



**BAZI TOKSİK ORGANİK VE İNORGANİK TÜRLERİN
AYRILMASI, ZENGİNLEŞTİRİLMESİ
VE TÜRENDİRİLMESİ**

NEBİYE ÖZKANTAR

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANA BİLİM DALI

Prof. Dr. Mustafa TÜZEN

Ekim - 2019

Her hakkı saklıdır

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

BAZI TOKSİK ORGANİK VE İNORGANİK TÜRLERİN AYRILMASI,
ZENGİNLEŞTİRİLMESİ VE TÜRENDİRİLMESİ

NEBİYE ÖZKANTAR

TOKAT
Ekim, 2019

Her hakkı saklıdır

Bu tez çalışması;

**Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından
2015/124 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Nebiye ÖZKANTAR tarafından hazırlanan “Bazı Toksik Organik ve İnorganik Türlerin Ayrılması, Zenginleştirilmesi ve Türleştirilmesi” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 4 EKİM 2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KİMYA ANA BİLİM DALI’ nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Danışman

Prof. Dr. Mustafa TÜZEN

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye

Prof.Dr. Hayati SARI

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye

Prof Dr. İbrahim TÜRKEKUL

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Ramazan GÜRKAN

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Nail ALTUNAY

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi

İmza

.....

.....

.....

.....

.....

ONAY

.....

Prof. Dr. Çetin ÇEKİCİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
--/--/2019

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

NEBİYE ÖZKANTAR

4 Ekim 2019

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BAZI TOKSİK ORGANİK VE İNORGANİK TÜRLERİN AYRILMASI, ZENGINLEŞTİRİLMESİ VE TÜRLENDİRİLMESİ

NEBİYE ÖZKANTAR

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. MUSTAFA TÜZEN)
(İKİNCİ DANIŞMAN: PROF. DR. MUSTAFA SOYLAK)

Bazı toksik organik ve inorganik türlerin ayrılması, zenginleştirilmesi ve türlendirilmesi başlıklı mevcut tez çalışmasında, bazı gıda, çevre, kozmetik ve farmakolojik örneklerde eser düzeyde bulunan bakır, krom, eritrosin ve rodamin B gibi metal iyonlarının ve boyar maddelerin ayırma ve zenginleştirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu, homojen sıvı sıvı mikroekstraksiyonu ve manyetik katı faz mikroekstraksiyonu gibi çevre dostu yöntemler geliştirilmiştir. Birinci çalışmada; bazı su örneklerinde ve kozmetik ürünlerde eser düzeyde bulunan rodamin B' nin supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon metodu ile ayrılması ve zenginleştirilmesi gerçekleştirilmiştir. İkinci çalışmada; çeşitli kozmetik, ilaç ve gıda örneklerinde bulunan eritrosin boyar maddesinin ayrılması ve zenginleştirilmesi için ısı ile uyarılan homojen sıvı sıvı mikroekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Üçüncü çalışmada; manyetik katı faz mikroekstraksiyon yöntemi ile bakırın matriks ortamından ayrılması ve zenginleştirilmesi için manyetik grafen oksit adsorbantı sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Bakır elementinin absorpsiyon ölçümleri alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir. Son çalışmada ise; krom türlemesi için Cr (VI) ile 1,5 difenilkarbazit arasında kompleks oluşmasına dayanan, supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Eser düzeyde bulunan bakır ve krom metallerinin analizinde geliştirilen yöntemlerin doğruluğunu kanıtlamak için, standart referans madde analizleri yapılmıştır. Ayrıca, su, gıda, ilaç ve kozmetik ürünler gibi gerçek örneklere ekleme/ geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

2019, 129 SAYFA

ANAHTAR KELİMELER: AAS, Eser Elementler, Eritrosin, Mikroekstraksiyon, Rodamin B, Türleme,, UV-Vis spektrofotometresi, Zenginleştirme

ABSTRACT

DOCTORATE THESIS

SEPARATION, PRECONCENTRATION AND SPECIATION OF SOME TOXIC ORGANIC AND INORGANIC SPECIES

NEBIYE OZKANTAR

**TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

**(SUPERVISOR:) PROF. DR. MUSTAFA TUZEN
(CO-SUPERVISOR: PROF. DR. MUSTAFA SOYLAK)**

In the present thesis study entitled with separation, preconcentration and speciation of some toxic trace inorganic and organic species such as copper, chromium, erythrosine, rhodamine B which are found in some food, environment, cosmetics and farmocological samples were carried out. For this purpose, environmentally friendly methods such as supramolecular solvent liquid phase microextraction, homogeneous liquid microextraction and magnetic solid phase microextraction have been developed. In the first study, rhodamine B, which is found at the trace level in some water samples and cosmetic products, was separated and enriched with supramolecular solvent liquid phase microextraction method. In the second study; a heat-induced homogeneous liquid liquid microextraction method was developed for the separation and preconcentration of erythrosine found in various cosmetic, pharmaceutical and food samples. In the third study, the magnetic graphite oxide adsorbent was synthesized and characterized for the separation and preconcentration of copper from the matrix environment by the magnetic solid phase microextraction method. Absorbance measurements of copper were carried out by flame atomic absorption spectrometry. In the last study; supramolecular solvent liquid phase microextraction method which was based on the formation of complex between Cr (VI) and 1,5- diphenylcarbazine for chromium speciation was developed. Standard reference material analyses were realized to prove the accuracy of the methods developed in the analysis of copper and chromium metals at the trace level. Also, addition / recovery studies have been implemented on real samples such as water, food, medicine, cosmetic products.

2019, 129 PAGE

KEYWORDS: AAS, Erythrosine, Microextraction, Preconcentration, Rhodamine B, Speciation, Trace elements, UV-Vis spectrophotometry

ÖNSