

**FOSFATIN  
DOLAYLI ATOMİK ABSORPSİYON  
SPEKTROMETRİK TAYİNİ İÇİN BİR YOL:  
PİRİDİNYUMFOSFOMOLİBDAT ÇÖKTÜRMESİ**

**Muhammed NALBANT  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA ANABİLİM DALI  
2007**

**FOSFATIN DOLAYLI ATOMİK  
ABSORPSİYON SPEKTROMETRİK TAYİNİ İÇİN BİR YOL:  
PİRİDİNYUMFOSFOMOLİBDAT ÇÖKTÜRMESİ**

**Muhammed NALBANT**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA ANABİLİM DALI**

**Danışman:**

**Yrd. Doç. Dr. Cemalettin Uyan**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ' NE**

Bu çalışma, jürimiz tarafından, Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Meltem SARIOĞLU CEBECİ  
Üye : Yrd. Doç. Dr. Adil ELİK  
Üye : Yrd. Doç. Dr. Cemalettin UYAN

**ONAY**

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

..../.../2007

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

.....

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosunun 05.01.1984 tarihli toplantısında kabul edilen ve daha sonra 30.12.1993 tarihinde C.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'nce hazırlanan ve yayınlanan "Yüksek Lisans ve Doktora Tez Yazım Kılavuzu" adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Bu tez çalışması CÜBAP komisyonunun F-210 no' lu kapsamınca desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
SUMMARY .....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Genel Giriş. ....	1
1.2. Dolaylı Atomik Absorpsiyon Spektrometrik Analiz.....	2
1.2.1. Tarihçe.....	2
1.2.2. Dolaylı AAS yöntemlerinin genel ilkesi .....	3
1.2.3. Dolaylı AAS yöntemlerinin genel yönleri.....	4
1.2.4. Dolaylı AAS yöntemlerinin sınıflandırılması.....	4
1.2.4.1. Çöktürme yöntemi .....	5
1.2.4.2. Metal kompleksi oluşturma yöntemi .....	6
1.2.4.3. Heteropoliasit bileşiği oluşturma yöntemi.....	9
1.2.4.4. Redoks yöntemi .....	10
1.2.4.5. Atomizasyon hücresinde bileşik oluşumuna dayalı yöntem.....	10
1.3. Fosfor Biyokimyası .....	11
1.3.1. Tanım.....	11
1.3.2. Fosfor döngüsü .....	14
1.3.3. Fosfor besin kaynakları .....	14
1.3.4. Normal fosfor homeostazı .....	15
1.3.4.1. Toplam vücut fosforu .....	15

1.3.4.2. Fosfor alımı, emilim ve dağılımı .....	16
1.3.4.2.1. Fosfor alımı.....	16
1.3.4.2.2. Barsaklardan fosfor emilimi .....	16
1.3.4.2.3. Plazma ve hücreler arasında fosforun dağılımı .....	17
1.3.4.3. Böbreklerden fosfor atılımı .....	17
1.3.4.3.1. Fosforun geri emilim mekanizmaları ve yerleri.....	17
1.3.4.4. Plazma fosfor derişimindeki değişiklere yanıt .....	18
1.3.5. Hipofosfatemi .....	18
1.3.6. Hiperfosfatemi .....	19
1.4. Bazı Fosfor Bileşikleri ve Çevre Sorunu .....	20
1.4.1. Fosforun yer kabuğunda bulunuşu ve eldesi .....	20
1.4.2. Fosforun çevre sorunu ile ilgili bileşik ve ürünleri .....	20
1.4.2.1. Fosforik asit .....	22
1.4.2.2. Fosfat gübreleri .....	23
1.4.2.3. Organofosfatlar (Fosfor içeren pestisitler) .....	24
1.4.2.4. Deterjanlar .....	24
1.4.3. Fosforla ilgili çevre sorunu .....	25
1.4.3.1. İçme suyu ve fosfat .....	25
1.4.3.2. Atık suların arıtılması.....	26
1.4.3.3. Çamurun gübre değeri.....	27
1.4.3.4. Kazan suyu .....	27
1.4.3.5. Fosfor verilerinin kullanımı .....	27
1.5. Fosfat Tayin Yöntemleri .....	28
1.5.1. AOAC fosfat tayin yöntemleri .....	28
1.5.1.1. Gravimetrik quinolimyum molibdofosfat yöntemi .....	29
1.5.1.2. UV-GÖR spektrometrik ve kolorimetrik AOAC tayin yöntemleri.....	29
1.5.1.2.1. Ortak kimyasal temel .....	29
1.5.1.2.2. UV-GÖR spektrometrik / kolorimetrik yöntemlerin alt kolları .....	31

1.5.2. Fosfatın dolaylı AAS tayin yöntemleri .....	32
1.5.2.1. Fosfomolibdata dönüştürmeye dayalı dolaylı AAS yöntemleri .....	32
1.5.2.2. Fosfatın, fosfomolibdata dönüştürmeye dayalı diğer dolaylı AAS yöntemleri.....	34
1.5.2.3. Fosfatın, fosfomolibdata dönüştürme dışında diğer dolaylı AAS tayin yöntemleri .....	35
1.5.3. Fosforun doğrudan AAS tayini .....	35
1.6. Tezin Amacı .....	35
2. YÖNTEM VE TEKNİKLER .....	38
2.1. Yer ve Tarih.....	38
2.2. Geliştirilen Yöntemin Temel İlkesi .....	38
2.3. Optimizasyon.....	39
2.3.1. Ürünü ayırma .....	39
2.3.2. Ürünü oluşturmada kullanılan reaktif ve örnek hacimleri ve ekleme sırası .....	40
2.3.3. Ürünü oluşturmada kullanılan reaktiflerin ekleme sırası .....	40
2.3.4. Çöktürme yönteminde ortam asitliğinin belirlenmesi .....	40
2.3.5. Optimal piridin derişimi .....	42
2.3.6. Oluşturulan çökelek için çözücü seçimi .....	42
2.3.7. Final hacmin belirlenmesi .....	42
2.4. Geliştirilen / Önerilen Yöntem .....	44
2.4.1. Araç ve gereçler .....	44
2.4.2. Reaktifler .....	44
2.4.3. Önerilen/geliştirilen yöntemin yapılışı / standart işlemler .....	45
2.4.4. Kola örneklerine uygulanması.....	46
2.4.5. Gübre örneklerine uygulanması.....	47



3. BULGULAR .....	50
3.1. Ayar Eğrisi .....	50
3.2. Kesinlik/Tekrarlanabilirlik.....	51
3.3. Duyarlık .....	54
3.4. Doğruluk .....	55
3.5. Standartların Kararlılığı .....	57
4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	59
4.1. Kesinlik / Tekrarlanabilirlik.....	59
4.2. Çalışma Aralığı .....	59
4.3. Duyarlık .....	59
4.4. Kararlılık.....	60
4.5. Doğruluk .....	60
4.6. Genel Sonuç .....	61
5. KAYNAKLAR.....	62
6. ÖZGEÇMİŞ.....	65

**ÖZET****Yüksek Lisans Tezi****FOSFATIN DOLAYLI ATOMİK  
ABSORPSİYON SPEKTROMETRİK TAYİNİ İÇİN BİR YOL:  
PİRİDİNYUMFOSFOMOLİBDAT ÇÖKTÜRMEŞİ****Muhammed NALBANT****Cumhuriyet Üniversitesi****Fen Bilimleri Enstitüsü****Kimya Anabilim Dalı****Danışman: Yrd. Doç. Dr. Cemalettin UYAN**

Bu tezde fosfat tayini için çözücü ekstraksiyonu gerektirmeyen, çöktürmeye dayalı, çöktürücü olarak piridinin kullanıldığı bir dolaylı atomik absorpsiyon spektrometrik (AAS) yöntemi geliştirildi. Bu yöntemi oluşturan adımlar, fosfatın fosfomolibdik asit (FMA) haline dönüştürülüp piridin ile çöktürülmesi, oluşan piridinyumfosfomolibdat çökeleğinin santrifüjlenerek ayrılması, çökeleğin çözülmesi, oluşan çözeltilerin AAS'de 313,3 nm' de molibden absorbansının okunmasıdır. Ayar eğrisi standart fosfor derişimine (ortofosfata eşdeğer olan, çözünür fosfora ait) karşı molibden absorbans sinyallerini gösterecek şekilde oluşturuldu. Kullanılır aralık 5-30 µg/mL P olarak belirlendi. Yöntem kola içeceklerine ve çözünür fosfor içeren gübre örneklerinin analizi için uygulandığında doğruluk ve kesinlik açısından iyi sonuçlar elde edildi.

**Anahtar Kelimeler: Dolaylı AAS analizi, Fosfomolibdat çökmesi, Fosfat tayini.**

**SUMMARY****MsC Thesis****A METHOD FOR INDIRECT ATOMIC ABSORPTION  
SPEKTROMETRIC DETERMINATION OF PHOSPHATE:  
PYRIDINIUMPHOSPHOMOLYBDATE PRECIPITATION****Muhammed NALBANT****Cumhuriyet University****Graduate School of Natural and Applied Sciences****Department of Chemistry****Supervisor: Assistant Professor Cemalettin UYAN**

**In this thesis, an indirect AAS method based on precipitation and using pyridine as a precipitating reagent for the determination of phosphate was developed without need to any extraction procedure. The steps forming this method are its precipitation with pyridine after the conversion of phosphate into phosphomolybdic acid, separation of the formed pyridinium phosphomolybdate precipitate and measurement of molybdenum absorbance at 313,3 nm by AAS. Calibration curve was prepared by plotting the absorbance signal of molybdenum the phosphorus concentration (equivalent to orthophosphate and relation to soluble phosphorus). The quantitative concentration range is 5-30 µg/mL P. The better results were obtained in view of accuracy and precision when the developed method was applied to the beverages with coca-cola and fertilizer samples containing soluble phosphorus.**

**Key Words: Indirect AAS analysis, phosphomolybdate precipitate, phosphate determination.**

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez, bütün kötü koşullara ve olumsuzluklara rağmen büyük uğraşlarla ve fedakârlıklarla çalışılmıştır. Her ne kadar araştırma süresi uzun sürse de bu tezde yer alan bilgiler dışındaki ön deneme ve çalışmalar ile birçok veriye ve daha sonraki çalışmalara ilham olacak birçok sonuca ulaşılmıştır. Çalışma için gerekli olan AAS ve santrifüj gibi makineler ile uzun uğraşlar sonucu optimum koşullar belirlendi ve bu tez tamamlandı.

Gece geç saatlere kadar süren çalışmalarında yanımda olan, sonuçlara beraber üzülüp beraber sevindiğim, hiçbir tereddütte bulunmadan büyük fedakârlıklar gösteren ve gecenin sonunda beni evime kadar bırakan Sn. Yrd. Doç. Dr. Cemalettin UYAN' a sonsuz teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Çalışmakta olduğum Anadolu Tıp Teknolojileri A.Ş.' de benden desteklerini hiç esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma ve gerektiğinde tezim için vakit ayırmamı sağlayan şirket yöneticilerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

AAS okumalarında, tezin sonuçlanmasını büyük emeği olan M.T.A. Genel Müdürlüğü MATLAB Daire Başkanlığı'nda görev yapan, Analiz Laboratuvarları Koordinatörü Sn. Sema ATLIHAN' a AAS okumaları öncesi her defasında gösterdiği anlayış ve yardımlardan dolayı teşekkür etmeyi görev bilirim.

Yüksek lisans çalışmalarında M.T.A.' ya çözümleri taşıyan ve beni şartsız maddi manevi destekleyen aileme bu çalışmayı armağan etmekten kıvanç duyarım.

Muhammed NALBANT

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

Şekil 1.1. Bazı inorganik anyonların çöktürme yoluyla dolaylı AAS tayinleri .....	6
Şekil 1.2. İnorganik anyonların metal kompleksleri oluşturma yolu ile dolaylı AAS tayinleri için genel bir şema.....	8
Şekil 1.3. Heteropoliasit bileşikler oluşturma yolu ile ortofosfatın AAS tayinleri için genel bir şema.....	10
Şekil 1.4. Çevre açısından fosfor türlerinin sınıflandırılması. ....	21
Şekil 1.5. Tripolifosfat iyonu. ....	25
Şekil 2.1. Ortam asitliği (M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) absorbanans Mo grafiği.....	41
Şekil 2.2. AAS' de Mo ayar eğrisi. ....	43
Şekil 3.1. Geliştirilen yönteme ait ayar eğrisi. ....	50

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Vücuttaki bazı mineraller ve buldukları yerler. ....	12
Çizelge 1.2. Günlük gerekli mineral düzeyleri.....	13
Çizelge 1.3. Çevre uygulamalarında en sık kullanılan fosfor bileşikleri. ....	21
Çizelge 2.1. Ortam asitliğinin çökmeye etkisi. ....	41
Çizelge 2.2. Reaktiflerin ekleme sırası, hacim ve derişimleri.....	42
Çizelge 3.1. Ayar eğrisinin özellikleri .....	51
Çizelge 3.2. Geliştirilen yönteme ait sinyallerin kesinliği ile ilgili bulgular. ....	52
Çizelge 3.3. Geliştirilen yönteme ait derişimin kesinliği ve güven aralığı ile ilgili bulgular.....	54
Çizelge 3.4. Geliştirilen yöntemin duyarlılığı ile ilgili bulgular bilgileri. ....	55
Çizelge 3.5. Geliştirilen yöntemin doğruluğu ile ilgili bulgular. ....	57
Çizelge 3.6. Değişik zamanlarda okuma yapılan standartlara ilişkin veriler . ....	58

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

AAS	: Atomik Absorbsiyon Spektrometresi/Spektrometrisi/Spektrometrik
Abs	: Absorbans
AE	: Ayar Eğrisi
AOAC	: Association Of Analytical Chemists
bk	: Bakınız
BSS	: Bağlı Standart Sapma
dk	: Dakika
Eks	: Ekstraksiyon
FMA	: Fosfomolibdik asit
Gör	: Görünür
KA	: Kullanılabilir Aralık
MIBK	:Metilizobütilketon
NÖS	: Nicel Ölçüm Sınırı
Org	: Organik
s	: Standart Sapma
UV	: Ultraviyole / morötesi
VIS	: Visible / Görünür

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Genel Giriş

Fosfat uzun zamandan beri değişik amaçlı araştırmalarda ilgi konusu olan kimyasal türlerden biridir. Bu alanlardan biri de analitik yönüyledir. Fosfatla ilgili analitik amaçlı araştırmalar fosfat tayini için yeni yöntem geliştirmeyi veya bilinen bir fosfat tayin yönteminin yeni bir alana uygulanmasını içine alır. Bu araştırmaların en başta nedeni rutin analiz yapan kurumların daha uygun bir fosfat tayin yöntemi taleplerini karşılamaktır. Geliştirilmiş çok sayıda fosfat tayin yöntemi olmasına rağmen bu tür talepler sürmektedir. Bunun nedeni rutin analiz için yöntem seçilirken yöntemlerde öncelikle dikkate alınan özellikler rutin analiz yapan kurumdan kuruma genellikle farklı olmasıdır. Örneğın süper saflıkta bir madde içindeki fosfor kirliliğini tayin etmek için öncelikle aranan özellik ile fosfat gübrelerindeki gibi majör düzeydeki fosfatın tayininde öncelikle aranan özellik farklıdır. İlk tip örnekte yani süper saflıkta bir maddede çok düşük orandaki fosforu tayin etmek için talep edilen yöntem çok duyarlı olmalıdır. İkincisinde ise çok duyarlı yöntem gerekmez. Majör düzeyde fosforun tayini için deney maliyeti duyarlıktan daha çok önem taşır. Bazı proses analizleri için talep edilen analiz yönteminde öncelikle istenen özellik ise hızdır.

Fosfat, bazı endüstriyel ürünlerde (kolalı içecekler, yapay gübreler, deterjanlar, pestisitler gibi) yer alan, insan sağığına ve diğeri canlı organizmalara etkisi önemli olan ve çevre açısından önemi gittikçe artan bir türdür. Bu nedenle fosfat tayinleri bazı ürünlerin kalite kontrolünde, besinlerde, çevre araştırmalarında ve çevre mühendisliğı uygulamalarında önemlidir.

Fosfatla ilgili ilk analizler gravimetrik ve titrimetrik olan klasik yöntemlerle başlamıştır. İlk AOAC (Association of Official Analytical Chemists) fosfat yöntemleri de bu sınıftan olanlardır. Enstrümantal olan AOAC fosfor/fosfat yöntemleri UV-Gör spektrometrik veya kolorimetriktir. Kolorimetrik olanlarda fosfat, asitli ortamda fosfomolibdik asite dönüştürölme sonrası bir indirgenle molibden mavisi oluşturulur. Belirli dalga boylarında absorbans ölçölür. Bu



işlemleri esas alan UV-Gör spektrometrik veya kolorimetrik yöntem kullanılan indirgene göre farklı ad alırlar. Bunlar hakkında daha ayrıntılı bilgi 1.5.1.2.'de verilmiştir.

Gravimetrik fosfat tayinleri önemini yitirmiştir; iz düzeydeki fosfatı tayin edemez, yorucu ve fazla zaman alırlar. AOAC UV-Gör spektrometrik veya kolorimetrik fosfat tayinlerinin hepsi molibden mavisi oluşturmaya dayalı olup bunlarda renk kararlılığının uzun ömürlü olmama dezavantajı vardır; bunlarda örnek ve standartların absorbanslarının bir arada, ardı ardına ölçme zorunluluğu olup yöntem bir örneğe uygulanıp renk oluşturulduğunda aynı anda standartlar için de taze renk oluşturulmalıdır.

Fosfor AAS ile doğrudan tayin edilemez. En duyarlı tayin için rezonans dalga boyu vakum UV bölgesine rastlamaktadır. Bu nedenle düşük duyarlık veren rezonans dalga boyu kullanılmaktadır. Fosfor için nitrözoksit alevinde ve 213,6 nm'de AAS yönteminde sulu örnekte elde edilen normal çalışma aralığı 400–8000 µg/mL P' dir. (Hobbins, 1982). Bu aralığın alt sınırı, iz düzey için kabul edilen üst sınır 100 ppm'in çok üstündedir. Fosfat gibi ametallerden oluşan inorganik anyonlar ile organik türleri tayin etmeyi amaçlayan bir yöntem sınıfı dolaylı AAS'dir; bu yöntem sınıfında analitin bir metalle ilişkisi çoğunlukla metalli bir ürün oluşturma yoluyla kurulur, AAS'de metalin absorbansı ölçülür, sonra bu absorbans ile analit derişimi arasında ilişki kurulur.

Bu tezde yapılan yöntem çalışması dolaylı atomik absorpsiyon spektrometrik analiz sınıfına aittir. Bu sınıf pek bilinmeyen bir yöntem sınıfı olduğundan öncelikle bu yöntem sınıfı hakkında genel bilgi verilmesi uygun görülmüştür.

## **1.2. Dolaylı Atomik Absorpsiyon Spektrometrik Analiz**

### **1.2.1. Tarihçe**

İlk olarak 1968'de yayınlanan bir makalede Christron ve Feldman tarafından organik bileşiklerin ve inorganik anyonların AAS' ile tayin

edilebileceğine işaret edildi. 1973’de Kirkbright ve Tohmson tarafından yayınlanan bir inceleme makalesinde ise o ana kadarki durum özetlendi ve şu iki duruma dikkat çekildi:

- 1) AAS’nin uygulama alanının geliştirilmesi
- 2) AAS’nin duyarlık avantajından faydalanmak için dolaylı AAS yöntemlerinin geliştirilmesi.

Bundan sonra AAS yoluyla dolaylı analizle ilgili daha fazla yayın görüldü. Bunlar arasında organik türde olanlardan formasötiklere karşı özel bir dikkat ve ilgi vardı. (Clark ve Ark, 1984). 1984’te Clark ve Ark 1983 tarafından 1973–1983 arasında organik bileşiklerin dolaylı AAS yoluyla analizi alanındaki çalışmaların bir eleştirel incelemesi yapıldı. Yine buna yakın tarihte Garcia ve Ark tarafından hem organik hem inorganik türler için aynı amaçla ve daha kapsamlı bir makale yayınlandı. (Garcia ve Ark, 1983 a). Bundan sonra literatürde bu alanda bu tür (eleştirel-inceleme) makale bir daha görülmedi. Her iki yılda bir bu alanda yapılan çalışmalara ait makale özetleri periyodik dergilerden Analytical Chemistry’nin Fundamental Review konulu sayılarında (hem bu dergi, hem diğer dergilerdeki çalışmalar) 1984’den başlamak üzere her iki yılda bir verildi (Uyan, 1995). Bu 1996’e kadar sürdü. 1990- 2000 arasındaki dolaylı AAS çalışmaları çoğunlukla daha önce ve genellikle aynı ekip tarafından geliştirilmiş dolaylı AAS yöntemlerinin otomasyonuna yöneliktir. 2002’den sonraki süreçte bu alandaki çalışmalar sürmekte, ancak ilgi fazla olmayıp literatürde yılda birkaç yayın görülecek derecededir.

### **1.2.2. Dolaylı AAS yöntemlerinin genel ilkesi**

Bu yöntemlerde örnekteki analit ile bir metal ile ilişkilendirilir. Bu ilişki kurma yolları çeşitli olmasına rağmen en çok kompleksleşmedir. Oluşturulan ürün genellikle ekstraksiyon yoluyla ayrılır, ayırmalarda çok seyrek olarak çöktürme yoluna rastlanır. Ayırma sonrası harcanan bazen de harcanmayan

metal absorpsiyonu AAS' de okunur. Ayar eğrisi genellikle analit (organik veya inorganik anyon) derişimine karşı metal sinyalinin gösterecek şekilde hazırlanır.

### 1.2.3. Dolaylı AAS yöntemlerinin genel yönleri

Uygulamalarda özellikle ilaç etken maddeleri için farmasotik örneklere sıkça rastlanır. Bunun yanında su örnekleri (atık, içme, endüstri ve deniz suları), bitkisel örnekler, kan, idrar, dışkı, serum, gübre ve hava örnekleri yer alır.

Dolaylı AAS yoluyla tayinleri için yöntem çalışması yapılan organik türler beklenmedik derecede çok ve çeşitlidir. Çalışılan inorganik türler ise sülfat, sülfid, sülfür, nitrat, nitrit, siyanür, tiyosiyanat, halojenür, perklorat, iyodat, arsenat, arsenit, tungstat, vanadat, fosfat anyonlarıdır. Anyonik olmayan inorganik türlerden çalışılanlar ise bor, zirkonyum, amonyaktır.

Bu yöntemlerin verdiği sonuçların resmi yöntemlerinki ile uzlaştığı, hatta onlara göre avantajlı olduğu durumlar vardır. Ancak bu yöntemler spesifik olmadıklarından yalnızca element tayini için olan doğrudan AAS yöntemleri gibi her örnek ortamına uygulanamaz, orijinal örnekte girişim yapan türlere rastlanabileceğinden bunlarla analitin birbirinden ayrılmasını gerektirebilir. Standart yöntem olarak seçilmiş birkaç dolaylı AAS yöntemi vardır. Bunlar idrarda oksalik asit tayini, gübrelerde biüret tayini ve ilaç örneklerinde kloramfenikol denilen antibiyotik tayinidir.

### 1.2.4. Dolaylı AAS yöntemlerinin sınıflandırılması

Bu alandaki yöntemler altı ana sınıfa ayrılabilir.

- 1- Çöktürme yöntemi
- 2- Metal kompleks oluşturma yöntemi
- 3- Heteropoli asit oluşturma yöntemi
- 4- Redoks yöntemi
- 5- Atomizasyon hücresinde bileşik oluşumuna dayalı yöntemler
- 6- Uçucu bileşik oluşturma yöntemi.

Yukarıda belirtilen her bir ana yöntemde çeşitli alt yöntemlere ayrılır. İlerideki sayfalarda görülebileceği gibi bu alandaki alt yöntemlerin çeşitliliği beklenmedik derecede çoktur.

#### **1.2.4.1. Çöktürme yöntemi**

Bu yöntemler genellikle bir anyonun (inorganik veya organik türde) sulu ortamda ve belirli derişimde bir metal katyonuyla bir çözünmez iyonik bileşik vermesine dayanır. Bu bileşimin çözünürlüğü çok düşük olmalıdır. Bu yöntemlerden metalin bilinen derişimi anyona göre aşırı olmalıdır. Çünkü analit durumunda olan anyonun tamamen çökmesi gerekir. Bundan sonra karışım süzülür veya santrifüjlenir ve harcanmamış metalin veya çökeltiden metalin AAS'de absorbanısı okunur. Genelde bu yöntemler eğer ortamda metalle çöken başka anyonlar olmazsa spesifikdir. Anyon içeren çözeltide katyonlardan gelen girişimlerden bir katyon değiştirici kullanılarak kolaylıkla sakınılabılır.

Bu yöntem metalin AAS okunma tarzına göre iki alt yönteme ayrılır:

- 1) Metalin aşırısının tayinine dayalı.
- 2) Çöktürülen metalin tayinine dayalı.

Şekil-1'de inorganik anyonların tayiniyle ilgili bir şema verilmiştir.

##### **a) Aşırı / artan metalin tayini**

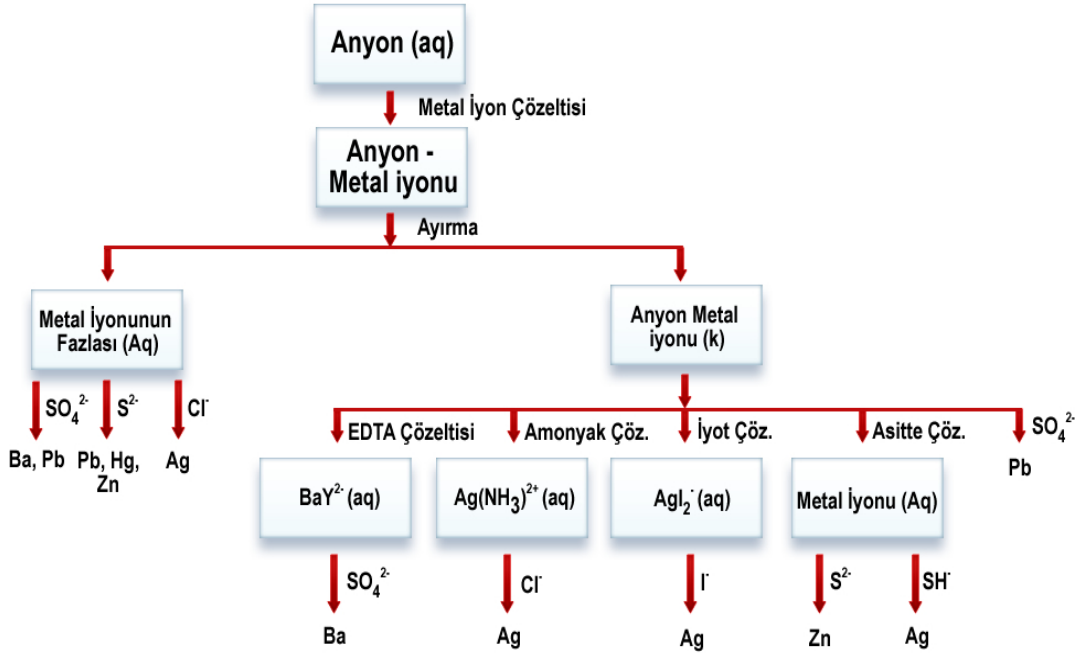
Çökme ürünü oluşturulup çökeleği ayırma sonrası çökeleğin üstündeki harcanmamış metal iyonu içeren çözelti alınır. Buradaki metale ait AAS'de absorbanısı okunur.

Analit derişimi belirlenirken iki farklı yol izlenir. Birinde, anyona ait standart çözeltiler hazırlanıp anyon derişimine karşı metal sinyallerinin grafiğe geçirilmesiyle anyon eğrisi oluşturulur. Diğerinde ise metale ait standart çözeltiler hazırlanır. Bunun yardımıyla harcanmamış metali içeren çözeltide metal tayin edilir. Metalin başlangıçtaki derişimi belli olduğundan aradaki fark harcanan kısmı verir. Metalin harcanan kısmından stokiyometrik faktör kullanılarak anyon

miktarı belirlenir. Aşırı metal tayinine dayalı olarak yapılan tayinlerden kayda geçenler kükürt ve klorür tayinleridir.

### b) Çöktürülen metali tayin etme yolu

Bu dolaylı yöntemler bir çözünmez bileşiğin oluşumunu ve bunun ayrılması işlemini içine alır. Ayrılan çökelek çözülüp metal AAS'de tayin edilir. Bu yöntemlerin bir avantajı önceki yollara göre eklenen metalin o kadar kritik olmamasıdır. Buna rağmen daha fazla el becerisi gerektirir. Çökeleği çözme yoluna göre alt yollara ayrılmıştır (bk Şekil 1.1)



Şekil 1.1. Bazı inorganik anyonların çöktürme yoluyla dolaylı AAS tayinleri (Garcia ve Ark, 1983 b).

### 1.2.4.2. Metal kompleksi oluşturma yöntemi

Bu yöntemlerde analit bir veya iki reaktifle etkileşir. Oluşan metalli ürünler üç tipte olabilir. 1) Yüklü kompleks 2) Nötral kompleks 3) Bir iyon çifti (iyon-association) süzme veya santrifujleme veya sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonrası AAS'de tayin edilir. İyon çifti veya metal kompleksi yapıları gayet kararlı

olmalıdır. Genellikle ayar grafikleri standart anyon çözeltilerinden hazırlanarak oluşturulur.

Genelde girişimler diğer anyonik türlerin aynı metalle kompleksleşme durumundan ileri gelir. Bir de kompleksleştirici metalin örnekte bulunması da girişime neden olur. Bu son durumda örnekte metalin atomik absorpsiyonu tayin edilmelidir.

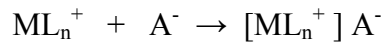
Bu yöntemler iki gruba sınıflandırılır: 1) Analitin ligant olduğu kompleks oluşturma yöntemi; 2) Analitin karşı iyonlardan birinde yer aldığı iyon çifti (ion association) yöntemi;

**a) Nötral metal kompleksleri oluşturma yolu**

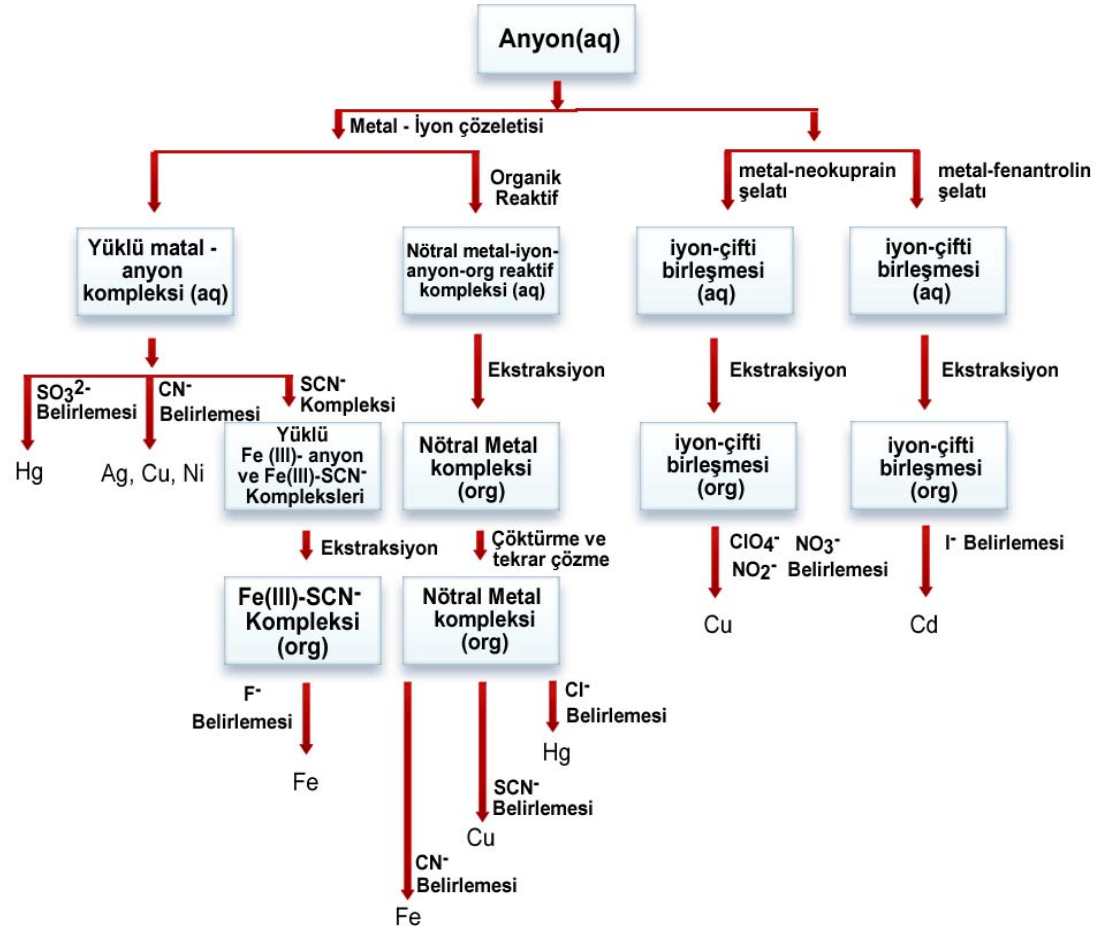
Bu yöntemler bir yüksüz metal kompleksi oluşumunu içine alır ve bu kompleks sıklıkla çözücü ekstraksiyonuyla ayrılır. Bundan sonra organik çözeltide kompleksleşmiş metal AAS de tayin edilir. Bu işlemler önceki açıklanan yöntemlerden daha yüksek bir duyarlılığa sahiptir. Buna rağmen duyarlılık uygun bir  $V_{\text{sulu}}/V_{\text{org.}}$  oranı seçimiyle artırılabilir.

**b) İyon çifti oluşturma yöntemi**

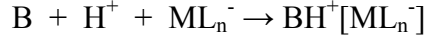
İyon çifti, zıt yüklü iki iyondan birinin metal kompleksi, diğerinin ise buna zıt yüklü iyonun oluşturduğu bir yapıdır. Analitin negatif yapıda yer aldığı durumlarda metal kompleksi pozitif olup iyon çifti su şeklinde oluşur.



İnorganik anyonların ve organik asitlerin anyonların oluşturduğu iyon çifti bu tipe girer. Burada negatif iyon analit durumundadır. Organik bazların özellikle alkaloidlerin oluşturduğu iyon çiftinde, metal kompleksi ise negatif yüklüdür.



**Şekil 1.2.** İnorganik anyonların metal kompleksleri oluşturma yolu ile dolaylı AAS tayinleri için genel bir şema. (Garcia ve Ark,1983 c).



B: alkaloid,  $ML_n^-$ :  $BiI_4^-$ ,  $Co(5CN)_4^{2-}$ ,  $PMo_{12}O_{40}^{3-}$ ,  $Fe(SCN)_6^{3-}$  ve  $Mi(SCN)_4^{2-}$

İnorganik türlerin dolaylı AAS tayinlerinde iyon çifti oluşturmak için iki organik reaktif kompleksleştirici olarak kullanılır. İyon çifti oluşturma yönteminde ürün sıklıkla ekstraksiyon yoluyla ayrılır.

#### 1.2.4.3. Heteropoliasit bileşiği oluşturma yöntemi

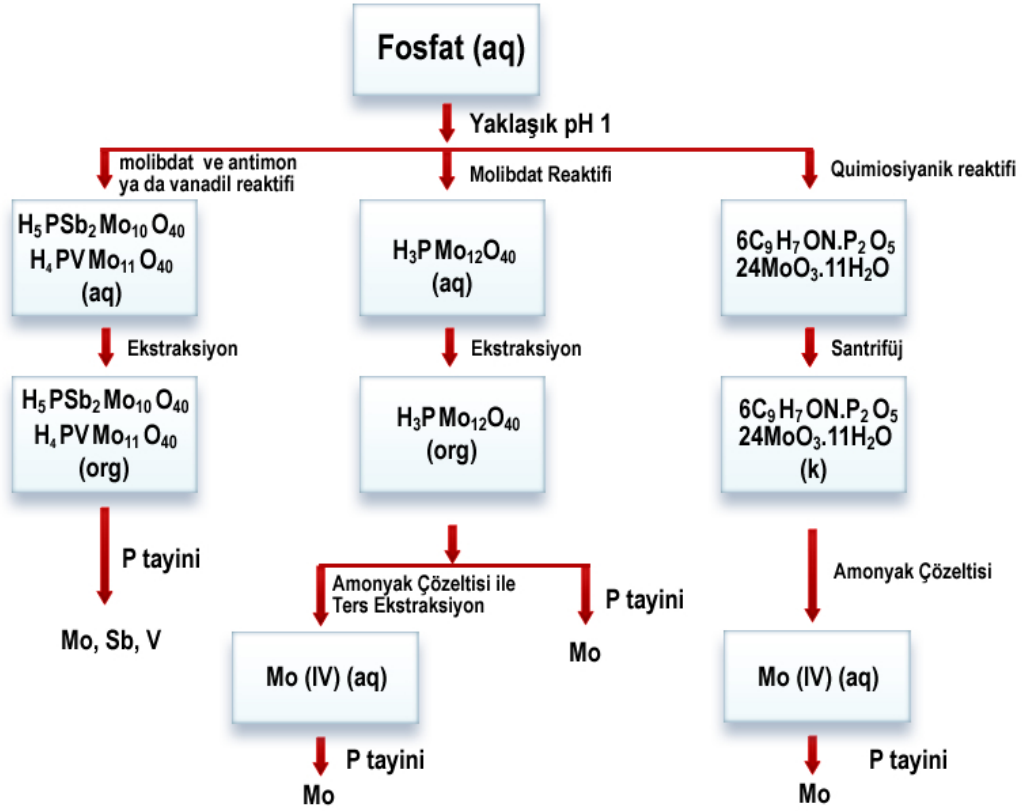
Heteropoliasitler; Anyonu çok sayıda ve en az üç tür element atomlarından oluşan asitlerdir. Bu element türlerinden biri oksijendir. Bileşiklerinden birinin türü metaldir. En çok bilinen heteropoli asit fosfomolibdik asit veya molibdofosforik asit olup  $H_3PMo_{12}O_{40}$  formülüyle gösterilir. Bu bileşik  $H_3 PO_4$   $12MoO_3$  formülüyle de gösterilir. Aşağıda bazı heteropoli asitler verilmiştir:

$H_3 PMo_{12}O_{40}$	fosfomolibdik asit
$H_3 AsMo_{12}O_{40} 2H_2O$	arseno molibdik asit
$H_4 SiMo_{12}O_{40}$	silikomolibdik asit
$H_5 PSb_2 Mo_{12}O_{40}$	molibdo antimonil fosforik asit
$H_5 PVMo_{12}O_{40}$	molibdo vanadil fosforik asit

Yukarıdakilerden ilk üçü tipindekilere ikili (binary), son iki tipindekilere üçlü (tenary) heteropoliasit de denilir.

Heteropoliasit oluşturmaya dayalı yöntemlerde bazı anyonları molibdat ile bu tür asit bileşiği oluşturmak üzere tepkime verir. Ürün çoğu kez bir organik çözücüyle ekstraktlanır. Bundan sonra ya organik tabakadaki metal okunur, ya da bu tabakadaki metal yeni ekstraksiyonla sulu faza çekilerek bu fazda okunur. Organik fazda okumada duyarlık daha yüksek fakat kesinlik daha düşüktür. (standart sapma daha yüksektir.) Hangi yol olursa olsun bu yöntemler iyi duyarlık gösterir. Çünkü analitin metal eş değeri atom sayısı olarak çok yüksektir.





Şekil 1.3. Heteropoliasit bileşikleri oluşturma yolu ile ortofosfatın AAS tayinleri için genel bir şema. (Garcia ve Ark, 1983 d)

#### 1.2.4.4. Redoks yöntemi

Bu yöntemde analit iyon, biri metal olan bir veya iki reaktifle yükseltgenmeye veya indirgenmeye uğrar. Sonrası ayırma işlemidir. Burada bir metalli bileşik oluşumu ile ilgilenilmez. Tepkimede metalin harcanan kısmı ile harcanmayan kısmı birbirinden ayrılır. Bu kısımlardan birinde metale ait AAS sinyali okunur. Ancak bu yöntem ortamda başka yükseltgenebilen veya indirgenebilen türlerin olması durumunda pek seçici değildir.

#### 1.2.4.5. Atomizasyon hücresinde bileşik oluşumuna dayalı yöntem

Bu yöntemde bazı anyonların atomlaşma hücresi sıcaklığında refraktör bileşikleri oluşturmalarına dayanır. Absorbsiyon ölçümü ya atomlarda ya da moleküllerde izlenir.

**a) Bir metale ait atomik sinyalin artması veya azalması**

Bu yöntem iki grup olarak sınıflandırılır.

Eklenen metalin sabit derişimde olması; metalin uygun derişimiyle artan miktarlarda analit derişimine karşı metal absorbansları okunarak ayar eğrisi oluşturulur. Eğim negatiftir.

Metalin değişen derişimler de olması yönteminde AAS' de duyarlılığı ve anyonlarla refraktör bileşii oluşturması nedeniyle Mg kullanılır.

- Örnek çözeltiden önce metal katyonları uzaklaştırılır.
- Elde edilen ve anyonu içeren çözelti Mg(II) çözeltisi ile karıştırılır.
- AAS' ye verilerek Mg sinyali izlenir.
- Elde edilen ve anyonu içeren çözelti Mg(II) çözeltisi ile karıştırılır.
- AAS' ye verilerek Mg sinyali izlenir.

### **1.3. Fosfor Biyokimyası**

#### **1.3.1. Tanım**

Mineraller inorganik elementlerdir. En önemlilerini, bol bulunan elementler Na, K, Ca, Mg, P, Cl, S ile eser elementler olarak isimlendirilen Fe, Cu, Co, Zn, Mn, Mo, Se, Cr, Br, F ve I oluşturmaktadır. Bu elementlerin enzim katalizli tepkimelerde kofaktör olarak, asit-baz dengesinin düzenlenmesi, sinir iletimi, kas uyarılması ve vücudun yapısal elementlerini oluşturma gibi çeşitli işlevleri vardır. Mineraller vücudun çeşitli organlarında yer alır. Minerallerin her birine, günde mikrogramla gram arasında değişen miktarlarda gereksinim duyulur. Ayrıca biyolojik bileşiklerin yapısında sık rastlanan ancak organizmadaki görevleri bilinmeyen Ag, Al, As, Au, Ba, Ce, Li, Ni, Pb, Si, Sn, Sr, Ti, V gibi elementler de vardır. Bunların çeşitli yollar ile çevreden organizmaya alınan elementler oldukları sanılmaktadır. Vücuttaki bazı mineraller ve bulunma yerleri Çizelge 1.1'de, alınması gerekli günlük mineral düzeyleri ise Çizelge 1.2' de gösterilmiştir. (Öztop ve Candan, 1999).

**Çizelge 1.1.** Vücuttaki bazı mineraller ve buldukları yerler. (Baysal, 1997)

<b>Mineraller</b>	<b>Yüzde / %</b>	<b>Bulunduğu yer</b>
Kalsiyum	1,5-2,2	Çoğunlukla iskelette kalsiyum fosfat olarak, az miktarda hücre dışı sıvıda iyon olarak
Fosfor	0,8-1,2	İskelette, proteinlere ve diğer öğelere bağlı olarak dokularda, iyon olarak hücre içi ve hücre dışı sıvılarda
Potasyum	0,35	Hücre içi sıvıda iyon olarak
Kükürt	0,25	Proteinlere bağlı olarak ve $SO_4^{2-}$ iyonu
Klor	0,15	Hücre dışı sıvıda iyon olarak
Sodyum	0,15	Hücre içi sıvıda iyon olarak
Magnezyum	0,05	İskelette ve hücre içi sıvıda iyon olarak

**Çizelge 1.2.** Günlük gerekli mineral düzeyleri. (CRC Handbook of Chemistry and physics, 1991-1992)

Birey	Yaş	Kalsiyum/mg	Fosfor/mg	Magnezyum/ mg	Demir/mg	Çinko/mg	İyot/µg	Selenyum/ µg
Bebek	0-1	400-600	300-500	40-60	6-10	5	40-50	10-15
Çocuk	1-10	800	800	80-170	10	10	70-120	20-30
Kadın	11-18	1200	1200	270-400	10-12	15	150	40-50
	19-50	1200-800	1200-800	350	10	15	150	70
	50+	800	800	350	10	15	150	70
Erkek	11-18	1200	1200	280-300	15	12	150	45-50
	19-50	1200-800	1200-800	280	15	12	150	55
	50+	800	800	280	10	12	150	55

### 1.3.2. Fosfor döngüsü

Fosfor elementi, karbon ve azottan farklı olarak, doğada kayalarda ve toprakta fosfat depoları halinde bulunur ve yapay gübre olarak bitki üreticileri tarafından kullanılır. Dünya yüzeyindeki fosfat rezervlerinin dünya gereksinimlerine 4-5 yıl yetecek kadar bol olduğu, ancak savurganca kullanılırsa, hemen yüzyılda tükenebileceği bildirilmektedir (Aktan, 1980).

Bitki ve hayvanların gelişmeleri için kesinlikle gerekli olan fosfor, bitkiler tarafından inorganik fosfor olarak topraktan alınır. Hayvanlar da fosforu, içtikleri sularla ve yedikleri bitkisel ve hayvansal besinlerle alırlar.

Bitkide de hayvanlarda da inorganik fosfor normal metabolizma için gerekli olan çok çeşitli organik bileşiklere değiştirilir. Fosfor döngüsü fosforun yavaş yavaş yağmur sularıyla denizlere götürülmesi nedeniyle günbegün tüketilmektedir. Denizlere akan fosforun bir kısmı denizlerin besin zincirine, algler ve planktonun diğer canlıları aracılığıyla geçer. Bu canlıların balıklar ve kuşlar tarafından tüketilmesiyle büyük deniz canlılarına ulaşır. Balıklar ve deniz kuşlarıyla beslenen insan ve hayvanlarla veya deniz kuşlarıyla beslenen insan veya hayvanlarla ve deniz kuşlarının ürettiği dışkı (guano gübresi) ile fosforun bir kısmı yeniden döngüye girer (Aktan, 1980).

### 1.3.3. Fosfor besin kaynakları

Genelde proteinden zengin besinler fosforca da zengindir. En iyi Fosfor kaynakları sırasıyla; et, tavuk, balık, yumurta, kuru baklagiller, sert kabuklu meyveler, yağlı tohumlar, süt ve türevleri ile tahıllardır. Bu bileşik demir, çinko ve kalsiyum gibi mineralleri bağlayarak biyo yararlılıklarını azaltır. Buğday unundan yapılan hamur mayalandırıldığında maya bu bileşiği ortofosfata dönüştürerek bağlayıcı etkisini azaltır. (Baysal, 1997).

### 1.3.4. Normal fosfor homeostazi

#### 1.3.4.1. Toplam vücut fosforu

Fosfor, karbon azot ve kalsiyumdan sonra vücutta en fazla bulunan dördüncü elementtir. 70 kg ağırlığındaki erişkin bir erkekte toplam vücut fosfor miktarı 700 g kadardır. Bunun % 85'i kemik dokusunda, geri kalan miktarının büyük bir kısmı da ( % 14 ) hücre içindedir. Potasyum ve kalsiyumda olduğu gibi hücre dışı sıvı içinde yer alan fosfor miktarı, toplam vücut fosforunun % 1 'i gibi çok küçük bir bölümüdür ve bunun da oldukça az bir kısmı 200 mg veya toplam vücut fosforunun % 0,3'ü plazmada bulunur. (Cogan, 1991).

Hücre içindeki fosforun % 90'ı inorganikten çok organik yapıda bulunur. Fosfor içeren organik bileşikler hücre işlevleri için yaşamsal öneme sahiptir. Bu bileşiklerin başlıcaları, nükleik asitler, fosfoproteinler, zar fosfoproteinleri, ATP gibi yüksek enerjili bileşikler cAMP gibi ikinci haberciler, koenzimler ve NAD ve eritrositlerdeki 2,3- DPG gibi düzenleyici faktörlerdir. Genelde hücrenin fosfor içeriği potasyum, azot ve magnezyumla orantılıdır. Kas erimelerinde olduğu gibi hücrenin atrofiye olması bu elementlerin birbirleriyle ilişkili şekilde kaybedilmesine neden olur (Cogan, 1991).

Hücre dışındaki fosfor esas olarak fosfat halinde bulunur. Plazmadaki fosfatın % 70'i lipitlere bağlı halde organik yapıda, % 30'u da inorganik yapıda bulunur. Rutin çalışmalarda ölçülen sadece inorganik fosfor miktarıdır. Plazmadaki inorganik fosfatın % 85'i serbest durumdadır. Fizyolojik olarak aktif olan bu serbest fosfor fraksiyonu, 4:1 oranında dibazik fosfat ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) ve monobazik fosfat ( $\text{H}_2\text{PO}_4$ ) halinde bulunur. İnorganik plazma fosfatının % 15 kadar küçük bölümü ise ya albümine bağlıdır veya magnezyum ve kalsiyum bileşikleri halindedir. Bu nedenle, kalsiyumun tersine plazma fosforu albümin değişikliklerinden çok az etkilenir (Cogan, 1991).

Plazma fosfor derişimi inorganik fosfor miktarı olarak belirtilir. Normal plazma inorganik fosfor derişimi 2,5 - 4,5 mg dL<sup>-1</sup> arasında, ortalama 3,5 mg dL<sup>-1</sup> dir. (1meq L<sup>-1</sup>). Çocuklarda normal plazma fosfor değerlerinin sınırları daha

yüksek (3,5 - 6,0 mg. dL<sup>-1</sup>), menapoz sonrası kadınlarda hafifçe daha yüksek ve yaşlı erkeklerde ise daha düşüktür. Gündüz görülen bir değişkenliğe sahip olan plazma fosfor derişimi akşamüstü 4 ve sabah 3' te en yüksek, sabah 11' de de en düşüktür, plazma fosfor düzeyi, arterial PCO<sub>2</sub> ve besinlerle alınan karbohidratlardan da etkilenir (Cogan, 1991).

### **1.3.4.2. Fosfor alımı, emilim ve dağılımı**

#### **1.3.4.2.1. Fosfor alımı**

Erişken bir erkeğin günde yemekle aldığı fosfor miktarı % 95 güvenilirlikle 500-3800 mg gün<sup>-1</sup> arasında değişirse de, ortalama 1400 mg gün<sup>-1</sup> 'dir. Erişkin kadınlarda fosfor alımı 300-2000 mg gün<sup>-1</sup> arasında, ortalama 900-1000 mg gün<sup>-1</sup> olarak biraz daha düşüktür. Yaşın ilerlemesiyle birlikte fosfor alımı azalarak, 65 yaşın üstündeki kadın ve erkeklerde yukarıdaki değerlerin % 85'ine iner. Siyahların ortalama fosfor alımı beyazlardan daha düşüktür (Cogan 1991).

#### **1.3.4.2.2. Barsaklardan fosfor emilimi**

##### **a) Yer ve mekanizma**

Besinlerle alınan 1400 mg gün<sup>-1</sup> civarındaki fosforun % 80'i (1100 mg gün<sup>-1</sup>) jejunum ve duodenumdan emilir. Emilime paralel olarak, fosfor her gün sabit bir miktarda da (200 mg gün<sup>-1</sup>) yine jejunumdan barsak lümenine salgılanır. Fosforun bu iki yönlü hareketi nedeniyle, günlük net fosfor emilimi yemekle alınan yaklaşık 2/3'ü yani 900 mg gün<sup>-1</sup> kadardır. Fosfor emilimi, kalsiyum, magnezyum ve alüminyum gibi fosforun bağlanabileceği bileşiklerle beraber alındığında azalır (Cogan, 1991).

Fosforun barsaklardan emilimi hem aktif, hem de pasif mekanizmalarla gerçekleşir. Lümen ve hücre arasındaki sodyum derişimine bağlı olarak, fosfor hücre içine sodyuma bağlanarak geçer. Fosforun hücreden çıkışı pasif yoldadır (Cogan, 1991).

## **b) Vitamin d ile düzenleme**

Fosforun homeostatik kontrolü ve barsaklardan maksimal kapasite ve hızda emiliminde rol alan faktörler arasında en önemli olanı vitamin D' nin aktif metaboliti olan 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>'dür. Hipofosfatemi, böbreklerde 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> yapımı ve dolayısıyla da barsaklardan fosfor emilimini artırır. 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> tarafından etkilenen fosfor taşıma ve yeri kalsiyumundakinden farklıdır. Fosfor emilimi üzerinde paratiroid hormonunun (PTH) doğrudan bir etkisi yoktur. Ancak, PTH yine de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> yapımını uyararak dolaylı şekilde fosforun barsaklardan emilimini artırır (Cogan, 1991).

### **1.3.4.2.3. Plazma ve hücreler arasında fosforun dağılımı**

Hücre içi fosforun azalmasına yol açan bütün durumlar, aynı zamanda fosforun hücre içine girişini de uyarır. Fosforun hücre dışı ve hücre içi bölümler arasındaki dağılımı arterial PCO<sub>2</sub> ve glukoz taşınımı tarafından yönlendirilir (Cogan, 1991).

### **1.3.4.3. Böbreklerden fosfor atılımı**

Küçük bir kısmı albümine bağlı veya kalsiyum ve magnezyumla birleşmiş halde olmasına rağmen, plazma inorganik fosforunun büyük bir kısmı glomerüllerden süzülebilir. Fosfor dengesinin korunabilmesi için glomerüllerden süzülen fosforun çoğunun geri emilmesi gerekir. Glomerüllerden süzulebilen fosfor miktarı 3 mg dL<sup>-1</sup> (30 mg L<sup>-1</sup>) ve glomerüler filtrasyon hızı 100 mL dk<sup>-1</sup> (150 L gün<sup>-1</sup>) ise, süzülen fosfor yükü 4500 mg gün<sup>-1</sup>' dir. Glomerülden süzülen fosforun % 80' i geri emilir, % 20' si atılır. Bu değer ortalama günde 900 mg kadardır (Cogan, 1991).

#### **1.3.4.3.1. Fosforun geri emilim mekanizmaları ve yerleri**

Fosforun geri emilim yerleri, proksimal tübül, henle kulpu, distal kıvrıntılı tübül ve toplayıcı tübülde olmaktadır. Transeptelial fosfor taşınımı, hücre içi



cAMP düzeyi (PTH tarafından kontrol edilir) ve cAMP dışı faktörlerle (hücre dışı sıvı veya hücre içi fosfat miktarındaki değişiklikler gibi) hassas bir biçimde düzenlenir. PTH miktarının artması, proksimal tübülden fosfor Emilimini belirgin şekilde azaltır. Önemli bir fizyolojik etkiye sahip olmasalar bile proksimal tübülden fosfor Emilimini etkileyen diğer hormonlar arasında yer alan, vitamin D, insülin, tiroid ve büyüme hormonunun geri Emilimi artırıcı, kalsitonin ve glukokortikoidlerin ise azaltıcı etkisi vardır (Cogan, 1991).

#### **1.3.4.4. Plazma fosfor derişimindeki değişiklere yanıt**

Fosfor anormal şekilde hücre dışı depolardan hücre içi depolar yönüne dağılmadıkça, hipofosfatemi toplam vücut fosfor miktarında azalma şeklinde temsil edilir. Plazma fosfor derişimindeki azalma, plazma kalsiyum derişiminde PTH salgılanmasını azaltan bir yükselişe neden olur. Hipofosfatemi aynı zamanda 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> yapımını da uyarır. Bu nedenle, hipofosfatemi doğrudan veya dolaylı olarak hem böbreklerden fosfor geri Emilimini ve hem de barsaklardan fosfor Emilimini artırır. Fekal ve idrarla olan fosfor kayıpları da en aza indirilir. Plazma fosforunun yükselmesiyle yukarıdaki olayların tam tersi oluşur (Cogan, 1991).

#### **1.3.5. Hipofosfatemi**

Hipofosfatemi, plazma inorganik fosforunun azalmasıdır. İnorganik fosforun % 85'i serbesttir. Kalsiyumun tersine, plazma fosforu albumin derişimindeki değişikliklerden çok az etkilenir. Molibdatın kullanıldığı bazı laboratuvar analiz yöntemlerinde, monnitol fosfor derişiminin düşük bulunmasına neden olur. Bunun dışında, fosfor derişiminin 2,5 mg dL<sup>-1</sup> altında ölçülmesi hipofosfatemi demektir (Cogan, 1991).

Potasyum ve kalsiyumda olduğu gibi, toplam vücut fosforunun sadece çok az bir kısmı hücre dışı bölümde bulunur. Hücre dışı bölümden hücre içine az miktarda dahi fosfor geçişinin olması, toplam vücut fosforunun miktarında

değişikliğe yol açmadan hipofosfatemiye neden olabilir. Fosforun bu şekilde yer değiştirmesinin en sık nedeni akut solunum alkalozu ve glukoz verilmesidir. Buna karşılık, hipofosfatemi fosforun barsaklardan yetersiz emilmesine veya idrarla kaybedilmesine bağlı olarak toplam vücut fosforundaki azalmayı da yansıtabilir (Cogan, 1991).

Fosforun hücreler içindeki yeniden dağılımı ve barsaklardan emiliminin azalması gibi böbrek dışı nedenlerle ortaya çıkan hipofosfatemide, böbreklerden fosfor tutulumu artar. İdrarla atılan fosfor miktarı sıfıra yaklaşır. Bunun tersine, hipofosfateminin nedeni fosforun böbreklerden kaybedilmesiyle, uygunsuz bir fosfatüri vardır. Arter CO<sub>2</sub> basıncının düşmesi, glukozun insülinle birlikte verilmesi de hipofosfatemi nedenidir (Cogan, 1991).

### **1.3.6. Hiperfosfatemi**

Plazma fosfor derişiminin 4,5 mg dL<sup>-1</sup>'nin üzerinde olması hiperfosfatemi olarak tanımlanır. Fosfor eksikliğinin tersine hiperfosfateminin nedenleri; fosforun hücre içinden hücre dışına doğru hızla yer değiştirmesi, dışarıdan fazla miktarda fosfor alınması, Glomerüler filtrasyon hızındaki (GFR) azalmaya veya hipoparatiroidizme bağlı olarak böbrekten fosfor atılımının azalması olarak sıralanabilir. Böbreklerin gerektiğinde günde 15000 mg veya daha fazla miktarda fosfor atabilme yeteneğine rağmen, ilk iki grupta ve bir miktarda üçüncü grupta GFR' nin azalmış olduğu görülür.

Glomerüler filtrasyon hızındaki bu düşüş, proksimal tübülden fosforun geri emilimi baskılansa bile fosforun filtrasyonu ve atılımını bozar (Cogan, 1991).

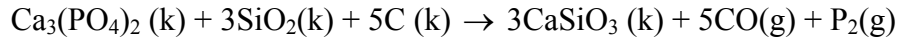
İdrarla atılan fosfor miktarı hiperfosfatemi sebeplerinin ayırt edilmesini sağlar. Endojen olarak fosforun yeniden dağılımı veya dışarıdan fazla fosfor alınımı gibi böbrek dışı hiperfosfatemilerde, glomerüler filtrasyon bir miktar azalmış olsa bile fosforun böbreklerden aktif bir şekilde devam eder (günde 1500 mg). Fosforun primer böbrek hastalığına bağlı olarak arttığı durumlarda ise renal fosfor atılımı azalmıştır (Cogan, 1991).

Fosfor eksikliğin çocuklarda raşitizm, erişkinlerde osteomalazi nedenidir. Fazlalığı, kalsiyumunun azalmasıyla birlikte ve sekonder hipertiroidiyi uyarmakta, kemik kaybına neden olabilmektedir. (Murray ve ark. 1993).

#### **1.4. Bazı Fosfor Bileşikleri ve Çevre Sorunu**

##### **1.4.1. Fosforun yer kabuğunda bulunuşu ve eldesi**

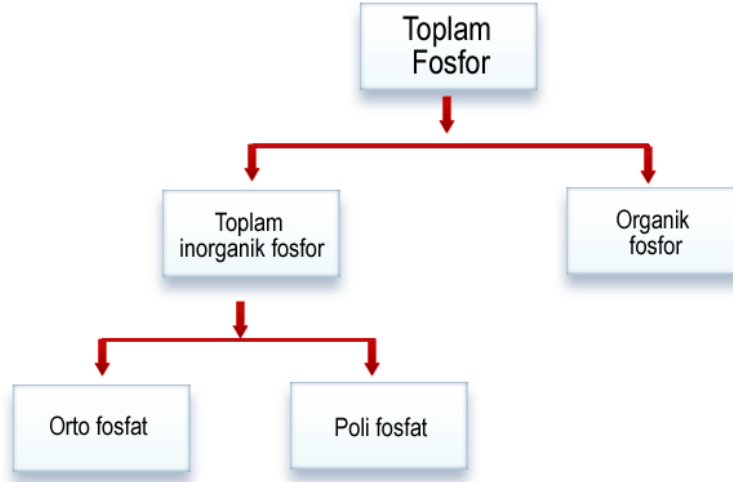
5 A grubunun ikinci elementi olan fosfor, yer kabuğunda azottan daha az bulunur (Sienko ve Plane, 1983). Fosfat kayaçlarında başlıca floroapatit  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$  ve hidroksiapatit  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  mineralleri bulunur. Bu minerallerin 1300-1450 °C' ta karbon ile indirgenmesiyle element halinde fosfor elde edilir. Kalsiyumu silikat olarak çöktürmek üzere tepkime karışımına  $\text{SiO}_2$  katılır:



Tepkimede elde edilen  $\text{P}_2$  buharları suya gönderilir ve beyaz fosfor elde edilir. Fosforun su içinde toplanmasının en önemli nedeni, havanın oksijeni ile birleşmesini engellemektir. Bu yöntemle elde edilen saf fosfor, çeşitli bileşiklerin elde edilmesinde kullanılmaktadır (Tunalı ve Özkar. 1993). Fosfor, element halinde iken balmumu kıvamında, yarı saydam, karanlıkta ışıldayan, sarımsak kokulu, zehirli; atom numarası 15, mol kütlesi 30,97 g mol'l olan ametal bir elementtir ve simgesi P'dir (Dictionnaire Larousse, 1993).

##### **1.4.2. Fosforun çevre sorunu ile ilgili bileşik ve ürünleri**

Burada özellikle çevre sorunlarıyla ilgili olan maddeler yer verilecektir. Çok çeşitli olan fosfor bileşiklerinin çevre ve analiz açısından en uygun olarak Şekil 1.4'de sınıflandırılmıştır.



Şekil 1.4. Çevre açısından fosfor türlerinin sınıflandırılması. (Samsunlu, 1999 a )

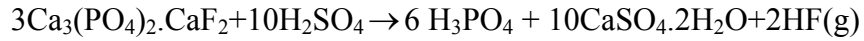
Çizelge 1.3. Çevre uygulamalarında en sık rastlanan fosfor bileşikleri. (Samsunlu, 1999 a )

İsmi	Formülü
Ortofosfatlar: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Trisodyum fosfat</li> <li>• Disodyum fosfat</li> <li>• Monosodyum fosfat</li> <li>• Diamonyum fosfat</li> </ul>	$\text{Na}_3\text{PO}_4$ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
Polifosfatlar: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sodyum heksametafosfat</li> <li>• Sodyum tripolifosfat</li> <li>• Tetra sodyumpirofosfat</li> </ul>	$\text{Na}_3(\text{PO}_3)_6$ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$

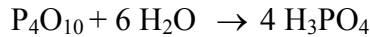
### 1.4.2.1. Fosforik asit

$H_3PO_4$  formülüyle gösterilen fosforik asite ortofosforik asit denir. Bu asitin anyonları olan  $PO_4^{3-}$ ,  $HPO_4^{2-}$ ,  $H_2PO_4^-$  iyonlarına ortofosfat iyonları denir.

Fosforik asit Amerika Birleşik Devletleri'nde çok üretilen kimyasal maddeler arasında yedinci sırada olup yıllık üretimi 12 milyon ton dolayındadır.  $H_3PO_4$  başlıca gübre elde edilmesinde kullanıldığı gibi, metalleri korozyona daha dayanıklı hale getirmek içinde kullanılır. Gıda endüstrisinde fosforik asitin birçok kullanım yeri vardır. Kabartma tozları ile kahvaltılık tahıl ezmeleri yapımında, peynir üretiminde, domuz budu kürlenmesinde ve ekşilik vermesi için meşrubat üretiminde kullanılır. Fosforik asitin çoğu, sülfirik asitin fosfat kayası ile etkileşmesinden elde edilir:



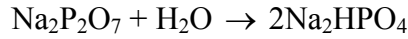
HF çözünmeyen  $Na_2SiF_6$ 'a dönüştürülür, karışım süzülür. Sıvı fosforik asit buharlaştırılarak deriştirilir. "Yaş yöntem" denilen bu yöntemle elde edilen fosforik asit safsızlık olarak çeşitli metaller içerir. Koyu yeşil ya da kahverengindedir. Bununla beraber bu şekilde elde edilen fosforik asit gübre üretiminde ve metalürjide kullanılabilir. Fosforik asiti elde etmenin bir diğer yolu



tepkimesine göre  $P_4O_{10}$  bileşiğinden elde edilir.  $P_4O_{10}$  ise  $P_4$ 'ün aşırı  $O_2$  ile tepkimesinden elde edilir. Bu bileşik fosforpentaoksit ( $P_2O_5$ ) olarak bilinir, fakat doğru formülü  $P_4O_{10}$  şeklindedir.  $P_4O_{10}$  ile  $H_2O$  arasındaki tepkime için bunlar 1:6 mol oranında birleştirildiğinde ele geçen sıvı ürün saf ortofosforik asit (% 100  $H_3PO_4$ ) olması beklenir. Bununla birlikte sıvının analizi onun yaklaşık % 87,3  $H_3PO_4$  olduğunu gösterir. Eksik fosfor, difosforik asit ya da pirofosforik asit denen bir bileşik,  $H_4P_2O_7$  şeklinde halen sıvıda mevcuttur. Bir difosforik asit molekülü iki ortofosforik asit molekülünden bir su molekülü çıkartıldığında oluşur. Diğer bir su molekülünün ayrılması ile üçüncü bir orto fosforik asit molekülü bağlanırsa trifosforik asit,  $H_5P_3O_{10}$  meydana gelir ve böyle sürer gider.

Yapıları zincir şeklinde olan fosforik asitlere polifosforik asitler ve tuzlarına da polifosfatlar denir. (Petruçi, 1995).

Polifosfatlar, birden fazla ortofosfat molekülünden su çıkması ile elde edilen dehidrate şekiller olduğundan, su ortamında zamanla hidrolize uğrar ve orto hallerine geri dönerler.

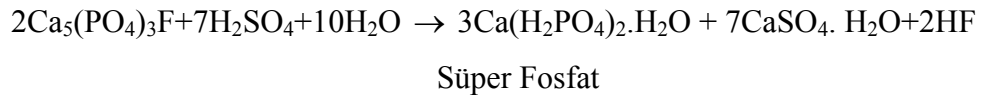


Bu dönüşüm olayının hızı, sıcaklığın bir fonksiyonudur ve sıcaklık kaynama noktasına yaklaştıkça hız artar. Hidroliz olayının hızı, aynı zamanda pH'ın düşmesi ile arttırılabilir. Kompleks fosfatların hidrolizi; aynı zamanda bakteriyel enzimler vasıtası ile de olmaktadır. Bu nedenle temiz sularda dönüşüm hızı atık sulara oranla daha az olmaktadır. (Samsunlu, 1999 a)

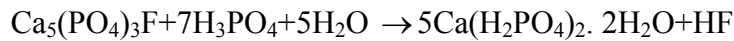
#### 1.4.2.2. Fosfat gübreleri

Fosfor bileşiklerinin en geniş olarak kullanıldığı alan gübre endüstrisidir. Fosfat gübreleri iki türdür: 1) Süperfosfat gübreleri, 2)Amonyumfosfat gübreleri:

Gübre endüstrisinde, fosfat kayalarından elde edilen fosfor bileşiği suda çözünür hale getirilir. Bunun için suda çözünmeyen fosfat minerali sülfürik asit ile tepkimeye sokularak süper fosfat haline çevrilir.



Fosfat kayacı ile fosforik asitin sudaki çözeltisi tepkimeye sokularak fosfor yüzdesi yüksek *triple süperfosfat* elde edilir:

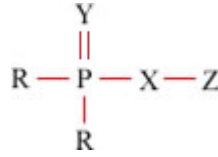


Bazı hallerde fosfat kayacı toz haline getirilir ve gübre olarak tarlalara doğrudan püskürtülür (Tunalı ve Özkâr, 1993).

Ortofosforikasitten elde edilen triamonyumfosfat  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$  toprak dolgu maddesi ile karıştırılır.

### 1.4.2.3. Organofosfatlar (Fosfor içeren pestisitler)

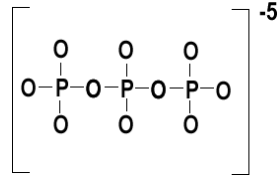
“Organofosfatlar P içeren karışık yapılı organik maddelerdir. 1950’li yıllarda insektisit olarak sentezlenmişlerdir. Halen de büyük ölçüde kullanılmaktadır. Büyük ölçüde kullanılmalarının nedeni, bazı böceklerin klorlu insektisitlere direnç kazanmalarındır. Bunların çok kullanılmasının bir başka nedeni de, böyle maddelerin doğal çevre şartlarına klorlu bileşiklere göre daha az dayanıklı olmaları ve çok kısa zamanda deaktive edilmeleridir. Ne var ki bunlar insanlar için, klorlu organik bileşiklerden daha toksiktir. Organofosfatlar şu genel formül altında gösterilir:



Burada X ve Y oksijen veya kükürdü R bir hidrokarbonu veya oksijen ihtiva eden bir hidrokarbonu, Z ise karışık bir organik grubu temsil eder. Beş tür organofosfat bileşiği olup en çok kullanılanı paratyon ve metil paratiyondur.” (Gündüz, 1994)

### 1.4.2.4. Deterjanlar

Deterjanlardaki fosfat, sodyum lineer dodesilbenzensülfanat (LAB) gibi yüzey aktif ve temizleme özelliği taşıyan maddelerde değil, bunun yanı sıra suya sertlik veren  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{Mg}^{2+}$  gibi maddeleri kompleksleştirmek ve onların hidroksiti halinde çökmelerini önlemek için katılan polifosfatlardır. Bugün için deterjanlarda en çok kullanılan kompleksleştirici polifosfat sodyum tripolifosfattır (  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  )



Şekil 1.5: Tripolifosfat iyonu

### 1.4.3. Fosforla ilgili çevre sorunu

Çevre sorununa yol açan fosfor bileşikleri, en başta gübrelerdir. Bunu deterjanlar ve pestisitler izler. Gübre ve pestisitler yağmur sularıyla topraktan, deterjanlar ise evsel atıklardan nehirler aracılığıyla göllere ve denizlere taşınırlar. Fosfor bitkilerin büyümesi için zorunlu bir besin olduğundan, fosfatlar gübre olarak çok kullanılır. Çok gübre kullanımı, göl ve akarsuların fosfat kirlenmesine ve bunun sonucunda da özellikle deniz yosunları olmak üzere bitki büyümesi patlamasına neden olabilir. Deniz yosunları suda çözünmüş  $\text{O}_2$  derişimini düşürür ve  $\text{O}_2$  nin bu eksikliği de balıkları öldürür. Besin maddeleri ile zenginleşmenin bir sonucu olarak tatlı su kitlelerinde oluşan bu türlü değişmeye ötrofikasyon denir. Bu jeolojik çağlar boyunca meydana gelmekte olup insan etkinlikleri ile büyük çapta hızlanır.

Hayvan atıkları, bozunmuş organik maddeler ve doğal olarak tespit edilmiş azot başlıca bitki besinlerinin doğal kaynaklarını oluşturur. Gübre kaçaklarına ek olarak, insan ile ilgili kaynaklar, endüstriyel atıklar ve her türlü şehir atıklarını içerir. Çevreye fosfat akışını azaltma yollarından biri, lağım sularının arıtma tesislerinde işlenmesi sırasında fosfatın uzaklaştırılmasıdır. Lağım suları arıtılırken polifosfatlar bakteri etkisi ile ortofosfatlara parçalanır. Sonra ortofosfatlar ya demir (III) fosfatlar, alüminyum fosfatlar ya da kalsiyum fosfatlar olarak çöktürülebilirler. (Petrucci, 1995 c)

#### 1.4.3.1. İçme suyu ve fosfat

“İçme ve kullanma sularında polifosfatlar korozyonu gidermek amacı ile suya eklenebilir. Aynı zamanda bazı su yumuşatma işlemlerinde de fosfatlar



eklenerek kalsiyum karbonatın ortamdan çökeltme sureti ile uzaklaştırılması kolaylaştırılır.

Tüm yüzeysel sular bazı su mikroorganizmalarının gelişmesi için ortam teşkil ederler. Serbest yüzen ve yüzdürülebilen mikroorganizmalar plankton olarak isimlendirilir ve çevre mühendisleri için ortam teşkil ederler. Planktonlar, hayvanlar (zooplankton) ve bitkilerden (fitoplankton teşekkül eder. Fitoplanktonlar esas olarak alglerden oluşur. Bunlar klorofil taşıyan organizmalar olduğundan büyümeleri büyük ölçüde suda mevcut besin maddesi olan elementlerin miktarı ile ilgilidir. Araştırmalar azot ve fosforun alg gelişmesini limitleyen iki faktör olduğunu göstermiştir. Azot ve fosfor çok miktarda olduğunda, ortamda alg üretiminde patlama şeklinde bir büyümeye neden olur. Denemeler bu iki elementin sınırlı miktarda suda mevcut olduğu durumlarda alg patlamalarının olmadığını göstermiştir. Azot kontrol edilemediğinden fosfor sınırlayıcı faktör kabul edilmiştir. İnorganik fosfor değerleri, kritik mevsim olan yaz mevsiminde 0,005 g/L veya 5 mg/L seviyesinde tutulabilirse, yüzeysel sularda ötrofikasyon olarak nitelendirilen ve yukarıda sözü edilen kirlenme meydana gelmez.” (Samsunlu, 1999 a)

#### **1.4.3.2. Atıksuların arıtılması**

Evsel atıklar çoğunlukla fosfor bileşiklerince zengindirler. Sentetik deterjanların yaygın kullanımından önce, evsel atık sularda, inorganik fosfor 2-3 mg/L, organik fosfor 0,5-1,0 mg/L mertebesinde idi. Anorganik fosforun büyük kısmı insan metabolizmasında proteinlerin parçalanması sonucu oluşur. Açığa çıkan fosforlu atık insan idrarı ile birlikte atılır. Bir insanın bu yolla günde atacağı fosfor miktarı, tükettiği protein miktarına bağlı olmakla beraber, ortalama 1,5 g/gün'dür.

Son yıllarda deterjan yapımında, katkı maddesi olarak fosfat ve polifosfat bileşikleri, büyük miktarlarda kullanılmaktadır. Bu maddelerin %12-13'ünün fosfor, %50'den fazlasının polifosfat olduğu düşünülürse, sentetik deterjan

tüketiminin artışı ile birlikte yüzeysel sulara fosfor karışması olayı artan boyutlar kazanmıştır. Deterjanların yol açtığı yüksek fosforlu evsel atıksuların arzının yüzeysel sulara, eskiye göre 2-3 katı fazla anorganik fosforlu madde bulunmasına yol açtığı hesaplanmıştır.

Evsel kullanılmış sular bünyelerinde bakterilerin biyolojik faaliyetleri için gerek duydukları fosforu içerirler. Birçok endüstri kullanılmış suyunda yeterli olmadığı bilinmektedir. Bu gibi durumlarda dışarıdan inorganik fosfat sisteme verilmelidir.

#### **1.4.3.3. Çamurun gübre değeri**

Atıksu arıtma teknolojisinde en önemli problem, aerobik ve anaerobik proseslerden arta kalan çamurların uzaklaştırılmasıdır. Atıksu tavsiye tesislerinde atık olarak meydana gelen çamurda, doğal olarak fazla miktarda azot ve fosforlu maddeler bulunur. Örneğin çürütülmüş çamurda %1 kadar fosfor artığı kaldığı belirlenmiştir. Çamurda bir miktar da azotlu madde içeriği mevcuttur. Bu nedenlerle bu tür çamurların belirli bir gübre değeri taşıdığı ortadadır.

#### **1.4.3.4. Kazan suyu**

Fosfat bileşikleri buhar kazanlarında büyük ölçüde kireç tabakası oluşumunu kontrol etmek üzere kullanılırlar. Eğer kompleks fosfatlar kullanılmış ise, bunlar hızlı bir şekilde yüksek sıcaklıklarda ortofosfatlara hidroliz olurlar. Fosfat sevieleri ortofosfat tayinleri ile yapılır.” (Samsunlu, 1999 b)

#### **1.4.3.5. Fosfor verilerinin kullanımı**

“Fosfor derişim verileri çevre mühendisliği uygulamalarında, yaşam proseslerinde, fosforun önemi nedeni ile gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Geçmişte fosfor verileri, su şebekelerinde korozyonu önlemek ve kazanlarda kireç tabakası oluşumunu kontrol etmek üzere kullanılmaktaydı. Bugün ise fosfor, yüzeysel suların biyolojik üreme potansiyelini saptamak ve alıcı sulara deşarjda

fosfor limitlerin ortaya koymada bir faktör olarak ele alınmakta ve değerlendirilmektedir. Özellikle göllere, rezervuarlara verilebilecek fosfor miktarları için kesin limitler konulmuştur. Fosfor tayinleri atıksu arıtma tesisi çalışmalarında ve nehir kirlenmesi kontrol alanlarında rutin bir işlem olarak yapılmaktadır.

Fosforun biyolojik arıtmada, besin maddesi olarak görev yapması nedeni ile birçok endüstriyel kullanılmış su arıtma tesislerinde yeterli olup olmadığının kontrolü gerekmektedir. Yeterli seviyede bulunmaması durumunda ilave edilmesi gereklidir.” (Samsunlu, 1999)

### **1.5. Fosfat Tayin Yöntemleri**

Günümüze kadar gelen süreç içerisinde AOAC yöntemleri ve rutin analizler dışında fosfat tayini için birçok araştırma ve çalışmalar yer almaktadır. Bu çalışmaların analitik verilerinin çoğu AOAC metotlarında belirtilen veriler ile örtüşmekte ve doğru denebilecek hata oranlarını içermektedir. Çok sayıdaki fosfor tayin yöntemi olmasına rağmen burada bilgi verilecek olanlar, AOAC fosfat tayin yöntemleri ile bu tezdeki çalışmayı içine alan bir yöntem sınıfı olduğundan dolayı AAS yoluyla fosfat tayin yöntemleridir.

