.1. Absorpsiyon ölçümlerinde kullanılan önemli terimler ve semboller…….. 13

Tablo 4.1. HPLC detektörlerin bazı performans özellikleri…… 26

Tablo 6.1. Ag-DDTC konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili absorpsiyon ölçümleri…….. 38

Tablo 6.2. $NaBH_4$ konsantrasyonunun As-DDTC komplesi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili absorpsiyon değerleri…… 40

Tablo 6.3. $NaBH_4$ (% 1 (m/v)) hacminin As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili absorbans değerleri……..... 42

Tablo 6.4. As(III) çözeltilerindeki HCl konsantrasyonunun AsH_3 oluşumu üzerine etkisi ile ilgili absorbans değerleri…….. 44

Tablo 6.5. HCl konsantrasyonunun As(V)'in As(III)'e indirgenmesi üzerine etkisi ile ilgili absorbans değerleri……..... 46

Tablo 6.6. 0.15 M HCl ortamında hazırlanan örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisi ile ilgili absorbans değerleri…….. 48

Tablo 6.7. 0.15 M HCl ortamında hazırlanan örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisi….. 49

Tablo 6.8. Tamponlanmış örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisi ile ilgili absorpsiyon değerleri…….. 50

Tablo 6.9. As(III) tayini için kullanılan standart çözeltilere ait absorbans değerleri……... 51

Tablo 6.10. As(V) yanında As(III) tayininde örnek çözeltiye ait absorbans değerleri……..... 51

Tablo 6.11. Toplam arsenik tayini için kullanılan standart çözeltilere ait absorbans değerleri…….. 52

Tablo 6.12. Toplam arsenik tayininde örnek çözeltiye ait absorbans değerleri…….. 53

Tablo 6.13. As(III) tayininde antimon, bizmut ve kalay girişimine ilişkin absorbans değerleri…….. 55

Tablo 6.14. Piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisinin çeşitli çözücüler ile etkileşimi…… 58

Tablo 6.15. Piridinle seyreltilerek hazırlanan As-DDTC çözeltisi için alınan sonuçlar……. 59

Tablo 6.16. Ligant çözeltisi ile seyreltilerek hazırlanan As-DDTC çözeltisi için alınan sonuçlar…….. 60

Tablo 6.17. Difenilfosfonilklorür için uygun çözgenin belirlenmesi……... 63

Tablo 6.18. Sulu ortamda difenilfosfonilklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri…….…….... 64
Tablo 6.19. Etilenglikolde hazırlanmış difenilfosfonilklorürün AsO_3^{3-} ile etkileşimi konusunda absorbans değerleri……..... 65
Tablo 6.20. Asetonda hazırlanmış difenilfosfonilklorürün AsO_3^{3-} ile etkileşimi konusunda absorbans değerleri……. 66
Tablo 6.21. Piridinyum-4-toluensülfanatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı. 66
Tablo 6.22. Piridinyum-4-toluensülfanatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri… 67
Tablo 6.23. Tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı… 68
Tablo 6.24. Tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri….. 68
Tablo 6.25. pH:5'de tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı……... 69
Tablo 6.26. pH:5'de tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri…….. 70
Tablo 6.27. pH:7'de tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı……... 70
Tablo 6.28. pH:7'de tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri…….. 71
Tablo 6.29. Toluen-4-sülfonikasitin AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı……. 71
Tablo 6.30. Toluen-4-sülfonikasitin AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri…… 72
Tablo 6.31. Disodyumfenilfosfatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı…….. 73
Tablo 6.32. Disodyumfenilfosfatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri……. 73
Tablo 6.33. Amonyumprolidinditiyokarbomatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri……..…… 74
Tablo 6.34. Amonyumprolidinditiyokarbomatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri…….. 75
Tablo 6.35. Tetrabutilamonyumbromürün AsO_3^{3-} ve AsO_4^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri…….. 75

KISALTMALAR LİSTESİ

AAS	Atomik Absorbsiyon Spektrometresi
HG-AAS	Hidrür Oluşum Atomik Absorbsiyon Spektrometresi
ET-AAS	Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
AES	Atomik Emisyon Spektrometresi
AFS	Atomik Floresans Spektometresi
CE	Kapiler Elektroforez
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
LC	Sıvı Kromatografisi
OES	Optik Emisyon Spektometresi
UV/Vis	Ultraviyole-Görünür Bölge
EPA	Çevre Koruma Ajansı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
Ag-DDTC	Gümüşdietilditiyokarbomat
APDC	Amonyumprolidinditiyokarbomat
DPPC	Difenilfosfonilklorür
DSPP	Disodyumfenilfosfat
NH_4-DDTC	Amonyumdietiditiyokarbomat
PPTS	Piridinyum-4-toluensülfanat
TBAB	Tetrabutilamonyumbromür
TBACl	Tetrabutilamonyumklorür
PTSA	Toluen-4-sülfonikasit

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca bana yol gösteren, her konuda destek veren, bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Kenan DOST'a sonsuz tesekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım sırasında fikir alış verişinde bulunduğum tecrübesinden yararlandığım saygı değer hocam Yrd.Doç.Dr. Mustafa ESKİCİ'ye, laboratuar deneyimini ve bilgisini esirgemeyen arkadaşım sayın Arş.Gör. Mustafa CİTTAN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Mertcan ÖKSÜZ
2014

ÖZET

İNORGANİK ARSENİK BİLEŞİKLERİNİN HPLC/UV YÖNTEMİ İLE TAYİNLERİ

Bu çalışmada, sulu ortamlarda farklı oksidasyon basamaklarında bulunan inorganik As(III) ve As(V) türlerinin okso-anyonlarından (AsO_3^{3-} ve AsO_4^{3-}) çıkılarak hidrürlerinin oluşturulması, devamında uygun reaksiyon koşulları ve aletsel düzenleme yapılarak anyonik bir ligand ile kompleksleri oluşturularak ilk önce UV/Vis yöntemi, daha sonra ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile ODS veya CN kolonda kantitatif analizlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Bu yöntemde, sürekli akış sisteminden hidrür oluşum hücresine pompalanan $NaBH_4$ çözeltisi ile uygun fosfat tamponu ortamında As(III) doğrudan, As(V) ise asidik ortamda As(III)'e indirgendikten sonra hidrür formuna (AsH_3) dönüştürülür. Oluşan hidrür bileşiği N_2 gazı yardımıyla kompleks oluşum hücresinde piridin ortamında bulunan gümüşdietilditiyokarbomat (Ag-DDTC) çözeltisi içerisinden geçirilerek As-DDTC kompleksi oluşturulur. Elde edilen kompleks çözeltisinin UV/Vis spektrofotometresi ile 521 nm'de absorbans ölçümleri alınarak inorganik As(III) ve toplam inorganik arsenik, daha sonra da inorganik As(III) ile toplam inorganik arsenik farkı alınarak inorganik As(V) miktarı hesaplanır.

UV/Vis spektrofotometresi kullanılarak inorganik As(III) ve toplam inorganik arsenik tayini için yapılan optimizasyon çalışmalarında, As(III) tayininde Ag-DDTC çözeltisi konsantrasyonu % 0.50 (m/v), $NaBH_4$ çözeltisi konsantrasyonu % 3.00 (m/v) ve K_2HPO_4/KH_2PO_4 tamponunun pH'sı 6.5 olarak belirlendi. Toplam inorganik arsenik tayininde Ag-DDTC çözeltisi konsantrasyonu % 0.50 (m/v), $NaBH_4$ çözeltisi konsantrasyonu % 1.00 (m/v) ve HCl konsantrasyonu 1.00 M olarak belirlendi. 5 µg L^{-1} As(III) ve 5 µg L^{-1} As(V) konsantrasyonunda standart As çözeltisinin örnek olarak kullanılması ile yapılan çalışmada sırasıyla As(III), As(V) ve toplam As konsantrasyonları 4.89, 5.20 ve 10.09 µg L^{-1}, bağıl hataları % 2.20, 4.00 ve 0.90 olarak bulundu. LOD değeri 0.04 µg L^{-1}, LOQ değeri 0.13 µg L^{-1} olarak belirlenen bu yöntemin doğruluk ve kesinliği yüksek olup gerçek numunelere güvenilir bir şekilde uygulanabilir.

Daha sonra, HPLC-UV/Vis sisteminde farklı hareketli fazların ve kolonların kullanılmasıyla yapılan inorganik arsenik türlendirme çalışmaları piridin ve Ag-DDTC çözeltisinin HPLC-UV/Vis sisteminde geniş bir dalga boyu aralığında absorpsiyon yapması, As-DDTC kompleks maddesinin birçok hareketli faz ortamında çökmesi, As-DDTC kompleks maddesinin ODS ve CN kolonda çok fazla tutunması, nano boyutta Ag parçacıkların kolondan geçmemesi gibi çeşitli ihtimallere bağlı olarak istenilen keskin As-DDTC kompleks pikinin elde edilememesi nedeniyle olumsuz sonuçlandı ve sulu ortamda bulunan inorganik arsenik bileşiklerinin ters faz HPLC-UV/Vis sistemi ile türlendirilmesi bu aşamada gerçekleştirilemedi.

Son olarak, UV/Vis spektrofotometresi kullanılarak yapılan çalışmalarda çeşitli çözgen ortamlarında ve pH noktalarında inorganik As(III)'ün DPPC, PPTS, TBACl, PTSA, DSPP, APDC ve TBAB maddeleri ile herhangi bir etkileşimde bulunmadığı görüldü.

Anahtar Kelimeler : Arsenik, Ag-DDTC, Türlendirme, UV/Vis Spektrofotometresi, HPLC

ABSTRACT

DETERMİNATİON OF İNORGANIC ARSENİC COMPOUNDS BY HPLC/UV METHOD

In this study, generation of hydrides of As(III) and As(V) from the oxo-anions (AsO_3^{3-} ve AsO_4^{3-}) species that found in different oxidation species in aqueous system, after that generation of complex with an anionic ligand in appropriate reaction conditions and instrumental rearrangements, and then firstly, quantitative measurement with UV/Vis method and secondly, with reversed phase high performance liquid chromatography on an ODS column was aimed.

In the method, As(III) directly and As(V) after reduction into As(III) in acidic media are converted into hydride form by $NaBH_4$ that is pumped from continuous flow system into the hydride generation cell. The As-DDTC is generated by passing the hydride generated with assistance of N_2 gas through Ag-DDTC prepared in pyridine which is placed in complex generation cell. Inorganic As(III) and total inorganic arsenic levels are calculated from the absorbance measurements of the complex obtained with UV/Vis Spectrophotometer at 521 nm and then inorganic As(V) level is calculated by taking the difference between inorganic As(III) and total inorganic arsenic levels.

Optimization studies for determination of inorganic As(III) and total inorganic arsenic was carried out using UV/Vis spectrophotometer. The concentration of Ag-DDTC, $NaBH_4$ and the pH of the K_2HPO_4/KH_2PO_4 buffer in inorganic As(III) determination were defined as % 0.50, % 3.00 (m/v) and 6.5, respectively. The concentration of Ag-DDTC, $NaBH_4$ and HCl in total inorganic arsenic determination were defined as % 0.50, % 1.00 (m/v) and 1.00 M, respectively. In the experiment in which 5 µg L^{-1} As(III) and 5 µg L^{-1} As(V) standard arsenic solutions were used as sample solution, the concentration and the relative errors for As(III), As(V) and total arsenic were determined as 4.89, 5.20 and 10.09 µg L^{-1} and % 2.20, 4.00 and 0.90 respectively. The accuracy and reproducibility of the method of which LOD value defined as 0.04 µg L^{-1} and LOQ value defined as 0.13 µg L^{-1}, is quite good and can reliably apply to real samples.

After that, inorganic arsenic speciation studies in which it was used different mobile phase and column in the HPLC-UV/Vis system, resulted negatively. Because it could not be obtained required sharp complex peak. The reasons mentioned in below.

- Pyridine and Ag-DDTC showed a broad absorption peak in wide wavelength range in HPLC system.
- As-DDTC complex substance precipitated in many moving phase mediums.
- As-DDTC complex substance disintegrated in ODS and CN column.
- Nano sized Ag particles did not pass from column.

Speciation of inorganic arsenic species in aqueous media with reverse phase HPLC-UV system could not be performed in this step.

Finally, UV/Vis spectrophotometer was used in the studies indicated that at various solvent medium and pH values, there were no interaction between As(III) and DPPC, PPTS, TBACl, PTSA, DSPP, APDC, TBAB substances.

Key words : Arsenic, Ag-DDTC, Speciation, UV/Vis, HPLC

1 GİRİŞ

Arsenik; 33 atom numarası ile periyodik cetvelin VA grubunda antimon ve fosfor arasında yer alan, 74.92 g/mol atom ağırlığına sahip bir elementtir. Arsenik hem ametal hem de metal özelliği gösterdiğinden kimyasal olarak metaloid olarak sınıflandırılır. Buna karşın, çoğunlukla metal olarak bilinir. Arseniği ilk kez serbest element halinde tanımlayan, 1649 da oksidini taş kömürü ile ısıtarak arsenik elde etmiş olan Alman Eczacı Johann Schroeder'dir [1,2].

Doğal proseslere ve insan aktivitelerine bağlı olarak su ve besinlerde arsenik birikimi meydana gelebilir. Arseniğin yüksek toksititesi nedeniyle, bu olay insan sağlığı üzerine önemli bir tehdit oluşturur. (Şekil 1.1.)

Arseniğin insan sağlığı üzerine etkileri:

- Cilt, gırtlak, böbrek, karaciğer, idrar kesesi ve bazı organ kanserleri,
- Kalp damar sistemi bozuklukları,
- Sinir sistemi bozuklukları vb. [3,4,5].

Şekil 1.1. Yüksek konsantrasyonda inorganik arsenik içeren içme suyunun neden olduğu Arsenicosis hastalığı.

Arsenik toksititesi yalnızca onun kimyasal formuna değil, aynı zamanda konsantrasyonuna da bağlıdır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 1993 yılında, içme sularında inorganik arseniği kanser yapıcı olarak belgelendirmiş ve en yüksek kirlilik seviyesini 10 µg L^{-1} olarak belirlemiştir. Çevre Koruma Ajansı (US EPA) tarafından 2001 yılında [6,7,8], ülkemizde

ise 2005 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından hazırlanan 'İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik' kapsamında arsenik sınır derişimi 10 μg L^{-1} olarak kabul edilmiştir [9].

Geçmişte, arsenik seviyesini belirlemek için kullanılan analitik teknikler kimyasal formlardan daha çok toplam arsenik seviyesi üzerine odaklanmıştır. Bu yaklaşım farklı arsenik türlerinin farklı toksik etkileri nedeniyle analitik ihtiyaçlar açısından yeterli değildir. İnorganik arsenik türleri organik arsenik türlerinden daha toksik etkiye sahiptir. Her iki grup bileşiklerde de, üç değerlikli türler beş değerlikli türlerden daha toksiktir. Arsenobetaine ve arsenocholine organik türleri ise hemen hemen toksik etkiye sahip değildir [7].

Kimyasal türlendirme çalışmaları analitik kimyanın yaygın bir çalışma alanıdır. Bir element çevrede farklı oksidasyon basamaklarında ve çeşitli türlerde bulunabilir. Türlendirme bir elementin kimyasal formlarının ve kimyasal türlerinin kalitatif ve kantitatif açıdan incelenmesi anlamına gelir. Türlendirmede temel, istenen türlerin her birini birbirinden bağımsız olarak ve diğer türlerin girişimi olmaksızın belirlemektir. Böyle bir metodun yokluğundan dolayı, türlendirme analizlerinde genel olarak spektroskopik, kromatografik ve elektrokimyasal yöntemler birleştirilmiştir. Birçok türlendirme metodu her bir türün ayrılmasını sağlayan kromatografi yöntemi ile yüksek hassasiyet sağlayan detektör sisteminin birleştirilmesine dayanır [6,7].

Literatürde arsenik bileşiklerinin türlendirilmesi genel olarak hidrür oluşum atomik absorpsiyon spektrometresi (HG-AAS) ve farklı detektör sistemleri ile birleştirilmiş HPLC yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. HPLC sisteminde kullanılan kolonlar çoğunlukla iyon değiştirici kolonlar olmuştur. Klasik ODS ve CN HPLC-UV/Vis kolonları kullanılarak sulu ortamda arsenik bileşiklerinin türlendirilmesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu bakımdan bu tezin ve sonuçlarının sulu ortamda inorganik arsenik bileşiklerinin türlendirilmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

İnorganik arsenik bileşikleri sulu ortamlarda okso-anyonları olarak bilinen, As(III) ve As(V) oksidasyon basamaklarını içeren AsO_3^{3-} ve AsO_4^{3-} formlarında bulunurlar. Bu tezde sulu ortamlarda farklı oksidasyon basamaklarında bulunan As(III) ve As(V) türlerinin, okso-anyonlarından çıkarak önce hidrürlerinin oluşturulması ve devamında uygun reaksiyon koşulları ve aletsel düzenlemeyle anyonik bir ligand ile komplekslerini oluşturarak önce UV/Vis sisteminde daha sonra HPLC-UV/Vis sistemi ile ODS veya CN kolonda türlendirilmesi amaçlanmıştır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Arsenik

Arsenik yer kabuğunda en bol bulunan 20. element olup, yer kabuğunun yaklaşık % 0.0005'ini oluşturur. Doğada 200'den fazla farklı mineral formunda bulunan arsenik genellikle sülfür, oksijen ve demirli bileşikleri halinde bulunurken nadiren de serbest halde bulunur [10,11].

Yaygın olarak arseniğin, gri ve sarı olan iki kristal ve siyah olan bir amorf yapısı mevcuttur. Gri arsenik metalik olup sarı arsenikten daha kararlı durumdadır ve doğada daha bol bulunur. Sarı arsenik ametalik halde olup dört atomlu As_4 moleküllerinden meydana gelir ve uçucudur. Amorf yapıya sahip olan siyah arsenik ise arsin gazının ısı ile bozunması sonucu elde edilir [1].

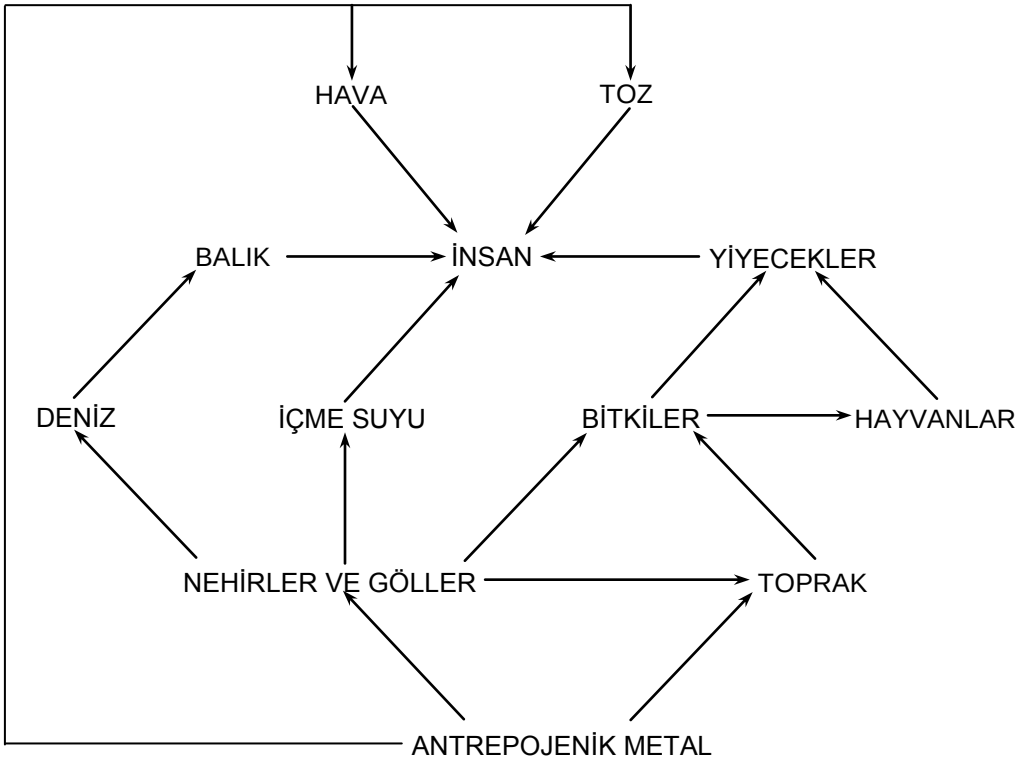
Arsenik kirliliği önemli bir dünya problemidir ve bu kirlilik birçok nedenden kaynaklanabilir. Sulardaki arsenik içeriği jeolojik olaylar, biyolojik aktiviteler ve volkanik olaylar gibi doğal proseslere bağlıdır. Birçok arsenik problemi bu doğal proseslere bağlı olsa da insan aktiviteleri de önemli bir role sahiptir. Arsenik bileşikleri yıllardır pestisit, pamuk, yarı iletken malzeme, kimyasal silah, hayvan yiyeceği, cam ve kağıt üretiminde, ahşap korumada, bazı hastalıkların tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmıştır [6,7,12]. Arseniğin element halinde kullanım alanı ise oldukça kısıtlıdır. Genelde tüfek saçmalarına yuvarlak biçim vermek için kurşuna element halinde arsenik eklenir. Ayrıca fişekçilikte, tunç kaplamacılığında ve bazı alaşımların yüksek sıcaklıklarda direncini artırmak amacıyla elementel arsenikten yararlanılır. As-72, As-74 ve As-76 gibi radyoaktif izotopları ise tıpta tanı yöntemlerinde kullanılır [1,11].

Zamanla çevrede oluşan arsenik kirliliği nedeniyle bu kullanım alanlarından bazıları sınırlandırılmıştır. Geçmişte tarımsal faaliyetlerde arsenik içerikli çeşitli pestisitler sıklıkla kullanılmasına rağmen bu pestisitlerin üretimi son yıllarda önemli miktarda azaltılmıştır. Birinci Dünya Savaşı'ndan sonra organik arsenik bileşiklerini içeren kimyasal silahlar kusturma ve zarar verme amacıyla kullanılmış fakat daha sonra bu silahların üretilmemesi konusunda ülkeler arası anlaşmalara ihtiyaç duyulmuştur [6,7,12].

Arsenik toprakta ve sularda, As(III) ve As(V) oksidasyon basamaklarında bulunur ve bu iki inorganik tür mikrobiyolojik ve/veya kimyasal olarak birbirine yükseltgenebilir veya indirgenebilir. Topraktaki arsenik seviyesi genellikle 1-40 ppm seviyesindedir [13]. Sulardaki arsenik seviyesi ise artezyen ve kuyu sularının derinliklerine, kirletici kaynakların durumuna ve arazinin coğrafi yapısına bağlıdır. Ortalama 100-300 m derinliğindeki artezyen sularındaki

arsenik seviyesi 0.35–1.14 ppm arasında iken, yüzeysel kuyu sularında arsenik seviyesi 0.00–0.30 ppm olarak bulunmuştur [14].

Şekil 2.1.'de arsenik elementinin de yer aldığı ağır metallerin insanlara ulaşım yolları verilmiştir. Ağır metaller nehirler, göller ve toprak üzerinden bitkilere, hayvanlara, deniz suyu ve içme suyuna aktarılır. Buradan da balıklar ve yiyecekler üzerinden insanlara ulaşmaktadır. Bir başka yoldan atmosferde hava ve toz üzerinde adsorbe olarak dağılmakta ve solunum yoluyla insanlara ulaşmaktadır. Ağır metallerin çevrenin her yerinde bulunması nedeniyle günümüzde insanoğlu özellikle içme suyunda ve temel yiyeceklerinde bu elementlerin düzeylerini dikkate almak zorunda kalmıştır [3,6].

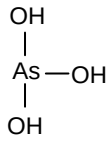
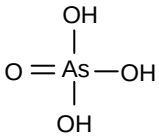
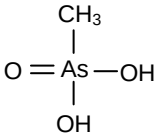
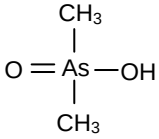
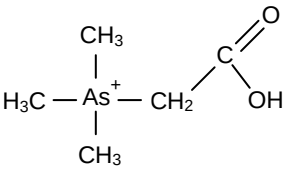
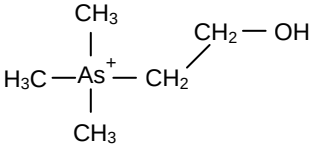
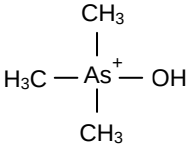
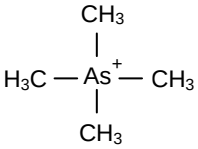


Şekil 2.1. Ağır metallerin insana ulaşım yolları.

2.2 Arsenik Bileşikleri

Arsenik bileşikleri, inorganik ve organik olmak üzere 2 sınıfta incelenir. Bu bileşiklerinde arsenik genel olarak -3, 0, +3, +5 oksidasyon basamaklarından birini alır. Karbon bağı bulunmayan arsenik bileşikleri inorganik arsenikler olarak tanımlanırken, yapısında karbon bağı bulunduran arsenik bileşikleri ise organik arsenikler olarak bilinmektedir [2,15]. Tablo 2.1.'de bazı önemli arsenik bileşikleri ve pKa değerleri verilmiştir [16,17].

Tablo 2.1. Bazı önemli organik ve anorganik arsenik bileşikleri.

Analit	Kısaltma	Molekül Yapısı	pKa
Arsenit	As(III)		9.23
Arsenat	As(V)		2.25 6.77 11.60
Monometil Arsonik Asit	MMA		3.6 8.2
Dimetil Arsinik Asit	DMA		1.3 6.2
Arsenobetain	AsB		2.18
Arsenocholine	AsC		-
Trimetil Arsin Oksit	TMAO		3.6
Tetrametil Arsonyum iyonu	$TMAs^+$		-

Arsenik bileşikleri, arseniğin bileşik içerisinde sahip olduğu oksidasyon basamağına ve bileşiğin türüne göre birbirlerinden farklı toksik etkilere sahiptirler. +3 oksidasyon basamağına sahip arsenik bileşikleri +5 oksidasyon basamağına sahip bileşiklerinden yaklaşık olarak 50-100 kat daha toksik etkiye sahiptirler. Bileşiklerinde ise inorganik arsenik türleri organik arsenik türlerinden daha toksiktir. Örneğin inorganik arsenik türleri, monometil arsonik asit ve dimetil arsinik asit organik türlerinden yaklaşık 400 kat daha fazla toksik etkiye sahiptir. İnorganik arsenik türlerinin kendi aralarındaki toksisite sıralaması arsin gazı, arsenit ve arsenat şeklinde devam etmektedir. İnorganik arsenik türleri kanserojen türler olarak sınıflandırılırken monometilarsonikasit ve dimetilarsinikasit organik türleri ise olası kanser girişimcileridir. Arsenobetain ve arsenocholine organik türleri ise hemen hemen toksik etkiye sahip değildir [7].

Doğada 200 den fazla farklı mineral formunda bulunan arsenik elementinin bazı önemli mineralleri ve bulunduğu yerler Tablo 2.2.'de verilmiştir [10,11].

Tablo 2.2. Bazı önemli arsenik mineralleri ve bulunduğu yerler.

Mineral	**Bileşik**	**Oluşum**
Safflorite	$(Co,Fe)As_2$	Mesothermal bölge
Rammelsbergite	$NiAs_2$	Mesothermal bölge
Seligmannite	$PbCuAsS_3$	Hidrotermal bölge
Realgar	As_4S_4	Kireç taşı ve kil
Orpiment	As_2S_3	Hidrotermal bölge
Cobaltite	CoAsS	Metamorphic kayalar
Enargite	Cu_3AsS_4	Hidrotermal bölge
Tennantite	$(Cu,Fe)_{12}As_4S_{13}$	Hidrotermal bölge
Loellingite	$FeAs_2$	Mesothermal bölge
Arsenik	As	Hidrotermal bölge
Arsenopyrite	FeAsS	En baskın mineral bileşiği

2.3 Sulu Ortamdaki Arsenik Bileşikleri

Doğal sularda arsenik çoğu zaman arsenit ve arsenat formlarında bulunmasına rağmen, nadiren düşük miktarlarda monometil arsonik asit ve dimetil arsinik asit formlarında bulunmaktadır. Arsenik derin sularda daha çok arsenit formunda bulunurken yüzey sularında arsenat formunda bulunur. Organik formlar ise yüzey sularında biyolojik aktivitelerle oluşmaktadır. Fakat bu organik formlar kantitatif açıdan önemsizdirler. Arsenocholine, arsenobetain gibi kompleks arsenik bileşikleri ve lipit içeren arsenik bileşikleri ise deniz sularında bulunmaktadır ve bu bileşikler kimyasal bozunmaya çok dirençlidir [6,18,19].

İnorganik arsenik türleri çeşitli şartlar altında birbirine dönüşebilen -3, 0, +3 ve +5 yükseltgenme basamaklarından birine sahiptir. İnorganik arsenik türlerin dağılımı, diğer çözünmüş metal ve ligant kompleks formlarının, redoks şartlarının ve pH'ın bir fonksiyonudur. Aynı zamanda iyonik etkileşimlerde inorganik türlerinin aktivitesini etkilemektedir [20,21].

İnorganik arseniğin sudaki kararlı türleri artı yüklü iyonları değil, oksijenli eksi yüklü anyonlarıdır. Artı üç değerlikli arseniğin, eksi üç değerlikli arsenit olarak bilinen anyonuna (AsO_3^{3-}) dayalı asitlik türlerine ($HAsO_3^{2-}$, $H_2AsO_3^-$, H_3AsO_3) ilişkin denklemler ve asitlik sabitleri (pKa değerleri) aşağıda verilmiştir [20].

$$H_3AsO_3 \rightleftharpoons H_2AsO_3^- + H^+ \qquad pK_{a1} = 9.1$$

$$H_2AsO_3^- \rightleftharpoons HAsO_3^{2-} + H^+ \qquad pK_{a2} = 12.1$$

$$HAsO_3^{2-} \rightleftharpoons AsO_3^{3-} + H^+ \qquad pK_{a3} = 13.4$$

Artı beş değerlikli arseniğin, eksi üç değerlikli arsenat olarak bilinen anyonuna (AsO_4^{3-}) dayalı asitlik türlerine ($HAsO_4^{2-}$, $H_2AsO_4^-$, H_3AsO_4) ilişkin denklemler ve asitlik sabitleri (pKa değerleri) aşağıda verilmiştir [20].

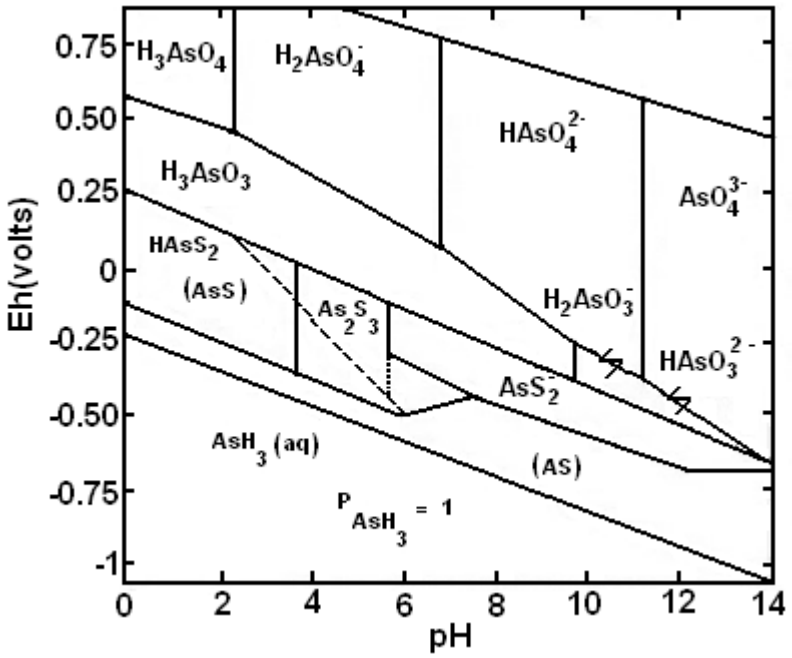
$$H_3AsO_4 \rightleftharpoons H_2AsO_4^- + H^+ \qquad pK_{a1} = 2.1$$

$$H_2AsO_4^- \rightleftharpoons HAsO_4^{2-} + H^+ \qquad pK_{a2} = 6.7$$

$$HAsO_4^{2-} \rightleftharpoons AsO_4^{3-} + H^+ \qquad pK_{a3} = 11.2$$

Belirli çözelti derişimlerinde, belirli sıcaklıkta ve belirli yükseltgenme düzeyinde, hangi türlerin ne oranda bulundukları, elektrokimyasal gerilimlerin hesaplanması ile elde edilir. Türlerin

yükseltgenme ya da indirgenme sonucunda ortaya çıkan dağılımları da elektrokimyasal denklemler yardımıyla bulunur. Arsenik türleri için Pourbaix diyagramının bir örneği Şekil 2.2.'de sunulmuştur. Bu grafikte yatay eksende çözeltinin pH değeri, dikey eksende ise redoks potansiyeli (Eh) volt biriminde verilmiştir. Yükseltgen çevre koşullarında (artı gerilim değerlerinde), artı beş değerlikli arsenat türleri baskın iken, indirgen koşullarda (eksi gerilim değerlerinde) ise artı üç değerlikli arsenit türleri hakimdir. Örneğin, bir arsenik sülfür bileşiği olan As_2S_3, pH'ın 5.5 değerinden düşük olduğu ve redoks potansiyelinin yaklaşık sıfır olduğu durumlarda kararlı iken, aynı gerilim düzeyinde arsenat (AsO_4^{3-}) iyonunun bulunabilmesi için en düşük pH değeri 11.5 düzeyinde olmalıdır [20].



Şekil 2.2. İnorganik arsenik türlerine ait Pourbaix diyagramı.

2.4 Arsenik Metabolizması

İnorganik arsenik metabolizmasında iki ayrı süreç vardır. İlk süreçte As(III) ve As(V), indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları ile birbirine dönüşür. İkinci süreçte ise arseniti MMA ve DMA'ya dönüştüren metilasyon reaksiyonları vardır. Bu reaksiyon zinciri sırasıyla; arsenatın arsenite indirgenmesi (gerekirse), metilasyonla arsenitin MMA(V)'e dönüşmesi, MMA(V)'in MMA(III)'e indirgenmesi ve metilasyonla DMA(V)'e dönüşmesiyle sonuçlanır [2].

Arseniğin biyolojik olarak izlenmesi, akut ya da kronik arsenik zehirlenmesinin tanımlanması için gereklidir. Arsenik vücuttan idrarla atılır ve idrardaki toplam arsenik

konsantrasyonu genelde yakın zamanda olan arsenik zehirlenmesinin bir göstergesidir. İnorganik arseniğin insanlardaki yarı ömrü dört gündür. Absorbe olan organik ve inorganik arseniğin kandaki yarılanma ömrü ise çok kısa olduğundan kan, oral arsenik zehirlenmesinde kimyasal analizler için uygun bir biyolojik materyal değildir. Saç ve tırnak vücudun diğer dokularıyla kıyaslandığında arsenik konsantrasyonunun en yüksek olduğu bölgelerdir. Bunun nedeni bu bölgelerin üç değerlikli arsenikle kolayca bağlanabilen tiyol (SH) grupları içeren keratince zengin olmasıdır. İnorganik arsenik zehirlenmesinin ölçülmesinde daha çok saç kullanılmaktadır [1].

İnsan vücudu inorganik arseniği idrarla daha kolay atılabilen organik bileşiklere dönüştürebilmektedir. Buna ek olarak, inorganik arseniğin idrardan doğrudan atılımı da olabilir. Doza ve maruziyet süresine göre değişim göstermesine rağmen, absorplanmış arseniğin % 75'inden fazlasının idrarla atıldığı düşünülmektedir [2].

İdrarda MMA, DMA, As(III) ve As(V) oranları maruziyet yoluna, maruziyet sonrası geçen süreye, alınan kimyasala, doz miktarına ve maruziyete uğrayan canlı türüne göre değişebilmektedir. Fakat genelde, uzun dönem maruziyeti takiben DMA temel metabolittir, As(III), As(V) ve MMA daha düşük seviyedeki metabolitlerdir. Bu metabolitlerin insanlardaki oranı ise genellikle yaklaşık olarak % 40-75 DMA, % 20-25 inorganik arsenik ve % 15-25 oranında MMA şeklindedir [22,23,24].

2.5 Arsenik Analiz Yöntemleri

Literatürde arsenik bileşiklerinin türlendirilmesi genel olarak HG-AAS ve HPLC ile birleştirilmiş farklı detektör sistemleriyle gerçekleştirilmiştir. HPLC sistemlerinde kullanılan kolon çoğunlukla iyon değiştirici kolon, detektör ise çoğunlukla indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) olmuştur. Aşağıda arsenik türlendirme konusunda gerçekleştirilen bazı çalışmalara yer verilmiştir.

Ignacio Löpez ve diğerleri, balık içerikli bebek mamalarında arsenik türlendirme analizlerini elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (ET-AAS) ile gerçekleştirmiştir. Ekstraksiyon işlemleri ve/veya kromatografik ayırma olmaksızın yapılmak istenen hızlı arsenik türlendirme analizleri için uygun olan bu yöntemin belirleme limitleri yeterince iyidir [25].

S. Garcia-Salgado ve diğerleri, Fransa, Japonya ve İspanya'dan ticari olarak temin edilebilen yenebilir deniz yosunlarının ve onaylı referans malzeme Sargassum fulvellumun toplam arsenik analizlerini indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometresi (ICP-AES)

metoduyla ve arsenik türlendirme analizlerini ise anyon ve katyon değiştirici kolonlar kullanarak yüksek performanslı sıvı kromatografisi ultraviyole foto oksidasyon hidrür oluşum atomik floresans spektometresi (HPLC–UV–HG–AFS) metoduyla gerçekleştirmiştir [26].

Guoying Chen ve Tuanwei Chen, pirinçten ekstrakte edilen inorganik arsenik türleri tayinini hidrür oluşum atomik floresans spektrometresi (HG-AFS) ile gerçekleştirmiştir. Standart referans materyaller kullanılarak validasyon çalışmaları yapılmış ve HG-AFS yönteminin As tayininde yüksek duyarlılık sağladığı ve özgül olduğu gösterilmiştir [27].

Hossein Abdolmohammad Zadeh ve diğerleri, katı faz ekstraksiyon ile önderiştirme sonrası, ET-AAS kullanarak arsenik analizleri üzerine bir metot geliştirmiştir. Standart referans materyaller kullanılarak validasyon çalışmaları yapılan bu metot ile çeşitli su örneklerinde arsenik analizleri başarıyla gerçekleştirilmiştir [28].

Nutthaya Butwong ve diğerleri, inorganik arsenik türlendirme konusunda bir hibrit sıralı enjeksiyon (SI)-duran akış enjeksiyon (FI) sistemi ortaya koymuştur. Bu metot yüksek seçicilik, basitlik ve maliyet etkinliği sağlamıştır [29].

Clarissa M. Moreira ve diğerleri, Güney Amerika'da üretilen 14 farklı beyaz şarap örneğinde arsenik türlendirme çalışmalarını anyon değiştirici kolon kullanarak sıvı kromatografisi indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (LC–ICP–MS) ile gerçekleştirmiştir [30].

Clarissa M.M. Santos ve diğerleri, çift kabuklu yumuşakça dokuların arsenik türlendirme analizlerini anyon değişim kolonu kullanarak LC-ICP-MS yöntemi ile gerçekleştirmiştir. Yumuşakça dokularından arsenik türlerinin mikrodalga ve ultrason ile ekstraksiyonları değerlendirilmiştir. Analit geri kazanım testleri ve sertifikalı referans materyallerin analizleri ile arsenik türlerinin kararlılığı, ekstraksiyon yöntemlerinin etkinliği ve doğruluğu değerlendirilmiştir [31].

GuiDi Yang ve diğerleri, Çin'in güneydoğusunda bulunan Fujian eyaletinin kıyı sularından alınan Laver (Porphyra haitanensis) örneklerinde arsenik türlendirme analizlerini kapiler elektroforez indüktif eşleşmiş plazma (CE-ICP-MS) yöntemi ile gerçekleştirmiştir. Layer örneklerinde DMAsSugarMethoxy türünün en baskın arsenik türü olduğu ve inorganik arsenik türleri seviyelerinin ulusal kabuledilebilir ortalama kalıntı seviyenin (TARL) çok altında olduğu görülmüştür [32].

Xiangju Mao ve diğerleri, tavuk dokularında arsenik türlendirme analizlerini stir bar sorpsiyon ekstraksiyonu sonrası (SBSE) C18 kolonu kullanarak HPLC-ICP-MS yöntemi ile gerçekleştirmiştir. Sertifikalı referans standart materyaller ile validasyon çalışmaları yapılan SBSE–HPLC–ICP-MS yöntemi en yüksek hassasiyete sahip arsenik türlendirme yöntemlerinden biridir ve karışık matriks yapısına sahip çeşitli örneklere uygulanabilir [33].

Mesay M. Wolle ve diğerleri, bitkilerden elde edilen çocuk diyet takviyelerinde arsenik türlendirme analizleri, mikrodalga ekstraksiyonu sonrası katyon değiştirici kolonu kullanarak LC–ICP-MS ile gerçekleştirmiştir. Optimizasyon çalışmalarında bir multivitamin standart referans materyal ve prenatal tamamlayıcı örnek kullanılmıştır [34].

Naoki Higashidani ve diğerleri, indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektometresi (ICP–OES) ile anyon değiştirici reçine dolu mini kolon içeren akış enjeksiyon sistemini kullanarak arsenik türlendirme analizleri üzerine kolay ve güvenilir bir metot geliştirmiştir. Bu metot Acidianus brierleyi hücrelere ve onun kültür besiyerine başarıyla uygulanmıştır [35].

Yun-Ling Chu ve diğerleri, yemek yağlarında arsenik türlendirme analizlerini mikrodalga destekli ekstraksiyon sonrası iyon kromatografisi indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi ile gerçekleştirmiştir. Gıda maddelerinin uzun kızartma periyotları nedeniyle, kullanılmış yağlarda arsenik türleri konsantrasyonlarının kullanılmayan yağlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür [36].

Lihong Liu ve diğerleri, on farklı arsenik bileşiğinin türlendirilmesi amacıyla CE-ICP-MS metodunu geliştirmiştir. Bu metot iki farklı sertifikalı referans materyale, tavuk, bitki ve yüzey suyu gibi çevresel örneklere başarıyla uygulanmıştır [37].

Eakkasit Punrat ve diğerleri, inorganik arsenik türlendirme konusunda uzun ömürlü altın modifiyeli ekran baskılı karbon elektrotu kullanarak sıralı enjeksiyon/anodik sıyırma voltametresi metodunu geliştirmiştir. Ekran baskılı karbon elektrot üzerine elektrokimyasal olarak uzun ömürlü altın elektrot oluşturulmuştur. Bu metot inorganik arsenik türlerin eser analizlerinde düşük maliyet sunan otomatik bir metottur [38].

Mehdi Asadollahzadeh ve diğerleri, su örneklerinde inorganik arsenik türlendirme konusunda dağılımlı katı sıvı sıvı mikroekstraksiyon (DSLLME) elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi metodunu (ET-AAS) geliştirmiştir. Önerilen bu metot sertifikalı referans materyallere ve çeşitli çevresel su örneklerine başarıyla uygulanmıştır [39].

H. Matusiewicz ve diğerleri, inorganik arsenik türlendirme konusunda çalışmalarını mikroçip kapiler elektroforez hidrür oluşum mikrodalga induced plazma optical emisyon spektrometre sistemi (μCE-HG-MIP-OES) ile gerçekleştirmiştir [40].

Emür Henden ve diğerleri, gıda ürünlerinin pişirilmesi ve korunması amacıyla yaygın bir şekilde kullanılan sırlı ve sırsız Türk geleneksel çömleklerde toplam arsenik analizini hidrür oluşum atomik absorpsiyon spektometresi (HG-AAS) ile gerçekleştirmiştir [41].

Nur Aksuner ve diğerleri, rafine edilmiş ve edilmemiş sofra tuzlarında HG-AAS ile arsenik ve antimon analizi öncesinde farklı bozundurma metotlarını değerlendirmiştir. Mikrodalga asit bozundurma, klasik yaş yakma, füzyon, kuru külleştirme uygulanmış ve optimum şartlar araştırılmıştır [42].

Tülin Deniz Çiftçi ve diğerleri, ferrik hidroksit destekli silika jeli kullanılarak As(III) ve As(V) türlerinin giderimi üzerine HG-AAS ile bir çalışma gerçekleştirmiştir. Akış oranı, pH, matriks iyonları gibi bazı parametrelerin arsenik giderimi üzerine etkileri araştırılmıştır. As(III) ve As(V) giderimi ile ilgili geliştirilen bu metot içme suyuna, jeotermal suya ve maden suyuna başarılı bir şekilde uygulanmıştır [43].

3 UV/Vis SPEKTROFOTOMETRESİ

Elektromanyetik ışın ile madde etkileşimini inceleyen bilim dalına spektroskopi, elektromanyetik ışının 200 ile 800 nm dalga boyuna sahip ışınlarla molekül etkileşimini inceleyen spektroskopi dalına da ultraviyole-görünür bölge (UV/Vis) spektroskopisi denir. UV/Vis spektroskopisi, analiz edilecek madde tarafından absorplanan monokromatik ışının ölçülmesi esasına dayanır. Ultraviyole ve görünür ışınların absorpsiyon ölçümleri çok sayıda inorganik ve organik bileşiğin kalitatif ve kantitatif analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Moleküler absorpsiyon spektroskopi b cm ışın yoluna sahip ışık geçirgen bir kapta bulunan bir çözeltinin geçirgenliğinin (T) veya absorbansının (A) ölçümüne dayanır. Normal olarak absorbans, absorpsiyon yapan analitin derişimi ile aşağıdaki eşitlikte belirtildiği gibi, doğrusal olarak değişir:

$$A = -\log T = \log \frac{P_O}{P} = \varepsilon.b.c$$

Bu eşitlikteki bütün değişkenler Tablo 3.1.'de tanımlanmıştır. Bu eşitlik Beer yasasının matematiksel bir ifadesidir.

Tablo 3.1. Absorpsiyon ölçümlerinde kullanılan önemli terimler ve semboller.

Terim ve Sembol	**Tanımı**	**Diğer İsmi ve Sembolü**
Işın gücü *P, P_0*	Dedektörün 1 cm^2'lik alanına bir saniyede düşen ışının enerjisi (erg)	Işın şiddeti *I*, I_0
Absorbans A	$\text{Log } \frac{P_O}{P}$	Optik yoğunluk D; ekstinksiyon E
Geçirgenlik T	$\frac{P}{P_O}$	Transmittans T
* Işın yolu b	-	l, d
* Absorptivite a	$\frac{A}{bc}$	Ekstinksiyon katsayısı k
** Molar absorptivite ε	$\frac{A}{bc}$	Molar ekstinksiyon katsayısı

* c : g/L veya diğer derişim birimleri cinsinden verilebilir; b cm veya diğer uzunluk birimleri cinsinden verilebilir.

** c : mol/L cinsinden verilir; b cm cinsinden verilir.

UV/Vis spektroskopisinde kullanılan alete UV/Vis spektrofotometresi denir ve dizaynı bakımından spektrofotometreler iki türlüdür.

1. Tek ışın yollu spektrofotometre
2. Çift ışın yollu spektrofotometre

Cihazlar dizayn bakımından farklılık göstermesine rağmen kullanılan parçalar temel olarak aynı olup her iki cihazda da aşağıdaki parçalar mevcuttur.

1. Işın kaynağı
2. Monokromatör
3. Numune kapları
4. Dedektör
5. Yazıcı ekran

3.1 Tek Işın Yollu Spektrofotometre

Tek ışın yollu spektrometrelerde, ışın kaynağından elde edilen ışın tek yoldan ilerleyerek, sistemde tek olan numune hücresinden geçerek transduser ulaşır. Deneysel çalışmalarda, ölçümler yapılırken ilk önce referans çözeltisi hücreye yerleştirilir ve dalga boyu taraması veya absorbans ölçümü yapılır ve sinyaller sayısal verilere dönüştürülerek bilgisayar hafızasında depolanır. Daha sonra numune çözeltisi hücreye yerleştirilir ve dalga boyu taraması veya absorbans ölçümü yapılır ve referans çözeltinin depolanmış verilerinden yararlanılarak absorbans hesaplanır. Tek ışın yollu cihazların daha fazla enerji tüketimi olmasına rağmen daha iyi sinyal/gürültü oranı üretmek gibi avantajları vardır. Diğer taraftan ışın kaynağından ve detektörlerdeki sapma ve salınımlardan dolayı referans ve numune çözeltileri ayrı ayrı zamanlarda ard arda ölçülmelerinin bir sonucu olarak absorbans hesaplamaları çok başarılı değildir. Dolayısıyla analiz daha uzun sürer. Bu tür cihazlarda bant genişlikleri 2-8 nm arasında değişir, dalga boyu doğrulukları ± 0.5 ile ± 2 nm arasındadır. Fakat son geliştirilmiş cihazlarda doğruluk ± 0.005 A veya ± % 0.3 T ve bant genişlikleri 0.5 ile 2 nm bant genişlikleri elde edilmektedir.

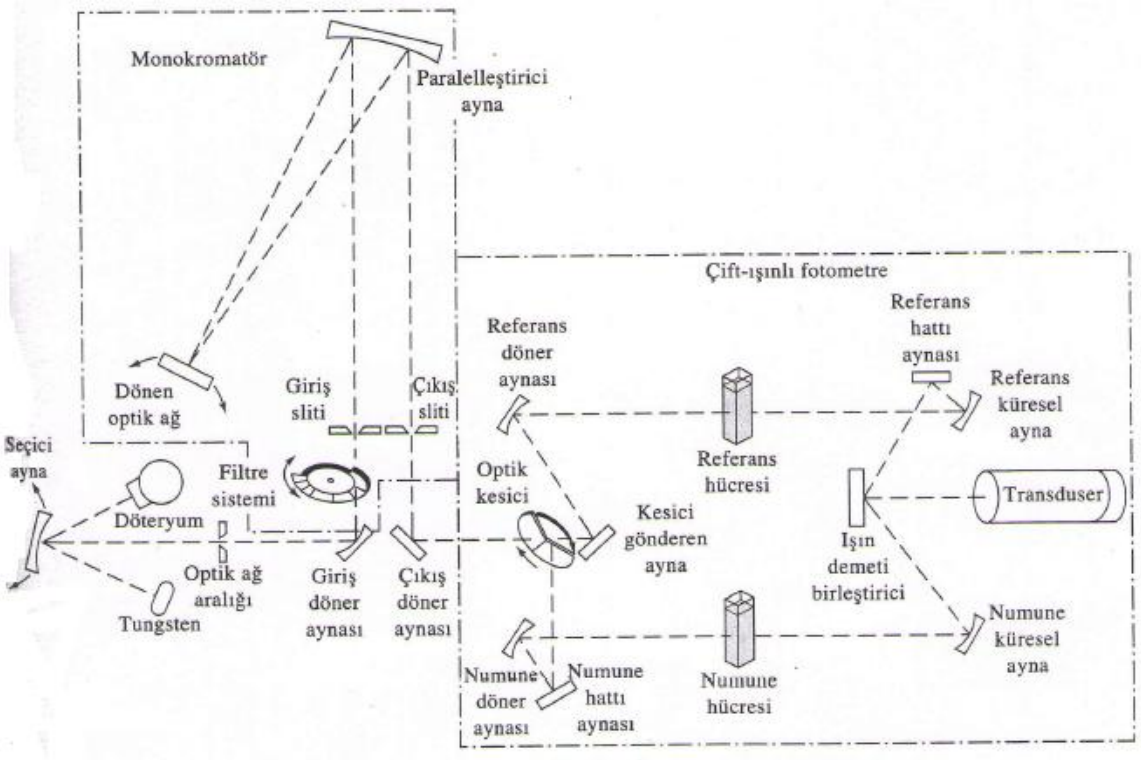
3.2 Çift Işın Yollu Spektrofotometreler

Çift ışın yollu spektrometrelerde ışın, bir ışın kesici tarafından zamana karşı veya bir ışın bölücü olarak adlandırılan V-şeklindeki bir ayna yardımıyla uzayda şiddet bakımından iki eşit parçaya bölünür. Bu tür cihazlarda, biri referans diğeri numune olmak üzere iki hücre mevcuttur.

İkiye bölünen ışınlardan biri referans çözeltisinden ikinci ışında aynı anda numune çözeltisinden geçer ve sonrasında bu ışınların birleştirici ayna yardımı ile ard arda detektöre gitmesi sağlanır. Sistem hangi ışın pulsının referanstan hangisinin numuneden geldiğini ayırt eder ve absorbansları karşılaştırılarak analit absorbansı okunur veya analite ait UV/Vis spektrumu yazıcı ekran üzerinde gösterilir.

Çift ışın yollu spektrofotometrelerin performansı daha iyi olup ölçümler daha hassas olarak gerçekleştirilmesi yanında çok kısa süreli değişimler hariç ışın şiddetindeki sapmaların, transduser ve yükselticideki salınımların sonuçlara etkisini önleme avantajları vardır. Ayrıca, dalga boyu ile ışın şiddetindeki büyük değişimlerin etkisini de önlerler. Çift ışınlı yollu spektrofotometreler geçirgenlik ve absorbans spektrumlarının sürekli kayıt edilmesine de uygundur. Bu nedenle, modern ultraviyole ve görünür bölge spektrofotometrelerin çoğu, çift ışınlıdır [25]. Çift ışın yollu cihazların dalga boyu aralığı 190-850 nm olup bant genişliği 4 nm'dir. Doğruluk % 0.5 *T* ve tekrarlanabilirliği % 0.2 *A* kadardır.

Bu çalışmada çift ışınlı yollu spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Şekil 3.1.'de çift ışınlı yollu bir spektrofotometrenin şematik yapısı verilmiştir.



Şekil 3.1. Çift ışın yollu bir UV/Vis cihazı.

3.2.1 Işın Kaynakları

UV/Vis spektrofotometrelerinde oldukça geniş bir dalga boyu aralığında gücü ani olarak değişmeyen sürekli ışın kaynakları kullanılır. Bu iki bölgede ışın kaynağı olarak kullanılacak lambalar şu şartları sağlamalıdırlar.

- Enerjisi büyük olmalı
- Sürekli bir spektrum vermeli
- Enerjisi sabit olmalı,

UV/Vis iki farklı bölgeden oluştuğu için, ilgili bölgedeki dalga boyu aralığındaki ışınları elde etmek için UV/Vis spektrometrelerde iki farklı lamba kullanılır. UV bölge 200-400 nm, Vis bölge ise 400-800 nm dalga boyu aralığını içermektedir. Yukarıda verilen şartları ve ilgili bölgedeki dalga boylarını elde etmek için iki tür lamba yan yana kullanılır.

3.2.2 Döteryum ve Hidrojen Lambalar

UV bölge için döteryum lamba veya düşük basınçta elektriksel olarak hidrojenin uyarılması ile sürekli spektrum elde edilen hidrojen lambası kullanılır. Her iki lambada 160-375 nm dalga boyu aralığında sürekli spektrumlu ışınlar verirler. Sürekli spektrum oluşum mekanizmasında önce uyarılmış moleküller oluşur ve bu uyarılmış moleküllerin ayrışması ile iki atomik tanecik ve ultraviyole foton oluşur.

Döteryum için reaksiyon,

$D_2 + E_e \longrightarrow D_2^* \longrightarrow D' + D'' + h\nu$, şeklindedir.

Bu reaksiyonda E_e molekül tarafından absorplanmış elektrik enerjisidir, ve D2* uyarılmış döteryum molekülüdür. Toplam reaksiyon

$E_e = E_{D2}^* = E_{D'} + E_{D''} + h\nu$, şeklinde gösterilebilir. E_{D2}^* iki döteryum atomunun kinetik enerjisidir.

Döteryum ve hidrojen boşalım lambalarının önemli bir özelliği iki elektrot arasındaki deliğin şeklidir. Bu delik, ışının dar bir yol üzerinde ilerlemesinin belirler. Sonuç, 1-1.5 nm çapında şiddetli bir ışın topu elde edilir. Döteryum lambaları düşük basınçlı hidrojen lambalarından daha şiddetli ışın verirler, bundan dolayı spektrofotometrelerde döteryum lamba

yaygın olarak kullanılır. Cam 350 nm'nin altında şiddetli absorpsiyon yaptığı için her iki lambanın pencereleri kuvarstan yapılır. 40 V'luk potansiyelde sabit şiddet elde etmek için lamba sabit güç kaynağı ile beslenmelidir. Tungstenden yapılmış katot ve nikelden yapılmış anot lambanın içi D_2 gazı ile doldurulmuştur.

3.2.3 Tungsten Lamba

Görünür bölge ve yakın infrared bölge için en yaygın olarak kullanılan lamba tungsten telli lambadır. Bu lambanın enerji dağılımı siyah cisim ışımasındakine benzemektedir ve bu nedenle sıcaklığa bağlıdır. Tungsten telin çalışma sıcaklığı 2870 K'dir, bu sıcaklıkta 350-2500 nm arasındaki Vis ve yakın IR ışınları elde edilir. Lamba penceresi camdandır. Camın 350 nm altındaki ışınları absorbansından dolayı lamba alt sınırı 350 nm ile sınırlanmıştır. Karalı ışın şiddeti elde etmek için lambaya uygulanan potansiyelin çok iyi kontrol edilmesi gerekmektedir. İstenilen kararlığı elde etmek için, genellikle sabit potansiyel transformatörleri veya elektrik potansiyel regülatörleri kullanılmaktadır. Alternatif olarak bu lamba kararlı potansiyel sağlayan 6 V'luk bir aküyle beslenebilir.

Tungsten telli lamba yanında, Vis bölgede tungsten/halojen lambada kullanılabilir. Lamba çalışma sıcaklığı yaklaşık 3500 K'dir, bundan dolayı lamba kuvarstan yapılır. Tungsten/halojen lamba kuvars tüp içerisinde bir tungsten tel ve iyot içerir. Tungsten/halojen lambanın ömrü halojensiz tungsten telli lambanın ömründen iki kat daha fazladır. Ömrün uzun olmasının nedeni, lambanın gaz fazına geçen ve lambanın ömrünü azaltan tungstenin iyotla WI_2 ürünü vererek reaksiyon girmesindendir. Bu bileşiğin molekülleri tungsten tele çarptığında, bozunur ve tungsten yeniden ortaya çıkarak tel üzerinde birikir. Bu olay süreklidir. Tungsten/halojen lambaları belirgin olarak daha yüksek verimlidir ve spektrum UV bölgeye kadar gider. Bu nedenle, bu lamba birçok modern spektrofotometrelerde kullanılmaya başlanmıştır.

3.2.4 Ksenon Ark Lamba

UV/Vis spektrofotometrelerde iki lamba yerine her iki bölgede de ışın yayan ksenon lamba da kullanılabilir. Ksenon (Xe) lambası 200-1000 nm arasında sürekli ışın yayar. Buna rağmen, spektrofotometrelerde nadiren kullanılır.

3.3 Monokromatörler

Birçok spektroskopik yöntemde, çalışılan dalga boyu aralığında ışının dalga boyu küçükten büyüye veya büyükten küçüğe doğru aletin dalga boyu ayırma gücüne göre artırılarak veya azaltılarak tüm spektrum bir baştan diğer başa sürekli olarak değiştirilerek spektrum taraması yapılır. Bu işlemim gerçekleştirilebilmesi için monokromatörlere gereksinim vardır.

Monokromatör, polikromatik ışını dalga boylarına ayıran ve birkaç optik bileşene sahip sistemlerdir. Ultraviyole, görünür ve infrared bölge ışınlarını dalga boylarına ayırmak için kullanılan monakromatörler mekanik açıdan aynı tasarlanmışlardır. Genel olarak monokromatörler aşağıda ki parçalardan oluşmaktadır.

- Giriş sliti
- Toplayıcı mercek veya iç bükey ayna 1
- Dalga boyu ayırıcı (prizma veya optik ağ)
- Odaklama merceği veya iç bükey ayna 2
- Çıkış sliti

Ancak bu bileşenlerin yapımında kullanılan malzemeler dalga boyu aralıkları dikkate alınarak seçilir. Monokromatörlerde dalga boyu arıcısı olarak prizmalar veya optik ağlar kullanılmaktadır. Optik ağların ayırma gücü daha yüksek olduğundan genel olarak günümüz spektrofotometrelerde optik ağlı monokromatörler kullanılır.

3.4 Numune Kapları

Küvet veya hücre olarak adlandırılan numune kapları çalışılan dalga boyu aralığında ki ışınları geçiren maddelerden yapılmalı. UV (200-400 nm) bölge çalışmaları için kuvars veya eritilmiş silis kullanılır. Bu bölgede cam kullanılmaz, çünkü cam 350 nm'nin altında ki ışınları absorplar. Vis (400-800 nm) bölge çalışmalarında cam küvetler kullanılır, ayrıca şeffaf plastiklerde bu bölgede kullanım alanı bulmuştur. UV/Vis (her iki bölgeyi içeren) spektrometreler için en ideal malzeme kuvars veya eritilmiş silistir.

Işının numune kaplarından geçişi esnasında yüzeydeki yansımaları minimum düzeyde tutmak için numune kapları ışın geliş yönüne dik olarak yerleştirilmelidir. Ultraviyole ve görünür bölgede en yaygın kullanılan hücrelerin ışın doğrultusundaki uzunlukları 1 cm'dir; birbirine uyumlu, ayarlı hücreler birçok ticari kaynaktan elde edilebilir. Farklı ışın yolu uzunluklarına (0.1

cm'den 10 cm'ye kadar) sahip numune hücreleri de pazarlanmaktadır. 1 cm'lik hücrelerin ışın yolunu 0.1 cm'ye kadar düşürebilen geçirgen ışın yolu azaltıcıları da mevcuttur.

Absorbans ölçüm sonuçlarının kalitesi, hücrelerin kullanım şekli ve bakımına göre değişir. Yüzeylerdeki parmak izleri, yağ ve diğer birikintiler, hücrelerin geçirgenliğini önemli oranda etkilerler. Böylece, kullanmaya başlamadan önce ve sonra hücreleri yıkamak zorunludur. Numune hücreleri etüvde ve fırında ısıtılarak kurutulmamalıdır. Bu tür bir uygulama hücreye fiziksel zarar verebilir veya ışın yolu uzunluğunu değiştirebilir. Hücreler, absorpsiyon yapan bir çözelti kullanarak birbirlerine karşı düzenli olarak ayarlanmalıdır.

3.5 Detektörler

Işın enerjisini, elektrik sinyallerine dönüştüren cihazlara detektör adı verilir. Oluşturulan elektrik sinyali, ışın gücü (*I*) ile doğru orantılı olarak değişir ve aşağıdaki şekilde verilir.

$S = k\,I$

Burada S akım veya potansiyel birimleri cinsinden ve ışının gücüyle orantılı elektriksel cevap, k ise kalibrasyon duyarlığı (kalibrasyon duyarlığı, ölçümün yapıldığı derişime karşı gelen noktadaki kalibrasyon eğrisinin eğimidir) ve I ışın gücüdür. Yani $S = mc + S_{Bl}$, burada *S* ölçülen sinyal, m doğru eğimi, *c* analit derişimi, S_{Bl} tanık için bulunan alet sinyali ve doğrunun y eksenini kestiği noktadır.

İdeal bir dedektörde aşağıdaki özellikler olmalıdır;

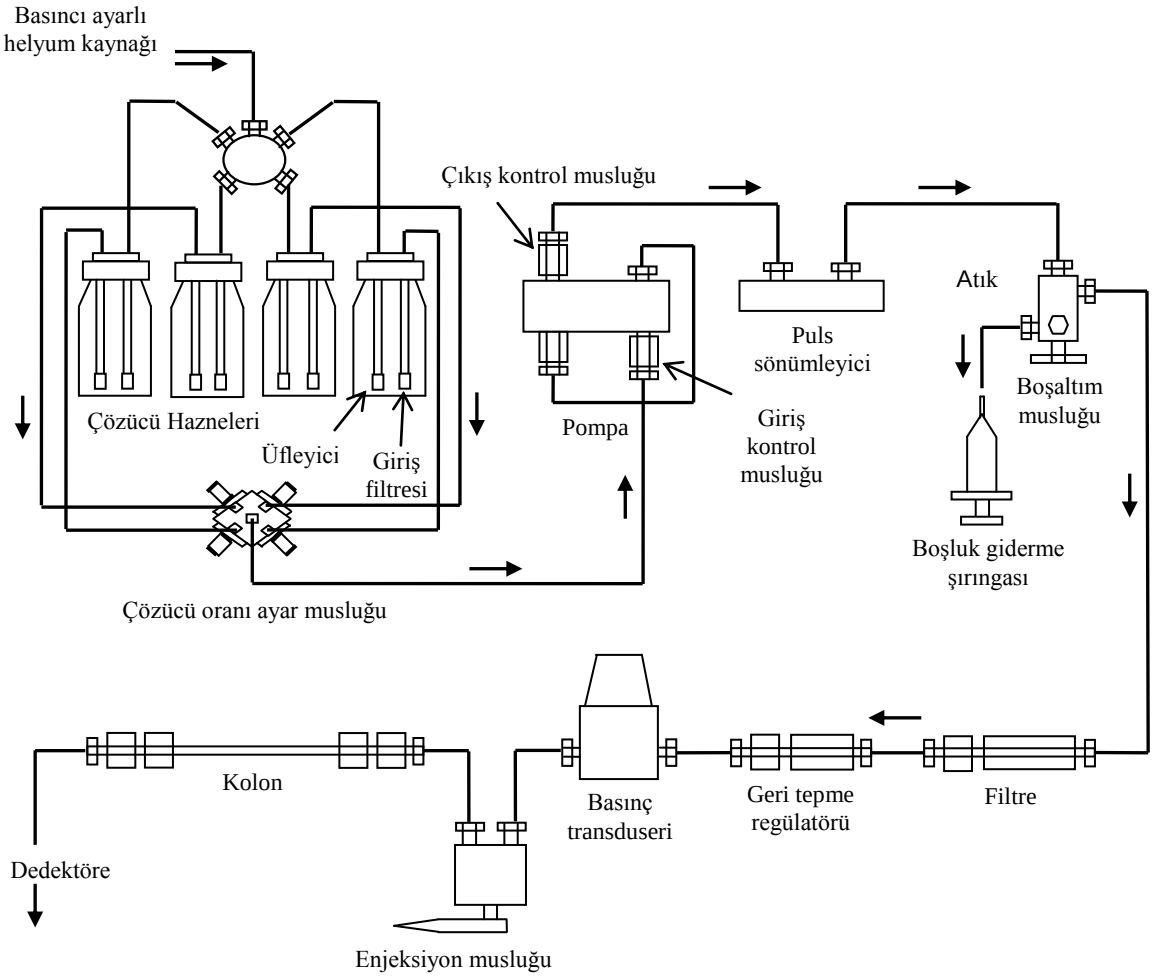
1. ışınlara karşı yüksek duyarlılık göstermelidir,
2. sinyal/ gürültü oranı yüksek olmalıdır,
3. ışın şiddeti ile doğru orantılı sinyal üretmeli,
4. üzerine düşen ışınlara yanıt verme süresi kısa olmalıdır,
5. kararlı olmalıdır,
6. üretilen elektrik siyalleri yardımcı düzeneklerle çoğaltılabilmelidir.

UV/Vis bölge moleküler absorpsiyon spektrofotometrelerinde ışın şiddetinin ölçümünde fotonlara duyarlı olan fotovoltaik, fototüp, fotonçoğaltıcı ve silisyum diyotlu detektörler kullanılabilir. Düşük ışın şiddetleri ve duyarlık bakımından fotonçoğaltıcılar diğer detektörlere göre oldukça üstünlük sağlarlar. Genel olarak günümüz UV/Vis spektrofotometrelerde fotonçoğaltıcı ve silisyum diyotlu detektörler kullanılmaktadır [44].

4 YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİ

Dolgulu kolonlarla yüksek basınç altında bir sıvının kolon içerisinden geçirilmesiyle yapılan kromatografi türlerine yüksek performanslı sıvı kromatografisi denir. Yüksek performans sıvı kromatografisi, bütün analitik ayırma metotları arasında en çok kullanılanıdır. Bunun nedeni, bu metodun: (1) hassas olması, (2) sıcaklığa hassas olan maddelere uygulanabilmesi, (3) uçuculuğu düşük olan bileşiklerin kolaylıkla analizlenebilmesi, (4) doğruluk dereceleri ve kesinlikleri yüksek kantitatif analitik sonuçlar vermesidir. Metodun uygulandığı başlıca alanlar; nükleik asitler, terpenoitler, pestisitler antibiyotikler, steroidler, proteinler, amino asitler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, metal organik bileşikleri ve bazı inorganik maddelerdir.

Modern sıvı kromatografi sistemlerinde genel olarak kullanılan ve tanecik boyutu 2 ile 10 μm arasında olan dolgu maddeleri ile uygun sıvı akış hızları elde edebilmek için, yüzlerce atm'lik pompa basınçlarına gerek vardır. Bu yüksek basınçların bir sonucu olarak HPLC için gerekli donanım, diğer tip kromatografi sistemleri dikkate alındığında, daha ince işçilik gerektirir ve sonuçta daha pahalıdır. Şekil 4.1. tipik bir yüksek performanslı sıvı kromatografisinin önemli parçalarını şematik olarak göstermektedir.



Şekil 4.1. HPLC cihazının şematik gösterimi.

4.1 Hareketli Faz Hazneleri ve Çözücü Muamele Sistemleri

Modern bir HPLC cihazı, bir veya daha fazla, her biri 200-1000 mL çözücü içeren camdan veya çelikten yapılmış hazne içermektedir. Bu hazneler çoğu zaman, kolonda ve detektör sisteminde gaz oluşturarak bozucu etkilere sebep olan çözünmüş gazların (genellikle oksijen ve azot) giderilmesi için bir cihazla donatılmıştır. Bu gaz kabarcıkları bant genişlemesine; ayrıca, çoğu zaman detektörün performansında bozucu etkilere sebep olurlar. Gaz giderme düzeneği, vakum pompası sistemi, damıtma sistemi ve çözücüyü ısıtıp karıştıran bir parçadan oluşabileceği gibi, Şekil 4.1.'deki gibi düşük çözünürlükteki inert bir gazın küçük kabarcıkları yardımıyla, çözünmüş gazları sürükleyen basit bir üfleyici de olabilir. Çoğunlukla bu sistemler, çözücü içinde bulunabilecek toz ve partikül halindeki maddelerin pompaya ve enjeksiyon sistemine zarar vermemesi veya kolonu tıkamaması için, toz ve partikül maddeleri süzmeye yarayan bir süzme düzeneği de içerirler. Gaz gidericilerin ve süzme düzeneğinin, Şekil 4.1.'de

görüldüğü gibi, HPLC sisteminin ana parçası olması gerekli değildir. Örneğin, çözücüyü hazneye doldurmadan önce uygulanacak uygun bir yol, çözücüyü vakum altında bir milipor süzgeçten süzmektir. Bu uygulama, süspansiyon halindeki maddeleri uzaklaştırmanın yanı sıra gazları da giderir.

Sabit bileşimdeki tek bir çözücü kullanılarak yapılan ayırma izokritik elüsyon olarak adlandırılır. Sıklıkla, ayırma etkinliği gradiyent elüsyonu ile büyük ölçüde artırılır. Burada polariteleri önemli derecede birbirinden farklı, iki veya üç çözücü sistemi kullanılır. Elüsyon başladıktan sonra, belli bir programa göre, bazen sürekli olarak ve bazen de bir seri basamaklar halinde, çözücülerin oranı değiştirilir. Modern HPLC ekipmanları çoğu zaman, çözücülerin hacimsel oranı zamanla doğrusal olarak veya üstel olarak değiştirilebilecek şekilde, iki veya daha fazla hazneden aldığı çözücüleri bir karıştırma odasında sürekli olarak değişen hızlarda bir araya getiren sistemlerle donatılmıştır.

4.2 Pompalama Sistemleri

Bir HPLC pompalama sistemi için gerekli şartlar oldukça sıkıdır ve şunları içermektedir: (1) 0-1200 atm'e arası basınç üretimi, (2) puls içermeyen basınç çıkışı, (3) 0.1-10 mL/dakika aralığında akış hızları, (4) % 0.5 veya daha iyi bir bağıl tekrarlanabilirlikle akış kontrolü, (5) korozyona dayanıklı parçalar (paslanmaz çelik veya teflondan yapılmış sızdırmazlık). Her birinin kendine göre üstünlük ve sakıncaları bulunan üç tip pompa vardır. Bunlar; pistonlu pompalar, şırınga veya sürgülü pompalar ve pnömatik veya sabit basınç pompalarıdır.

Pompalama sistemlerinin bir parçası olarak birçok ticari cihaz, bilgisayar ile kontrol edilen, pompa çıkışına yerleştirilmiş bir geri tepme tıkacı boyunca basınç düşmesini belirleyen akış hızını ölçen bir sistemle donatılmıştır. Sinyalin önceden ayarlanmış değerindeki herhangi bir değişme, pompanın motorunun hızını artırmakta veya azaltmakta kullanılır. Birçok cihaz, çözücünün bileşimini ya sürekli yada basamaklı olarak değiştiren bir sisteme de sahiptir. Örneğin; Şekil 4.1.'de görülen cihaz, ön program ile ve dört tane çözücüyü sürekli değişen oranlarda karıştırabilen bir oranlama musluğu içermektedir.

4.3 Numune Enjeksiyon Sistemleri

HPLC'de numune enjeksiyonu düşük basınçta yapılır. Enjekte edilen numune, yüksek basınçta hareket eden hareketli faza karışır ve kolona hareketli fazda çözünmüş halde ulaşır. Ulaşma çok küçük bir hacim içinde olur. Çünkü hareketli faz, sıvının büyük bir kısmı yan geçişten yoluna devam ederken, çok az bir kısmı numuneyle karışıp ana hareketli fazla birleşir.

Böylece numune fazla seyrelmeden kolona ulaşır. Bu çok önemli bir husustur. Numune seyrelirse, detektörden yayvan pikler elde edilir. Bu da hiç istenmeyen bir husustur. Çoğu zaman, sıvı kromatografisi ölçmelerinin kesinliğini belirleyici faktör, numunenin kolon dolgu maddesine sevkinin tekrarlanabilirliğidir. Aşırı numune yüklenmiş kolonlarda görülen bant genişlemesi de kesinliği etkiler. Bu yüzden, kullanılan hacim, mikrolitrenin birkaç ondalığından belki 500 µL'ye kadar oldukça küçük olmalıdır. Dahası, sistemin basıncını düşürmeksizin numunenin sisteme girişinin sağlanması gereklidir.

Sıvı kromatografide numune vermek için en yaygın kullanılan yöntem numune giriş sarımlarının kullanılması esasına dayanmaktadır. Birçok sıvı kromatografi cihazının ayrılmaz bir parçası olan bu sarımlar, değiştirilebilir nitelikte olup 5 µL'den 500 µL'ye kadar değişen hacimlerde numune hacmi seçimine olanak tanımaktadır. Bu tipteki numune alma halkaları, 18000 psi basınca kadar, binde birkaç bağıl hata verecek kesinlikle numunenin kolona uygulanabilmesini sağlamaktadır. Hacmi 0.5-5 µL arasında olan halkaları bulunan mikro numune enjeksiyon muslukları da mevcuttur.

4.4 Sıvı Kromatografi Kolonları

Sıvı kromatografi kolonları normal olarak düzgün iç çaplı paslanmaz çelik borulardan yapılır. Çeşitli üreticilerden, boyutları ve dolgu maddesi farklı, yüzlerce dolgulu kolon temin etmek mümkündür.

4.4.1 Analitik Kolonlar

Modern HPLC cihazının en önemli kısmı olan kolon, karmaşık örneklerde maddelerin birbirinden iyi çözünürlükle ayırımından sorumlu sabit fazdır. Kolon imalatında yapı materyali olarak 316 paslanmaz çelik, TEFLON, cam veya PEEK en sık tercih edilenlerdir. Cam boruların çalışma basıncı yaklaşık olarak 600 psi ile sınırlı iken çelik borular ile 18000 psi'ya kadar çıkılabilir. Analitik kolonların ayırım gücü ve performansı yapıldığı materyalden ziyade, kolon dolgu malzemenin kimyasal ve fiziksel özelliklerine bağlıdır. Temel olarak dolgu malzemesi silanol gruplarını ihtiva eden ana kemik yapı üzerine bağlanabilen çeşitli fonksiyonel grupların varlığından dolayı, HPLC'de farklı polariteye sahip çok çeşitli analitik kolon kullanmak mümkündür. Seçilecek analitik kolon, kullanılacak hareketli fazın ve uygulanacak HPLC metodunun özelliklerine ve en önemlisi analizi yapılacak maddelerin bilinen fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre seçilmelidir. Seçilen kolonun HPLC uygulamasında kullanılacak akış hızı ve dolayısıyla oluşacak basınca dayanıklı olmasına dikkat edilmelidir. HPLC'de kullanılan kolonların büyük çoğunluğu boyu 3-30 cm arasında değişmektedir. Normalde kolonlar düzdür

ve gerektiği yerlerde iki veya daha fazla kolonun birbirine eklenmesiyle kolonun boyu arttırılabilir. Analitik kolonların iç çapları ise çoğu zaman 1.8-10 mm olup, kolon dolgu maddesinin tanecik büyüklüğü 2-5 μm arasında değişebilmektedir. Günümüzde klasik HPLC'de en çok kullanılan kolon, 250 mm uzunluğunda, 4,6 mm iç çapında ve 5 μm tanecik büyüklüğüne sahip dolgu maddesi doldurulmuş kolonlardır. Bu tip kolonlar 40000-60000 teorik plaka/metre içerirler. Analitik kolon boyutları ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanımında daha kısa, dar ve küçük tanecik boyutlarına sahiptirler. Bu gibi kolonlar 100000 teorik plaka//metre içerirler ve hız ve minimum çözücü sarfiyatı avantajları vardır. Son özellik oldukça önemlidir, çünkü sıvı kromatografi için gerekli olan yüksek saflıktaki çözücüler, temin edilmesi ve daha sonra atılması oldukça pahalıya mal olan çözücülerdir.

Analitik kolon iç çapı arttıkça, kolon iç hacmi ve dolayısıyla kolon dolgu malzemesinin hacmi ve hareketli faz akış hızı artar, fakat buna karşılık yöntemin duyarlılığı azalmaktadır. Kolonların boylarının artışı, örnek bileşenlerinin ayırımının daha iyi olmasını sağlamasına karşın, analiz süresinin uzamasına, hareketli faz miktarının ve pik genişliklerinin artmasına sebebiyet vermektedir.

Kolonlar için herhangi bir basınç sınırlaması yoktur. HPLC cihazının maksimum basıncında dahi sorunsuz şekilde çalışılabilmektedir. Ancak, ani basınç darbelerinden kaçınmak gereklidir. Ani basınç değişiklikleri, dolgu maddesi yatağında delinmelere sebebiyet verebilir. Kromatogramda bu durumu pik çiftleri halinde görmek mümkündür.

Analizler genellikle oda sıcaklığında gerçekleştirilir, fakat oda sıcaklığının düzensiz olduğu durumlarda ve bileşenlerin ayrımları üzerine sıcaklığı etkili olduğu durumlarda kolon sıcaklığını sabit tutmak için kolon fırını kullanımı oldukça yaygındır. Blok ısıtıcılı, fanlı ve peltier kolon fırınları mevcuttur. Peltier sistemler çok çabuk ısıtılıp soğutulabildiği ve daha sabit sıcaklık sağladığı için tercih edilir.

4.4.2 Emniyet Kolonları

Analitik kolonun ömrünü artırmak amacıyla, analitik kolondan önce genellikle kısa bir kolon yerleştirilir. Bu kolonun görevi, sadece partikül haldeki maddeleri ve çözücü içindeki yabancı maddeleri tutmak değil, aynı zamanda numune içinde bulunan ve durgun faza tersinmez olarak bağlanan bileşenleri de tutmaktır. İlave olarak, sıvı kromatografide emniyet kolonları, hareketli fazı durgun faz ile doyurarak analitik kolondaki çözücü kaybının en aza indirilmesini sağlar. Emniyet kolonundaki dolgu maddesinin bileşimi, analitik kolonundakine çok benzer olmalıdır; bununla beraber, basınç düşüşünü en aza indirmek için tanecik boyutu

genellikle daha büyüktür. Emniyet kolonu kirlendiği zaman tekrar yeni dolgu maddesi ile doldurulmalı veya aynı tipteki bir yenisi ile değiştirilmelidir. Böylece, daha pahalı olan analitik kolonu korumak için emniyet kolonu feda edilmektedir.

4.5 Kolon Dolgu Maddelerinin Tipleri

Sıvı kromatografide temel olarak iki tip kolon dolgu maddesi kullanılmaktadır. Bunlar, film dolgular ve gözenekli dolgulardır. Bunlardan birincisi, küresel, gözeneksiz, çapları 30-40 μm olan cam veya polimer tanelerinde oluşur. Bu tanelerin yüzeyine, silis, alumina, polistiren-divinil benzen sentetik reçinesi veya bir iyon değiştirici reçineden oluşan ince bir gözenekli film kaplanmıştır. Bazı uygulamalar için, bu yüzeye, absorpsiyon ile yüzeye tutunan uygun bir sıvı, durgun bir faz olarak ilave bir katman halinde kaplanır. Alternatif olarak, organik bir yüzey katman oluşturmak üzere kimyasal işleme tabi tutulabilir. Günümüzde, taneler, zarlı dolgular daha çok koruyucu kolonlarda kullanılmakta, analitik kolonlarda kullanılmamaktadır.

Sıvı kromatografide kullanılan gözenekli partiküller, çapları 3-10 μm arasında olan gözenekli partiküllerdir. Belli boyutlardaki bir partikül için, partikül boyutu aralığını en aza indirmek için, her türlü gayret sarfedilmektedir. Partiküller, silis, alümina, polistiren-divinil benzen sentetik reçinesi veya bir iyon değiştirici reçineden meydana gelmiştir. Silis, sıvı kromatografide en yaygın olarak kullanılan bir dolgu maddesidir. Silis, partikülleri, mikron altı silis partiküllerini oldukça uniform yarıçapta daha büyük partiküller oluşturacak koşullarda bir araya toplanması ile hazırlanır. Elde edilen partiküller çoğu zaman, yüzeye kimyasal olarak veya fiziksel olarak bağlanan, ince bir organik film ile kaplanır.

4.6 Dedektörler

HPLC sistemlerinde en önemli bileşenlerden biri detektördür. Kromatografik yöntemle ayrılan herhangi bir maddeye ilişkin anlamlı bir sonuç üretebilmesi için kalitatif ve kantitatif yönden değerlendirilmesi gerekir. Bir detektörün işlevi örneğin derişimi ile orantılı olacak şekilde elektrik sinyali üretmektir. İdeal bir detektör, yaygın olarak kullanılan çözücüler için ya çok az yada hiç sinyal üretmemelidir. Fakat uygulamalarda böyle bir detektörle karşılaşmak güçtür. Bu nedenle hareketli fazda ve kromatografik sınırlar içinde seçimlilik ve duyarlık açısından en iyi saptanabilen bölge seçilmelidir. Ekstra bant genişlemesini en aza indirmek için detektör hücresinin hacmi mümkün olduğu kadar küçük tutulur.

HPLC'de genel ve özel amaçlı olmak üzere iki tip detektör kullanılır. Genel amaçlı detektörler, hareketli fazın kırma indisini, dielektrik sabitini, yoğunluğunu ölçen detektörlerdir. Bu

özellikler çözünenin konsantrasyonuna ve türüne bağlı olarak değişir. Buna karşılık özel amaçlı detektörler, bir maddenin UV absorpsiyonunu, floresansını, difüzlenme akımını, kütlesini ölçer. HPLC'de kullanılan detektörler Tablo 4.1.'de özellikleriyle beraber verilmiştir.

Tablo 4.1. HPLC detektörlerin bazı performans özellikleri.

LC dedektör	**Piyasada var mı ?**	**Kütle LOD (ticari detektörler)[a]**	**Kütle LOD (bugünkü durum)[b]**
Absorbans	Evet	100 pg-1 ng	10 pg
Floresans	Evet	1-10 pg	10 fg
Elektrokimyasal	Evet	10 pg-1 ng	100 fg
Kırma indisi	Evet	100 ng-1 µg	10 ng
İletkenlik	Evet	500 pg-1 ng	500 pg
Kütle spektrometre	Evet	100 pg-1 ng	1 pg
FT-IR	Evet	1 µg	100 ng
Işık saçma	Evet	10 µg	500 ng

[a]Kütle LOD, klasik enjeksiyonlarda 10 µL, mikrobor LC için 1 µL enjeksiyon, mol kütlesi olarak 200 g/mol alınarak, σ gürültü sinyalinin beş katına eşit bir sinyale karşılık gelen enjekte edilmiş kütle için hesaplanır.
[b]Yukarıdaki satırda a için verilen tanımla aynıdır, ancak enjeksiyon hacmi genellikle daha küçüktür.

1982 yılında ve sıvı kromatografinin önemli rol oynadığı 365 tane basılmış makalede yapılan inceleme, çalışmaların %71'inin UV absorpsiyonun belirlenmesiyle, %15'inin floresansla, %5.4'ünün kırma indisiyle, %4.3'ünün elektrokimyasal ölçümlerle ve geri kalan %4.3'ünün diğer yöntemlerle yapıldığını ortaya koymaktadır. UV absorpsiyon dedektörleri ile yapılan çalışmaların %39'unda ışın kaynağı olarak civanın bir emisyon çizgisi, %13'ünde döteryum lambasından çıkan ışınların süzülmesi ile elde edilen ışın ve %48'inde optik ağ monokromatörden yayılan ışın kullanılmıştır [44].

5 DENEYSEL KISIM

5.1 Cihazlar ve Diğer Malzemeler

Deneysel kısımda kullanılan cihazlar ve malzemeler aşağıda verilmiştir.

- Model VGA-77 sürekli akış analiz sistemi (Şekil 5.1.)

Şekil 5.1. Peristaltik pompalı sürekli akış sistemi.

- Perkin Elmer Precisely Lambda 35 UV/Vis Spektrofotometre (Şekil 5.2.)

Şekil 5.2. UV/Vis Spektrofotometre cihazı.

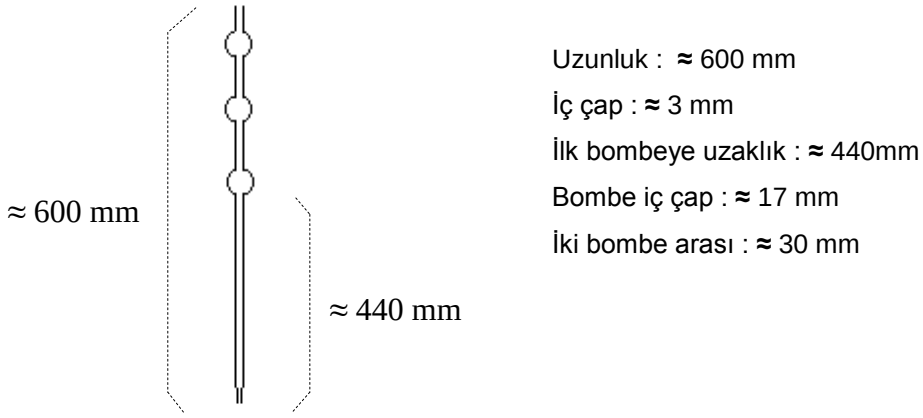
- Perkin Elmer HPLC, Perkin Elmer Series 200 Pump, Perkin Elmer Series 200 UV/Vis Detector (Şekil 5.3.)

Şekil 5.3. HPLC Cihazı.

- Supelco ODS Hypersıl 25 cm × 4.6 mm, 5 µm dolgu malzemesi

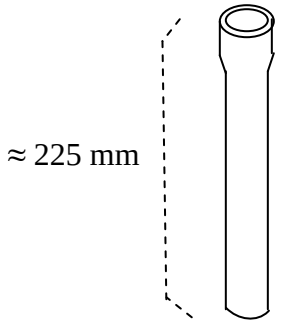
- Waters Spherisorb 55CN Siyano Propil 25 cm × 4.6 mm, 5 µm dolgu malzemesi

- Özel olarak tasarlanmış el yapımı cam As-DDTC kompleks oluşum hücresi (Şekil 5.4.). AsH_3 ile Ag-DDTC etkileşimin artırılması amacıyla, As hidrür gazı ile Ag-DDTC çözeltisinin daha fazla temasta bulunması için hücre uzun ve dar bir şekilde tasarlanmıştır. Art arda gelen üç boğum ise çözeltinin hücre ağız kısmından sıçramasını ve dökülmesini engellemeyi amaçlamaktadır.



Şekil 5.4. Özel olarak tasarlanmış el yapımı cam As-DDTC kompleks oluşum hücresi.

- Özel olarak tasarlanmış el yapımı cam arsenik hidrür oluşum hücresi (Şekil 5.5). Bu cam malzemenin ağız kısmı rodajlı olup, malzeme 3 mL'lik arsenik çözeltileri ile çalışılan denemelerde kullanılmıştır. 25 mL'lik arsenik çözeltileri ile çalışılan denemelerde ise 50 mL'lik balon jojeler kullanılmıştır.



Uzunluk : ≈ 225 mm
İç çap : ≈ 10 mm

Şekil 5.5. Özel olarak tasarlanmış el yapımı cam arsenik hidrür oluşum hücresi.

5.2 Kullanılan Kimyasallar

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar analitik saflıkta olup As_2O_3, $Na_2HAsO_4.7H_2O$, gümüşdietilditiyokarbomat, amonyumprolidinditiyokarbomat, difenilfosfonilklorür ve disodyumfenilfosfatdihidrat Sigma firmasından, $NaBH_4$, K_2HPO_4, KH_2PO_4, $SbCl_3$, $SnCl_2.2H_2O$, NaOH, HCl, toluen-4-sülfonikasitmonohidrat, piridinyum-4-toluensülfanat, L-fenilalanin, alkilbenzildimetilamonyumklorür, 1-2 fenilendiamin, piridin, asetonitril, metanol, etanol, aseton, izopropilalkol, 1-bütanol, n-hekzan, kloroform, diklorometan, toluen, siklohekzan, dietileter ve tetrahidrofuran Merck firmasından, $Bi(NO_3)_3.5H_20$ Riedel firmasından, imidazol Alfa Aesar firmasından, terbutilamin ve tetrabutilamonyumklorür Fluka firmasından temin edilmiştir. Çözeltilerin hazırlanmasında ultra saf su kullanılmış olup Milipore Elix 5 cihazından elde edilmiştir.

5.3 Çözeltilerin Hazırlanışı

Deneysel çalışmalarda kullanılan çözeltilerin hazırlanışları aşağıda ilgili başlıklar altında verilmiştir.

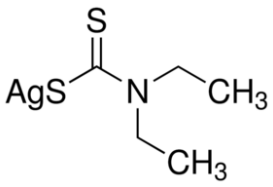
500 mg L^{-1} As(III) çözeltisi: 0.0667 g As_2O_3 (Min. % 99 m/m) alınarak % 25'lik (m/v) NaOH çözeltisinde çözüldü ve eşdeğer miktarda derişik HCl ilave edilerek, 100 mL'ye saf su ile tamamlandı (en son hacimde ortamın nötr veya nötr'e yakın asitlikte olmasına dikkat edildi). Seyreltik As(III) çözeltileri saf suyla seyreltilerek günlük hazırlandı.

500 mg L^{-1} As(V) çözeltisi: 0.2125 g $Na_2HAsO_4.7H_2O$ (Min. % 98 m/m) alınarak % 1 (v/v) HCl'de çözüldü ve aynı çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı. Seyreltik As(V) çözeltileri saf suyla seyreltilerek günlük hazırlandı.

% 1'lik (m/v) ve % 3'lük (m/v) $NaBH_4$ çözeltisi: % 1'lik $NaBH_4$ çözeltisi için 1.00 g $NaBH_4$, % 3'lük $NaBH_4$ çözeltisi için 3.00 g $NaBH_4$ alınarak % 0.04'lük (m/v) NaOH çözeltisinde çözüldü ve aynı çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltiler her deney için günlük hazırlandı.