#### **1.5.1. AOAC fosfat tayin yöntemleri**

Fosfat ortofosfat ( $H_2PO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$ ,  $PO_4^{3-}$ ); halinde veya ortofosfata dönüştürülerek kantitatif olarak gravimetrik, volumetrik veya kolorimetrik metodlar vasıtasıyla ölçülebilir. Fosfor büyük miktarlarda bulunduğu gravimetrik yöntemler uygulanır (uygulanmıştır). Volumetrik yöntem ise fosfat konsantrasyonu 50 mg/L' yi aştığı zaman uygulanır. Fakat bu kadar yüksek seviyelere, çamur çürütücü üst sıvısı ve kazan suları haricinde pek sık rastlanmaz. Üstelik klasik tayin yöntemleri genelde, çöktürme süzme çökeleğinin dikkatle yıkanması ve titrasyon adımlarını içermektedir, bu işlemler daha zaman alıcı

olduğundan. Çoğunlukla bunun yerine kolorimetrik yöntem tercih edilir.(Samsunlu 1999 d)

Fosfat tayini için kullanılan AOAC yöntemlerinden bazıları aşağıda belirtilmiştir.

#### 1.5.1.1. Gravimetrik quinolimyum molibdofosfat yöntemi

Bu yöntem en çok gübrelere toplam fosforu tayin etmede kullanılmıştır. Fosfor  $(C_9H_7N)_3H_3[PO_4 \cdot 12MoO_3]$  halinde çöktürülüp tartılır. Kullanılan reaktifler sitrik- molibdik asit reaktifi, nitrik asit, quinolin çözeltisi, quimocianic reaktifidir. quimociac reaktifi kinolinin de yer aldığı 3-4 reaktiften hazırlanmakta, yorucu ve 24 saat beklemeyi gerektirmektedir (AOAC, 1990 a).

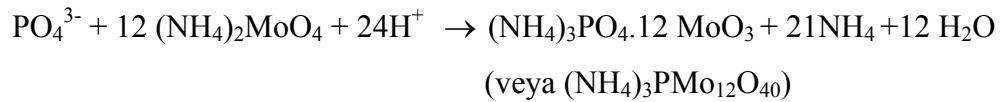
*Titrimetrik Yöntem:* Gravimetrik yöntemde çöktürme adımlarını aynen içerir. Daha sonra çökelek NaOH'ta çözülür. Aşırı NaOH nitrik asitle geri titre edilir. (AOAC, 1990 a).

#### 1.5.1.2. UV-GÖR spektrometrik ve kolorimetrik AOAC tayin yöntemleri:

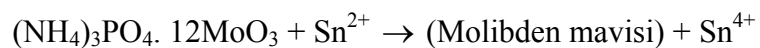
##### 1.5.1.2.1. Ortak kimyasal temel

Ortofosfatları ölçmek için 3 kolorimetrik yöntem kullanılabilir. Bunlar prensip olarak aynıdır, fakat son renk gelişimi için ilave edilen madde farklıdır. Kolorimetrik tayin yönteminin kimyasal açıklaması aşağıdaki şekildedir:

Ortofosfat iyonu, amonyum molibdat ile, asidik koşullarda, amonyum fosfomolibdat olarak bilinen kompleks oluşturur:



Oluşan ürün bir indirgenle molibden mavisine dönüştürülür. İndirgen Sn(II) ise



Molibden mavisinin molar absorpsiyon katsayısı çok yüksektir; duyarlı bir yöntem oluşur.

**1) Ortofosfat tayini:**

Yukarıda fosfomolibdata dönüştürme tepkimesi fosfat türlerinden ortofosfat için seçicidir. Suda çözünür diğer fosfat türleri polifosfatlar ortamda olsalar bile analiz süresinde tepkimeye katılmazlar. Bu durumda yöntem doğrudan uygulanınca elde edilen P derişimi ortofosfatın taşıdığı P'e aittir. Bulunan P derişiminin, P'nin ait olduğu iyonun derişimi değil de fosfor derişimi olarak verilmesi bir gelenektir. Değişik fosfat türlerinin ortofosfata dönüştürme sonucu toplam P derişimini verme durumları da dikkate alınırsa bu gelenek çok yerindedir.

**2) Polifosfat tayini ve toplam inorganik fosfat tayini:**

Toplam İnorganik fosfat, ortofosfat ile polifosfatlardan oluşur. Toplam inorganik fosfat, ortofosfat dışındaki diğer inorganik fosfat türü polifosfatların hepsi ortofosfata dönüştürülerek aynı yolla tayin edilir. "Polifosfatlar; örneğin derişik sülfürik asit ilavesi ile asitlendirilmelerinden sonra, en az 90 dakika kaynatılmak sureti ile orto-fosfatlara dönüştürülür. Hidroliz reaksiyonu otoklavda ısıtma vasıtası ile hızlandırılabilir. İlave edilen aşırı asit, amonyum molibdat çözeltisi ilavesi ile işleme başlamadan önce nötralize edilmelidir. Oluşan ortofosfat, herhangi bir ortofosfat tayin yöntemi yardımı ile ölçülebilir. Numunede tayin edilmiş anorganik toplam fosfatların miktarından ortofosfatların miktarı çıkartılarak, polifosfatların miktarı tayin edilebilir.(Samsunlu,1990 d)

$$\text{Toplam İnorganik fosfat} - \text{Ortofosfat} = \text{Polifosfat}$$

### 3) Organik fosfor tayini:

“Endüstriyel atık sulardaki ve çamurlardaki organik fosfor miktarının ölçümü de önem taşır. Bu analiz, organik maddenin parçalanarak fosfat iyonu şeklinde açığa çıkarılması yoluyla yapılabilir. Organik madde standart metotlardaki “parçalanma” işlemlerine göre parçalanabilir. Kullanılan oksitleyici madde perklorik asit, sülfürik asit - nitrik asit karışımı veya persülfat olabilir. Perklorik asit en şiddetli parçalayıcı olmakla beraber, en tehlikeli olanıdır. Bu nedenle perklorik asitle parçalama sırasında çok dikkatli çalışmak gereklidir.

Parçalama işlemi bittikten sonra, açığa çıkan fosforun ölçülmesi, ortofosfatlara uygulanan herhangi bir yöntem yardımı ile yapılabilir. Organik fosfor tayininde, fosforun tüm halleri (toplam fosfor) belirlenir. Burada organik fosfor aşağıdaki şekilde hesaplanabilir.”.(Samsunlu,1990 e)

$$\text{Toplam Fosfor} - \text{İnorganik Fosfor} = \text{Organik Fosfor}$$

#### 1.5.1.2.2. UV-GÖR spektrometrik ve kolorimetrik yöntemlerinin alt kolları

Bu yöntemler yukarıda belirtilen aynı kimyasal temele dayanır. UV-Gör spektrometrik veya kolorimetrik yöntem kullanılan indirgene göre farklı adı alırlar. Bunlar alfa naftol sülfonik asit yöntemi (APHA, 1965 a), kalay (II) klorür yöntemi (APHA, 1965 b), antimoniltartarat (veya askorbik asit) yöntemidir. (AOAC, 1990 b). Bunlara hiç indirgen kullanılmayan ve fosfomolibdik asitin kendi sarı rengiyle ilgili 360 nm’de ölçüm yapılan yöntem de eklenebilir. (MIR 1988) İndirgensiz fosfomolibidik asit yöntemine göre daha duyarlı olan bir yöntem, amonyum metavanadatın eklendiği “Molibdovanadofosfat” yöntemidir. (AOAC 1990 c).

## 1.5.2. Fosfatın dolaylı AAS tayin yöntemleri

### 1.5.2.1. Fosfomolibdata dönüştürmeye dayalı dolaylı AAS yöntemleri

Fosfat aşağıdaki tepkimeye göre asitli ortamda molibdat iyonu ile fosfomolibdik asit oluşturur:



Ürün bir organik çözücüye ekstraktlanır. Ayrılan organik tabaka, seyreltik asitli sulu asit çözeltisiyle tekrar tekrar yıkanarak organik faza geçebilen aşırı molibdat uzaklaştırılır. P eşdeğeri Mo alevde veya elektro termal teknikte okunur. Bu yöntemin sipesifikliği ekstraksiyon koşulları ile kullanılan çözücünün her ikisine bağlıdır. Metali okuma yolu üçe ayrılır.

- a) Tek ekstraksiyon
- b) Ekstraksiyon ve bozulma
- c) Çökme

#### a) Tek ekstraksiyon yolu

Ekstraksiyon sonucu organik faz doğrudan AAS' ye verilir. Kullanılan organik uçucu tipleri primer oksijenli alkoller, ketenler, esterler. Bu oksijenli çözücüler heteropoliasitler için en iyi ekstraktlayıcıdırlar. Ayar eğrisi P'ye göre hazırlanır. Fosfomolibdik asidin ekstraksiyonu için farklı birkaç alkol denendi bütan-1-ol, izobüterol, heksan-2-ol ve oktan-2-ol. Bu son grubun molibdatı hiç ekstraktlanmadığı için en iyisi olduğu belirlendi. Yöntem hava- asetilen alevi kullanımına duyarlıdır. Tespit sınırı  $0.015 \mu g ml^{-1}$  (P' ye göre). Fakat As ve Si girişimleri söz konusudur.

MIBK (Metilizobütilketon) yüksek  $PO_4^{3-}$  derişimleri için önceleri bir ekstraktlayıcı olarak kullanılmıştır. Girişim üzerine birkaç veri kaydedilmiştir. Standart ekleme yöntemi matriks etkileneni bertaraf etmede için uygulanmıştır.

P ve Si' nin dolaylı ardışık tayini için çabuk ve basit bir yöntem geliştirildi. Bu yöntemde P' nin duyarlılığı  $0.007 \mu g ml^{-1}$  (P' ye göre) olup, isobütil asetat'ın seçiciliği nedeniyle en sipesifik yöntemdir.

10 µg P için kütle olarak ortamda bunun 100 kat değerinde aşağıdakiler girişim yapmaz: Al, Au, Bi, Ca, Cd, Co (II), Cr (III), Fe(III), Ni, Pb, Mg, Mn, Se (IV), Te (IV), Ti (IV), Zn, Fe<sup>2+</sup>, EDTA, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, As (V), Ge (IV), Sb (IV) ve V (V). Ayrıca W (VI) P tayininde on kat kütlede girişim yapmaz. Fark edilmez miktarda serbest molibdat, izobütil asetat içine ekstraktlanır.

P, As ve Si' nin ardışık tayini için bir yöntem Mo' nun heteropoliasit kimyası kullanarak tasarlanmıştır.

Çözücü olarak bütil asetatın özelliği diğer izobütil asetat, MIBK, asetofenon, dietileter, bütan-1-ol, karşılaştırıldığında en iyisi olduğu ortaya çıkmıştır. Bunun nedeni onun sipesifik seçiciliği olup tek adımda % 100 ekstraksiyon verimi sağlamıştır. Bu yöntemde Si, W (VI) ve Ge (IV) girişim yapmaz. (Garcia ve Ark, 1983 d).

#### **b) Ekstraksiyon - bozulma yolu**

Bu yöntemde sulu ortamda oluşturulan fosfomolibdik asit, esterlerin veya alkollerin içine ekstraktlanır.(bu adım önceki yolun aynısı) sonraki adımda iki yoldan biri izlenir.

1) NH<sub>3</sub> çözeltisiyle sulu faza Mo, geri ekstraktlanır. Organik fazdaki kompleks içindeki P eşdeğeri Mo, MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> iyonu olarak geçer. Sulu fazdan Mo AAS' de okunur.



2) Organik çözücülü tabaka buharlaştırılır. Kalan katı nitrik asitte çözülür. Oluşan çözeltideki Mo AAS' de çözülür.

Bozulmaya dayalı bu iki yolun avantajı ayar eğrisi hazırlanırken standarttır. Sulu molibdat çözeltisinden doğrudan hazırlanabilmesidir. (standart için ekstraksiyon işlemine gerek kalmaz). Ayrıca organik çözeltilerde AAS tayinlerinde duyarlık ve sinyal şiddeti sulu ortama göre fazla olmasına rağmen sinyallerin kararlılığı ve tekrarlanabileceği düşüktür.



Saf suda P ve As'ın ardışık dolaylı tayini için bir duyarlı geri ekstraksiyon yöntemi açıklanmıştır. Yöntem fosfomolibdik asit, bütül asetat ile ekstraktlanıp sulu amonyak çözeltisiyle sulu faza geri çekilip bir grafit fırında Mo okunmuştur. Bu yöntemle 2,5 ppb P tayin edilebilmiştir.

Diğer bir yöntemde P ve Si, ardışık olarak tayin edilmiş ve bu yöntem kaya örneklerine uygulanmıştır. Fakat bu yöntem kayalarda Si analizi için uygun olup olmadığı konusunda tartışmaya neden olmuştur. (Garcia ve Ark, 1983 e).

### c) **Molibdofosfatı çöktürme yöntemi**

Gravimetri ile fosfat analizi yöntemine ait aynı kimyasal ilkedden, dolaylı AAS yönteminde de faydalanılmıştır. Örnekteki fosfat, kinolinden hazırlanan ve 24 saat beklemeyi gerektiren yorucu bir süreç sonunda elde edilen quimiocianic asit reaktifi ile molibdat ile asitli ortamda çöktürülür: ürün  $6C_9H_7ON.P_2O_5.24MoO_3.11H_2O$  olan ürün  $NH_3$  çözeltisinde çözülüp Mo, havaasetilen alevinde okunur. P'nin makro miktarlarını tayin eden bu yöntem hızlı, basit ve kolaydır. Aynı kimyasal temele dayalı gravimetrik AOAC yöntemine karşı doğruluk açısından iddialıdır. (Garcia ve Ark, 1983 e).

### 1.5.2.2. Fosfatın, fosfomolibdata dönüştürmeye dayalı diğer dolaylı AAS yöntemleri

1987 yılında R. Ramchandran ve P.K. Gubta tarafından yapılan çalışmada, çelik içerisindeki fosfor, bizmut fosfomolibdat kompleksi oluşturularak AAS yolu ile tayin edilmiştir. Bu çalışmada, bizmut fosfomolibdat metil izobutil keton içerisine ekstraktlanmış ve organik fazda okuma yapılmıştır. Nikel ortamda fosfora göre 400 kat fazla olmadığı sürece girişim yapmaz. Ölçüm sonuçları AOAC metodları ile uyuşmaktadır. (Ramchandran, Gubta, 1988).

1993 yılında Fukushima Katsuji, Nagashima Kunio, Kamaya Minori ve Ishii Eizen, fosfatı grafit fırınlı AAS kullanarak çinko okumasına dayalı dolaylı olarak tayin yöntemi üzerine çalışmışlardır. Bu çalışmada fosfatın, çinko

atomlaşma katsayını düşürmemesi için optimum atomizasyon sıcaklığı 1300°C yerine 1000°C olarak alınmıştır. 50 ppb çinko derişimi kullanılarak fosfatın nicel alt ölçüm sınırı % 0,3 standart sapma ile 4 ppb olarak belirlenmiştir. (Katsuji, Kunio, Minori, Eizen, 1993).

Toshiko Nasu ve Masahiko Kan 1988 yılında fosfat, arsenat ve arseniti iyon çifti reaktifi olarak kullanılan Malachite Green ile yüzdürme-spektroskopi ve ekstraksiyonla dolaylı AAS yolu ile tayin etmiştir. Malachite green ve molibdofosfat iyon çifti sulu faz ve dietil eter fazı arasında membran olarak yüzdürülmüştür. Sıvı fazın atılması ile yüzen iyon çiftine çözülmesi amacı ile metanol eklenmiştir. Fosfat belirlenmesi bu organik fazda yapılmıştır. (Nasu ve Kan, 1988).

### **1.5.2.3. Fosfatın, fosfomolibdata dönüştürme dışında diğer dolaylı AAS tayin yöntemleri**

Taga, M.,;Kan, M. suda çözünür fosfor türlerini AAS'de Co ölçümüne dayalı olarak tayin etmişlerdir (Taga, 1989). Grasso ve ark. sulu örnekte sülfür ve ortofosfatı Zn ve Mg ölçümüne dayalı olarak, AAS yolla tayin etmişlerdir. (Grasso ve ark, 1983). Alaa-Eldin ve ark., sulu çözeltide fosfatı  $MgNH_4PO_4$ 'e dönüştürme ve bunu çözme sonrası AAS'de Mg ölçümü yapan bir yöntem geliştirmişlerdir (Alaa-Eldin ve ark, 1994).

### **1.5.3. Fosforun doğrudan AAS tayini**

William B. Hobbins tarafından 1982 yılında, sulu matristeki fosforun direkt olarak tayini için bir yöntem araştırılmıştır. Yöntemin normal çalışma aralığı alevde 400-8000  $\mu\text{g/mL P'}$  dir. Daha düşük derişimlerde karbon çubuk kullanılmıştır. Karbon çubuk kullanıldığında stabilizatör olarak 1000  $\mu\text{g/mL Ni}$  tüm çözeltilere eklenmiştir. Karbon çubuklu tayinlerde normal çalışma aralığı 4-200  $\mu\text{g/mL P'}$  dir. (Hobbins, 1982).

#### 1.5.4. Tezin amacı

Bu tezde fosfat tayini için ekstraksiyon gerektirmeyen, fosfomolibdat bileşiği halinde çöktürmeye ve AAS’de molibden okumaya dayalı alternatif bir yöntem geliştirilmesi veya oluşturulması amaçlanmıştır. Ayrıca geliştirilecek yöntemin hangi tür örneklerle uygulanabilir olduğunun araştırılması da amaçlanmıştır. Bu çalışmanın özgünlüğü ve avantajları şu şekilde ifade edilebilir:

1) *Çözücü ekstraksiyonu gerektirmemesi:* Dolaylı AAS yöntemlerinin tamamına yakınında ayırma vardır ve ayırma genellikle çözücü (sıvı-sıvı) ekstraksiyonu yoluyla yapılır. Yapılan ayırmalarda seyrek olarak çöktürme yolu da izlenmiştir. Organik çözücülerin pahalı olması nedeniyle bunların kullanılmadığı bir ayırma yönteminin deney maliyeti daha düşüktür. Ayrıca çevre ve insan sağlığı açısından sıvı-sıvı ekstraksiyonunun neden olduğu sorunlarla karşılaşmaz. Dolaylı AAS yöntemlerinde en çok kullanılan klorlu hidrokarbonlar ve MIBK çok uçucudurlar. Analiz sonrası organik çözücülü atıklar gider yoluyla atılıp bunlar sulu ortamda bozunabilseler de deney sırasında analizci bunların buharlarını solumaya maruz kalır. “Klorlu hidrokarbonlar çözücüler içinde en zehirlileridir. Ayrıca kalp depresanıdır.” (Vural, 1996). Halojenli hidrokarbonlar atmosfer kirleticileri arasında yer alır. “Bunların inert olmaları nedeniyle troposferi kirletmeleri önemsizdir. Fakat stratosfere çıkarlar ve insanlık için çok tehlikeli olacak tepkimelere girerler.” (Gündüz, 1994 b). “Stratosferde atomik klorün kaynağı halokarbonlardır.” (Gündüz, 1994 c). Atomik klorün büyük miktarda ozonu tükettiği, üstelik bu tüketimin klorün kendisi harcanmadan, katalizör etkisiyle olduğu laboratuvar çalışmalarıyla ispatlanmıştır. Aynı çalışma ile atomik klorün halokarbonlardan da çıkabileceği tespit edilmiştir. (Gündüz, 1994 d). Dolaylı AAS yöntemlerinde daha kullanılan MIBK keton sınıfı bir bileşiktir; bu sınıf bileşikler narkotik etkilidirler ve solunum stimulanıdır. (Vural, 1996). US EPA (Amerika Birleşik Devletlerinde Çevre Koruma Kurumu) tarafından yapılan sınıflandırmada benzen kanserojen madde olarak değerlendirilirken karbontetraklorürü, kloroform, vinil klorür, etilen dibromir

kansere sebep olma riski taşıyan maddeler sınıfı olarak adlandırılmıştır. (Alyüz ve Ark., 2006). US EPA analitik işlemlerde sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile katı faz ekstraksiyonunun yer değiştirilmesi için uğraşmaktadır” (Wiley-Vch, 1999).