6 M HCl çözeltisi: Derişik HCl'den (d=1.19 g cm^{-3}, % 37'lik m/m) 49.74 mL alınarak 100 mL'ye saf suyla tamamlandı.

% 0.5'lik (m/v) Gümüşdietilditiyokarbomat: 0.2500 g gümüşdietilditiyokarbomat alınarak piridinde çözüldü ve 50 mL'ye tamamlandı. Bu çözelti her deney için günlük hazırlandı. (gümüşdietilditiyokarbomat suda çözünmez.)



1 M K_2HPO_4 çözeltisi: 8.7090 g K_2HPO_4 alınarak saf suda çözüldü ve 50 mL'ye tamamlandı.

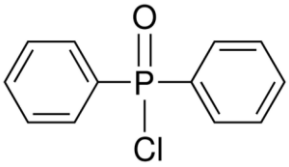
1 M KH_2PO_4 çözeltisi: 6.8045 g KH_2PO_4 alınarak saf suda çözüldü ve 50 mL'ye tamamlandı.

1 M Fosfat tamponları: İstenilen pH noktalarında tamponlar 1 M K_2HPO_4 ve 1 M KH_2PO_4 çözeltilerinin pH metre kontrolünde uygun miktarlarda karıştırılmasıyla hazırlandı.

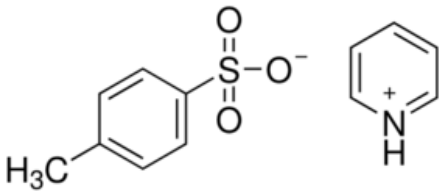
0.01 M Fosfat tamponları: İstenilen pH noktalarında tamponlar 0.01 M H_3PO_4, 0.01 M KH_2PO_4 ve 0.01 M K_2HPO_4 çözeltilerinin pH metre kontrolünde uygun miktarlarda karıştırılmasıyla hazırlandı.

0.1 M Sitrik asit tamponları: İstenilen pH noktalarında tamponlar 0.1 M sitrik asit, 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl çözeltilerinin pH metre kontrolünde uygun miktarlarda karıştırılmasıyla hazırlandı.

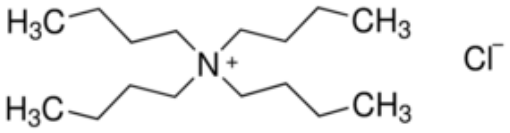
1000 mg L^{-1} Difenilfosfonilklorür: 0.0510 g difenilfosfonilklorür (% 98 m/m) alınarak istenilen çözgenle çözüldü ve 50 mL'ye tamamlandı.



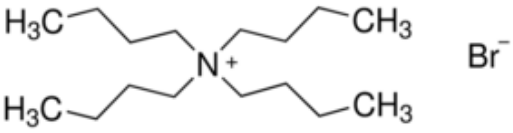
1000 mg L^{-1} Piridinyum-4-toluensülfanat: 0.0505 g piridinyum-4-toluensülfanat (% 99 m/m) alınarak saf suda çözüldü ve 50 mL'ye tamamlandı. 100 mg L^{-1} piridinyum-4-toluensülfanat ise derişik çözeltiden saf suyla seyreltilerek hazırlandı.



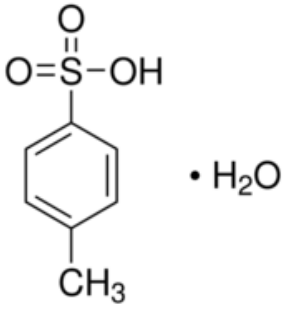
0.05 M Tetrabutilamonyumklorür: 0.7164 g tetrabutilamonyumklorür (% 97 m/m) alınarak saf suda çözüldü ve 50 mL'ye tamamlandı.



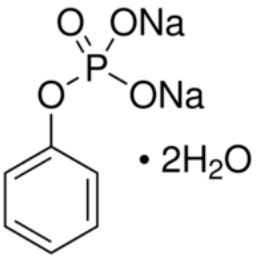
1000 mg L^{-1} Tetrabutilamonyumbromür: 0.0510 g amonyumprolidinditiyokarbomat (% 98 m/m) alınarak saf suda çözüldü ve 50 mL'ye tamamlandı.



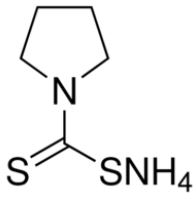
500 mg L^{-1} Toluen-4-sülfonikasit: 0.0276 g toluen-4-sülfonikasitmonohidrat alınarak saf suda çözüldü ve 50 mL'ye tamamlandı.



250 mg L^{-1} Disodyumfenilfosfat: 0.0153 g disodyumfenilfosfatdihidrat (% 95 m/m) alınarak saf suda çözüldü ve 50 mL'ye tamamlandı.



500 mg L^{-1} Amonyumprolidinditiyokarbomat: 0.0252 g amonyumprolidinditiyokarbomat (% 99 m/m) alınarak saf suda çözüldü ve 50 mL'ye tamamlandı.



5.4 Yöntem

İnorganik arsenik bileşikleri sulu ortamlarda okso-anyonları olarak bilinen, As(III) ve As(V) oksidasyon basamaklarını içeren AsO_3^{3-} ve AsO_4^{3-} formlarında bulunurlar. Bu tezde sulu ortamlarda farklı oksidasyon basamaklarında bulunan As(III) ve As(V) türlerinin okso-anyonlarından çıkarak hidrürlerinin oluşturulması ve devamında uygun reaksiyon koşulları ve aletsel düzenleme ile uygun bir ligand ile komplekslerini oluşturarak önce UV/Vis daha sonra

HPLC-UV/Vis sistem ile ODS veya CN kolonda inorganik arsenik bileşiklerin türlendirilmesi amaçlanmıştır.

İnorganik arsenik türlerinin tayininde, Ag-DDTC ligantınının arsenik hidrür (AsH_3) gazı ile etkileşimi üzerine yapılan çalışmalara ait litaratür yayınları incelendiğinde, ligant ile hidrür gazı arasında gerçekleşen reaksiyonun mekanizmasının ve stokiyometrisinin tam olarak aydınlatılmadığı görülmüştür. Fakat litaratür yayınlarında Ag-DDTC ile AsH_3 gazı etkileşimi sonucunda kompleks oluştuğu üzerine birçok ifade bulunmaktadır. Buna bağlı olarak, hidrür oluşum aşaması sonrası elde edilen AsH_3 gazının, piridin ortamında hazırlanmış Ag-DDTC çözeltisi içerinden geçirilmesi sonucu oluşturulan çözeltiye, gerçekleştirdiğimiz çalışmalarda kompleks veya As-DDTC çözeltisi denilmiştir.

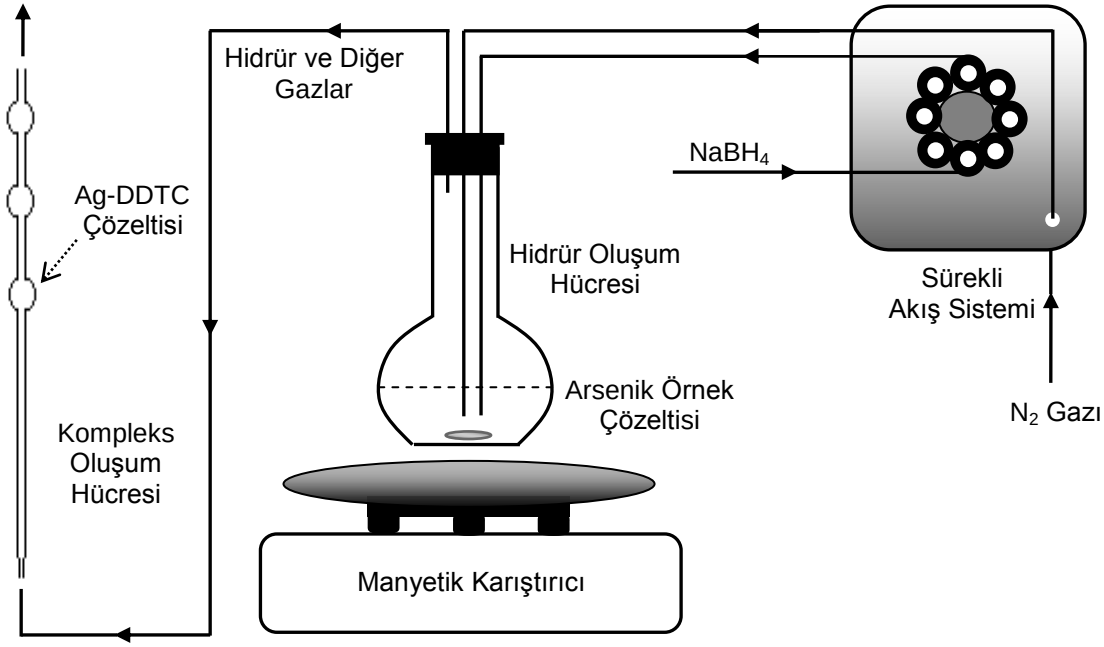
Arsenik türlerinin uygun reaksiyon şartlarında Ag-DDTC ligandı ile kantitatif olarak kompleks oluşturması amacıyla tasarlanan sistem aşağıda görülmektedir (Şekil 5.6. ve Şekil 5.7.). Burada sürekli akış sisteminden, hidrür oluşum hücresinde bulunan arsenik çözeltisi içerisine ≈1 mL/dk hızla taşınan $NaBH_4$ çözeltisi ile uygun şartlarda As(III) doğrudan, As(V)'i ise asidik ortamda As(III)'e indirgendikten sonra arsenik hidrüre (AsH_3) dönüştürülür. Oluşan hidrür, sürekli akış sisteminden gelen N_2 gazı yardımıyla kompleks oluşum hücresinde yer alan sarı renkli Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilerek kızılviyole renginde kompleks çözeltisi oluşturulur [45,46]. As(V)'in indirgenmesi, hidrür ve kompleks oluşumuyla ilgili denklemler aşağıda verilmiştir.

AsH_3 gazının Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilmesi sonrasında oluşturulan çözelti, As-DDTC kompleksini ve aynı zamanda kollaidal olarak dağılmış nano boyutta Ag parçacıkları içermektedir. Elde edilen kompleks çözelti, oluşan nano boyutta Ag parçacıkların etkisiyle kızılviyole renginde olup görünür bölgede absorpsiyon yapmaktadır [47].

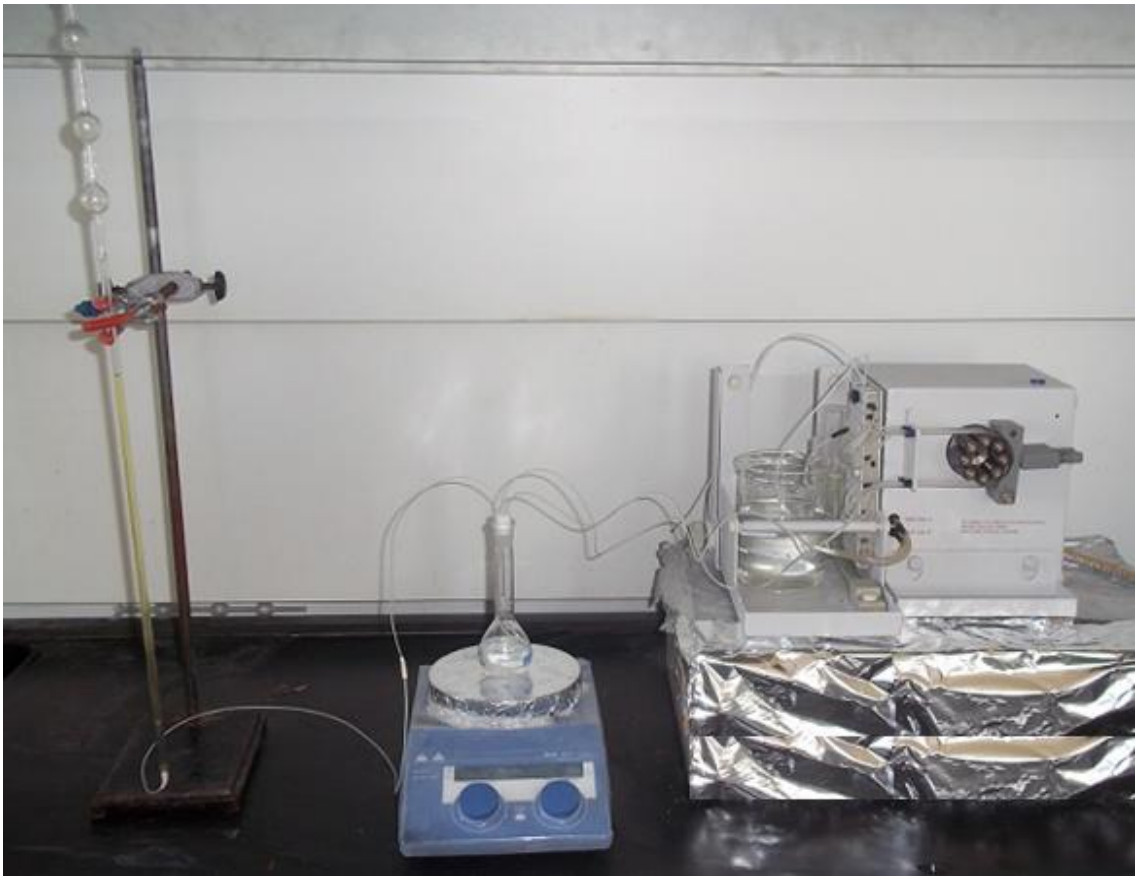
$$BH_4^- + H^+ + 4\,H_3AsO_4 \rightleftharpoons 4\,H_3AsO_3 + H_3BO_3 + H_2O$$

$$3\,BH_4^- + 3\,H^+ + 4\,H_3AsO_3 \rightleftharpoons 3\,H_3BO_3 + 4\,AsH_3\uparrow + 3\,H_2O$$

$$AsH_3 + 6\,Ag(DDTC) \longrightarrow 6\,Ag + 3\,H(DDTC) + As(DDTC)_3$$



Şekil 5.6. Kompleks oluşum sisteminin şematik gösterimi.



Şekil 5.7. Kompleks oluşum sisteminin fotoğrafı.

UV/Vis spektrofotometresi ile inorganik arsenik bileşiklerin türlendirilmesi amacıyla kompleks oluşum aşaması sonrası elde edilen As-DDTC kompleksinin oluşum etkinliğinin maksimum düzeyde gerçekleşmesi için kullanılan; Ag-DDTC çözeltisi konsantrasyonu, $NaBH_4$ çözeltisi konsantrasyonu, $NaBH_4$ çözeltisi hacmi, arsenik çözeltisinin HCl konsantrasyonu ve arsenik çözeltilerine her bir denemede ilave edilmesi gereken K_2HPO_4/KH_2PO_4 tamponunun pH'ı optimize edildi. As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine hidrür oluşturma eğilimi yüksek olan bizmut, antimon ve kalay iyonlarının girişimi olup olmadığı incelendi ve kalibrasyon çalışmaları gerçekleştirildi. Spektroskopik absorpsiyon ölçümleri As-DDTC kompleks çözeltisinin maksimum absorpsiyon yaptığı 521 nm'de gerçekleştirildi.

UV/Vis spektrofometresi ile inorganik arsenik türlendirme çalışmaları tamamlandıktan sonra, kompleks oluşum aşaması sonrası elde edilen kompleks çözeltiler kullanılarak HPLC-UV/Vis sisteminde ODS ve CN kolonu ile çeşitli hareketli faz bileşiminde As-DDTC kompleksinin kromatografik olarak kabul edilebilir bir alıkonma zamanında ayrıştırılarak analiz çalışmaları yapıldı.

Son olarak çeşitli çözgen ve pH ortamlarında inorganik As(III)'ün yüksetgenme basamağında bulunan AsO_3^{3-} iyonunun difenilfosfonilklorür, piridinyum-4-toluensülfanat, tetrabutilamonyumklorür, toluen-4-sülfonikasit, disodyumfenilfosfat, amonyumprolidinditiyokarbomat ve tetrabutilamonyumbromür maddeleri ile kantitatif olarak kromatografik sistemde kullanılabilecek bir kompleks oluşturup oluşturmadığı UV/Vis spektrofotometresi ile incelendi.

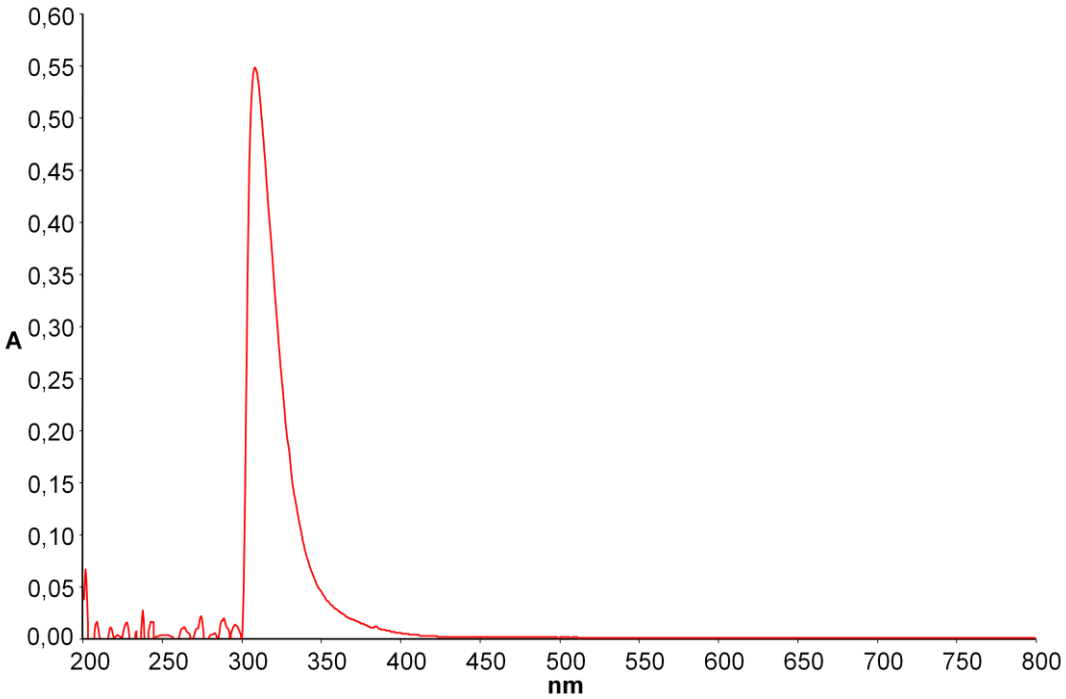
6 SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR

6.1 İnorganik Arsenik Bileşiklerinin UV/Vis Spektrofotometresi ile Türlendirilmesi

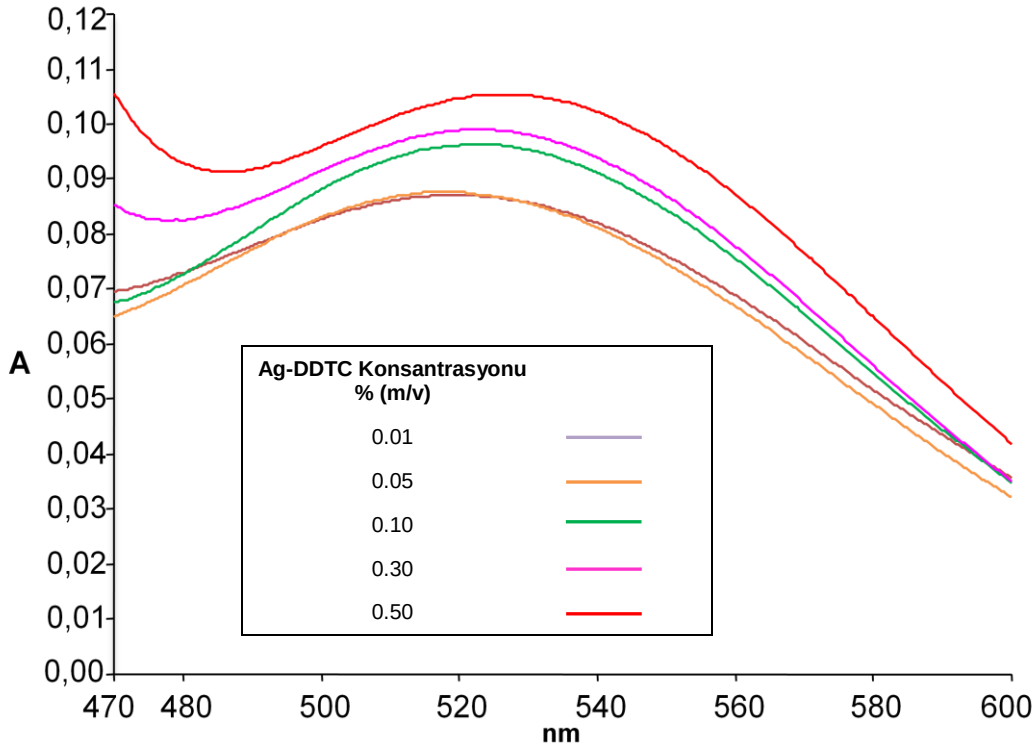
6.1.1 Ag-DDTC (gümüşdietilditiyokarbomat) Konsantrasyonunun Optimizasyonu

As-DDTC kompleksinin oluşum etkinliğinin maksimum düzeyde gerçekleşmesi amacıyla yüksek As-DDTC kompleks sinyalini elde edebilmek için gerekli olan Ag-DDTC çözeltisi konsantrasyonunun optimizasyonu çalışmalarında 3 mL 0.15 M HCl çözeltisi içerisinde hazırlanmış 500 µg L^{-1} As(III), 10 mL % 0.60 (m/v) $NaBH_4$ çözeltileri sabit tutulmuş, buna karşılık saf piridin çözücüsü içerisinde hazırlanan Ag-DDTC konsantrasyonu 3 mL sabit hacim içerisinde % 0.01; 0.05; 0.10; 0.30; 0.50 (m/v) olacak şekilde değiştirilmiştir. As(III) çözeltisine peristaltik pompa aracılığı ile ≈1 mL/dk hızla $NaBH_4$ çözeltisi eklenerek oluşan AsH_3 gazı, yine peristaltik pompa aracılığı ile pompalanan N_2 gazı yardımı ile kompleks oluşum hücresine yerleştirilen piridin içerisinde hazırlanmış Ag-DDTC çözeltisinin herbiri içerisinden $NaBH_4$ çözeltisinin tamamı bitinceye kadar geçirilmiştir.

Ag-DDTC'ın artan konsantrasyonuna karşılık oluşan As-DDTC kompleksinin 521 nm'de verdiği absorbans değerleri UV/Vis spektrofotometresi ile ölçülmüş ve ölçüm sonuçlarına ait veriler Tablo 6.1., Şekil 6.2., Şekil 6.3.'de verilmiştir. Şekil 6.1.'deki spektrum ise saf piridin çözücüsü içerisinde hazırlanan % 0.005 (m/v) Ag-DDTC çözeltisine aittir.



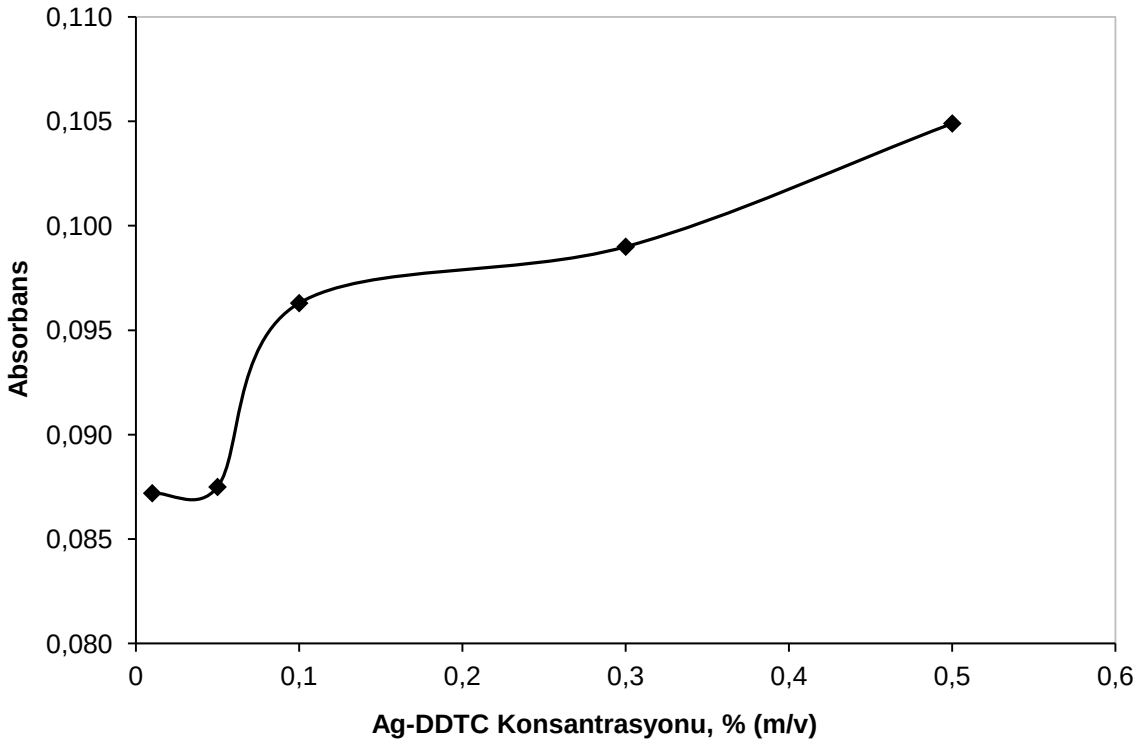
Şekil 6.1. Saf piridin çözücüsü içerisinde hazırlanan % 0.005 (m/v) Ag-DDTC çözeltisine ait UV/Vis spektrumu.



Şekil 6.2. Ag-DDTC konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili toplu spektrum.

Tablo 6.1. Ag-DDTC konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili absorpsiyon ölçümleri.

Ag-DDTC Konsantrasyonu, % (m/v)	521 nm Absorbans
0.01	0.0872
0.05	0.0875
0.10	0.0963
0.30	0.0990
0.50	0.1049



Şekil 6.3. Ag-DDTC konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi.

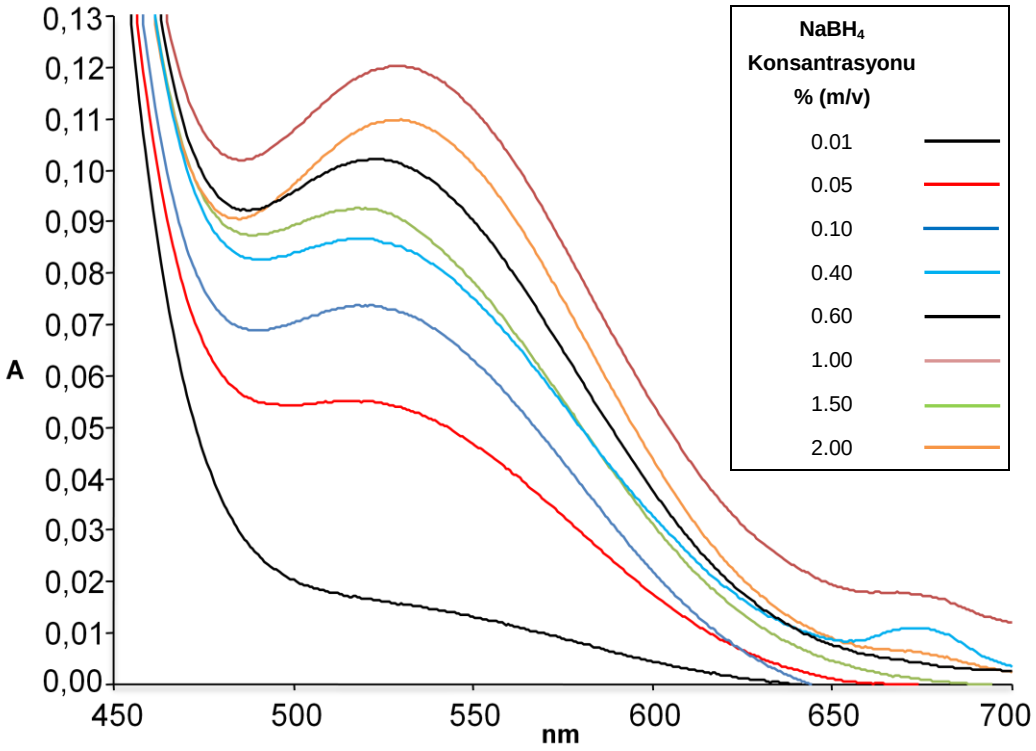
Sonuçlar incelendiğinde, kullanılan Ag-DDTC çözeltisi konsantrasyonunun artmasıyla kompleks oluşum sonrası elde edilen As-DDTC çözeltisinin 521 nm'deki absorbans değerinin arttığı ve % 0.50 (m/v) konsantrasyonundaki Ag-DDTC çözeltisinin kullanılmasıyla elde edilen As-DDTC çözeltisinin daha yüksek absorbans değerinde olduğu görüldü. Buna bağlı olarak, optimum Ag-DDTC konsantrasyonu As-DDTC kompleks çözeltisi için en yüksek sinyali

sağlayan % 0.50 (m/v) değeri olarak belirlendi. (Oda şartlarında saf piridinde Ag-DDTC'ın maksimum çözünürlük değeri ≈ % 0.50 (m/v)'dir.)

6.1.2 $NaBH_4$ Konsantrasyonunun Optimizasyonu

Yüksek As-DDTC absopsiyon değerini elde edebilmek için uygun olan $NaBH_4$ konsantrasyonun belirlenmesi amacıyla 3 mL 0.15 M HCl çözeltisinde hazırlanmış 500 µg L^{-1} As(III), 3 mL piridin içerisinde % 0.50 (m/v) Ag-DDTC çözeltileri sabit tutulmuş buna karşılık $NaBH_4$ konsantrasyonu 10 mL sabit hacimde % 0.01; 0.05; 0.10; 0.40; 0.60; 1.00; 1.50; 2.00 (m/v) olacak şekilde değiştirilmiştir. Peristaltik pompa yardımı ile As(III) çözeltisi içerisine farklı konsantrasyonlarda hazırlanan $NaBH_4$ çözeltileri eklenerek oluşan AsH_3 gazı, N_2 gazı yardımı ile 3 mL piridin içerisinde % 0.50 (m/v) Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilmiştir.

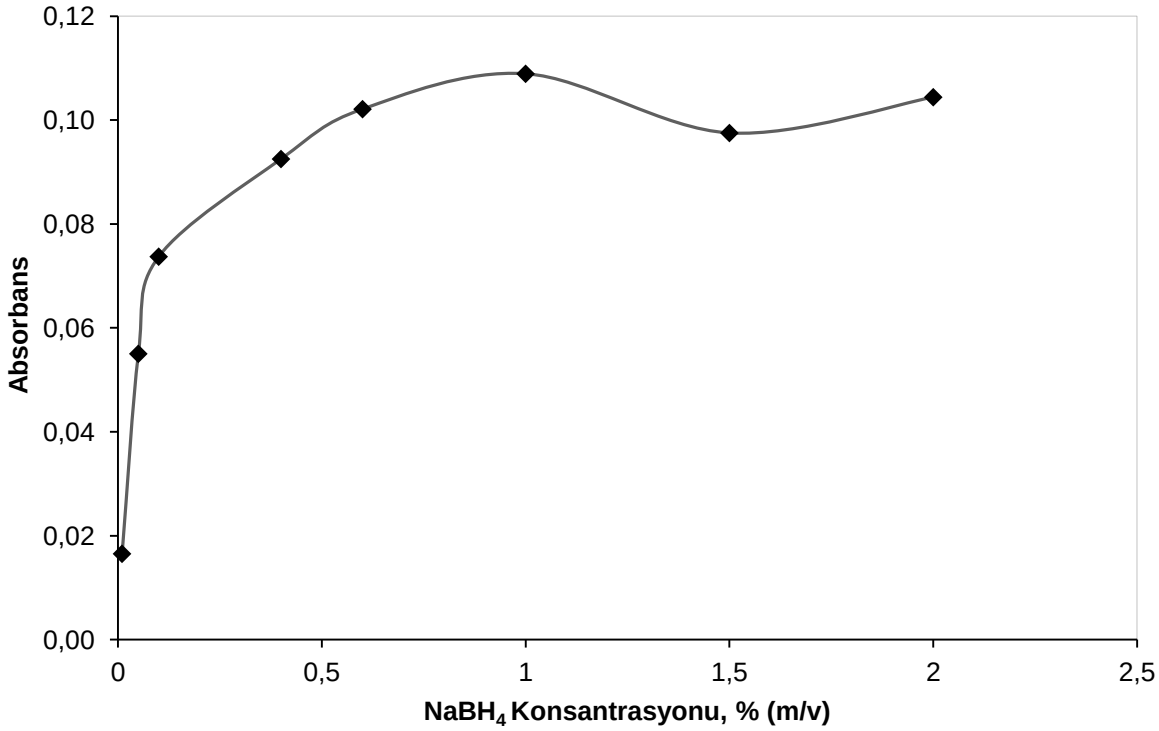
$NaBH_4$'ün artan konsantrasyonuna karşılık elde edilen As-DDTC kompleks çözeltisinin 521 nm'de verdiği absorbans değerleri UV/Vis spektrofotometresi ile ölçülmüş ve ölçüm sonuçlarına ait veriler Tablo 6.2., Şekil 6.4., Şekil 6.5.'te verilmiştir.



Şekil 6.4. $NaBH_4$ konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili toplu spektrum.

Tablo 6.2. $NaBH_4$ konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili absorpsiyon değerleri.

$NaBH_4$ Konsantrasyonu, % (m/v)	**521 nm Absorbans**
0.01	0.0165
0.05	0.0550
0.10	0.0737
0.40	0.0925
0.60	0.1021
1.00	0.1089
1.50	0.0975
2.00	0.1044



Şekil 6.5. $NaBH_4$ konsantrasyonunun As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi.

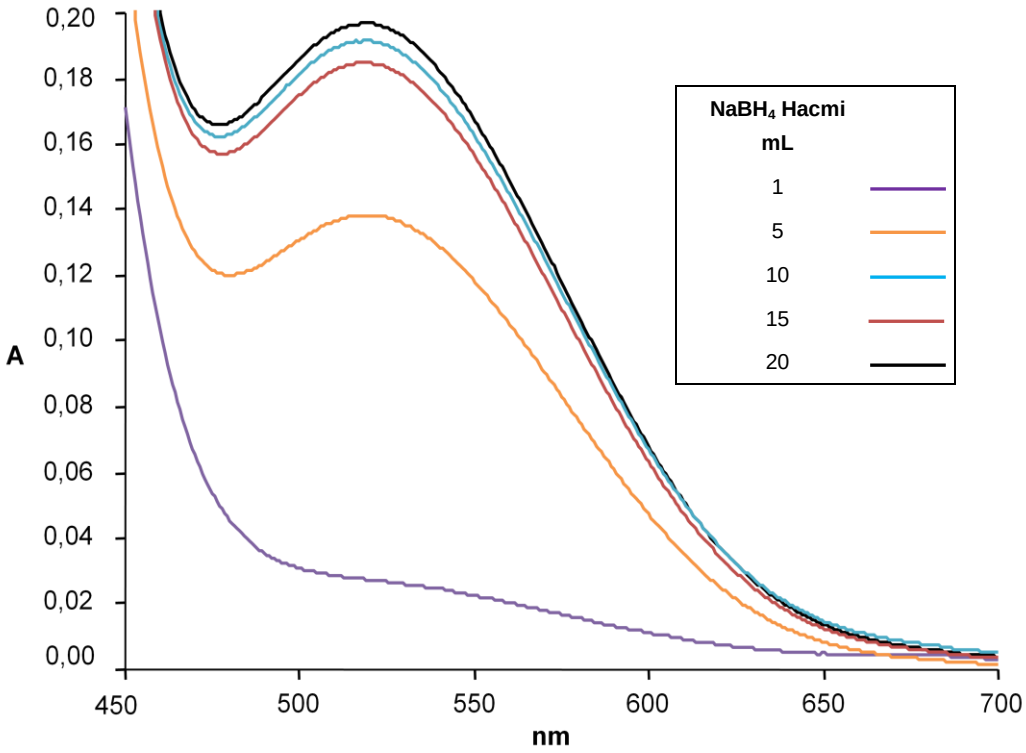
$NaBH_4$ çözeltisi konsantrasyonun artmasıyla kompleks oluşum sonrası elde edilen As-DDTC kompleks çözeltisinin 521 nm'deki absorbans değerinin arttığı ve bir noktadan sonra

$NaBH_4$ konsantrasyonun artmasıyla absorbans değerinde önemli bir değişimin olmadığı görüldü. Bundan dolayı; optimum $NaBH_4$ konsantrasyonu As-DDTC için en yüksek sinyali sağlayan % 1.00 (m/v) değeri olarak belirlendi.

6.1.3 $NABH_4$ Hacmi Optimizasyonu

$NaBH_4$ hacmi optimizasyonu çalışmalarında 25 mL 0.15 M HCl içerisinde hazırlanmış 100 µg L^{-1} As(III) ve 3 mL % 0.50 (m/v) Ag-DDTC çözeltileri sabit tutulmuş buna karşılık % 1.00 (m/v) sabit konsantrasyonda $NaBH_4$ çözeltisi hacmi 1; 5; 10; 15; 20 mL olacak şekilde değiştirilmiştir. As(III) çözeltisi içerisine peristaltik pompa yardımı ile farklı miktarlarda pompalanan $NaBH_4$ çözeltisiyle oluşturulan AsH_3 gazı, N_2 gazı yardımı ile 3 mL % 0.50 (m/v) Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilmiştir.

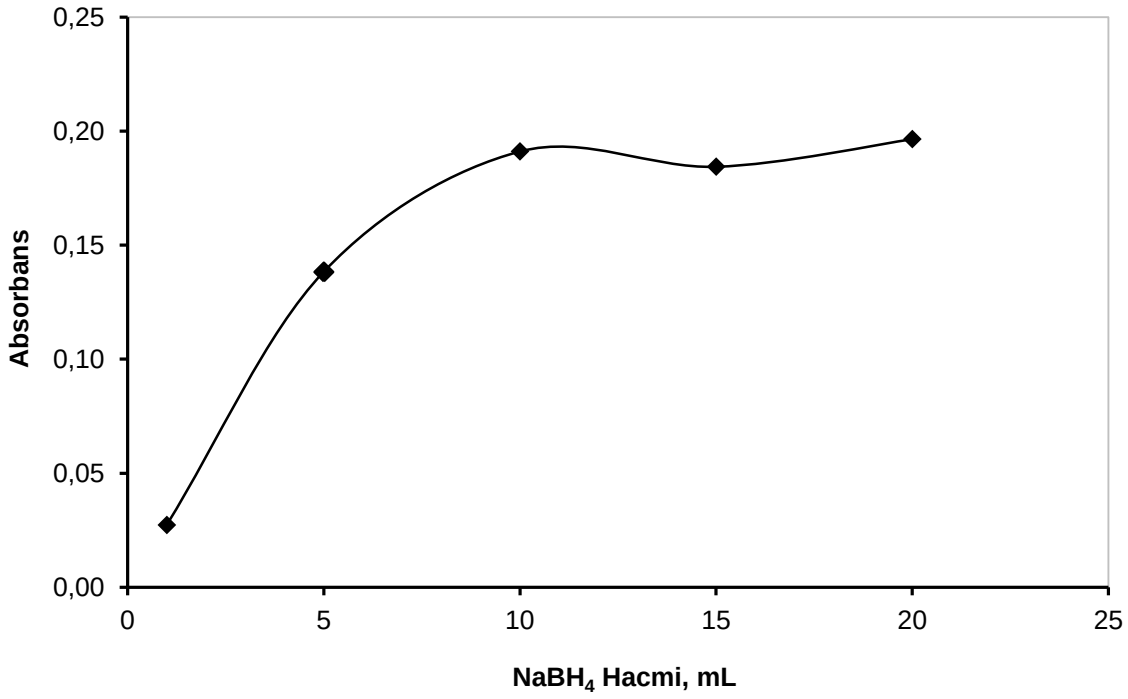
$NaBH_4$ çözeltisi hacminin artışıyla kompleks oluşum sonrası elde edilen As-DDTC kompleks çözeltilerinin 521 nm'de verdiği absorbans değerleri UV/Vis spektrofotometresi ile ölçülmüş ve ölçüm sonuçlarına ait veriler Tablo 6.3., Şekil 6.6., Şekil 6.7.'de verilmiştir.



Şekil 6.6. $NaBH_4$ (% 1 (m/v)) hacminin As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili toplu spektrum.

Tablo 6.3. $NaBH_4$ (% 1 (m/v)) hacminin As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi ile ilgili absorbans değerleri.

$NaBH_4$ Hacmi, mL	**521 nm Absorbans**
1	0.0273
5	0.1383
10	0.1911
15	0,1844
20	0.1965



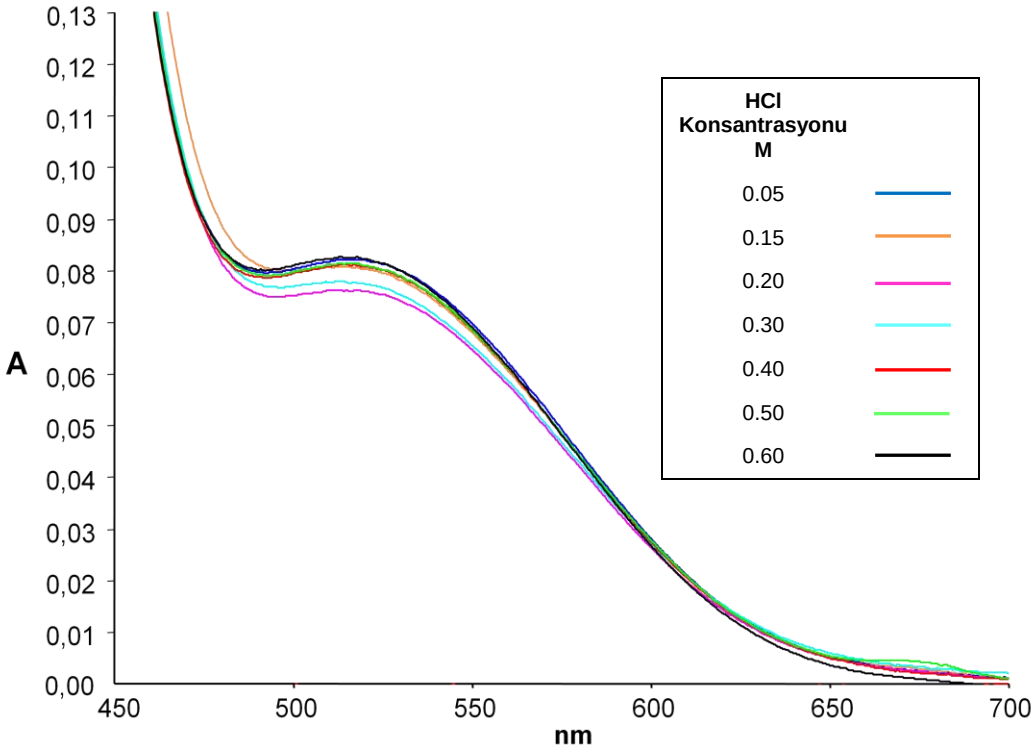
Şekil 6.7. $NaBH_4$ (% 1 (m/v)) hacminin As-DDTC kompleksi oluşumu üzerine etkisi.

Şekil 6.7'de görüldüğü gibi $NaBH_4$ hacminin artmasıyla kompleks oluşum sonrası elde edilen As-DDTC çözeltisinin 521 nm'deki absorbans değerinin arttığı ve bir noktadan sonra kullanılan $NaBH_4$ hacminin artmasıyla absorbans değerinde önemli bir değişim olmadığı görüldü. Buna bağlı olarak, optimum $NaBH_4$ hacmi 10 mL olarak belirlendi.

6.1.4 As(III) İçeren Çözeltilerde HCl Konsantrasyonunun Hidrür Oluşumu Üzerine Etkisi

As(III) çözeltilerindeki HCl konsantrasyonunun hidrür oluşumu üzerine etkisini incelemek için yapılan çalışmada 3 mL piridin içerisinde hazırlanmış % 0.50 (m/v) Ag-DDTC ve 10 mL % 1.0 (m/v) $NaBH_4$ çözeltileri sabit tutulmuş buna karşılık 25 mL hacme ve 50 µg L^{-1} As(III) konsantrasyonuna sahip HCl çözeltisi konsantrasyonları 0.05; 0.15; 0.20; 0.30; 0.40; 0.50; 0.60 M olacak şekilde değiştirilmiştir. As(III) içeren HCl çözeltileri içerisine peristaltik pompa aracılığı ile 10 mL % 1.0 (m/v) $NaBH_4$ çözeltisi eklenerek oluşturulan AsH_3 gazı, yine peristaltik pompa aracılığı ile pompalanan N_2 gazı yardımı ile kompleks oluşum hücresine yerleştirilen 3 mL piridin içerisinde hazırlanmış % 0.50'lik (m/v) Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilerek As-DDTC kompleksi oluşturulmuştur.

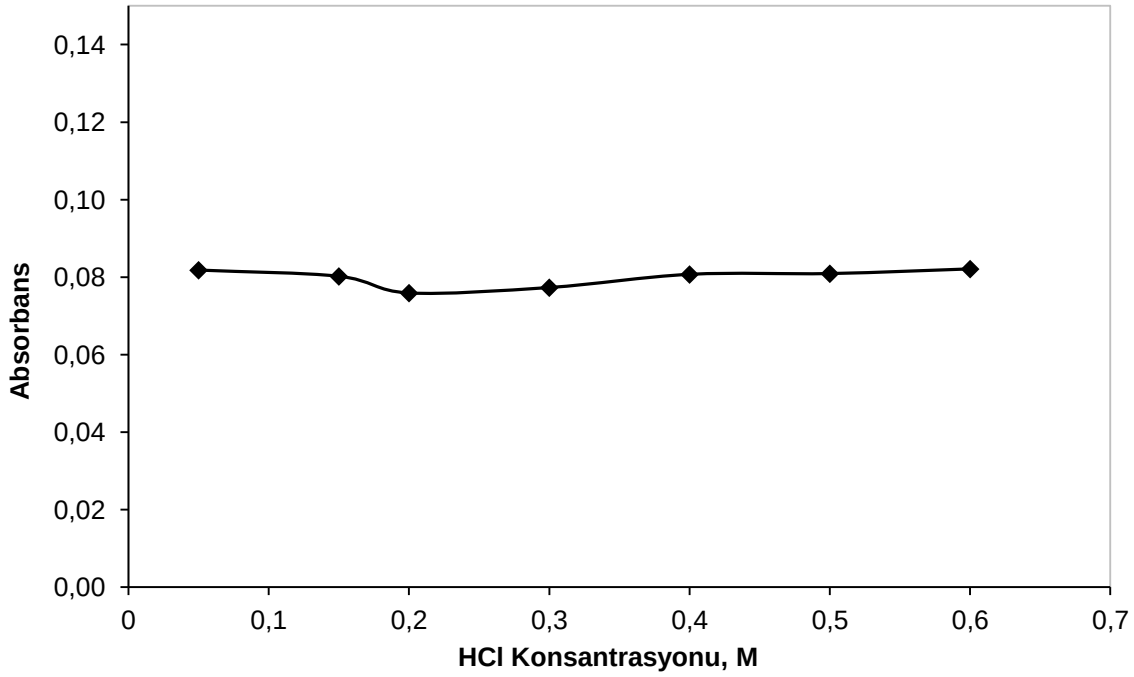
Artan HCl konsantrasyonu ile kompleks oluşum sonrası elde edilen her bir As-DDTC çözeltisinin 521 nm'de verdiği absorbans değeri Tablo 6.4.'de ve ilgili grafikler ise Şekil 6.8. ve Şekil 6.9.'da verilmiştir.



Şekil 6.8. As(III) çözeltilerindeki HCl konsantrasyonunun AsH_3 oluşumu üzerine etkisi ile ilgili toplu spektrum.

Tablo 6.4. As(III) çözeltilerindeki HCl konsantrasyonunun AsH_3 oluşumu üzerine etkisi ile ilgili absorbans değerleri.

HCl Konsantrasyonu, M	521 nm Absorbans
0.05	0.0818
0.15	0.0802
0.20	0.0759
0.30	0.0773
0.40	0.0807
0.50	0.0809
0.60	0.0821



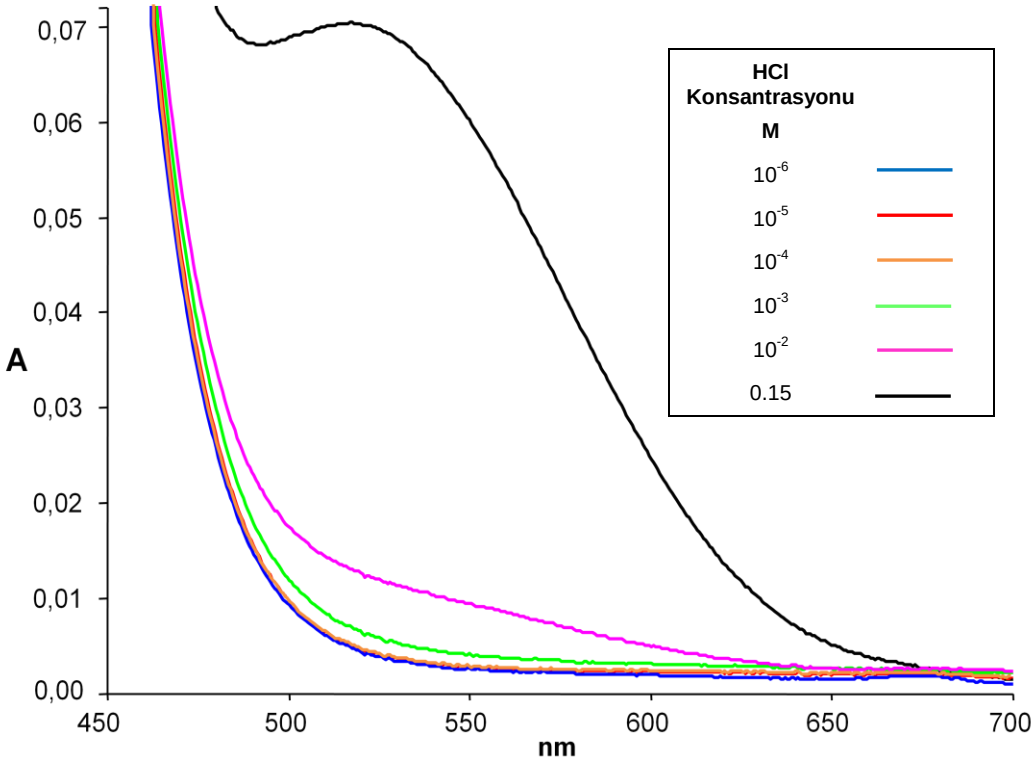
Şekil 6.9. As(III) çözeltilerindeki HCl konsantrasyonunun AsH_3 oluşumu üzerine etkisi.

Şekil 6.9.'da As(III) çözeltisinin HCl konsantrasyonunun hidrür oluşumu üzerine önemli bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Bundan dolayı HCl konsantrasyonu diğer optimizasyon çalışmalarında olduğu gibi 0.150 M olarak kullanılmaya devam edildi.

6.1.5 HCl Konsantrasyonunun As(V)'in As(III)'e İndirgenmesi Üzerine Etkisi

HCl çözeltisi konsantrasyonunun As(V)'in As(III)'e indirgenmesi üzerine etkisini incelemek için yapılan çalışmada 3 mL % 0.50 (m/v) Ag-DDTC ve 10 mL % 1.0 (m/v) $NaBH_4$ çözeltileri sabit tutulmuş buna karşılık 25 mL hacme ve 50 µg L^{-1} As(V) konsantrasyonuna sahip HCl çözeltisi konsantrasyonları 10^{-6}; 10^{-5}; 10^{-4}; 10^{-3}; 10^{-2}; 0.15 M olacak şekilde değiştirilmiştir. As(V) içeren çözeltilerin herbirine peristaltik pompa yardımı ile 10 mL % 1.0 (m/v) $NaBH_4$ çözeltisi eklenerek oluşturulan AsH_3 gazı, yine peristaltik pompa aracılığı ile pompalanan N_2 gazı yardımı ile kompleks oluşum hücresine yerleştirilen 3 mL piridin içerisinde hazırlanmış % 0.50 (m/v) Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilerek As-DDTC kompleksi oluşturulmuştur.

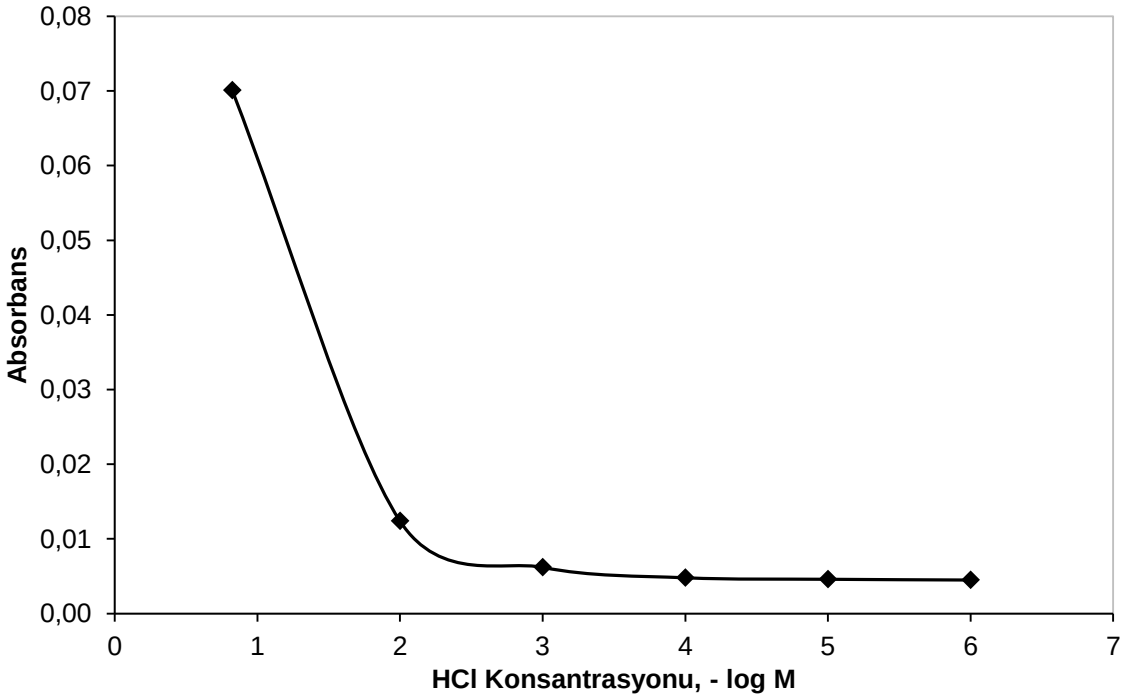
Kompleks oluşum sonrası elde edilen her bir çözeltinin 521 nm'de verdiği absorbans değerleri UV/Vis spektrofotometresi ile ölçüldü. (Tablo 6.5., Şekil 6.10., Şekil 6.11.)



Şekil 6.10. HCl konsantrasyonunun As(V)'in As(III)'e indirgenmesi üzerine etkisi ile ilgili toplu spektrum.

Tablo 6.5. HCl konsantrasyonunun As(V)'in As(III)'e indirgenmesi üzerine etkisi ile ilgili absorbans değerleri.

HCl Konsantrasyonu, M	521 nm Absorbans
10^{-6}	0.0045
10^{-5}	0.0046
10^{-4}	0.0048
10^{-3}	0.0062
10^{-2}	0.0124
0.15	0.0701



Şekil 6.11. HCl konsantrasyonunun As(V)'in As(III)'e indirgenmesi üzerine etkisi.

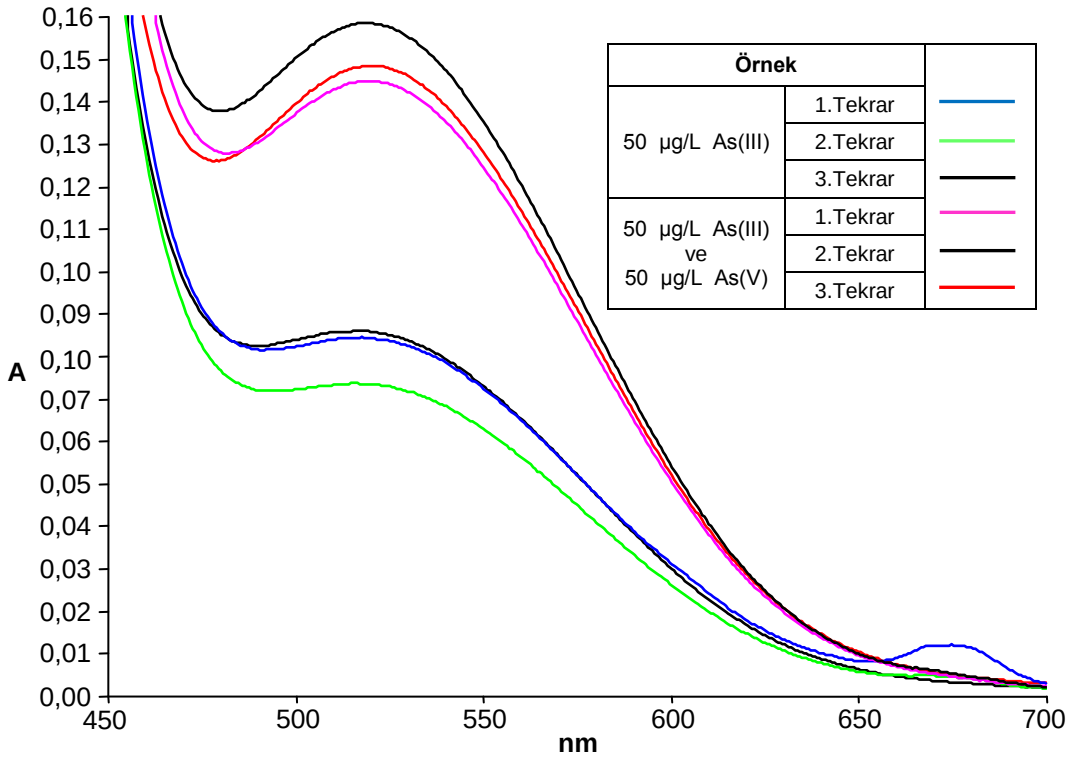
As(V)'in doğrudan hidrürüne dönüşmediği, As(V)'in ilk olarak asidik ortamda $NaBH_4$ yardımıyla As(III)'e indirgendiği ve daha sonra As(III)'ün hidrürüne dönüştüğü bilinmektedir. Yapılan çalışmada, As(V) çözeltisinin HCl konsantrasyonunun artmasıyla As(V) As(III)'e daha fazla indirgenmiş, devamında As(III) hidrür gazına dönüşmüş ve hidrür gazınında Ag-DDTC ile etkileşimi sonrasında As-DDTC kompleks oluşumu artmıştır. Sonuç olarak, toplam arsenik

tayininde As(V)'in tamamının As(III)'e indirgenip hidrürüne dönüşümünü sağlamak amacıyla As çözeltisinin asidik olması gerektiği görülmüştür.

6.1.6 Asidik Örneklerde As(V)'in As(III) Tayinine Etkisi

Asidik örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışmada 25 mL 50 µg L^{-1} As(III) içeren 0.15 M HCl ile yine 25 mL bu kez 50 µg L^{-1} As(III) ve 50 µg L^{-1} As(V) içeren 0.15 M HCl ayrı ayrı çözeltileri kullanılmıştır. Her iki arsenik çözeltisi içerisine de peristaltik pompa yardımı ile 10 mL % 1.00 (m/v) $NaBH_4$ çözeltisi eklenerek oluşturulan AsH_3 gazı, yine peristaltik pompa aracılığı ile pompalanan N_2 gazı yardımı ile 3 mL % 0.50 (m/v) Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilerek As-DDTC kompleksi oluşturulmuştur.

Her iki örnek çözelti için denemenin üç tekrarı yapıldı. Kompleks oluşum sonrası elde edilen her bir çözeltinin 521 nm'de verdiği absorbans değerleri UV/Vis spektrofotometresi ile ölçüldü. (Tablo 6.6., Şekil 6.12.)