2) *Piridin çöktürücü baz olarak ilk defa kullanılması*: Alkaloid gibi organik bazlar, fosfatı asidik ortamda molibdatla birlikte fosfomolibdat halinde çöktürür (Melentyeva 1988). Bu çalışmada fosfat, fosfomolibdik asit (FMA) haline dönüştürme sonrası bir bazla çöktürülmüş, çöktürücü olarak daha önce bu amaçla hiç kullanılmamış, daha ucuz ve daha kolay bulunabilen bir baz, piridin kullanılmıştır. Fosfat tayini için fosfomolibdat oluşumuna dayalı geliştirilmiş dolaylı AAS yöntemleri vardır. Bunlardan yalnız birisinde çöktürmeyle ayırma vardır. Bu, gravimetrik olan fosfomolibdat çöktürmesi ile aynı çöktürücünün kullanıldığı bir yöntem olup çöktürücü olarak quimiocianic reaktifi kullanılmakta, bu reaktif kinolinden yola çıkarak 24 saat bekleme ve süzme gerektiren yorucu bir süreç sonunda elde edilmektedir. (Garcia ve Ark, 1983 b).

Fosfor veya fosfat tayini için AOAC yöntemleri 1.5.1’de verilmiştir. Tez ile ilgili olan yöntem sınıfı dolaylı AAS olup bu yollarla fosfatın tayini ile ilgili yapılan çalışmalar hakkında bilgi 1.5.2’ de verilmiştir, böylece tezdeki amaçlanan çalışmanın diğer dolaylı AAS yöntemleri arasındaki yeri daha net olarak anlaşılacaktır.

## 2. YÖNTEM VE TEKNİKLER

### 2.1. Yer ve Tarih

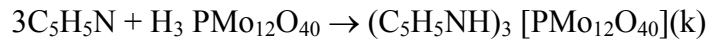
Bu tez kapsamındaki tüm deneyler Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarı'nda 2006 - 2007 yılları arasında çalışılmıştır. AAS okumaları Ankara M.T.A. Genel Müdürlüğü Matlab Daire Başkanlığı Analitik Kimya Laboratuvarlarında ve C.Ü. Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümünde yapılmıştır.

### 2.2. Geliştirilen Yöntemin Temel İlkesi

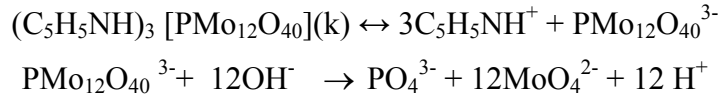
Geliştirilen yöntem şu temel adımlara dayanmaktadır: Fosfat, asitli ortamda molibdat ile beraber bulunduğu sarı renkte fosfomolibdik asit (FMA) oluşturmak üzere tepkime verir:



Ortama piridin eklendiğinde sarı renkte piridinyumfosfomolibdat çökeleği oluşur, beklenen tepkime:



Bu çökelek daha sonra bazik ortamda çözülür:



Elde edilen çözeltideki Mo absorbanı AAS'de ölçülür. Ölçülen absorbanla P derişimi arasında ilişki kurulur.

*Bulunan fosfor derişiminin hangi fosfat türüne ait olduğu;*

Yukarıdaki tepkime P'li türlerden ortofosfat için seçicidir, fosfor taşıyan iyonlardan yalnızca ortofosfatı çöktürür. Ortamda diğer P'li türler bu tepkimelere katılmazlar.

Geliştirilen yöntemde yalnızca ortofosfat iyonu çöktürüldüğünden bulunan fosfor derişimi ortofosfata aittir. Bu nedenle P standartları  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  gibi ortofosfat iyonu içeren bir tuzdan hazırlanmıştır. (gerçi suda ortofosforik asite dönüşeceği için başka uygulamalardaki gibi  $\text{P}_2\text{O}_5$ 'den de hazırlanabilirdi). Bulunan P derişimi örnekteki ortofosfatın taşıdığı fosforun derişimini verir. Fakat polifosfatlar

ortofosfata, organik fosfor da değişik yolla ortofosfata dönüştürülebildiğinden geliştirilen yöntemle ortofosfat, polifosfatın ve organik fosforun derişimleri ayrı ayrı bulunabilir. Bu dönüştürmeler ve farklandırma yolları, 1.5.1.2.1.de bilgi verilmiştir. O kısımda fosfor tayini UV-Gör / kolorimetrik yolla yapılsa da o yöntem ile geliştirilen yöntemin her ikisi ortofosfatın tepkimesine dayanmaktadır. Bu nedenle fosfat türleri ortofosfat, polifosfat ve organik fosfor, ayrı ayrı tayin edilmek istenirse 1.5.1.2.1.de belirtilen dönüştürme ve farklandırma yolu bu yöntem için de geçerlidir.

Bu tezdeki geliştirilen yönteme ait uygulamalarda dönüştürmelerin hiçbiri yapılmamış olup yalnızca ortofosfat tayin edilmiştir.

Ayar eğrisi P derişimine karşı Mo absorbandsını gösterecek şekilde tasarlandı. Ayar eğrisi ile bulunan fosfor derişimi yukarda bahsedilen dönüştürme yapılmamışsa ortofosfata aittir. 1.5.1.2.1. de değinildiği gibi bulunan fosfor derişimi ortofosfata ait olmasına rağmen derişimin ortofosfat olarak değil de fosfor derişimi olarak gösterilmesi fosfat tayinlerinde bir gelenektir. Burada da bu geleneğe uyuldu. Bu gelenek, değişik fosfat türlerinin ortofosfata dönüştürerek toplam P derişimini bulma durumları da dikkate alındığında (burada yapılmasa da) çok yerindedir.

### **2.3. Optimizasyon**

Sinyale etki eden etkenler kritik değerler olup bunlar kullanılan reaktiflerin derişim ve hacimleri ile araç/gereç parametreleridir. Bu kısımda bunlara ait en uygun değerlerin belirlenmesi yani bu parametrelerin optimizasyonu yapılmıştır. Reaktiflerden yalnızca molibdatın optimal derişimini belirlemek için burada deneme yapılmamış olup buna yakın çalışmalarda kullanılan  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$  derişimi (%6(w/v)) optimal değer olarak alındı (Simon ve Ark, 1975, Bazzi ve Ark, 1988)

#### **2.3.1. Ürünü ayırma**

Santrifüjleme tekniğinde 2500 devir/dk ile yapılan ayırmalarda tekrarları sonuçlar elde edilemedi. Kesin/tekrarlanabilir sonuçlar 5000 devir/dk'ın üzerinde

olması gerektiği belirlendi. Daha iyi sonuçlar için çalışmalar esnasında kullanılan santrifüj makinesi maksimum devri olan 5900 devir/dk' da kullanıldı.

### **2.3.2. Ürünü oluşturmada kullanılan reaktif ve örnek hacimleri ve ekleme sırası**

Yukarıda bahsedilen kimyasal dönüşümler geliştirilecek yöntemde 10 mL'lik polipropilen tüpte gerçekleştirilecektir. Bu hacimdeki bir tüpte uygun toplam reaktif hacmi 6,0 ml olarak kararlaştırıldı. Analitin nicel ölçüm sınırını mümkün olduğu kadar düşük tutabilmek için örnek hacminin mümkün olduğunca büyük, reaktif hacimlerinin ise mümkün olduğunca küçük olması gerekeceğinden örnek hacminin 3,0 mL, reaktif hacimlerinin her birinin 1,0 mL olması uygun bulundu.

### **2.3.3. Ürünü oluşturmada kullanılan reaktiflerin ekleme sırası**

Çökmeden önce FMA oluşturulacağından bunun reaktifleri öncelikle eklenmelidir. Çökme ürününün oluşmasına reaktif ekleme sırasının etkisi için ön denemeler yapıldı ve bu sıranın soldan sağa Çizelge 2.2' te belirtilen şekilde olmasına karar verildi.

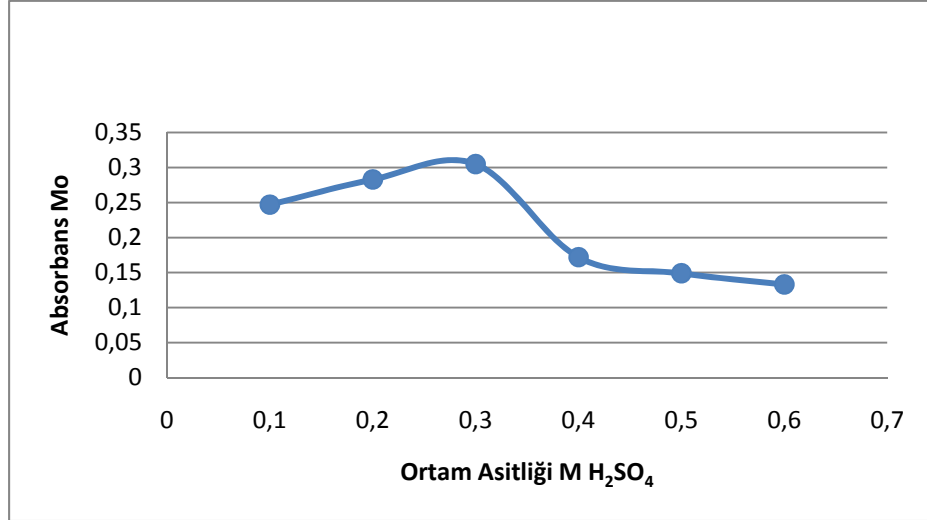
### **2.3.4. Çöktürme yönteminde ortam asitliğinin belirlenmesi**

Uygun ortam asitliği şu yolla belirlendi: Her bir tüpe nispeten derişik bir H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinden değişik miktarlar alındı. Diğer reaktif ve suyun eklenmesi sonucu toplam hacim 6 mL olacağı dikkate alınarak alınan miktarlar aşağıda gösterilen ortam asitliğini verecek şekilde hesaplandı.

**Çizelge 2.1.** Ortam asitliğinin çökmeye etkisi.

Ortam Asitliği/ M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Absorbans* ( Mo)
0,1	0,247
0,2	0,283
0,3	0,305
0,4	0,172
0,5	0,149
0,6	0,133

\*Her bir derişimde paralel iki denemeye ait ölçümün ortalaması alındı.



**Şekil 2.1.** Ortam Asitliği (M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) Absorbans Mo Grafiği

Şekil 2.1'deki grafikte sinyali maksimum yapan ortam asitliğinin 0,3 M olduğu görülmektedir. Bunun üzerinde sinyal hızlı düşüş göstermektedir. Asitliğin 0,3 M' a kadar artmasıyla sinyal artışı, asitliğin çökme miktarını artırması ile açıklanabilir. 0,3 M' dan sonra azalmanın nedeni ise asitliğin bu değerin üzerine çıkmasıyla farklı yük ve yapılarda değişik molibdat türleri oluşması ve bunun da çökmeyi azaltmasıdır. (Greenwood ve Ark, 1985). Sinyali maksimum yapan derişim duyarlık açısından iyidir. Fakat bu derişim değerinin sinyalin hızlı düşüş bölgesine bitişik olması iyi olmaz, çünkü asit derişimindeki bir belirsizlik kesinliği düşürebilir. Bu derişimin soluna gidilirse derişim sağa göre daha azdır. Bu nedenle seçilecek ortam derişimi 0,3 M' ın biraz altında olmalıdır. Ortam



asitliği 0,25 M alındı. Eklenen asit 1 mL, tepkime ortamının toplam hacmi 6 mL olduğuna göre bu asitin başlangıç derişimi bunun 6 katı olan 1,5 M olur.

### 2.3.5. Optimal piridin derişimi

Fosfatın olmadığı asitli ortamda piridinin molibdatla istenmeyen çökelek verip vermediğini görmek için çeşitli yüzdelerde piridin ile boş denemeler yapıldı. Belli bir derişimin üzerinde piridinin molibdatla beyaz çökelek verdiği gözlemlendi. Çökmenin olmadığı en üst derişimin %0,5 (v/v) olduğu saptandı. Emin olmak için en az 6 saat bekletildi. Sonuç olarak optimal piridin derişiminin bu değer olmasına karar verildi.

**Çizelge 2.2.** Reaktiflerin ekleme sırası, hacim ve derişimleri.

Sırası İle Reaktifler	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Örnek	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	Pridin	Toplam
Miktarlar/ mL	1	3	1	1	6
Derişimler	1,5 M	Bilinmeyen derişim	%6 (w/v)	%0,5(v/v)	-

### 2.3.6. Oluşturulan çökelek için çözücü seçimi

FMA çökeleğini herhangi bir baz PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> ve MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> olmak üzere çözer.



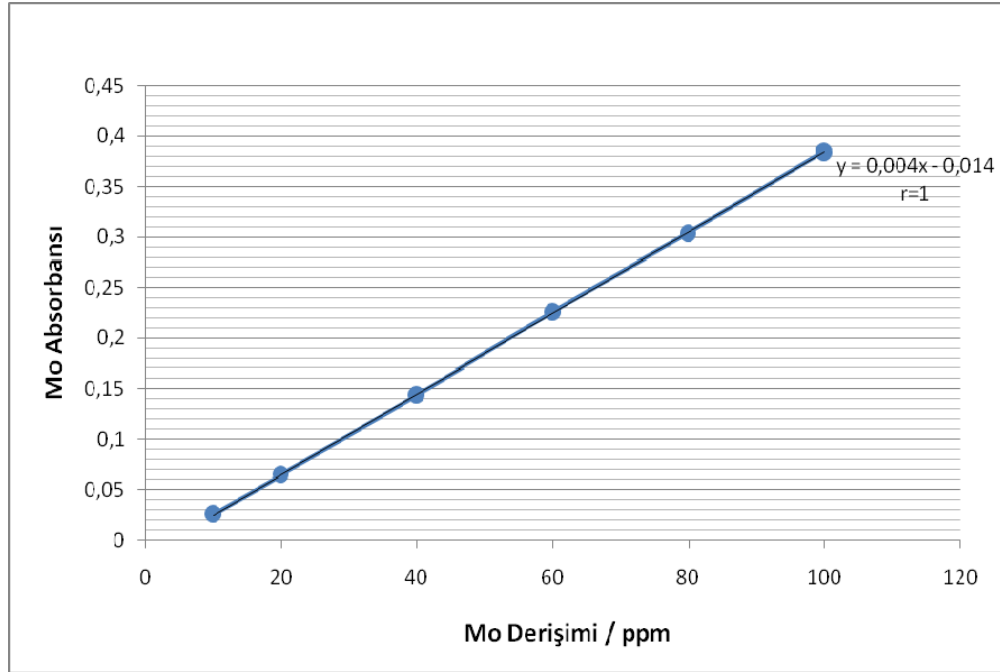
Bu tipteki çökeleği çözmede 0,05 M NaOH kullanılması, Bazzi ve Ark (1988) tarafından, doğrusal olmayan ve hatalı sonuçlar verdiği bu nedenle uygun olmadığı belirtilmiştir. Bu konuda Simon ve Ark (1975), Bazzi ve Ark (1988) tarafından izlenen yol takip edilerek çökelek pH' ı 9 olan NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>Cl tamponunda çözülmüştür.

### 2.3.7. Final hacmin belirlenmesi

Final hacmin daha düşük yapılması sinyalleri daha şiddetli yapar. Fakat final hacimdeki Mo derişiminin, Mo standartlarıyla oluşturulan ayar eğrisinin

doğrusal aralığını aşmaması gerekir. Bunun için Şekil 2.2.' te gösterilen Mo ayar eğrisinden faydalanıldı. Mo için bu aralık geniş olup üst sınır 100 ppm'i bulmaktadır. Final hacim 25 mL yapıldığında Mo derişiminin bu aralığın üzerine/dışına çıktığı belirlendi. 50 mL olacak şekilde tekrarlandığında aralığa düştüğü görüldü. Bu nedenle final hacim 50 mL olarak alınmıştır.

Şu hususun altını önemle çizmek gerekir: Mo ayar eğrisi yalnızca yukarıdaki amaç için (final hacmi belirlemek için) hazırlanmış olup geliştirilen yöntemle ait ayar eğrisi değildir. Geliştirilen yöntemin ayar eğrisi 3. bölümde verilmiş olup bu fosfor standart derişimine karşı Mo absorbansını gösteren bir grafikdir.



Şekil 2.2. AAS'de Mo ayar eğrisi.

## 2.4. Geliştirilen/ Önerilen Yöntem

### 2.4.1. Araç ve gereçler

Sonuçları 3. Bölümde verilen ve geliştirilen yöntemin uygulanmasında kullanılan araç/gereçler ve bunlara ait bilgiler ve seçilen parametreler ve bilgiler aşağıda verilmiştir.

Enstrümant koşulları:

#### 1) AAS:

Marka ve model	: Perkin Elmer, AAS Model 400
Alev tipi	: N <sub>2</sub> O/C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> (Nitrözoksit / asetilen alevi )
Yakıcı Gaz (N <sub>2</sub> O) akış hızı	: 5,24 L/dk,
Yakıt (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ) Akış Hızı:	: 6,54 L/dk
Lamba	: Molibden Oyuk katot lambası:
Marka	: Perkin Elmer
Dalga Boyu	: 313.3 nm
Lamba Akımı	: 30 mA

#### 2) Santrifüj:

Hettich Universal Marka, D-7200 Model

### 2.4.2. Reaktifler

- 1) *Standart fosfor çözeltisi, 100 ppm:* 0,1405 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> analitik saflıkta (Merck) katısı alınarak 250 mL balon jojeye aktarılır, damıtık su ile hacmi tamamlanır. Bundan 5, 10, 15, 20, 25, 30 ppm P standart çözeltileri hazırlanmak üzere hesaplanmış hacimlerde çözelti alınıp çözelti 25 mL balon jöjelere alınarak damıtık su ile işaret çizgisine seyreltilir.
- 2) *Sülfürik asit çözeltisi, 1.5 M:* 83 mL derişik analitik saflıkta stok çözeltisi 1 L' lik balon içindeki damıtık suya yavaşça aktarılıp damıtık suyla hacim tamamlanır.

- 3) *Sülfürik asit çözeltisi, 0.5 M*: 27.8 mL derişik analitik saflıkta stok çözeltisi 1 L' lik balon içindeki damıtık suya yavaşça aktarılıp damıtık suyla hacim tamamlanır.
- 4) *NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>Cl Tamponu (pH 9)*: 13.375 g NH<sub>4</sub>Cl (susuz) 1 L' lik balon joje içerisinde bir miktar damıtık suda çözülür ve üzerine 35 ml derişik amonyak stok çözeltisinden eklenir. Damıtık su ile 1 L' ye tamamlanır ve polietilen şişede saklanır.
- 5) *Na<sub>2</sub>Mo<sub>4</sub>2H<sub>2</sub>O Çözeltisi, %6 (w/v)*: 6,00 g analitik saflıkta Na<sub>2</sub>Mo<sub>4</sub>2H<sub>2</sub>O tuzu tartılıp 100 mL'lik balon jojeye aktarılır. Hacmi tamamlanıp ağzı kapatılıp karıştırıldıktan sonra kuru bir polietilen şişeye aktarılır.
- 6) *Piridin çözeltisi, % 0.5 (v/v)*: 0,5 mL %98,5'luk piridin stok çözeltisinden (Merck) alınarak 100 ml' lik balon jojeye aktarılıp hacmi çizgiye kadar damıtık su ile tamamlanır. Sonra renkli şişeye aktarılır. Çözelti karanlık ortamda renkli şişede saklanır.
- 7) *Mo Standart çözeltisi, 1000 ppm*: 0.2522 g (Merck) analitik saflıkta Na<sub>2</sub>Mo<sub>4</sub>2H<sub>2</sub>O tuzu 100 mL' lik bir balon içerisinde çözülür. Hacim damıtık su ile çizgiye kadar tamamlanır. Bu çözeltiden 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 ppm derişimlerde standartlar 25 mL hacimlerde hazırlamak için 1000 ppm'den alınan hesaplanmış hacimlerde çözelti alınarak 25' er mL' lik balon jodelere aktarılır, içlerine 20,0 mL tampon (reaktif 4) konulur, damıtık su ile seyreltilir.