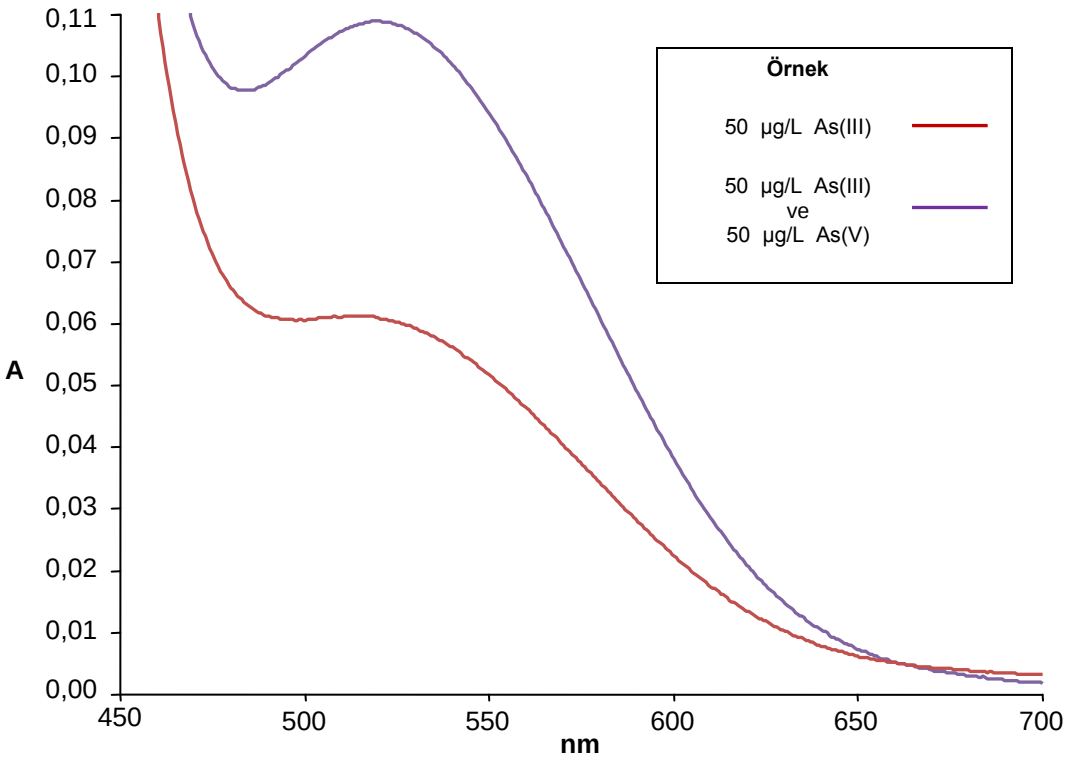


Şekil 6.12. 0.15 M HCl ortamında hazırlanan örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisi ile ilgili toplu spektrum.

Tablo 6.6. 0.15 M HCl ortamında hazırlanan örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisi ile ilgili absorbans değerleri.

	521 nm Absorbans		
Örnek	**1. Tekrar**	**2. Tekrar**	**3. Tekrar**
50 µg L^{-1} As(III)	0.0842	0.0734	0.0851
50 µg L^{-1} As(III) ve 50 µg L^{-1} As(V)	0.1449	0.1584	0.1485

Aynı çalışma daha düşük konsantrasyona sahip % 0.50 (m/v) $NaBH_4$ çözeltisi kullanılarakta gerçekleştirildi. (Tablo 6.7., Şekil 6.13.)



Şekil 6.13. 0.15 M HCl ortamında hazırlanan örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisi.

Tablo 6.7. 0.15 M HCl ortamında hazırlanan örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisi.

Örnek	521 nm Absorbans
50 µg L^{-1} As(III)	0.0607
50 µg L^{-1} As(III) ve 50 µg L^{-1} As(V)	0.1088

As(III) tayininde As(V) türünün girişimi konusunda yapılan çalışma incelendiğinde, örnek çözeltinin asidik olduğu durumda As(V)'in As(III)'e indirgendiği ve buna bağlı olarak As-DDTC sinyal değerinin arttığı, sonuç olarakta As(V)'in As(III)'e girişim yaptığı görüldü. As(III) tayininde As(V) türü girişimini minimize etmek amacıyla, As(V)'in As(III)'e indirgenmesini engellemek için arsenik çözeltilerinin K_2HPO_4/KH_2PO_4 tamponu ile tamponlanmasına karar verilirken, toplam arsenik tayininde ise As(V)'in tamamının As(III)'e indirgenmesini sağlamak amacıyla arsenik çözeltisi ortamının asidik yapılmasına karar verildi.

6.1.7 Tamponlanmış Örneklerde As(V)'in As(III) Tayinine Etkisi

HCl ile asitlendirilmiş çözeltide As(V)'in As(III) tayinine olumsuz etkisi nedeniyle, As(III) tayininde As(V)'in As(III)'e indirgenmesini engellemek amacıyla arsenik çözeltilerinin pH'sı K_2HPO_4/KH_2PO_4 tamponu ile ayarlanmıştır. Bu amaç için 25 mL 50 µg L^{-1} As(III), 50 µg L^{-1} As(V) ve 50 µg L^{-1} As(III) ile 50 µg L^{-1} As(V) içeren ayrı ayrı çözeltileri üzerine 2.75 mL pH'ları 5.0; 5.5; 6.0; 6.5 olan 1 M K_2HPO_4/KH_2PO_4 tamponu ilave edilmiştir (elde edilen çözeltinin son hacmi 27.75 mL, son fosfat konsantrasyonu ≈0.1M). Tamponlanmış arsenik çözeltileri içerisine 10 mL % 3.00 (m/v) $NaBH_4$ çözeltisi peristaltik pompa ile eklenerek oluşturulan AsH_3 gazı, N_2 gazı yardımı ile 3 mL piridinde hazırlanmış % 0.50 (m/v) Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilmiştir.

Kompleks oluşum sonrası elde edilen her bir çözeltinin 521 nm'de verdiği absorbans değeri UV/Vis spektrofotometresi ile ölçüldü. (Tablo 6.8.)

Tablo 6.8. Tamponlanmış örneklerde As(V)'in As(III) tayinine etkisi ile ilgili absorpsiyon değerleri.

	521 nm Absorbans			
Örnek	**pH: 5.0**	**pH: 5.5**	**pH: 6.0**	**pH: 6. 5**
50 µg L^{-1} As(III)	0.0902	0.0934	0.0966	0.0947
50 µg L^{-1} As(V)	0.0096	0.0141	0.0103	0.0055
50 µg L^{-1} As(III) ve 50 µg L^{-1} As(V)	0.0916	0.0960	0.0918	0.0893

As(III) tayininde As(V) türünün girişimi konusunda yapılan çalışmalarda, örnek çözeltilerin K_2HPO_4/KH_2PO_4 tamponu ile tamponlanması sonucu As(V) girişiminin minimize edilebildiği görüldü. İnorganik As(III) tayininde uygun K_2HPO_4/KH_2PO_4 tamponu pH'ı 6.5 olarak belirlenirken, bu tampon değerinde H^+ konsantrasyonun düşük olması ve buna bağlı olarak ta As(III)'ün hidrürüne dönüşümünün düşük olması nedeniyle $NaBH_4$ çözeltisi konsantrasyonu % 1.00 (m/v) yerine, % 3.00 (m/v) olarak belirlenmiştir.

6.1.8 İnorganik As(III) Tayini

İnorganik As(III) tayini için optimize edilen şartlar altında kalibrasyon çalışması yapılmış, yöntemin tekrarlanabilirliği, doğruluğu inorganik As(III) ve As(V) içeren standart çözeltinin denemeleriyle elde edilmiştir.

As(III) tayininde kalibrasyon grafiğinin oluşturulması için 25 mL 1; 5; 10; 25; 50 µg L^{-1} As(III) standart çözeltileri, örnek çözelti olarak da 25 mL 5 µg L^{-1} As(III) ve 5 µg L^{-1} As(V) içeren standart çözelti kullanılmıştır. Standart ve örnek çözeltiler üzerine 2.75 mL pH:6.5'ta 1 M K_2HPO_4/KH_2PO_4 tamponu ilave edilmiştir. Tamponlanmış arsenik çözeltileri içerisine peristaltik pompa yardımı ile 10 mL % 3.00 (m/v) $NaBH_4$ çözeltisi eklenerek oluşturulan AsH_3 gazı, yine peristaltik pompa ile pompalanan N_2 gazı yardımı ile 3 mL % 0.50 (m/v) Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilmiştir.

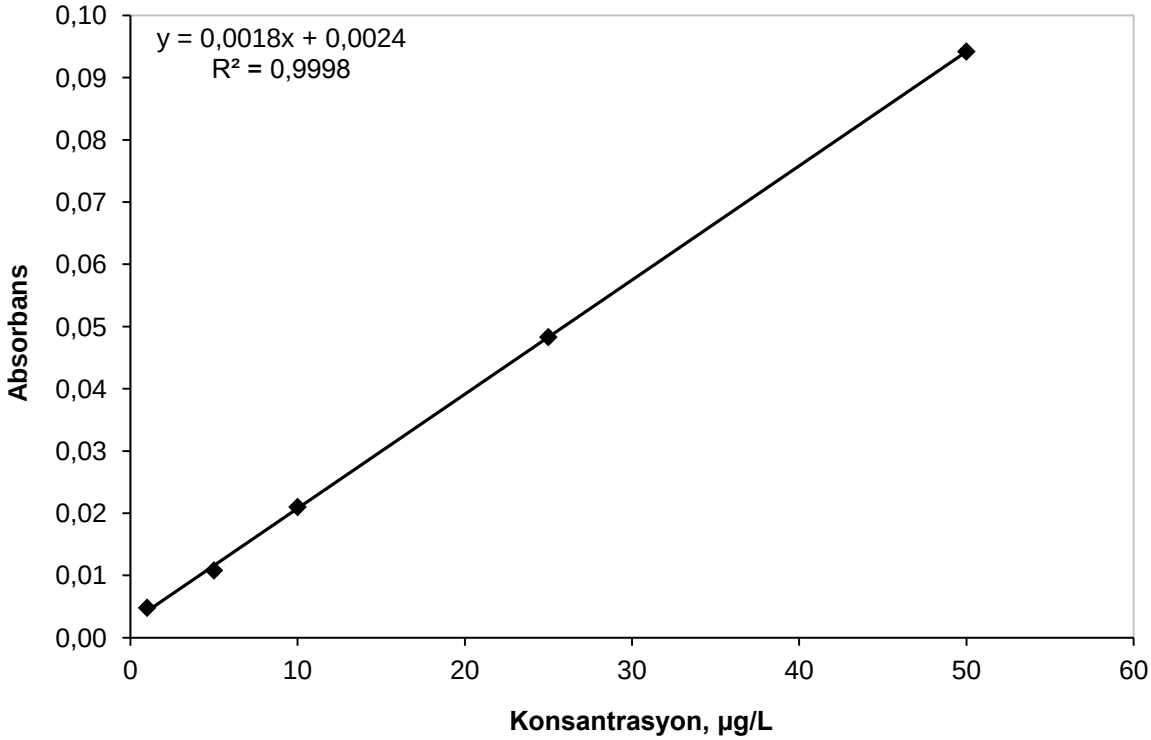
Kompleks oluşum sonrası elde edilen çözeltilerin 521 nm'de verdiği absorbans değerleri UV/Vis spektrofotometresi ile ölçüldü ve grafiğe geçirildi. (Tablo 6.9., Tablo 6.10., Şekil 6.14.)

Tablo 6.9. As(III) tayini için kullanılan standart çözeltilere ait absorbans değerleri.

Standart Çözelti Konsantrasyonu, µg L^{-1}	**521 nm Absorbans**
1	0.0048
5	0.0108
10	0.0210
25	0.0483
50	0.0942

Tablo 6.10. As(V) yanında As(III) tayininde örnek çözeltiye ait absorbans değerleri.

	521 nm Absorbans		
Örnek	**1. Tekrar**	**2. Tekrar**	**3. Tekrar**
5 µg L^{-1} As(III) ve 5 µg L^{-1} As(V)	0.0111	0.0108	0.0117



Şekil 6.14. As(III) tayini için kullanılan standart çözeltilere ait kalibrasyon grafiği.

Sonuç olarak inorganik As(III) tayini amacıyla yapılan bu çalışmada 1-50 µg L^{-1} konsantrasyon aralığında iyi bir doğrusallığa sahip, korelasyon katsayısı 0.9998 olan bir kalibrasyon eğrisi elde edildi. Örnek çözelti olarak kullanılan 5 µg L^{-1} As(III) ve 5 µg L^{-1} As(V) konsantrasyonunda standart As çözeltisinin 3 tekrar ölçümünde elde edilen ortalama absorbans değeri 0.0112, standart sapma değeri 0.0005 olarak bulundu. Bu absorbans değerine karşılık gelen inorganik As(III) konsantrasyonu 4.89 pbb, bağıl hatası % 2.20 olarak hesaplandı.

6.1.9 Toplam İnorganik Arsenik Tayini

Toplam inorganik arsenik tayini için optimize edilen şartlar altında kalibrasyon çalışması yapılmış, yöntemin tekrarlanabilirliği, doğruluğu As(III) ve As(V) içeren standart çözeltinin denemeleriyle elde edilmiştir.

Toplam arsenik tayininde kalibrasyon grafiğinin oluşturulması için kullanılan 25 mL 1; 5; 10; 25; 50 µg L^{-1} As(III) standart çözeltilerinin HCl konsantrasyonu 1 M olacak şekilde hazırlanmıştır. Örnek çözelti olarak 25 mL 5 µg L^{-1} As(III) ve 5 µg L^{-1} As(V) içeren 1 M HCl çözeltisi kullanılmıştır. Standart ve örnek çözeltiler içerisine peristaltik pompa yardımı ile 10 mL % 1.00 (m/v) $NaBH_4$ çözeltisi eklenerek oluşturulan AsH_3 gazı, yine peristaltik pompa ile pompalanan N_2 gazı yardımı ile 3 mL % 0.50 (m/v) Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilmiştir.

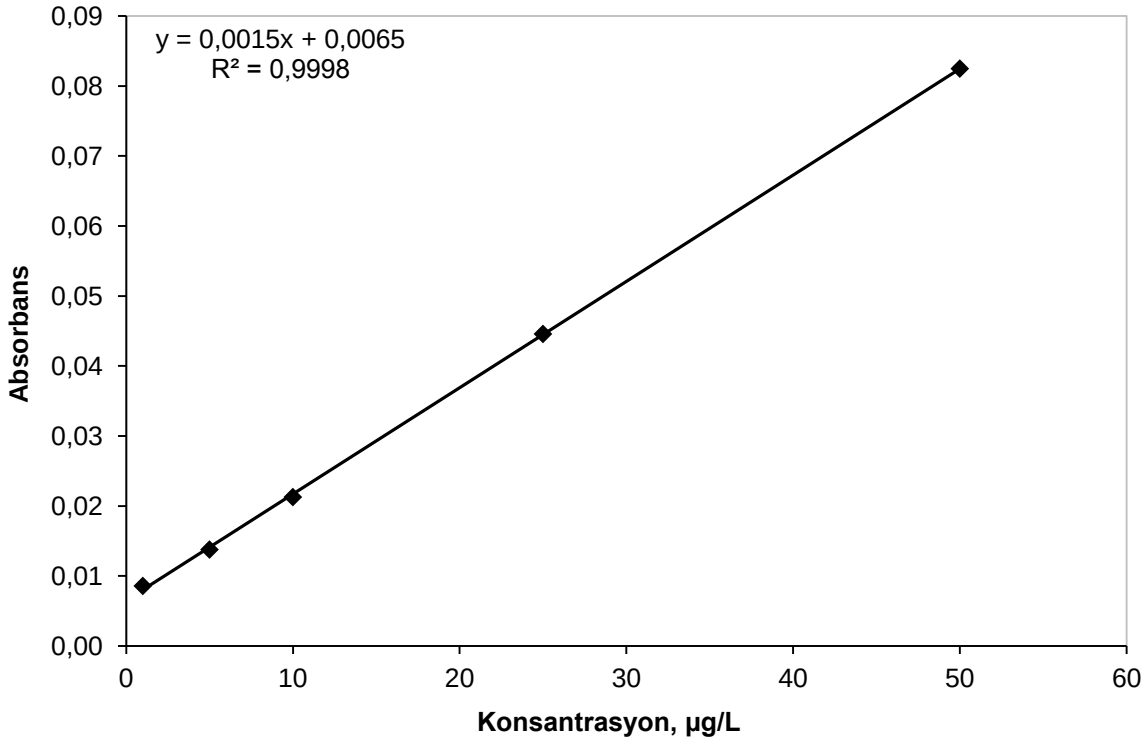
Kompleks oluşum sonrası elde edilen çözeltilerin 521 nm'de verdiği absorbans değerleri UV/Vis spektrofotometresi ile ölçüldü ve grafiğe geçirildi. (Tablo 6.11., Tablo 6.12., Şekil 6.15.)

Tablo 6.11. Toplam arsenik tayini için kullanılan standart çözeltilere ait absorbans değerleri.

Standart Çözelti Konsantrasyonu, µg L^{-1}	**521 nm Absorbans**
1	0.0086
5	0.0138
10	0.0213
25	0.0446
50	0.0825

Tablo 6.12. Toplam arsenik tayininde örnek çözeltiye ait absorbans değerleri.

	521 nm Absorbans		
Örnek	**1. Tekrar**	**2. Tekrar**	**3. Tekrar**
5 µg L^{-1}As(III) ve 5 µg L^{-1}As(V)	0.0223	0.0214	0.0212



Şekil 6.15. Toplam arsenik tayini için kullanılan standart çözeltilere ait kalibrasyon grafiği.

Sonuç olarak toplam inorganik arsenik tayini amacıyla yapılan bu çalışmada 1-50 µg L^{-1} konsantrasyon aralığında iyi bir doğrusallığa sahip, korelasyon katsayısı 0.9998 olan bir kalibrasyon eğrisi elde edildi. Örnek çözelti olarak kullanılan 5 µg L^{-1} As(III) ve 5 µg L^{-1} As(V) konsantrasyonunda standart arsenik çözeltisinin 3 tekrar ölçümünde elde edilen ortalama absorbans değeri 0.0216, standart sapma değeri 0.0006 olarak bulundu. Bu absorbans değerine karşılık gelen toplam inorganik As konsantrasyonu 10.09 pbb, bağıl hatası % 0.90 olarak hesaplandı.

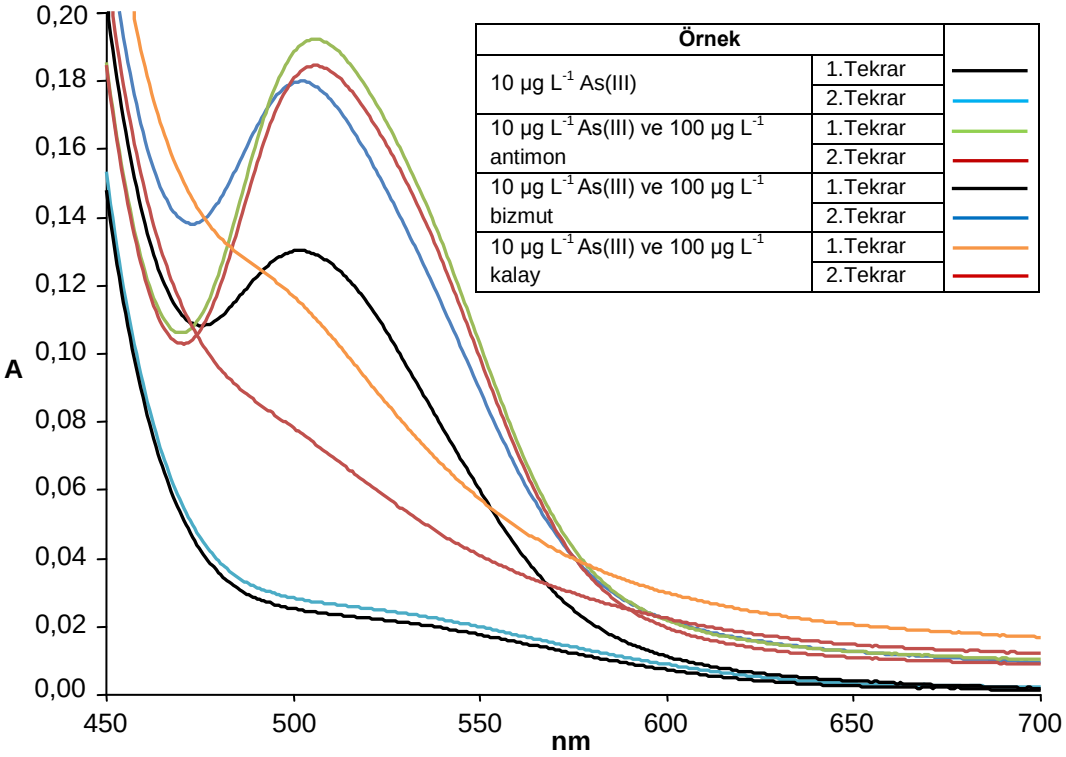
Daha sonra elde edilen toplam As konsantrasyonundan, As(III) konsantrasyonu çıkarılarak As(V) konsantrasyonu elde edildi. Sonuç olarak 5 µg L^{-1} As(III) ve 5 µg L^{-1} As(V) içeren çözeltinin örnek olarak kullanılması ile yapılan çalışmalarda As(III), As(V) ve toplam As

konsantrasyonları sırasıyla 4.89, 5.20 ve 10.09 µg L^{-1} olarak, bağıl hataları sırasıyla % 2.20, 4.00 ve 0.90 olarak hesaplanırken, yöntemin LOD (limit of detection) değeri 0.04 µg L^{-1}, LOQ (limit of quantification) değeri 0.13 µg L^{-1} olarak belirlendi.

6.1.10 Antimon, Bizmut ve Kalay Girişimi

Arsenik gibi hidrürleri uçucu olan antimon, bizmut ve kalay türlerinin bu yöntemde girişim yapabileceği düşünüldü. Bu amaçla 25'er mL 10 µg L^{-1} As(III), 10 µg L^{-1} As(III) ile 100 µg L^{-1} antimon, 10 µg L^{-1} As(III) ile 100 µg L^{-1} bizmut ve 10 µg L^{-1} As(III) ile 100 µg L^{-1} kalay içeren çözeltiler hazırlanarak As(III) tayini için uygulanan yöntem ile As(III) tayini yapılmıştır. Herbir çözelti üzerine 2.75 mL pH:6.5'ta 1 M K_2HPO_4/KH_2PO_4 tamponu ilave edilmiş ve çözeltiler içerisine peristaltik pompa ile % 3 (m/v) $NaBH_4$ çözeltisi eklenerek oluşan AsH_3 gazı, N_2 gazı yardımı ile % 0.5 (m/v) Ag-DDTC çözeltisi içerisinden geçirilmiştir.

Her bir metal için iki ayrı deneme yapıldı ve kompleks oluşum sonrası elde edilen çözeltilerin 521 nm'de verdiği absorbans değerleri UV/Vis spektrofotometresi ile ölçüldü. (Tablo 6.13., Şekil 6.16.)



Şekil 6.16. As(III) tayininde antimon, bizmut ve kalay girişimine ilişkin toplu spektrum.

Tablo 6.13. As(III) tayininde antimon, bizmut ve kalay girişimine ilişkin absorbans değerleri.

	521 nm Absorbans	
Örnek	**1. Tekrar**	**2. Tekrar**
10 µg L^{-1} As(III)	0.0223	0.0250
10 µg L^{-1} As(III) ve 100 µg L^{-1} antimon	0.1745	0.1675
10 µg L^{-1} As(III) ve 100 µg L^{-1} bizmut	0.1122	0.1548
10 µg L^{-1} As(III) ve 100 µg L^{-1} kalay	0.0898	0.0605

Sonuçlar incelendiğinde, bu deneysel şartlar altında ve antimon, bizmut ve kalay türleri konsantrasyonunun inorganik As(III) konsatrasyonunun 10 katı kadar olduğu durumlarda antimon, bizmut ve kalay türlerinin önemli ölçüde girişim yaptığı görüldü. Bu nedenle Ag-DDTC yöntemi ile bu türleri içeren örneklerin inorganik As analizlerinde, girişimi engellemek amacıyla ön ayırma basamaklarına veya farklı deneysel şartlara ihtiyaç duyulmaktadır. Fakat içme suyu gibi bu türleri içermeyen veya çok az içeren örneklerde böyle bir ayırma basamağına gerek olmadığı düşünülmektedir.

Ag-DDTC'ın AsH_3 ile etkileşimi üzerine yapılan çalışmalardan sonra dietilditiyokarbomatın amonyum tuzununda (NH_4-DDTC) AsH_3 ile etkileşimi incelenmiştir. NH_4-DDTC'ın AsH_3 ile etkileşiminin incelenmesi amacıyla yapılan çalışmada, piridinde çözünmediği için NH_4-DDTC çözeltisi suda hazırlanmış, elde edilen çözeltinin içerisinden AsH_3 gazı geçirilmiş ve çözeltide renk değişiminin olmadığı görülmüştür. Buna ek olarak elde edilen çözelti NH_4-DDTC'ın maksimum absorbansa sahip olduğu 364 nm'de incelenmiş ve ilk çözeltiye göre sinyalde önemli bir değişiminin olmadığı görülmüştür. Fakat daha önce yaptığımız çalışmalarda piridinde hazırlanan Ag-DDTC çözeltisinden AsH_3 gazı geçişi sonrasında çözelti renginin değiştiği ve UV/Vis ölçümleri sonrası sinyalde öncesine göre farklılanmanın olduğu görülmüştü. Ag-DDTC çalışmasında çözelti renk değişiminin ve UV/Vis sinyal farklılanmasının, AsH_3 geçişi sonrasında oluşan nano boyutta Ag parçacıklarıyla ve çözgen olarak kullanılan piridinle ilgili olduğu düşünülmektedir.

Daha sonraki inorganik arsenik bileşiklerinin türlendirilmesi çalışmalarına ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi ODS ve CN kolonunda devam edilmiştir.

6.2 HPLC Çalışmaları

6.2.1 HPLC Sisteminde ODS Kolona Piridin Enjeksiyonu

HPLC-UV/Vis yöntemindeki temel amaç, inorganik arsenik türlerinin UV/Vis çalışmalarında olduğu gibi Ag-DDTC ligandı ile uygun şartlarda As-DDTC kompleksi oluşturmak ve sonrasında elde edilen kompleksin ters faz şartlarında ODS kolonu yardımı ile ayırarak, UV/Vis detektörü ile 521 nm'de Gaussen türü pik elde ederek kalitatif ve kantitatif analizler gerçekleştirmektir. Bu amaç doğrultusunda, ilk olarak Ag-DDTC ligantının çözücüsü olarak kullandığımız piridinin HPLC sistemi çalışma şartlarında arsenik analizini etkileyecek her hangi bir absorpsiyon pikinin olup olmadığının görülmesi amacıyla asetonitril hareketli faz içerisinde saf piridin enjekte edilerek ODS kolondan geçirilmiştir. Daha önce UV/Vis yönteminde yapılan çalışmalarda piridine ait 521 nm'de kantitatif bir absorpsiyon piki görülmemesine rağmen, HPLC sisteminde ODS kolona piridin enjeksiyonundan sonra 521 nm'de bir pik görülmüştür. Elde edilen pik geniş bir alıkonma zaman aralığında olup kantitatif olarak kullanılabilecek bir yapıda değildir. Pik şeklinin düzeltilmesi amacıyla hareketli faz bileşimi değiştirilerek çalışmalara devam edilmiştir.

Bu denemelerde hareketli faz olarak % 50/50 (v/v) asetonitril/etanol, % 25/75 (v/v) asetonitril/etanol, % 5/20/75 (v/v/v) asetonitril/su/etanol, % 50/50 (v/v) hekzan/etanol ve % 4/48/48 (v/v/v) asetik asit/hegzan/etanol bileşimine sahip hareketli fazlar kullanılmıştır. Farklı hareketli fazların kullanıldığı bu çalışmada da her bir denemede ODS kolona piridin enjeksiyonundan sonra 521 nm'de geniş bir pik elde edilmiştir.

Piridin için, yukarıda verilen hareketli faz bileşimleri ile ODS kolon da 521 nm'de elde edilen bu geniş piklerin inorganik arsenik türlendirme çalışmalarını olumsuz yönde etkileyeceği düşünülerek, inorganik arsenik türlendirme çalışmalarına kolon değişimi yapılarak CN kolon ile devam edilmiştir.

6.2.2 HPLC Sisteminde CN Kolona Piridin Enjeksiyonu

Ag-DDTC ligantının çözücüsü olarak kullanılan piridin CN kolonda geçirildikten sonra 521 nm'de kantitatif olarak her hangi bir absorpsiyon yapıp yapmadığını görmek amacıyla saf asetonitiril hareketli fazı içerisine piridin enjekte edilmiştir. Daha önce UV/Vis yönteminde 521 nm'de yapılan çalışmalarda piridine ait her hangi bir pik görülmemesine rağmen, HPLC sisteminde CN kolona piridin enjeksiyonundan sonra 521 nm'de ODS kolonunda olduğu gibi

geniş bir pik elde edildi. Elde edilen pikin şeklinin düzeltilmesi için farklı bileşimlerde hareketli fazlar kullanılmış fakat pik şeklinde her hangi bir düzelme görülmemiştir.

6.2.3 HPLC Sisteminde CN Kolona Çeşitli Hareketli Fazlar ile Piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC Kompleks Çözeltisi Enjeksiyonu

HPLC sisteminde CN kolonunda 521 nm'de piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisinin davranışlarını görmek amacıyla çalışmalara devam edilmiştir. Bu denemelere başlamadan, derişik As-DDTC kompleks çözeltisi daha önce anlatıldığı gibi kompleks oluşum sisteminde hazırlandı. Daha sonra % 30/70 (v/v) su/metanol bileşimine sahip hareketli faz kullanılarak CN kolona piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisi ayrı olarak enjekte edildi. Her bir durumda birbirine benzer geniş pikler elde edildi. Bu denemelerin olumsuz sonuçlanması nedeniyle farklı bir hareketli fazın kullanılmasına karar verildi. Sonraki denemelerde hareketli faz olarak asetonitril kullanılarak kolona ayrı ayrı piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisi enjekte edildi. Bu denemelerde benzer şekilde olumsuz sonuçlandı ve her bir enjeksiyondan sonra 521 nm'de geniş bir pik gözlendi. Sonuç olarak yapılan bu çalışmalarda As-DDTC kompleksine ait kalitatif ve kantitatif analizlerde kullanılabilecek keskin ve dar bir pik elde edilemedi.

UV/Vis spektrofotometresi ile daha önce yaptığımız inorganik arsenik türleme çalışmalarında piridine karşı sıfırlama işlemi yapılıp kompleks çözeltinin absorpsiyon yaptığı 521 nm'de türleme çalışmaları gerçekleştirilmişti. Buna rağmen HPLC sisteminde çeşitli hareketli fazlar ve kolonlar kullanılarak yapılan çalışmalarda; 521 nm'de beklenilmedik şekilde piridin, Ag-DDTC çözeltisinin absorpsiyon yaptığı ve sonuçları olumsuz etkilediği görülürken, kompleks çözeltinin absorposiyon yaptığı fakat istenilen keskin kompleks pikinin elde edilemediği görüldü. Bu nedenle piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisinin HPLC sisteminde bazı çözücülerle inorganik arsenik türleme çalışmalarını olumsuz yönde etkileyecek reaksiyonlar verebileceği düşünüldü ve bir seri deneme yapıldı.

6.2.4 Piridin, Ag-DDTC Çözeltisi ve Arsenik Kompleks Çözeltisinin Çeşitli Çözücüler ile Etkileşimi

HPLC'de hareketli faz olarak kullanılabilecek bazı çözücüler ile piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisinin etkileşiminin incelenmesi için her bir çözücü ile piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisi ayrı ayrı deney tüplerinde 1'er mL hacimlerde karıştırıldı. Daha sonra tüplerde homojen bir karışımın olup olmadığı ve herhangi bir çökme

reaksiyonunun gerçekleşip gerçekleşmediği incelendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 6.14.'de görülmektedir.

Tablo 6.14. Piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisinin çeşitli çözücüler ile etkileşimi.

	Piridin	**Ag-DDTC Çözeltisi**	**As-DDTC Çözeltisi**
Asetonitril	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
Metanol	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
Etanol	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
Aseton	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
İzopropilalkol	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
1-Bütanol	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
n-Hekzan	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
Kloroform	Homojen Karışım	Çökme Olmadı	Çökme Olmadı
Diklorometan	Homojen Karışım	Çökme Olmadı	Çökme Olmadı
Toluen	Homojen Karışım	Çökme Olmadı	Çökme Olmadı
Su	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
Siklohekzan	Homojen Karışım	Çökme Olmadı	Çökme Oldu
Dietileter	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
Tetrahidrofuran	Homojen Karışım	Çökme Olmadı	Çökme Olmadı
Etilasetat	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
Etilenglikol	Homojen Karışım	Çökme Oldu	Çökme Oldu
Karbontetraklorür	Homojen Karışım	Çökme Olmadı	Çökme Olmadı

Sonuçlar incelendiğinde; piridin ortamındaki Ag-DDTC ve As-DDTC çözeltileri ile bazı çözücülerin karışması sonucu çökme olayının gerçekleştiği görüldü. Çökme olayının gerçekleşmesi ve bu olay sonucu oluşan çökeleğin kolon içerisinde kalması As-DDTC kompleks çözeltisine ait pikin gözlenmesini olumsuz yönde etkileyebilir. Bu nedenle; bu çözücüler arasında Ag-DDTC ve As-DDTC çözeltileri ile karışması sonucu çökme olayına neden olmayan

kloroform, diklorometan ve tetrahidrofuran çözgenleri ile HPLC inorganik arsenik türleme çalışmalarına devam etmeye karar verildi.

6.2.5 CN Kolon Çalışmaları

HPLC sisteminde CN kolonunda 521 nm'de piridin, Ag-DDTC ve As-DDTC kompleks çözeltilerinin davranışlarını araştırmak amacıyla % 100 diklorometan hareketli faz ortamında piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltileri ayrı ayrı kolona enjekte edildi. Her bir durumda, 521 nm'de geniş bir alıkonma zaman aralığına sahip pikler elde edildi. Kalitatif veya kantitatif çalışmalarda kullanılabilecek keskin ve dar pikler elde edilemedi.

6.2.6 ODS Kolon Çalışmaları

HPLC sisteminde ODS kolonunda 521 nm'de piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisi davranışlarını araştırmak amacıyla, kloroform hareketli fazı ortamında ODS kolona piridin, Ag-DDTC ve As-DDTC kompleks çözeltileri ayrı olarak enjekte edildi. Piridin, Ag-DDTC ve As-DDTC komplekslerinin her biri için deneysel çalışmalarda kullanılabilecek şekilde pikler elde edilemedi.

Piklerin şekillerinin düzeltilmesi amacıyla, sonraki çalışmalarda % 5 (v/v) tetrahidrofuran ve % 95 (v/v) kloroform içeren çözelti hareketli faz olarak kullanıldı ve ODS kolona piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisi ayrı ayrı enjekte edildi. Bu denemelerde benzer şekilde olumsuz sonuçlandı ve her bir enjeksiyondan sonra 521 nm'de geniş bir pik elde edildi. Daha sonraki denemelerde ise % 5 (v/v) piridin ve % 95 (v/v) kloroform içeren çözelti hareketli faz olarak kullanıldı ve enjeksiyonlardan sonra 521 nm'de herhangi bir pik elde edilmedi.

Yapılan bir başka denemede ise hareketli faz olarak 1.5 mL/dk akış hızında % 100 diklorometan kullanıldı ve derişik kompleks çözeltisinin piridin ve ligant çözeltisiyle (Ag-DDTC çözeltisiyle) seyreltilerek hazırlanan farklı derişimlerde As-DDTC kompleks çözeltileri sırasıyla ODS kolona enjekte edildi. 521 nm'de 3. dk'da kabul edilebilir bir özellikte pik elde edelmiş olup, görülen pikle ilgili alınan sonuçlar Tablo 6.15 ve Tablo 6.16.'da verilmiştir.

Tablo 6.15. Piridinle seyreltilerek hazırlanan As-DDTC çözeltisi için alınan sonuçlar.

	Pik Yüksekliği, mV	**Pik Alanı**
Der. Komp. Çöz.	105	51527
2 Kat Seyreltilmiş Der. Komp. Çöz.	100	127481
4 Kat Seyreltilmiş Der. Komp. Çöz.	80	120291

Tablo 6.16. Ligant çözeltisi ile seyreltilerek hazırlanan As-DDTC çözeltisi için alınan sonuçlar.

	Pik Yüksekliği, mV	**Pik Alanı**
Der. Komp. Çöz.	95	57329
2 Kat Seyreltilmiş Der. Komp. Çöz.	750	1323465
4 Kat Seyreltilmiş Der. Komp. Çöz.	120	201630

Her nekadar, As-DDTC için 3 dakikalık alıkonma zamanında bir pik elde edilmiş olsada tablolardada görüldüğü gibi elde edilen pikin pik yüksekliği ve pik alanı konsantrasyon değişimi ile orantılı bir değişim göstermemektedir.

6.2.7 HPLC-UV/Vis Sisteminde Absorpsiyon Taraması

Piridin, Ag-DDTC çözeltisi ve As-DDTC kompleks çözeltisinin HPLC sisteminde farklı bir dalga boyunda absorpsiyon yapabileceği düşüncesiyle, % 5 (v/v) THF ve % 95 (v/v) kloroform hareketli faz ortamında 200 nm'den 600 nm'ye kadar 25 nm dalga boyu artırarak ve her bir çözeltinin ODS kolona ayrı ayrı enjeksiyonu yapılarak absorpsiyon taraması yapıldı. Sonuç olarak; HPLC-UV/Vis sistemi 200-600 nm dalgaboyu aralığında kalitatif ve kantitatif olarak çalışılabilecek her hangi bir absorpsiyon piki gözlenemedi.

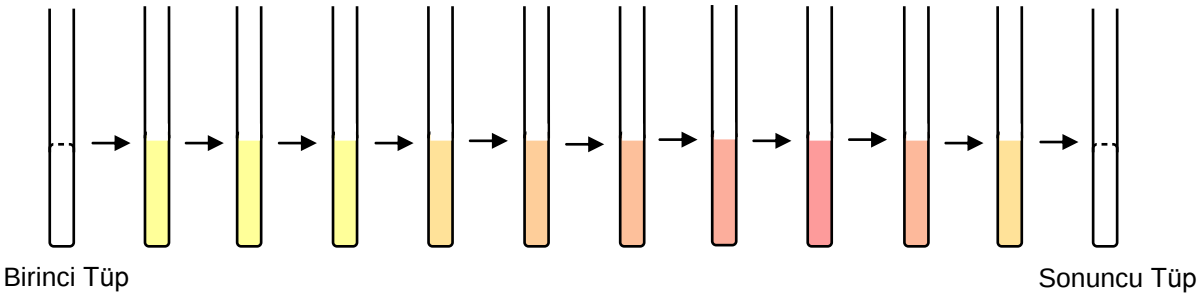
HPLC sisteminde kompleks çözeltisi ile yapılan çalışmalarda istenilen pikin elde edilememesi, kompleks oluşum sonrası elde edilen As–DDTC kompleksinin ve nano boyutta Ag parçacıkların kolonda sürüklenmediği düşüncesini akla getirdi ve derişik kompleks çözeltisinin silikadaki davranışının incelenmesine karar verildi. Yapılan denemede derişik kompleks çözeltisi piridin yardımıyla silikadan yürütüldü ve kompleks çözeltinin tamamının silika kolonundan çıktığı görüldü. Bir başka denemede ise derişik kompleks çözelti 0,2 µm'lik filtreden süzüldü ve filtreden çözeltinin tamamı geçti.

UV/Vis spektrofotometresi ile 521 nm'de yapılan inorganik arsenik türlendirme çalışmaları olumlu geçmesine rağmen HPLC sisteminde 521 nm'de yapılan çalışmalardan olumlu bir sonuç alınamaması HPLC çalışmalarında As-DDTC kompleksinin ODS ve CN kolonda yüzeylere çok güçlü bir şekilde tutunabileceği ve nanoboyutta Ag parçacıkların kolondan geçmeyeceği buna bağlı olarak da istenilen pikin gözlenemeyeceği ihtimallerini ortaya çıkarmıştır. Bu amaçla As-DDTC kompleks çözeltisinin kolondaki durumunu yorumlamaya yönelik bazı denemeler yapmaya karar verilmiştir.

6.2.8 As-DDTC Kompleks Çözeltisinin Kolondaki Durumu

Yapılan ilk denemede HPLC sisteminden kullanılan kolon çıkarıldı ve hareketli faz olarak % 100 diklorometan kullanarak sisteme derişik kompleks çözeltisi kolonsuz şekilde enjekte edildi. HPLC sisteminde kolon olmadığı için enjekte edilen örnek doğrudan hareketli faz içerisinde UV/Vis dedektöre ulaştı. Daha önce ODS ve CN kolon kullanarak yaptığımız çalışmalarda elde edemediğimiz yüksek ve düzgün bir pik elde edildi. Bu sonuç As-DDTC kompleksinin kolonda çok fazla tutunduğu veya nano boyutta Ag parçacıkların kolondan geçmediği ihtimallerini kuvvenlendirmektedir.

Yapılan diğer denemede ise derişik kompleks çözeltisi (çözelti rengi:) HPLC sisteminde ODS kolondan hareketli faz haznesi yoluyla 1 mL/dk hızla geçirildi ve kolonun hemen çıkışından gelen çözelti 2'şer mL olacak şekilde sırasıyla tüplere alındı. Elde edilen çözeltilerin renkleri Şekil 6.17.'de görülmektedir.



Şekil 6.17. HPLC sisteminde ODS kolondan alınan çözeltilerin renkleri

Elde edilen çözeltiler incelendiğinde; ilk gelen çözeltilerin renklerinin As-DDTC kompleks çözeltisi rengi olan kızıl viyole veya tonlarında olmadığı ayrıca kolona verilen kompleks çözeltisinin çok azının kolondan alındığı görülmektedir. Ag-DDTC'tan yola çıkarak elde edilen kompleks çözeltinin içerdiği As-DDTC kompleksi ve nano boyutta Ag parçacıkları, silikadan ve 0.2 µm'lik filtreden geçmesine rağmen, ODS kolondan ilk olarak geçmediği fakat daha sonra yüksek basıncın etkisiyle bir miktar kolondan geçtiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak; piridin ve Ag-DDTC çözeltisinin HPLC-UV/Vis sisteminde geniş bir dalga boyu aralığında absorpsiyon yapması, As-DDTC kompleks maddesinin birçok hareketli faz ortamında çökmesi, As-DDTC kompleks maddesinin ODS ve CN kolonda çok fazla tutunması, nano boyutta Ag parçacıkların kolondan geçmemesi ihtimallerine bağlı olarak HPLC-UV/Vis sisteminde farklı hareketli fazların ve kolonların kullanılmasıyla yapılan inorganik arsenik türlendirme çalışmaları olumsuz sonuçlanmış, kalitatif ve kantitatif analiz amacıyla

kullanılabilecek istenilen keskin ve dar As-DDTC kompleks piki elde edilememiştir. Sulu ortamda bulunan inorganik arsenik bileşiklerinin ters faz HPLC-UV/Vis sistemi ile türlendirilmesi bu aşamada gerçekleştirilememiştir.

6.3 Bazı Maddelerin As(III) ile Etkileşiminin UV/Vis Spektrofotometresiyle İncelenmesi

İnorganik arsenik türleri sulu ortamlarda AsO_3^{3-} (As(III) oksidasyon basamağı) ve AsO_4^{3-} (As(V) oksidasyon basamağı) okso anyonları şeklinde bulunduğunda grubun dışa karşı yükü negatiftir. İnorganik arsenik türlerinin bazı madelerle her hangi bir kimyasal reaksiyon sonucu UV veya Vis bölgede bir absorpsiyon verecek bir yapının oluşma ihtimali üzerine, toluen-4-sülfonikasit, piridinyum-4-toluensülfanat, imidazol, L-fenilalanin, 4-(dimetilamino)piridin, alkilbenzildimetilamonyumklorür, 1-2 fenilendiamin, trietilamin, terbutilamin, tetrabutilamonyumklorür, disodyumfenilfosfat, fenilalanin etil esteri benzamit türevi, sodyumdodesilsülfat, difenilfosfonilklorür, tetrabutilamonyumbromür, amonyumprolidinditiyokarbomat maddelerinin sulu çözeltileri 250 mg L^{-1} AsO_3^{3-} çözeltisi ile ayrı ayrı deney tüplerinde belli oranlarda karıştırılmış, elde edilen her bir çözelti UV/Vis spektrofotometresiyle 200-800 nm aralığında incelenmiştir. Dalgaboyu taramaları sonucunda bu maddeler arasından AsO_3^{3-} ile etkileşebileceği düşünülen maddeler ile daha detaylı çalışmalar yapılmıştır.

6.3.1 Difenilfosfonilklorür (DPPC) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi

6.3.1.1 Difenilfosfonilklorür için Uygun Çözgenin Belirlenmesi

DPPC için uygun çözgenin belirlenmesi amacıyla asetonitril, ethanol, kloroform, karbontetraklorür, tetrahidrofuran, etilasetat, dietileter, 1-bütanol, su, etilenglikol ve aseton çözgenleri ile bazı denemeler yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 6.17.'de verilmiştir.

Tablo 6.17. Difenilfosfonilklorür için uygun çözgenin belirlenmesi.

Örnek Çözelti	Sonuç
Asetonitrilde hazırlanmış 2.0 mL 1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz oluşmadı fakat çökme oldu
Ethanolde hazırlanmış 2.0 mL 1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz oluşmadı fakat çökme oldu
Kloroformda hazırlanmış 0.5 mL ≈1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz oluştu ve çökme oldu
Karbontetraklorürde hazırlanmış 0.5 mL ≈1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz oluştu ve çökme oldu
Tetrahidrofuranda hazırlanmış 0.5 mL ≈1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz oluştu ve çökme oldu
Etilasetatda hazırlanmış 0.5 mL ≈1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz oluştu ve çökme oldu
Dietileterde hazırlanmış 0.5 mL ≈1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz oluştu ve çökme oldu
1-Bütanolde hazırlanmış 0.5 mL ≈1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz oluştu fakat çökme olmadı
Suda hazırlanmış 2.0 mL ≈100 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz ve çökme olmadı
Etilengliklolde hazırlanmış 0.5 mL ≈1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz ve çökme olmadı
Asetonda hazırlanmış 2.0 mL 1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	Faz ve çökme olmadı

Denemelerde DPPC'ün asetonitrilde, ethanolde, kloroformda, karbontetraklorürde, tatrahidrofuranda, etilasetatta, dietileterde, 1-bütanolde hazırlanmış çözeltilerine AsO_3^{3-} çözeltisi eklenmesiyle çökme olayının olduğu, faz oluştuğu veya her ikisininde gerçekleştiği görüldü. Fakat DPPC'ün suda, etilenglikolde ve asetonda hazırlanmış çözeltilerine AsO_3^{3-} çözeltisi eklenmesiyle çökme olayı veya faz oluşumu olmadı. Bu nedenle su, etilenglikol ve asetonu çözgen olarak kullanarak DPPC ve AsO_3^{3-} etkileşimi üzerine çalışmalara devam edildi.

6.3.1.2 Sulu Ortamda Difenilfosfonilklorürün AsO_3^{3-} ile Etkileşimi

Yapılan bu denemede örnek çözeltiler, DPPC'ün sudaki doygun çözeltisinin 1 mL'sinin üzerine ayrı ayrı 1'er mL 0.01; 0.1; 0.5; 1; 5; 20; 100 mg L^{-1} As(III) çözeltilerinin eklenmesiyle hazırlanmıştır.

Elde edilen örnek çözeltilerin UV/Vis spektrofotometresinde 200-800 nm aralığında saf suya karşı absorpsiyon taraması yapılmıştır. Maximum absorbansın görüldüğü 264.37 nm'de elde edilen değerler Tablo 6.18.'de verilmiştir.

Tablo 6.18. Sulu ortamda difenilfosfonilklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	264.37 nm Absorbans
1 mL DPPC çözeltisi + 1 mL saf su	0.5585
1 mL DPPC çözeltisi + 1 mL 0.01 mg L^{-1} As(III)	0.5649
1 mL DPPC çözeltisi + 1 mL 0.1 mg L^{-1} As(III)	0.5723
1 mL DPPC çözeltisi + 1 mL 0.5 mg L^{-1} As(III)	0.5382
1 mL DPPC çözeltisi + 1 mL 1 mg L^{-1} As(III)	0.5618
1 mL DPPC çözeltisi + 1 mL 5 mg L^{-1} As(III)	0.5114
1 mL DPPC çözeltisi + 1 mL 20 mg L^{-1} As(III)	0.5213
1 mL DPPC çözeltisi + 1 mL 100 mg L^{-1} As(III)	0.5533

Sonuçlar incelendiğinde, DPPC'ün sudaki doygun çözeltisine farklı derişimlerde AsO_3^{3-} çözeltilerinin eklenmesiyle hazırlanan örnek çözeltilerin 264.37 nm'de elde edilen absorbans değerlerinin birbirine çok yakın olduğu ve değerler arasında orantısal bir değişimin olmadığı görüldü. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda DPPC ile AsO_3^{3-} arasında UV/Vis spektrofotometresinde fark edilebilecek herhangi bir etkileşimin olmadığı düşünülmektedir.

6.3.1.3 Etilenglikolde Hazırlanmış Difenilfosfonilklorürün AsO_3^{3-} ile Etkileşimi

Yapılan bu denemede örnek çözeltiler, etilenglikolde hazırlanmış 1.0 mL 1000 mg L^{-1} DPPC çözeltisi üzerine ayrı ayrı 1'er mL 0.1; 0.5; 1; 2.5; 5; 500 mg L^{-1} As(III) çözeltilerinin eklenmesiyle hazırlanmıştır. Kör çözelti ise 1 mL etilenglikole 1 mL saf su eklenmesi ile hazırlanmıştır.

Elde edilen örnek çözeltilerin UV/Vis spektrofotometresinde 200-800 nm aralığında absorpsiyon taraması yapılmıştır. Maximum absorbansın görüldüğü 266.31 nm'de elde edilen değerler Tablo 6.19.'da verilmiştir.

Tablo 6.19. Etilenglikolde hazırlanmış difenilfosfonilklorürün AsO_3^{3-} ile etkileşimi konusunda absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	266.31 nm Absorbans
1 mL 1000 mg L^{-1} DPPC çözeltisi + 1 mL saf su	1.7438
1 mL 1000 mg L^{-1} DPPC çözeltisi + 1 mL 0.1 mg L^{-1} As(III)	1.7384
1 mL 1000 mg L^{-1} DPPC çözeltisi + 1 mL 0.5 mg L^{-1} As(III)	1.7538
1 mL 1000 mg L^{-1} DPPC çözeltisi + 1 mL 1 mg L^{-1} As(III)	1.7263
1 mL 1000 mg L^{-1} DPPC çözeltisi + 1 mL 2.5 mg L^{-1} As(III)	1.7216
1 mL 1000 mg L^{-1} DPPC çözeltisi + 1 mL 5 mg L^{-1} As(III)	1.7414
1 mL 1000 mg L^{-1} DPPC çözeltisi + 1 mL 500 mg L^{-1} As(III)	1.7785

Sonuçlar incelendiğinde, etilenglikolde hazırlanmış DPPC çözeltisine farklı derişimlerde As(III) çözeltilerinin eklenmesiyle hazırlanan örnek çözeltilerin 266.31 nm'de elde edilen absorbans değerlerinin birbirine çok yakın olduğu ve değerler arasında orantısal bir değişimin olmadığı görüldü. DPPC ile As(III) bu çözelti ortamında UV/Vis spektrofotometresinde fark edilebilecek herhangi bir etkileşimde bulunmadı.

6.3.1.4 Asetonda Hazırlanmış Difenilfosfonilklorürün AsO_3^{3-} ile Etkileşimi

Yapılan bu denemede örnek çözeltiler asetonda hazırlanmış 2.5 mL 1000 mg L^{-1} DPPC çözeltisi üzerine ayrı ayrı 0.5; 1.0; 1.5 mL saf su ve 0.5; 1.0; 1.5 mL 500 mg L^{-1} As(III) çözeltisi eklenmesiyle hazırlanmıştır.

Elde edilen örnek çözeltilerin UV/Vis spektrofotometresinde 200-800 nm aralığında asetona karşı absorpsiyon taraması yapılmış ve 343.76 nm'de elde edilen değerler Tablo 6.20.'de verilmiştir.

Tablo 6.20. Asetonda hazırlanmış difenilfosfonilklorürün AsO_3^{3-} ile etkileşimi konusunda absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	343.76 nm Absorbans
2.5 mL 1000 mg L^{-1} DPPC + 0.5 mL saf su	0.0587
2.5 mL 1000 mg L^{-1} DPPC + 0.5 mL 500 mg L^{-1} As(III)	0.0566
2.5 mL 1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL saf su	0.0318
2.5 mL 1000 mg L^{-1} DPPC + 1.0 mL 500 mg L^{-1} As(III)	0.0314
2.5 mL 1000 mg L^{-1} DPPC + 1.5 mL saf su	0.0138
2.5 mL 1000 mg L^{-1} DPPC + 1.5 mL 500 mg L^{-1} As(III)	0.0136

Sonuçlar incelendiğinde asetonda hazırlanmış DPPC çözeltisine aynı hacimlerde su ve As(III) çözeltilerinin eklenmesiyle hazırlanan örnek çözeltilerin 343.76 nm'de elde edilen absorbans değerleri arasında önemli bir farklılığın olmadığı görüldü. DPPC ile AsO_3^{3-} bu çözelti ortamında UV/Vis spektrofotometresinde fark edilebilecek herhangi bir etkileşimde bulunmadı.

6.3.2 Piridinyum-4-toluensülfanat (PPTS) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi

Bu denemede pH: 1-10 tampon aralığında, PPTS ile AsO_3^{3-} ün sulu çözelti ortamında etkileşimi incelenmiştir. Bu amaçla 1 mg L^{-1} As(III) çözeltisi, 100 mg L^{-1} PPTS çözeltisi ve 10 farklı pH noktasında 0.1 M sitrik asit tamponu kullanılmıştır. Herbir pH noktasında kör ve örnek çözeltilerin hazırlanışı Tablo 6.21.'de verilmiştir.

Tablo 6.21. Piridinyum-4-toluensülfanatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı.

Kör Çözelti	3 mL 0.1 M sitrik asit tam. +	2 mL saf su		
1.Örnek Çöz.	3 mL 0.1 M sitrik asit tam. +	1 mL 100 mg L^{-1} PPTS	+	1 mL saf su
2.Örnek Çöz.	3 mL 0.1 M sitrik asit tam. +	1 mL 100 mg L^{-1} PPTS	+	1 mL 1 mg L^{-1} As(III)

Elde edilen örnek çözeltilerin UV/Vis spektrofotometresinde 200-800 nm aralığında absorpsiyon taraması yapılmıştır. İki farklı maximum absorbansın görüldüğü 230.14 nm ve 256.08 nm'de elde edilen değerler Tablo 6.22.'de verilmiştir.

Tablo 6.22. Piridinyum-4-toluensülfanatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	230.14 nm Absorbans	256.08 nm Absorbans
pH:1 1.Örnek Çözelti	0.2858	0.4669
pH:1 2.Örnek Çözelti	0.2687	0.4598
pH:2 1.Örnek Çözelti	0.2189	0.4566
pH:2 2.Örnek Çözelti	0.2137	0.4565
pH:3 1.Örnek Çözelti	0.1987	0.4367
pH:3 2.Örnek Çözelti	0.2136	0.4610
pH:4 1.Örnek Çözelti	0.2639	0.4607
pH:4 2.Örnek Çözelti	0.3100	0.4977
pH:5 1.Örnek Çözelti	0.3480	0.3880
pH:5 2.Örnek Çözelti	0.3411	0.3936
pH:6 1.Örnek Çözelti	0.4525	0.3004
pH:6 2.Örnek Çözelti	0.4625	0.3083
pH:7 1.Örnek Çözelti	0.4458	0.2668
pH:7 2.Örnek Çözelti	0.4210	0.2560
pH:8 1.Örnek Çözelti	0.4758	0.2529
pH:8 2.Örnek Çözelti	0.4736	0.2574
pH:9 1.Örnek Çözelti	0.4231	0.2419
pH:9 2.Örnek Çözelti	0.4471	0.2568
pH:10 1.Örnek Çözelti	0.4908	0.2542
pH:10 2.Örnek Çözelti	0.5031	0.2654

İki farklı dalga boyunda elde edilen absorbans değerleri incelendiğinde 1. ve 2. örnek çözeltiler arasında yani suyla ve As(III) çözeltisiyle hazırlanan örnek çözeltiler arasında önemli bir farklılığın olmadığı görüldü. PPTS ile AsO_3^{3-} arasında kompleks oluşumu ile ilgili herhangi bir etkileşimin olmadığı düşünülmektedir.

6.3.3 Tetrabutilamonyumklorür (TBACl) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi

6.3.3.1 Tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} ile Etkileşimi

Bu denemede pH: 1-10 tampon aralığında, TBACl ile AsO_3^{3-} ün sulu çözelti ortamında etkileşimi incelenmiştir. Bu amaçla 1 mg L^{-1} As(III) çözeltisi, 0.05 M TBACl çözeltisi ve 10 farklı

pH noktasında 0.01 M fosfat tamponu kullanılmıştır. Herbir pH noktasında kör ve örnek çözeltilerin hazırlanışı Tablo 6.23.'de verilmiştir.

Tablo 6.23. Tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı.

Kör Çözelti	0.5 mL 0.01 M fosfat tam.	+	2.5 mL saf su		
1.Örnek Çöz.	0.5 mL 0.01 M fosfat tam.	+	2.0 mL 0.05 M TBACl	+	0.5 mL saf su
2.Örnek Çöz.	0.5 mL 0.01 M fosfat tam.	+	2.0 mL 0.05 M TBACl	+	0.5 mL 1 mg L^{-1} As(III)

Elde edilen örnek çözeltilerin UV/Vis spektrofotometresinde 200-500 nm aralığında absorpsiyon taraması yapılmıştır. İki farklı maximum absorbansın görüldüğü 256.84 nm ve 349.52 nm'de elde edilen değerler Tablo 6.24.'de verilmiştir.

Tablo 6.24. Tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	256.84 nm Absorbans	349.52 nm Absorbans
pH:1 1.Örnek Çözelti	0.0520	0.0158
pH:1 2.Örnek Çözelti	0.0484	0.0140
pH:2 1.Örnek Çözelti	0.0517	0.0154
pH:2 2.Örnek Çözelti	0.0500	0.0142
pH:3 1.Örnek Çözelti	0.0560	0.0176
pH:3 2.Örnek Çözelti	0.0590	0.0178
pH:4 1.Örnek Çözelti	0.0550	0.0150
pH:4 2.Örnek Çözelti	0.0625	0.0160
pH:5 1.Örnek Çözelti	0.0605	0.0172
pH:5 2.Örnek Çözelti	0.0511	0.0162
pH:6 1.Örnek Çözelti	0.0508	0.0146
pH:6 2.Örnek Çözelti	0.0539	0.0157
pH:7 1.Örnek Çözelti	0.0624	0.0194
pH:7 2.Örnek Çözelti	0.0599	0.0187
pH:8 1.Örnek Çözelti	0.0531	0.0171
pH:8 2.Örnek Çözelti	0.0512	0.0161
pH:9 1.Örnek Çözelti	0.0526	0.0179
pH:9 2.Örnek Çözelti	0.0516	0.0164
pH:10 1.Örnek Çözelti	0.0558	0.0181
pH:10 2.Örnek Çözelti	0.0539	0.0162

İki farklı dalga boyunda elde edilen absorbans değerleri incelendiğinde 1. ve 2. örnek çözeltiler arasında yani suyla ve As(III) çözeltisiyle hazırlanan örnek çözeltiler arasında önemli bir farklılığın olmadığı ancak pH:5'de 256.84 nm absorbans değerinde düşüşün fazla olduğu ve pH:5, pH:7'de elde edilen absorbans değerlerinin diğer pH noktalarına göre daha yüksek olduğu görüldü. Bu nedenle TBACl ile As(III) etkileşimi üzerine pH:5 ve pH:7'de daha detaylı denemeler yapmaya karar verildi.

6.3.3.2 pH:5'de Tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} ile Etkileşimi

Bu denemede 1; 5; 10 mg L^{-1} As(III) çözeltileri, 0.05 M TBACl çözeltisi ve 0.01 M pH:5 fosfat tamponu kullanılmış ve örnek çözeltilerin Tablo 6.25.'e göre 2 tekrarı hazırlanmıştır.

Tablo 6.25. pH:5'de tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı.

Kör Çözelti	0.5 mL 0.01 M pH:5 fosfat tam.	+	2.5 mL saf su		
1.Örnek Çözelti	0.5 mL 0.01 M pH:5 fosfat tam.	+	2.0 mL 0.05 M TBACl	+	0.5 mL saf su
2.Örnek Çözelti	0.5 mL 0.01 M pH:5 fosfat tam.	+	2.0 mL 0.05 M TBACl	+	0.5 mL 1 mg L^{-1} As(III)
3.Örnek Çözelti	0.5 mL 0.01 M pH:5 fosfat tam.	+	2.0 mL 0.05 M TBACl	+	0.5 mL 5 mg L^{-1} As(III)
4.Örnek Çözelti	0.5 mL 0.01 M pH:5 fosfat tam.	+	2.0 mL 0.05 M TBACl	+	0.5 mL 10 mg L^{-1} As(III)

Elde edilen örnek çözeltilerin UV/Vis spektrofotometresinde 200-500 nm aralığında absorpsiyon taraması yapılmıştır. İki farklı maximum absorbansın görüldüğü 256.84 nm ve 349.52 nm'de elde edilen değerler Tablo 6.26.'da verilmiştir.