### 2.4.3. Önerilen / geliştirilen yöntemin yapılışı / standart işlemler

#### I) Çökeleğin oluşturulması:

Bir dizi 10 mL' lik polipropilen tüp alınıp bunlardan en az üçü örnek için, 6'sı (paralel çalışılacaksa 12'si) fosfor standartları için olmak üzere (aşağıdaki derişimleri gösterecek şekilde) etiketlenir. Tüplerin her birine 1 mL, 1,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenir. Standart için olan tüplere K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>'ten hazırlanmış 5, 10, 15, 20, 25, 30 µg/mL'lik fosfor standartlarının her birinden 3 mL, örnek için olanlara da hazırlanmış durumdaki örnekten yine 3 mL eklenir. Sonra bütün tüplere 1 mL % 0,6' lık (w/v) Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> eklenir. FMA oluşumunun tamamlanması için 5 dk

beklenir. Sonra 1 mL % 0,5 (v/v) piridin eklenip reaktiflerin dengeye gelmesi için 5 dk kadar daha beklenir.

*II) Çökeleğin ayrılması:*

Tüpler 5900 dev/dk' da 10 dk süre ile santrifüjlenir. Santrifüj sonrası üstteki çözelti dikkatlice ayrılarak atılır. Tüplerin ağızları süzgeç kağıdı ile hafifçe silinir. 10 mL 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile çökelek yıkanır. Aynı koşullarda tekrar santrifüjleme yapılarak üstte kalan yıkama çözeltisi atılır.

*III) Çökeleğin çözülmesi ve AAS' de okunması:*

Tüplere 5 ml NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>Cl tamponu eklenerek ilk önce çökelek çözülür. Bir beher yardımı ile 50 ml' lik balona alınır. Daha sonra 5 ml daha NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>Cl tamponu eklenerek tüpte hiçbir artık kalmaması sağlanır. Bu çözeltide balona alınır. Tüpün içi ve beher damıtık su ile yıkanarak bu sular balon jojeye eklenir. Balon jojenin hacmi damıtık su ile tamamlanır. Ağız kapatılıp karıştırılır. Buradan polietilen şişelere alınarak AAS' de 2.2.3' de belirtilen parametrelerde okuma yapılır.

#### **2.4.4. Kola örneklerine uygulanması**

Kola örneği behere konular, etüvde 40 °C' nin altında en az 6 saat bekletilerek gazı uçması sağlandı (koladaki gaz kabarcıkları örnek hacmi üzerinde belirsizliğe veya hataya neden olabilmektedir). Gazı uçan stok çözeltiden 2 mL alınarak 25 mL' lik balonlara aktarılıp hacim ayar çizgisine yükseltildi. Bu çözeltiden 3 adet tekrar örnek alınıp bunlara geliştirilen yönteme ait 2.2.3.' deki işlemler uygulandı.

*Hesaplama<sup>1</sup>:*

Uygulanan yöntemin son adımında final çözeltiye ait ölçülen absorban sinyalleri ile orijinal örnekteki fosfor derişimi arasındaki bağıntıyı çıkarmak için şu yol izlendi: Seyreltilmiş örneğe karşılık gelen derişime  $c_{seyr}$ , seyreltme oranına  $V_{seyr}/V_{orj}$ , ortalama sinyale  $\bar{A}$ , lineer regrasyon eşitliğinde eğim ve kaymaya  $m$  ve  $b$  densin.. Kullanılan standartlardan elde elden ve derişimi sinyale bağlayan lineer regresyon eşitliği

$$A = mc + b \quad (2-1)$$

Örneğe ait üç ölçümün ortalaması  $\bar{A}$  olup, buna karşılık gelen ortalama derişim

$$c_{seyr} = (\bar{A} - b)/m \quad (2-2.)$$

Seyrelme öncesi derişimi (orijinal derişimi) ise

$$c_{orj} = (V_{seyr}/V_{orj})c_{seyr}$$

Ölçülen sinyal ortalamasından doğrudan orijinal örneği hesaplamak için  $c_{seyr}$  yerine 2-2'deki karşılığı yerine konularsa

$$c_{orj} = (V_{seyr}/V_{orj}) (\bar{A} - b)/m \quad (2-3)$$

elde edilir. Burada alınan seyreltme oranı 25/2 idi. Bu yukarda yerine konularak

$$c_{orj} = 12,5 (\bar{A} - b)/m \quad (2-4)$$

elde edildi. Bu eşitlikten orijinal kola örneğinde ortofosfat derişimi  $\mu\text{g/mL P}$  olarak hesaplandı.

#### 2.4.5. Gübre örneklerine uygulanması

Geliştirilen yöntemin uygulandığı çözünür fosfat içeren gübre örneği major oranda triamonyum fosfat ile toprak dolgu maddesi karışımı katı bir maddedir. Örnek hazırlama AOAC yöntemine göre hazırlandı. Buna göre 0,200 g kurutulmuş gübre örneği tartıldı. Bir huninin üzerine mavi bant süzgeç kâğıdı, altına 100 mL'lik balon joje yerleştirildi. Tartılan örnek, süzgeç kâğıdı üzerine konulup üzerine çift damıtık su konulup süzüldü. Ekleme ve süzmeye, süzüntü 100 mL'ye ulaşınca son verildi (AOAC, 1990 d) Bu stok çözelti 100/3 oranında seyreltildi; stok çözeltilerden alınan 0,75 mL 25 mL'lik balona aktarılıp belirtilen hacme seyreltildi. Seyreltilmiş bu çözeltilerden alınan 3 tekrar örneğe 2.2.4.' de belirtilen yöntem uygulandı.

*Hesaplama<sup>2</sup>:*

Katıdaki çözünür fosfatı sulu ortama alındığında bu ilk çözeltilerin derişim ve hacmi  $c_{stok}$ ,  $V_{stok}$ , (mL) denildi. Bundan  $V_{der}$  mL alınıp  $V_{seyr}$  mL'e tamamlandı;

(seyreltme oranı  $V_{seyr} / V_{der}$ ), seyreltme sonrası derişim  $c_{seyr}$  densin.. Seyreltilmiş örneğe karşılık gelen P derişimi ( $c_{seyr}$ ) eşitlik 2-2'e göre

$$c_{seyr} = (\bar{A} - b) / m$$

Katıdan ilk hazırlanan çözelti olan stok çözeltinin derişimini veren eşitlik

$$c_{stok} = (V_{final} / V_{der}) c_{seyr}$$

olur. Stok çözeltide çözünmüş fosfattaki fosfor miktarı gram fosfor ( $g_P$ ) olarak

$$g_P = c_{stok} V_{stok} \times 10^{-6} \text{ g}$$

orijinal(katı) örnekteki çözüdür fosfor yüzdesi

$$\%P = \frac{g_P}{g_{örnek}} \times 100$$

Bütün bu bağıntılar birleştirildiğinde orijinal(katı) örnekteki çözüdür fosfor yüzdesi

$$\%P = \frac{(V_{seyr} / V_{der}) c_{seyr} V_{stok} 10^{-4}}{g_{örnek}} \quad (2-5)$$

$c_{seyr}$  yerine 2-2'deki karşılığı yerine konulursa

$$\%P = \frac{(V_{final} / V_{der}) c_{seyr} V_{stok} 10^{-4}}{g_{örnek}} \times \frac{\bar{A} - b}{m} \quad (2-5)$$

elde edilir. Buradaki uygulamadaki değerler  $g_{(örnek)} = 0,2000 \text{ g}$ ,  $V_{stok} = 100 \text{ mL}$ , seyreltme oranı 25/0,75 veya 100/1,5 yerine konulursa

$$\%P = 3,3334 (\bar{A} - b) / m \quad (2.7)$$

elde edildi. Gübre örneğindeki ortofosfata ait P'nin yüzdesi bu eşitlikten hesaplandı.

#### *Açıklamalar*

[1]: Okuma işleminin örnek ve standartlar için bir arada veya ardarda yapılması gerekir. Fakat analiz işlemlerinin standartlar (yalın P) ile örneğe aynı

anda uygulanması gerekmez, Daha önce oluşturulmuş, yöntem uygulanmış ve AAS'de okumaya hazır hale getirilmiş standartlar daha sonra analizlenecek örneklerle birlikte okunabilir.

[2]: 2.2.1'de de açıklandığı gibi geliştirilen yöntemde yalnızca ortofosfat iyonu çöktürüldüğünden ayar eğrisindeki fosfor derişimi ortofosfatın taşıdığı P'e aittir ve bulunacak P derişimi de örnekteki ortofosfatın P derişimi olarak karşılığıdır. (gerçi analizlenen örneklerde başka bir fosfat türü de beklenilmiyor; koladaki ve analizlenen gübredeki fosfatın her ikisi de ortofosforik asitten gelmektedir (bk ortofosforikasit kullanma yeri 1.4.2.1) .

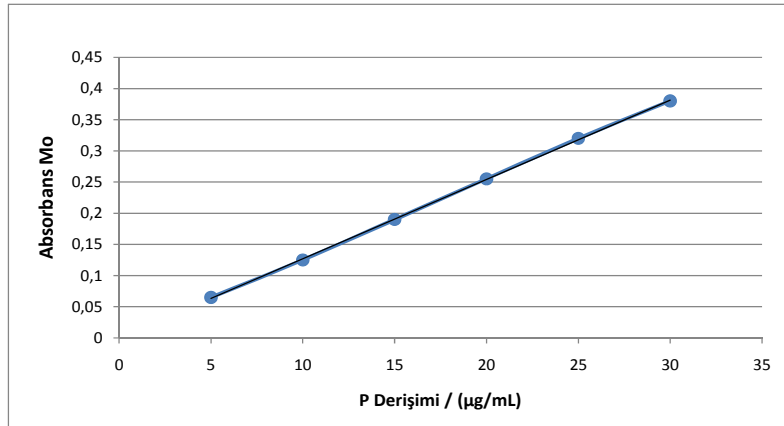


### 3. BULGULAR

#### 3.1. Ayar Eğrisi

Geliştirilen yöntemle ait ayar eğrisi Şekil 3.1.'de görüldüğü gibi standart fosfor derişimine karşı Mo absorbansını gösterecek şekilde hazırlandı.

Örneğe uygulanacağı zaman hazırlanmış standartlar kullanılır. Burada standart denilince yalın P standartları mı, yoksa bunlara yöntemin uygulanması sonucu elde edilen ve P'nin yanı sıra Mo içeren çözeltilerin mi kastedildiğine dair bir tereddüt oluşabilir. Örneğe uygulanacağı zaman kullanılan standart denilince ikincisi (Mo içeren) akla gelmelidir. Daha net anlaşılması için burada bu çözeltiler “yöntem uygulanmış standartlar” olarak da isimlendirilmiştir.



**Şekil 3.1.** Geliştirilen yöntemle ait ayar eğrisi. (Her bir derişim için paralel deneme yapıp iki sinyalin ortalaması alındı.)

*Bulgular veya çizelgelerle ilgili ortak değerler;*

Yalnızca standartlar örnekten bağımsızdır; bunlarla ayar eğrisi veya lineer regresyon eşitliği elde edilir. Aynı tür örneğe ait tüm ölçümler yöntemi uygulama öncesi aynı seyreltme oranı sonucunda ve aynı tekrar örnek sayısında yapılmıştır. 2. Bölümde örnek hazırlama kısmında da verildiği gibi geliştirilen yöntemin uygulama öncesi seyreltme oranları kola örneklerinde 25/2 (veya 100/8), gübre stok çözeltilerinde 100/1,5'dur. Yani kolada 2 mL örnek alınıp 25 mL'ye seyreltildi, gübrede ise 0,75 mL gübre stok çözeltilisi alınıp 25 mL'ye seyreltildi.

Gübreye ait seyrelme öncesi stok çözelti ise 0,2000 g katı örnek (kurutulmuş) alınıp su ile ekstraktlandı, çözümler fosfat sulu faza alınma sonrası hacim 100 mL olacak şekilde hazırlandı.(bk 2.5.1.).Yöntem her örnekte 3 tekrar örneğe uygulandı.

**Çizelge 3.1.** Ayar eğrisinin özellikleri. Önerilen yöntemi uygulama öncesi seyreltme oranları kola örneğinde 25/2 (veya 100/8), (2 mL kola örneği alınıp 25 mL'ye seyreltildi, gübre stok çözeltisinde 100/1,5. yani 0,75 mL gübre stok çözeltisi alınıp 25 mL'ye seyreltildi, Yöntem her iki tür örnekte 3 tekrar örneğe uygulandı.

Örnek	Örnek hacmi/mL	Final hacim/mL (Çözme sonrası)	Kullanılabilir Aralık (µg/mL )	Lineer Regresyon Eşitliği
Pepsi Kola	3	50	5-30	A= 0,01281c + 0,0008
Koka Kola	3	50	5-30	A= 0,01264c + 0,00133
Koka Kola Light	3	50	5-30	A= 0,01264c + 0,00133
Kola Turka	3	50	5-30	A= 0,01264c + 0,00133
Gübre	3	50	5-30	A=0,01270c - 0,00153

\*Bu örneklerin hepsi için aynı standartlar kullanılmıştır. Lineer regresyon eşitliklerindeki farklılıkların nedeni, analiz tarihinin buna bağlı olarak AAS'de alevin farklı olmasıdır.

### 3.2. Kesinlik / Tekrarlanabilirlik

Tekrar örnek sayısı az sayıda (yirminin altında) olduğu zaman standart sapma türü olarak örnek standart sapması hesaplandı, bunun için örnek standart sapmasını tanımlayan aşağıdaki bağıntı kullanıldı:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (3-1)$$

Burada  $\bar{x}$  :ölçümlerinin ortalaması,  $x_i$  : i nolu ölçüm, n: ölçüm sayısı (tekrar örnek sayısı)

Bir analiz yönteminin kesinliği *bağıl standart sapma* (BSS) ile gösterilir:

$$BSS = \frac{S}{\bar{x}} \quad (3-3)$$

Kesinlik daha çok *yüzde bağıl standart sapma* (*varyasyon katsayısı*) %BSS ile gösterilir:

$$\%BSS = \frac{S}{\bar{x}} \times 100 \quad (3-4)$$

Yukarıda eşitliklerde x ile gösterilen ve ölçüm sözcüğünden genellikle ilk anlaşılan sinyal ölçümüdür. Bununla beraber derişim anlamında da kullanılır. %BSS sinyal veya derişimden hangisine ait olursa olsun yöntemin kesinliğini gösterir. Bu değerin artması kesinliği düşürür.

#### *Sinyallerin kesinliği*

Her bir örnek için 3 tekrar ölçüm yapıldı. Ölçülen sinyaller ve bununla ilgili hesaplanmış kesinlik değeri Çizelge 3.2.' de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Geliştirilen yöntemin sinyallerin kesinliği ile ilgili bulgular; örneği seyreltme oranları, kolada 25/2 (veya 100/8), gübre stok çözeltisinde 100/1,5, tekrar örnek sayısı 3.

Örnek	Absorbans Değerleri	Ortalama Absorbans	Sinyal Standart Sapması	Sinyal %BSS
Pepsi Kola	0,121 0,133 0,127	0,127	0,006	4,7
Koka Kola	0,152 0,159 0,148	0,153	0,006	3,9
Koka Kola light	0,140 0,147 0,142	0,143	0,004	2,8
Kola Turka	0,174 0,182 0,178	0,178	0,004	2,2
Çözünür Fosfatlı Gübre	0,147 0,136 0,149	0,144	0,007	4,8

*Derişim kesinliği:*

Örnekteki (orijinal örnekteki) P derişimini bulmak için 2. Bölümde verilen Eşitlik 2-7 ile Eşitlik 2-7 dikkate alındı. Önce orijinal örnekteki ortalama P derişimi bulundu. Bunu bulmada kola için verilen Eşitlik 2-4

$$c_{orj} = 12,5 (\bar{A} - b)/m$$

ile gübre örneği için verilen Eşitlik 2-7

$$\%P = 3,3334 (\bar{A} - b)/m$$

kullanıldı. Sonra her bir sinyale karşılık gelen derişimler bulundu.

Yukarıdaki eşitliklerde ortalama sinyal  $\bar{A}$  yerine her bir sinyal ( $A_i$ ) konularak kola örneklerindeki derişimler

$$c_{i(orj)} = 12,5 (A_i - b)/m \quad (3-5)$$

eşitliğinden, gübre örneğindeki her bir sinyale karşılık gelen derişim ise

$$\%P_i = 3,3334 (\bar{A} - b)/m \quad (3-6)$$

eşitliğinden bulundu.

Her bir örnek için bulunan üç ayrı derişim değeri Eşitlik 3-1'de yerine konularak derişim standart sapması hesaplandı. Eşitlik 2-1'e göre derişim hesaplanırken eğim ve kayma değerleri örneğe göre farklı olduğundan Çizelge 3-1'deki lineer regresyon eşitlikleri göz önünde bulunduruldu.

Bulunan derişimlerin bir de güven aralığıyla verilmesi için güven sınırları veya istatistiksel hatası (belirsiz veya rastgele hatası)

$$H_{rast} = \mp \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

eşitliğinden hesaplandı. Güven düzeyi (G.D.) olarak %95 alındı, burada serbestlik derecesi  $n-1$  ise 2'dir. Bu iki değere karşılık gelen t değerinin t-testi çizelgesinde 4,30 olduğu tespit edildi. (Gündüz, 1998). Bu değer alınıp yukarıdaki eşitlikte yerine konuldu. Sonra güven aralığı

$$\mu = \bar{x} \mp H_{rast}$$

eşitliğine göre verildi.

Bulunan değerler Çizelge 3.3.'te verilmiştir.

**Çizelge 3.3.** Geliştirilen yöntemin derişim kesinliği ve güven aralığı ile ilgili bulgular; tekrar örnek sayısı, n = 3, G.D = 95 %

Örnek	Bulunan Derişim (orj) µg/mL	Derişim st sapması	Derişim %BSS'ı	Güven Aralığı (GD = 95 %)
Pepsi Kola	123,14	5,8	4,7	123, 14 ± 14,4
Koka Kola	150,0	5,5	3,7	150,0 ± 13,6
Koka Kola Light	140,1	3,6	2,5	140,1 ± 8,9
Kola Turka	174,7	4,0	2,3	174,7 ± 9,9
Çözünür Fosfatlı Gübre	19,1*	0,9	4,8	19,1 ± 2,2*

\*Gübreye ait derişim ve diğer değerler/bulgular katı örnekte yüzde P olarak verildi.

### 3.3. Duyarlık

Duyarlık, ayar duyarlığı (ayar eğrisinin eğimi) ve analitik duyarlık ölçütleriyle Çizelge 3-4'de verilmiştir. Bu dört kola örneğinin ve gübre örneğinin analizinde aynı standartlar kullanılmasına rağmen eğimdeki farklılığın nedeni yukarda da açıklandığı gibi analiz tarihinin, buna bağlı olarak AAS' de alevin farklı olmasının lineer regrasyon eşitliğine yansımastır. Analitik duyarlığın hesaplanmasında gerekli standart sapma (s) değerleri Çizelge 3.2.'den alındı.

**Çizelge 3.4.** Geliştirilen yöntemin duyarlılığı ile ilgili bulgular bilgileri; örneği seyreltme oranları, kolada 25/2 (veya 100/8), gübre stok çözeltisinde 100/1,5, tekrar örnek sayısı, n = 3,

Örnek	Ayar Duyarlılığı (dS/dc)	Sinyal Standart Sapması*	Analitik Duyarlık m/s
Pepsi Kola	0,01281	0,006	2,14
Koka Kola	0,01264	0,006	2,11
Koka Kola Light	0,01264	0,004	3,16
Kola Turka	0,01264	0,004	3,16
Gübre	0,01270	0,007	1,81

\*Sinyal standart sapmaları Çizelge 3.2.' den alındı.