Tablo 6.26. pH:5'de tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	256.84 nm Absorbans	349.52 nm Absorbans
1.Örnek Çözelti (1.Tekrar)	0.0426	0.0182
1.Örnek Çözelti (2. Tekrar)	0.0457	0.0191
2.Örnek Çözelti (1.Tekrar)	0.0452	0.0190
2.Örnek Çözelti (2. Tekrar)	0.0510	0.0205
3.Örnek Çözelti (1.Tekrar)	0.0495	0.0205
3.Örnek Çözelti (2. Tekrar)	0.0488	0.0186
4.Örnek Çözelti (1.Tekrar)	0.0549	0.0187
4.Örnek Çözelti (2. Tekrar)	0.0510	0.0183

İki farklı dalga boyunda elde edilen absorbans değerleri incelendiğinde sonuçlarda önemli derecede bir farklılanmanın olmadığı ve sonuçlar arasında orantısal bir değişimin olmadığı görüldü. Bu nedenle TBACl ile As(III) arasında pH:5 fosfat tamponu ortamında UV/Vis spektrofotometresinde fark edilebilecek herhangi bir etkileşimin olmadığı sonucuna varılmıştır.

6.3.3.3 pH:7'de Tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} ile Etkileşimi

Bu denemede 1; 5; 10 mg L^{-1} As(III) çözeltileri, 0.05 M TBACl çözeltisi ve 0.01 M pH:7 fosfat tamponu kullanılmış ve örnek çözeltilerin Tablo 6.27.'ye göre 2 tekrarı hazırlanmıştır.

Tablo 6.27. pH:7'de tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı.

Kör Çözelti	0.5 mL 0.01 M pH:7 fosfat tam. +	2.5 mL saf su	
1.Örnek Çözelti	0.5 mL 0.01 M pH:7 fosfat tam. +	2.0 mL 0.05 M TBACl +	0.5 mL saf su
2.Örnek Çözelti	0.5 mL 0.01 M pH:7 fosfat tam. +	2.0 mL 0.05 M TBACl +	0.5 mL 1 mg L^{-1} As(III)
3.Örnek Çözelti	0.5 mL 0.01 M pH:7 fosfat tam. +	2.0 mL 0.05 M TBACl +	0.5 mL 5 mg L^{-1} As(III)
4.Örnek Çözelti	0.5 mL 0.01 M pH:7 fosfat tam. +	2.0 mL 0.05 M TBACl +	0.5 mL 10 mg L^{-1} As(III)

Elde edilen örnek çözeltilerin UV/Vis spektrofotometresinde 200-500 nm aralığında absorpsiyon taraması yapılmıştır. İki farklı maximum absorbansın görüldüğü 256.84 nm ve 349.52 nm'de elde edilen değerler Tablo 6.28.'de verilmiştir.

Tablo 6.28. pH:7'de tetrabutilamonyumklorürün AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	256.84 nm Absorbans	349.52 nm Absorbans
1.Örnek Çözelti (1.Tekrar)	0.0597	0.0224
1.Örnek Çözelti (2. Tekrar)	0.0596	0.0222
2.Örnek Çözelti (1.Tekrar)	0.0613	0.0213
2.Örnek Çözelti (2. Tekrar)	0.0599	0.0222
3.Örnek Çözelti (1.Tekrar)	0.0636	0.0237
3.Örnek Çözelti (2. Tekrar)	0.0643	0.0232
4.Örnek Çözelti (1.Tekrar)	0.0646	0.0223
4.Örnek Çözelti (2. Tekrar)	0.0655	0.0220

İki farklı dalga boyunda elde edilen absorbans değerleri incelendiğinde sonuçlarda önemli derecede bir farklılanmanın olmadığı ve sonuçlar arasında orantısal bir değişimin olmadığı görüldü. TBACl ile As(III) pH:7 fosfat tamponu ortamında UV/Vis spektrofotometresinde fark edilebilecek herhangi bir etkileşimde bulunmadı.

6.3.4 Toluen-4-sülfonikasit (PTSA) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi

Bu denemede pH: 1-10 tampon aralığında, PTSA ile AsO_3^{3-} ün sulu çözelti ortamında etkileşimi incelenmiştir. Bu amaçla 1 mg L^{-1} As(III) çözeltisi, 500 mg L^{-1} PTSA çözeltisi ve 10 farklı pH noktasında 0.01 M fosfat tamponu kullanılmıştır. Herbir pH noktasında kör ve örnek çözeltilerin hazırlanışı Tablo 6.29.'da verilmiştir.

Tablo 6.29. Toluen-4-sülfonikasitin AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı.

Kör Çözelti	0.5 mL 0.01 M fosfat tam. +	2.5 mL saf su	
1.Örnek Çözelti	0.5 mL 0.01 M fosfat tam. +	2.0 mL 500 mg L^{-1} PTSA +	0.5 mL saf su
2.Örnek Çözelti	0.5 mL 0.01 M fosfat tam. +	2.0 mL 500 mg L^{-1} PTSA +	0.5 mL 1 mg L^{-1} As(III)

Elde edilen örnek çözeltilerin UV/Vis spektrofotometresinde 200-400 nm aralığında absorpsiyon taraması yapılmıştır. Maximum absorbansın görüldüğü 261.36 nm'de elde edilen değerler Tablo 6.30.'da verilmiştir.

Tablo 6.30. Toluen-4-sülfonikasitin AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	261.36 nm Absorbans
pH:1 1.Örnek Çözelti	0.6655
pH:1 2.Örnek Çözelti	0.6510
pH:2 1.Örnek Çözelti	0.6500
pH:2 2.Örnek Çözelti	0.6502
pH:3 1.Örnek Çözelti	0.6394
pH:3 2.Örnek Çözelti	0.6448
pH:4 1.Örnek Çözelti	0.6862
pH:4 2.Örnek Çözelti	0.6637
pH:5 1.Örnek Çözelti	0.6599
pH:5 2.Örnek Çözelti	0.6555
pH:6 1.Örnek Çözelti	0.6700
pH:6 2.Örnek Çözelti	0.6440
pH:7 1.Örnek Çözelti	0.6480
pH:7 2.Örnek Çözelti	0.6602
pH:8 1.Örnek Çözelti	0.6456
pH:8 2.Örnek Çözelti	0.6651
pH:9 1.Örnek Çözelti	0.6382
pH:9 2.Örnek Çözelti	0.6520
pH:10 1.Örnek Çözelti	0.6461
pH:10 2.Örnek Çözelti	0.6689

Sonuçlar incelendiğinde 1. ve 2. örnek çözeltiler arasında yani suyla ve As(III) çözeltisiyle hazırlanan örnek çözeltiler arasında önemli bir farklılığın olmadığı görüldü. PTSA ile As(III) arasında her hangi bir kompleks oluşumunun olmadığı görülmüştür.

6.3.5 Disodyumfenilfosfat (DSPP) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi

Bu denemede pH: 1-10 tampon aralığında, DSPP ile AsO_3^{3-} ün sulu çözelti ortamında etkileşimi incelenmiştir. Bu amaçla 1 mg L^{-1} As(III) çözeltisi, 250 mg L^{-1} DSPP çözeltisi ve 10 farklı pH noktasında 0.01 M fosfat tamponu kullanılmıştır. Herbir pH noktasında kör ve örnek çözeltilerin hazırlanışı aşağıdaki Tablo 6.31.'de verilmiştir.

Tablo 6.31. Disodyumfenilfosfatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili çözeltilerin hazırlanışı.

Kör Çözelti	0.5 mL 0.01 M fosfat tam.	+	2.5 mL saf su	
1.Örnek Çöz.	0.5 mL 0.01 M fosfat tam.	+	2.0 mL 250 mg L^{-1} DSPP	+ 0.5 mL saf su
2.Örnek Çöz.	0.5 mL 0.01 M fosfat tam.	+	2.0 mL 250 mg L^{-1} DSPP	+ 0.5 mL 1 mg L^{-1} As(III)

Elde edilen örnek çözeltilerin UV/Vis spektrofotometresinde 200-400 nm aralığında absorpsiyon taraması yapılmıştır. Maximum absorbansın görüldüğü 261.36 nm'de elde edilen değerler Tablo 6.32.'de verilmiştir.

Tablo 6.32. Disodyumfenilfosfatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	261.36 nm Absorbans
pH:1 1.Örnek Çözelti	0.3355
pH:1 2.Örnek Çözelti	0.3204
pH:2 1.Örnek Çözelti	0.3568
pH:2 2.Örnek Çözelti	0.3614
pH:3 1.Örnek Çözelti	0.4221
pH:3 2.Örnek Çözelti	0.4173
pH:4 1.Örnek Çözelti	0.4481
pH:4 2.Örnek Çözelti	0.4440
pH:5 1.Örnek Çözelti	0.4525
pH:5 2.Örnek Çözelti	0.4513
pH:6 1.Örnek Çözelti	0.4731
pH:6 2.Örnek Çözelti	0.4660
pH:7 1.Örnek Çözelti	0.4950
pH:7 2.Örnek Çözelti	04932
pH:8 1.Örnek Çözelti	0.5001
pH:8 2.Örnek Çözelti	0.5001
pH:9 1.Örnek Çözelti	0.4975
pH:9 2.Örnek Çözelti	0.5037
pH:10 1.Örnek Çözelti	0.5052
pH:10 2.Örnek Çözelti	0.5107

Sonuçlar incelendiğinde 1. ve 2. örnek çözeltiler arasında yani suyla ve As(III) çözeltisiyle hazırlanan örnek çözeltiler arasında önemli bir farklılığın olmadığı görüldü. DSPP ile As(III) bu

çözelti ortamlarında UV/Vis spektrofotometresinde fark edilebilecek herhangi bir etkileşimde bulunmadı.

6.3.6 Amonyumprolidinditiyokarbomat (APDC) ile AsO_3^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi

Bu denemede asidik bölgede asetat tamponu ortamında APDC ile AsO_3^{3-} etkileşimi incelenmiştir. Örnek çözeltiler; 1 mL 500 mg L^{-1} APDC çözeltisine 1 mL 1 M amonyumasetat, elde edilen çözeltiyede ayrı ayrı 7'şer mL 0.01; 0.05; 0.1; 0.5; 1; 5; 10; 25; 50; 100 µg L^{-1} As(III) çözeltilerinin eklenmesi ile hazırlanmış, son olarak 6 M HCl ile örnek çözeltilerin pH'ı 3 e ayarlanmıştır.

Elde edilen örnek çözeltilerin UV/Vis spektrofotometresiyle 200-800 nm aralığında saf suya karşı absorpsiyon taraması yapılmıştır. Maximum absorbansın görüldüğü 294.36 nm'de elde edilen değerler Tablo 6.33.'de verilmiştir.

Tablo 6.33. Amonyumprolidinditiyokarbomatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	294.36 nm Absorpsiyon
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.01 µg L^{-1} As(III)	1.3162
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.05 µg L^{-1} As(III)	1.0518
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.1 µg L^{-1} As(III)	0.8325
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.5 µg L^{-1} As(III)	1.0111
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 1 µg L^{-1} As(III)	0.9393
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 5 µg L^{-1} As(III)	0.9638
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 10 µg L^{-1} As(III)	0.9379
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 25 µg L^{-1} As(III)	0.8883
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 50 µg L^{-1} As(III)	0.9634
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 100 µg L^{-1} As(III)	0.9622

Sonuçlar incelendiğinde düşük derişimlerdeki As(III) çözeltileri ile hazırlanan örnek çözeltilerin 294.36 nm'de elde edilen absorbans değerleri arasında orantısal bir değişimin olduğu fakat diğer örneklerden elde edilen absorpsiyon değerleri arasında orantısal bir değişimin olmadığı ve değerlerin salınım yaptığı görüldü. Bu nedenle 0.01-1 µg L^{-1} As(III) derişimi aralığı daha ayrıntılı olarak çalışılmıştır. (Tablo 6.34.)

Tablo 6.34. Amonyumprolidinditiyokarbomatın AsO_3^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	294.36 nm Absorpsiyon
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.01 µg L^{-1} As(III)	0.4318
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.02 µg L^{-1} As(III)	0.4179
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.05 µg L^{-1} As(III)	0.5722
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.1 µg L^{-1} As(III)	0.3825
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.25 µg L^{-1} As(III)	0.3810
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.5 µg L^{-1} As(III)	0.3993
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 0.75 µg L^{-1} As(III)	0.3362
1 mL 500 mg L^{-1} APDC + 7 mL 1 µg L^{-1} As(III)	0.4179

Sonuçlar incelendiğinde düşük derişimlerdeki As(III) çözeltileri ile hazırlanan örnek çözeltilerin 294.36 nm'de elde edilen absorpsiyon değerleri arasında orantısal bir değişimin olmadığı ve değerlerin salınım yaptığı görüldü. APDC İle As(III) asidik bölgede asetat tamponu ortamında UV/Vis spektrofotometresinde fark edilebilecek herhangi bir etkileşimde bulunmadı.

6.3.7 Tetrabutilamonyumbromür (TBAB) ile AsO_3^{3-} ve AsO_4^{3-} Etkileşiminin İncelenmesi

TBAB ile AsO_3^{3-} ve AsO_4^{3-} etkileşimini görmek amacıyla 500 mg L^{-1} As(III), 500 mg L^{-1} As(V) ve 1000 mg L^{-1} TBAB çözeltileri kullanılmıştır. Örnek çözeltilerin hazırlanışı ve maximum absorbsiyonun görüldüğü 202 nm'de elde edilen sonuçlar Tablo 6.35.'de verilmiştir.

Tablo 6.35. Tetrabutilamonyumbromürün AsO_3^{3-} ve AsO_4^{3-} etkileşimi ile ilgili absorbans değerleri.

Örnek Çözelti	202.38 nm Absorbans
2 mL 1000 mg L^{-1} TBAB + 0.2 mL saf su	2.8372
2 mL 1000 mg L^{-1} TBAB + 0.2 mL 500 mg L^{-1} As(III)	3.0542
2 mL 1000 mg L^{-1} TBAB + 0.2 mL 500 mg L^{-1} As(V)	2.7507

Elde edilen absorbans değerleri incelendiğinde suyla ve As çözeltileriyle hazırlanan örnek çözeltiler arasında önemli bir farklılığın olmadığı görüldü. TBAB ile As UV/Vis spektrofotometresinde fark edilebilecek herhangi bir etkileşimde bulunmadı.

Sonuç olarak; UV/Vis spektrofotometresi kullanılarak yapılan bu çalışmalarda çeşitli çözgen ortamlarında ve pH noktalarında inorganik As(III)'ün DPPC, PPTS, TBACl, PTSA, DSPP, APDC ve TBAB maddeleri ile UV/Vis spektrofotometresi ile gözlenebilecek herhangi bir kompleks oluşumunun gerçekleşmediği görülmüştür.

7 SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Literatürde arsenik bileşiklerinin türlendirilmesi genel olarak HG-AAS ve farklı detektör sistemleriyle birleştirilmiş ayırma teknikleri ile ppb ve ppt seviyelerinde gerçekleştirilmiştir. Arsenik türlemeleri için kullanılan en yaygın ayırma teknikleri gaz ve sıvı kromatografileridir [6,7]. Gaz kromatografisinde (GC) analitin uçucu türlerini elde etmek için ilk olarak türevlendirme adımlarına ihtiyaç duyulduğundan daha çok sıvı kromatografi (LC) tercih edilir [6]. Sıvı kromatografinin en yaygın kullanılanları iyon-çifti kromatografisi (IP-HPLC) ve iyon değişim kromatografisi (IE-HPLC) dir [7].

Klasik ODS ve CN kolonu ile HPLC-UV/Vis sistemi kullanılarak sulu ortamda arsenik bileşiklerinin türlendirilmesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmada ODS veya CN HPLC kolonu kullanılarak inorganik arsenik bileşiklerinin türlendirilmesi amaçlanmış ancak bu aşamada türlendirme işlemi gerçekleştirilememiştir. Fakat bu tezin diğer bir bölümü olan UV/Vis çalışmalarında inorganik arsenik bileşiklerinin Ag-DDTC ligantı ile uygun şartlarda kompleksini oluşturarak türlendirilmesi ile ucuz maliyetle, ppb seviyesinde, doğruluk ve kesinliği yüksek analiz imkanı sunan bir yöntem ortaya koyulmuştur.

Bu çalışmada UV/Vis spektrofotometresi ile inorganik As(III) ve toplam inorganik arsenik tayini için optimizasyon çalışmaları yapılarak uygun şartlar belirlendi. As(III) tayininde Ag-DDTC çözeltisi konsantrasyonu % 0.50 (m/v), $NaBH_4$ çözeltisi konsantrasyonu % 3.00 (m/v) ve arsenik çözeltilerine her bir denemede ilave edilmesi gereken K_2HPO_4/KH_2PO_4 tamponunun pH'ı 6.5 olarak belirlendi. As(III) tayini amacıyla yapılan kalibrasyon çalışmasında 1-50 µg L^{-1} konsantrasyon aralığında iyi bir doğrusallığa sahip, korelasyon katsayısı 0.9998 olan bir kalibrasyon eğrisi elde edildi. Örnek çözelti olarak kullanılan 5 µg L^{-1} As(III) ve 5 µg L^{-1} As(V) içeren çözeltinin 3 tekrar ölçümünde elde edilen ortalama absorbans değeri 0.0112, standart sapma değeri 0.0005 olarak bulundu. Bu absorbans değerine karşılık gelen As(III) konsantrasyonu 4.89 µg L^{-1}, bağıl hatası % 2.20 olarak hesaplandı. Toplam arsenik tayininde Ag-DDTC çözeltisi konsantrasyonu % 0.50 (m/v), $NaBH_4$ çözeltisi konsantrasyonu % 1.00 (m/v) ve arsenik çözeltilerinin optimum HCl konsantrasyonu 1.00 M olarak belirlendi. Toplam arsenik tayini amacıyla yapılan bu çalışmada 1-50 µg L^{-1} konsantrasyon aralığında iyi bir doğrusallığa sahip, korelasyon katsayısı 0.9998 olan bir kalibrasyon eğrisi elde edildi. Örnek çözelti olarak kullanılan 5 µg L^{-1} As(III) ve 5 µg L^{-1} As(V) içeren çözeltinin 3 tekrar ölçümünde elde edilen ortalama absorbans değeri 0.0216, standart sapma değeri 0.0006 olarak bulundu. Bu absorbans değerine karşılık gelen toplam arsenik konsantrasyonu 10.09 µg L^{-1}, bağıl hatası % 0.90 olarak hesaplandı. Daha sonra elde edilen toplam arsenik konsantrasyonundan, As(III) konsantrasyonu çıkarılarak As(V) konsantrasyonu 5.20 µg L^{-1}, bağıl hatası % 4.00 olarak

hesaplandı. LOD (limit of detection) değeri 0.04 µg L^{-1}, LOQ (limit of quantification) değeri 0.13 µg L^{-1} olarak belirlenen bu yöntemin doğruluk ve kesinliği yüksek olup gerçek numunelere güvenilir bir şekilde uygulanabilir.

Fakat farklı hareketli fazların ve farklı kolonların kullanılmasıyla yapılan inorganik arsenik HPLC türlendirme çalışmalarında piridin ve Ag-DDTC çözeltisinin HPLC-UV/Vis sisteminde geniş bir dalga boyu aralığında absorpsiyon yaptığı, As-DDTC kompleks maddesinin birçok hareketli faz ortamında çöktüğü, As-DDTC kompleks maddesinin ODS ve CN kolonda çok fazla tutunduğu, nano boyutta Ag parçacıkların kolondan geçmediği ve bu ihtimallere bağlı olarak istenilen keskin As-DDTC kompleks pikinin elde edilemediği görüldü. Sonuç olarak; sulu ortamda bulunan inorganik arsenik bileşiklerinin ters faz HPLC-UV/Vis sistemi ile türlendirilmesi bu aşamada gerçekleştirilemedi.

Son olarak, çeşitli çözgen ortamlarında ve pH noktalarında inorganik AsO_3^{3-} ün DPPC, PPTS, TBACl, PTSA, DSPP, APDC ve TBAB maddeleri ile UV/Vis spektroskopisi ile gözlenebilecek bir kompleksin oluşup oluşmadığı üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, AsO_3^{3-} ün seçilen ligandlar ile UV/Vis dedektörü ile görülebilecek türden bir kompleks oluşturmadığı görülmüştür.

Yine inorganik türlerinin sulu ortamlarda oksi-anyonları şeklinde bulunmalarından dolayı oksijene ilgisi yüksek bir elementi içeren bir organik bileşik ile kompleks oluşturularak, kompleksin HPLC sisteminde ODS ve CN kolonları üzerinde ayrılması ve sonrasında UV/Vis dedektör sisteminden farklı bir dedektör (örneğin kütle veya amperometrik vb) ile çalışmalar sürdürülebilir.

8 KAYNAKLAR

1. Yagmur, F., Hanci, İ.H., Arsenik, *Sted*, 11(7):250-251, 2002.
2. Yüksel, B., Saç Örneklerinde arsenik düzeyinin belirlenmesi, Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, 2008.
3. Tünay, Z., Katodik Sıyırma Voltammetrisi (CSV) ile arsenik tayini, kemometrik yaklaşım ve uygulamaları, Yüksek lisans tezi, Balıkesir Üniversitesi, 2003.
4. Mays, D.E., Hussam, A., Voltammetric methods for determination and speciation of inorganic arsenic in the environment-A review, *Analytica Chimica Acta*, 646:6-16, 2009.
5. Ng, J.C., Wang, J., Shraim, A., A global health problem caused by arsenic from natural sources, *Chemosphere*, 52:1353-1359, 2003.
6. Terlecka, E., Arsenic speciation analysis in water samples: A review of the hyphenated techniques*, Environmental Monitoring and Assessment*, 107:259-284, 2005.
7. Hymer, C.B., Caruso, J.A., Arsenic and its speciation analysis using high-performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1045:1-13, 2004.
8. Kobya, M., Gebologlu, U., Ulu, F., Oncel, S., Demirbas, E., Removal of arsenic from drinking water by the electrocoagulation using Fe and Al electrodes, *Electrochimica Acta*, 56:5060-5070, 2011.
9. Sağlık Bakanlığı, İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik, 17 Şubat 2005.
10. Mandal, B.K., Suzuki, K.T., Arsenic round the world: A review*, Talanta*, 58:201-235, 2002.
11. Özdağ Höl, A., İnorganik arsenik deriştirilmesi ve tayini, Yüksek lisans tezi, Pamukkale Üniversitesi, 2005.
12. Leermakers, M., Baeyens, W., De Gieter, M., Smedts, B., Meert, C., De Bisschop, H.C., Morabito, R., Quevauviller, P.H., Toxic arsenic compounds in environmental samples: Speciation and validation, *Trends in Analytical Chemistry*, 25:1, 2006.
13. Burguera, M., Burguera, J.L., Analytical methodology for speciation of arsenic in environmental and biological samples*, Talanta*, 44:1581-1604, 1997.
14. Chen, C.J., Wu, M.M., Lee, S.S., Wang, J.D., Cheng, S.H., Wu, H.Y., Atherogenicity and carcinogenicity of high-arsenic artesian well water multiple risk factors and related malignant neoplasms of blackfoot disease, *Journal of the American Heart Association*, 8:452-460, 1988.
15. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service , Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile For Arsenic, *Atlanta*, August 2007.

16. Simon, S., Tran, H., Pannier, F., Potin-Gautier, M., Simultaneous determination of twelve inorganic and organic arsenic compounds by liquid chromatography-ultraviolet irradiation-hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1024:105-113, 2004.

17. Sun, B., Macka, M., Haddad, P.R., Speciation of arsenic and selenium by capillary electrophoresis*, Journal of Chromatography A*, 1039:201-208, 2004.

18. Hung, D.Q., Nekrassova, O., Compton, R.G., Analytical methods for inorganic arsenic in water: a review, *Talanta*, 64:269-277, 2004.

19. Sigrist, M.E., Beldomenico, H.R., Determination of inorganic arsenic species by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry with variable sodium tetrahydroborate concentrations, *Spectrochimica Acta Part B*, 59:1041-1045, 2004.

20. Öztürk, R., Manisa ve bazı ilçelerin yeraltı ve içme sularında arsenik miktarının tayini, Yüksek lisans tezi, Celal Bayar Üniversitesi, 2009.

21. Raposo, J.C., Sanz, J., Zuloaga, O., Olazabal, M.A., Madariaga, J.M., Validation of the thermodynamic model of inorganic arsenic in non polluted river waters of the Basque country (Spain), *Talanta*, 63:683-690, 2004.

22. Hopenhayn, C., Huang, B., Christian, J., Peralta, C., Ferreccio, C., Atallah, R., Kalman, D., Profile of urinary arsenic metabolites during pregnancy, *Environ Health Perspect*, 111:1888-1891, 2003.

23. Tokunaga, H., Roychowdhury, T., Chandraskaran, N., Uchino, T., Ando, M., Urinary arsenic species in an arsenic-affected area of West Bengal India, *Applied Organometallic Chemistry*, 16:406-414, 2002.

24. Loffredo, C.A., Aposhian, H.V., Cebrian, M.E., Yamauchi, H., Silbergeld, E.K., Variability in human metabolism of arsenic, *Environmental Research*, 92:85–91, 2003.

25. López-García, I., Briceno, M., Hernández-Córdoba, M., Non-chromatographic screening procedure for arsenic speciation analysis in fish-based baby foods by using electrothermal atomic absorption spectometry, *Analytica Chimica Acta*, 699:11-17, 2011.

26. Garcia-Salgado, S., Quijano, M.A., Bonilla, M.M., Arsenic speciation in edible alga samples by microwave-assisted extraction and high performance liquid chromatography coupled to atomic fluorescence spectrometry, *Analytica Chimica Acta,* 714:38-46, 2012.

27. Chen, G., Chen, T., SPE speciation of inorganic arsenicin rice followed by hydride-generation atomic fluorescence spectrometric quantification, *Talanta*, 119:202-206, 2014.

28. Abdolmohammad-Zadeh, H., Jouyban, A., Amini, R., Ultratrace determination of arsenic in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after pre-concentration with Mg–Al–Fe ternary layered doublehydroxide nano-sorbent, *Talanta*, 116:604-610, 2013.

29. Butwong, N., Srijaranai, S., Ngeontae, W., Burakham R., Speciation of arsenic (III) and arsenic (V) based on quenching of CdS quantum dots fluorescence using hybrid sequential injection–stopped flow injection gas–diffusion system, *Spectrochimica Acta*, 97:17-23, 2012.

30. Moreira, C.M., Duarte, F.A., Lebherz, J., Pozebon, D., Flores, E.M.M., Dressler, V.L., Arsenic speciation in white wine by LC–ICP–MS, *Food Chemistry*, 126:1406-1411, 2011.

31. Santos, C.M.M., Nunes, M.A.G., Barbosa, I.S., Santos, G.L., Peso-Aguiar, M.C., Korn, M.G.A., Flores, E.M.M., Dressler, V.L., Evaluation of microwave and ultrasound extraction procedures for arsenic speciation in bivalve mollusks by liquid chromatography–inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Spectrochimica Acta*, 86:108-114, 2013.

32. Yang, G., Zheng, J., Chen, L., Lin, Q., Zhao, Y., Wu, Y. Fu, F., Speciation analysis and characterisation of arsenic in lavers collected from coastal waters of Fujian, south-eastern China, *Food Chemistry*, 132:1480-1485, 2012.

33. Mao, X., Chen, B., Huang, C., He, M., Hu, B., Titania immobilized polypropylene hollow fiber as a disposable coating for stir bar sorptive extraction–high performance liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry speciation of arsenic in chicken tissues, *Journal of Chromatography A*, 1218:1-9, 2011.

34. Wolle, M.M., Mizanur Rahman, G.M., Kingston, H.M.S., Pamuku, M., Speciation analysis of arsenic in prenatal and children's dietary supplements using microwave-enhanced extraction and ion chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 818:23-31, 2014.

35. Higashi, N., Kaneta, T., Takeyasu, N., Motomizu, S., Speciation of arsenic in a thermoacidophilic iron-oxidizing archaeon, Acidianus brierleyi, and its culture medium by inductively coupled plasma–optical emission spectroscopy combined with flow injection pretreatment using an anion-exchange mini-column, *Talanta*, 122:240-245, 2014.

36. Chu, Y., Jiang, S., Speciation analysis of arsenic compounds in edible oil by ion chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1218:5175-5179, 2011.

37. Liu, L., He, B., Yun, Z. Sun, J., Jiang, G., Speciation analysis of arsenic compounds by capillary electrophoresis on-line coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry using a novel interface, *Journal of Chromatography A*, 1304:227-233, 2013.

38. Punrat, E., Chuanuwatanakul, S., Kaneta, T., Motomizu, S. Chailapakul, O., Method development for the determination of arsenic by sequential injection/anodic stripping voltammetry using long-lasting gold-modified screen-printed carbon electrode, *Talanta*, 116:1018-1025, 2013.

39. Asodollahzadeh, M., Tavakoli, H., Mostaedi, M.T., Hosseini, G., Hemmati, A,Response surface methodology based on central composite design as a chemometric tool for optimization of dispersive-solidification liquid–liquid microextraction for speciation of inorganic arsenic in environmental water samples, *Talanta*, 123:25-31, 2014.

40. Matusiewicz, H., Slachcinski, M., Development of a new hybrid technique for inorganic arsenic speciation analysis by microchip capillary electrophoresis coupled with hydride generation microwave induced plasma spectrometry, *Microchemical Journal*, 102:61-67, 2012.

41. Henden, E., Cataloglu, R., Aksuner, N., Determination of arsenic leaching from glazed and non-glazed Turkish traditional earthenware, *Science of the Total Environment*, 409:2993-2996, 2011.

42. Aksuner, N., Tirtom, V.N., Henden, E., Arsenic and antimony determination in refined and unrefined table salts by means of hydride generation atomic absorption spectrometry–comparison of sample decomposition and determination methods, *Turk J Chem*, 35:871-880, 2011.

43. Çiftçi, T.D., Yayayürek, O., Henden, E., Study of arsenic(III) and arsenic(V) removal from waters using ferric hydroxide supported on silica gel prepared at low pH, *Environmental Technology*, 32:341-351, 2011.

44. Skoog AD, Holler J, Nieman TA, In: Kılıç E, Köseoglu F, Yılmaz H, editors. Enstrümental Analiz İlkeleri, Bilim Yayınları, Ankara, 1997.

45. Arbab-Zavar, M.H., Hashemi, M., Evaluation of electrochemical hydride generation for spectrophotometric determination of As(III) by silver diethyldithiocarbamate, *Talanta,* 52:1007–1014, 2000.

46. Arbab-Zavar, M.H., Chamsaz, M., Heıdarı, T., Speciation and analysis of arsenic(III) and arsenic (V) by electrochemical hydride generation spectrophotometric method, *Analytical Sciences*, 26:107-110, 2010.

47. European Salt Producers Association. Determination of arsenic silver diethyldithiocarbamate photometric method, EuSalt/AS 011, 2005.

9 ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Ad Soyad	:	Mertcan ÖKSÜZ
Uyruğu	:	T.C
Doğum Yeri	:	Samsun
Doğum Tarihi	:	13.11.1985
Askerlik Durumu	:	Yapıldı
Medeni Durumu	:	Evli

EĞİTİM DURUMU

1999-2003	:	Tülay Başaran Anadolu Lisesi
2004-2008	:	Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
2010-2014	:	Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Yüksek Lisans Öğrencisi