### 3.4. Doğruluk

Geliştirilen yöntemin doğruluğunun bulunması için standart ekleme yoluna başvuruldu. Örnekler bilinen miktarlarda P eklendi. Ekleme sonrası ve öncesi P derişimleri belirlenip derişim farkından artan miktar belirlendi. Artan miktar bulunan değer ( $\Delta m$ ) olarak, eklenen değer ( $\mu$ ) doğru değer olarak alınıp hata ve geri kazanım değerleri hesaplandı. V mL St P eklendiğinde artan kütle veya  $\mu$  doğru değer veya eklenen miktar

$$\mu = c_{st} \times V_{st} \quad (3-7)$$

Ölçüm sırasında standartlara ait lineer regresyon eşitliği

$$A = mc + b$$

Final çözeltideki derişim bulmak için lineer regresyon eşitliğinden elde edilen

$$c = (\bar{A} - b)/m \quad (3-8)$$

eşitliği kullanıldı. Final hacimde (seyrelme sonrası) derişimler standart eklenmemiş olanı  $c_1$ , standart eklenmiş olanı  $c_2$  olsun. Final hacimde yapılan ölçümlerden eklenmemiş ve eklenmişe ait olan ortalama sinyaller sırayla  $\bar{A}_1$ ,  $\bar{A}_2$ , bunlara karşılık gelen derişimler  $c_1$ ,  $c_2$  denildi. Bu değerler

$$c_1 = (\bar{A}_1 - b)/m \quad (3-9)$$

$$c_2 = (\bar{A}_2 - b)/m \quad (3-10)$$

eşitliklerinden  $c_1$  ve  $c_2$  bulundu. Eklenme sonrası bulunan derişim artışı

$$\Delta c = c_2 - c_1 \quad (3-11)$$

Bulunan kütle artışı ise

$$\Delta m = \Delta c \times V_{\text{toplam}} \quad (3-12)$$

Mutlak hata ve bağıl hata

$$H = \Delta m - \mu \quad (3-13)$$

$$\%H = \frac{H}{\mu} \times 100 \quad (3-14)$$

Bir başka doğruluk ölçütü % Geri Kazanım ise

$$\%R = \frac{\Delta m}{\mu} \times 100 \quad (3-15)$$

eşitliklerinden hesaplandı.

**Çizelge 3.5.** Geliştirilen yöntemin doğruluğu ile ilgili bulgular. (Kola örnekleri için seyreltme oranı ve gübre örneği hazırlanması ve seyreltme oranı ve tekrar örnek sayısı Çizelge 3.1.'deki gibi).

Örnek Türü	$\mu$ , Eklenen Miktar/ $\mu\text{g}$	$\Delta m$ , Bulunan Miktar// $\mu\text{g}$	Hata	% Hata	% Geri Kazanım
Pepsi Kola	100	107,4	+7,4	+7,4	107,4
	200	205,1	+5,1	+2,5	102,6
	300	310,6	+10,1	+3,5	103,5
Koka Kola	100	101,0	+1,0	+1,0	101,0
	200	201,8	+0,9	+0,9	100,9
	300	300,8	+0,8	+0,2	100,2
Koka Kola Light	100	100,9	+0,9	+0,9	100,9
	200	201,7	+1,7	+0,9	100,9
	300	300,6	+0,6	+0,2	100,2
Kola Turka	100	100,9	+0,9	+0,9	100,9
	200	201,7	+1,7	+0,9	100,9
	300	300,6	+0,6	+0,2	100,2
Çözünür Fosfatlı Gübre	100	100,4	+0,4	+0,4	100,4
	200	200,9	+0,9	+0,4	100,4
	300	299,3	-0,7	-0,2	99,8

### 3.5. Standartların Kararlılığı

Standartların (yöntem uygulanmış) hazırlama tarihinden değişik süreler sonunda molibden absorbanları AAS'de tekrar okundu ve her seferinde lineer regrasyonları yapıldı. Elde edilen korelasyon sabitlerine bakılarak fosfor standart derişimine karşı sinyal değişiminin lineer ilişkiyi muhafaza edip etmediği kontrol edildi. Her bir okuma tarihinde tekrar yapılan lineer regresyon ile ilgili bilgiler Çizelge 3-6'de gösterilmiştir. (Farklı ölçüm tarihinde alevdeki farklılığın sinyali etkilemesinin, bu yolla da eğim ve kaymayı veya lineer regresyon eşitliğini etkilemesinin, analiz sonucu bulunacak analit derişimi üzerine etki edip hataya neden olacağını düşünmek gereksizdir. Farklı tarihteki alev farklılığı bu tür değişmelere neden olabilir, fakat bu durum standartlara ait tekrar elde edilen verilerin/noktaların doğru üzerine düşme derecesini, yani r korelasyon sabitini



fazla etkilemez. Korelasyon sabiti  $r$ , 1 değerinde küçülecek yönde uzaklaşırsa hata söz konusu olabilir ki burada böyle bir durum yoktur. Örnek ve standartlara ait ölçümler aynı alevde yapıldığı sürece bir hata gelmez.)

**Çizelge 3.6.** Değişik zamanlarda okuma yapılan standartlara ilişkin veriler.

<i>Standartların Hazırlanıldığı Tarih: 30.05.2007</i>		
Okuma Tarihi	Lineer Regresyon Eşitliği	Korelasyon sabiti ( $r$ )
9.06.2007	$A=0,0127c + 0,0000$	0,99990
16.06.2007	$A= 0,0128c + 0,0008$	0,99982
19.06.2007	$A= 0,0126c + 0,0013$	0,99994
26.06.2007	$A=0,0127c - 0,001533$	0,99991

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu bölümde geliştirilen yöntem, aşağıdaki başlıklarla verilen özellikler açısından değerlendirilmiştir.

##### 4.1. Kesinlik / Tekrarlanabilirlik

3. Bölümde bağıl standart sapma değerlerine bakılırsa %5'in altında olduğu görülür. Bu durumda geliştirilen yöntemin kesinliği hemen hemen AOAC yöntemleri kadar iyidir.

##### 4.2. Çalışma Aralığı

5-30 ppm P arasında olan çalışma aralığının üst sınırının alt sınıra oranı 6'dır. Bu oran 10'u bulmasa da analizciye yeterli rahatlığı sağlayacak derecededir.

##### 4.3. Duyarlık

Geliştirilen yöntem sulu örnek hacmi 3 mL alındığında 5 µg/mL fosfor eşdeğer fosfatı tayin edebilmektedir. Örnek hacmi belirli sınırlar içinde değiştirilebilir; bu sınır kütle bazında verilirse yöntemin tayin sınırı 15 µg fosfordur. Ayar duyarlığı (ayar eğrisinin eğimi) AAS'de molibdene ait yalın ayar duyarlığının üç katından fazladır. Bu değerlerin yanı sıra analitik duyarlık değerleri de dikkate alınırsa bu yöntem duyarlı bir yöntemdir. Kola ve gübre örneklerinde fosfat tayini için daha duyarlı yöntem gerektirmez. Üstelik bu örnekler analize hazırlanırken önceden seyreltme gerekmektedir.

Bu yöntemin P düzeyi 5 ppm' in üzerinde su örneklerine de uygulanabileceği öngörülebilir. Heteropoli asit oluşturmaya dayalı dolaylı AAS yolla P tayin yönteminde ekstraksiyon ortamında P gibi molibdatla heteropoli asit oluşturan ve 1.5.2.1.a'da gösterilen çok sayıda tür 10 µg P için 100 katına kadar girişim yapmaz. (Garcia ve Ark, 1983 c). Ancak buradaki geliştirilen yöntemde ayırma yolu çöktürme olup ilgili iyonların girişim açısından ekstraksiyon ortamındaki gibi davranacağından emin olunamaz. Yöntemin su örneklerine kesin uygulanabilir denmesi için bu çökmeye etki etmediğinin ediyorsa girişim

sınırlarının bilinmesi gerekir. Su örneklerine uygulanması bu tez kapsamının dışında tutulmuştur.

#### **4.4. Kararlılık**

Bulgular kısmında görüldüğü gibi yöntem uygulanmış P standartları (Mo'lu) kararlılığını uzun süre sürdürmektedir. Analiz yapılacağı zaman P standartlarına yöntem uygulamaya (tekrar yöntem uygulanmış standart hazırlanmasına) gerek yoktur. Daha önceki analizlerde hazırlanmış ve yöntem uygulanmış standartlar tekrar tekrar kullanılabilir. Ve bu standartlarla yöntemin uygulandığı örnek aynı anda ard arda molibden okuması yapılır. (standartlar için önceki okuma değerleri alınmaz). Standartların (yöntem uygulanmış) kararlı olması bir analizcinin görmek istediği harika bir durumdur. Kolorimetrik AOAC fosfat tayin yönteminde oluşturulan mavi rengin tonu buna bağlı olarak da absorbans değeri hızla değişmekte, her analizde standartlar için tekrar taze renk hazırlama, yani P standartlarına tekrar yöntem uygulama zorunluluğu vardır.

#### **4.5. Doğruluk**

Yüzde hataların gösterildiği Çizelge 3.2.' ye bakılırsa belirlenmiş onbeş hata değerinden yalnızca biri %5'in üzerinde, diğerleri altındadır. İki tanesi % 2-5 arasında, 12 tanesi % 1'in altındadır. Çizelgeden aynı örnek türünde eklenen standart miktarı artması ile mutlak hata değişimi arasında bir ilişki olmadığı görülmektedir; bu durum hatanın orantılı hata türünde olmadığını gösterir. Buna göre buradaki mutlak hatanın türü rastgele hata türünde olmalıdır.

Bunun bir kanıtı da, hepsi pozitif olan ortalama hataların bazılarının hata bileşenleri hesaplanırsa içlerinde negatif olanlarına da rastlanmasıdır. 3. bölümde hata hesaplanmasında (eklenen standart aynı iken) üç tekrar ölçüm yapıp okunan üç ayrı sinyalin ortalaması alınıp bundan çıkılarak hata hesaplandı. Hata bileşenleri diye kastedilen, üç tekrar ölçümün ortalamasını alarak hata hesaplama yerine, her bir ölçülen sinyalden çıkarak ayrı ayrı hata hesaplanırsa elde edilen değerlerdir. Özellikle düşük hatalarda, elde edilen hata bileşenleri içinde negatif olanlar da çıkmaktadır. Hata bileşenlerinin ortalaması alınırsa en başta üç sinyalin

ortalaması ile yapılan hata hesabıyla bulunan ortalama hatayı yine verir. Ortalama hataların (biri dışında) pozitif çıkma nedeni hata bileşenleri içinde pozitif olanların baskın olmasıdır. İstisna olanda (gübre örneğine ait) ortalama hatalardan birinin sadece bileşeni değil bu ortalama hatanın kendisi tamamen negatiftir. Gübre örneğine ait üç ortalama hatanın birinin negatif, diğer ikisinin pozitif olması, hataların rastgele türden olduğunu gösteren ayrı bir kanıttır. Standart yöntemlerde yöntem hatası olmaz veya olmadığı kabul edilir. Rastgele hatalar ise her yöntemde olur. Böylece geliştirilen yöntemin buradaki örneklerle uygulanmasında yöntem hatası önemsenecek derecede olmadığı ve bu yöntemin doğruluğunun iyi olduğu söylenebilir.

#### **4.6. Genel Sonuç**

Sonuç olarak, geliştirilen bu yöntem kolalı içecekler ve çözünen fosfatlı gübre örneklerine uygulandığında duyarlılık, kesinlik ve doğruluk gibi temel analitik ölçütler dikkate alındığında uygulanabilir özelliktedir. Bu tür örneklerin analizinde rutin fosfat tayini için önerilebilir.

## 5. KAYNAKLAR

*Aktan, F.*, 1980, Medikal Biyoloji, Ç.Ü. Yayınları, 5, S: 696.

*Alaa-Eldin F. Nassar and Geoffrey N. Kamau*, 1994, Indirect Spectroscopic Determination of Phosphate ,J. Biochemiphysics, 3 S: 37.

*AOAC*, 1990, Offical Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, S: a:13, b:328, c:12., d:15.

*APHA, AWWA, WPCV*, 1965, Standart Methods, for Examination of the Water and Wastewater, Ortophosphate Determination, Twelfth Edition, American Public Health Association, Inc. Sf: a:231, b:234

*Baysal, A.*, 1997, Beslenme, 7. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara S: 329, 118, 119.

*Bello, M. A., Gonzâles, A. G.*, 1996, Determination of Phosphate in Cola Beverages Using Nonsuppressed Ion Chromatography, Journal of Chemical Education, 73, 12, S: 1174.

*Alyüz Bilge, Veli Sevil*, 2006, İç Ortam Havasında Bulunan Ucucu Organik Bileşikler ve Sağlık Üzerine Etkileri, Trakya Üniversitesi, 7(2) S: 109,116.

*Calero, D. L., Palomeque, P. L.*, 1996, Determination of Phosphorus in Cola Drinks, Journal of Chemical Education, 73, 12, S: 1173.

*Cogan, M.G.*, 1991, Sıvı ve Elektrolitler, Çevirenler: Başaklar, A. C, Başaklar, D., Banş Kitabevi, 1. Baskı, S: 321,343.

*Dictionnaire Larousse* (Ansiklopedik Sözlük), 1993-1994, Milliyet Gazetesi Yayınları, 3. Cilt, S: 864,865.

*E. R. Clark and el-Sayed A. K. Yacup*, 1984, Indirect Determination of Organic Compouds. By AAS, Talanta Vol 31, No:1, S: 15-27.

*Fritz J. S*, 1999, Analytical Solid Phase extraction, Wiley-Vch, S: 13.

*Fukushima Katsuji, Nagashima Kunio, Kamaya Minori, Ishii Eize*, 1993, Indirect Determination of Phosphate by Graphite Furnace AAS, The Japan Society for Analytical Chemistry, Vol.42, No.6 (19930605) S: 401,403.

*G. Melentyeva, L. Antonova*, 1988, Pharmaceutical Chemistry, Mir Publishers Moskow, English Translation, S: 330 .

*Garcia M. -Vargas, M. Milla and J.A. Perez-Bustamonte, 1983, A.A. Spectroscopy as a Tool for the Determination of Inorganic Anion and Organic Compounds., a Rewiev, Analyst, Vol, 108, No: 1293, S: a: 1417, b: 1420, c: 1425, d: 1432, e: 1434.*

*Garcia, C. F., Peniagua R., Avila, D. M., Cabrera, M. L., Martinez, M. I., Foyo, N. E., Amoto, D., 2000, Cola Beverage Consumption Induces Bone Mineralization Reduction in Ovariectomized Rats, Archives of Medical Research, 31 (4), S: 360,365.*

*Gupta et al, 1991, Yüksek Saflık Silikonlarda Fosfor Tayini, AAS/ Bi Ölçümü Microchemical Journal 44, S: 34,38.*

*Gündüz, T., 2002, İnrümental Analiz, 6. Baskı, Gazi Kitabevi, S: 39.*

*Gündüz, T., 1994, Çevre Sorunları, A.Ü. Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Bilge Yayıncılık, S: a:170, b: 13, c: 25, d: 24.*

*Halpren, I. H., Hiller, N., Gubennan, D., 1993, Emphysematous Gastritis Secondary to Ingestion of Large Amounts of Coca Cola, The American Journal of Gastroenterology, 88, 1 , S: 127, 129.*

*Hobbins, B, William, February 1982, Varian AA Resuarce Center, Park Ridge, Illinois, USA, Varian Instruments at Work, Number AA-19, S: 1.*

*Kapıcıoğlu, S., Baki, A. H., Tekelioğlu Y., Araz, K., 2000, The Effect Of Cola Consumption On Oral Mucosa in Rats, Diseases Of The Esophagus, 13(1), S: 69,71.*

*Kapıcıoğlu, S., Baki, A., Reis, A., Tekelioğlu, Y., 1999, Cola Drinks Consumption and Oesophagitis, Diseases Of The Esophagus, 12 (4), S: 306, 308.*

*Keskin, H., 1987, Besin Kimyası, 5. Baskı, Güryay Matbaacılık Tic. Ltd. Şti. İstanbul, S: 572,573.*

*Maravilla, A. D., Montoya, C, Gaja, O., Revilla, C, Guerra, R., Peniagua, R., 1998, Acute Effects Of Soft Drink Intake on Calcium and Phosphate Metabolizm in Immature And Adult Rats, Rev. Invest Clin, 50 (3), S: 185,189.*

*Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwel, V. W., 1993, Harper'in Biyokimyası, Çevirenler: Menteş, G., Ersöz, B., Başı Kitabevi, İstanbul, S: 719.*

*N.N Greenwood and A. Earnshow, 1985, Chemistry of the Elements, Pergamon Pres, S: 1177.*

*Öztop, H. N., Candan, F.*, 1999, Biyokimya Laboratuvarı, C. Ü. Yayınları, Sivas, 77, S:139, 171, 172.

*Petrucci, R.H.; Harwood, W.S.*, 1995, Genel Kimya: Prensipler ve Modern Uygulamalar, Cilt: 2. 6. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, S: 823,825.

*Pramod Kumar Gupta, Ramadevi Ramchandran*, 1991, Indirect Atomic Absorption Spectrometric Determination of Phosphorus in High Purity Electronic Grade Silicon Using Bismuth Phosphomolybdate Complex, Microchemical Journal, vol. 44, S: 34,38.

*R. Ramchandran, P.K. Gupta*, 1988, Indirect Atomic-Absorption Spectrophotometric Determination of Phosphorus In Steel By Use of the Bismuth Phosphomolybdate Complex . Talanta, Vol 35, S: 653,654.

*Samsunlu A*, 1999, Çevre Mühendisliği Kimyası, 4 Baskı, Sam Çevre Teknolojileri Yayınları, İstanbul, S: a: 339, b:338, c:342, d:340., e:341.

*Sienko, M. J., Plane, R. A.*, 1983, Temel Kimya, Çevirenler: Gündüz, N., Gündüz, T., Tüzün, C, 4. Baskı, Savaş Kitap ve Yayınevi, Ankara, S; 447,452.

*Skoog, et al.*, 1998, Enstrümantal Analiz, 5. Baskı. Türkçe Çeviri, Çeviri Editörleri: E. Kılıç et al. Bilim yayıncılık. S: Ek 18.

*Taga, M.*; Kan, M. 1989, Talanta 36, S: 955-6

*Telefoncu, A.*, 1993, Besin Kimyası, E. Ü., Fen Fakültesi Yayınları, İzmir, S: 147, 204, 210.

*Toshiko Nasu and Masahiko Kan*, 1988, Determination of Phosphate, Arsenate And Arsenite in Natural Water by Flotation-Spectrophotometry and Extraction-Indirect Atomic Absorption Spectrometry Using Malachite Gren as an Ion-Pair Reagent, Analyst, 113, S: 1683, 1686.

*Tunalı, N. K., Özkâr, S.*, 1993, Anorganik Kimya, 2. Baskı, G. Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Yayınları, S: 481,482.

*Uyan C.*,1995, Nikotin, Nikotin ve Bazı Farmasötik Türevlerinin İndirekt AAS ve Kolorimetrik Yolla Analizleri için Yeni Yöntem Geliştirilmesi, Doktora Tezi, S: 2

*Vural, N.*, 1996, Toksikoloji, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 73, S: 456.

*Weiss, G. H., Sluss, P. M., Linke, C. A.*, 1992, Changes in Urinary Magnesium, Citrate, and Oxalate Levels due to Cola Consumption, Urology, 39(4), S: 331-33.

## 6. ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Almanya'da doğan Muhammed Nalbant ilk ve orta öğrenimini Ankara'da tamamladı. 2000 yılında öğrenimine başladığı Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü 2004 yılında başarı ile bitirerek aynı yıl içerisinde Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü'nde yüksek lisans programına başladı. 2007 yılında yüksek lisans programını tamamlayıp mezun oldu. Ankara M.T.A Genel Müdürlüğü'nde laborant, Cumhuriyet Üniversitesi Kimya Bölümü'nde laboratuvar gözetmeni olarak kısa süreli görevlerde bulundu. 2005 yılında Anadolu Tıp Teknolojileri A.Ş. bünyesinde kontakt lens üretim şefi olarak göreve başladı. Halen bu kuruluştaki kontakt lens uzmanı olarak görev almaktadır. Hobi olarak gitar ve bateri çalan Muhammed Nalbant iyi derecede İngilizce ve başlangıç seviyesinde Almanca bilmektedir.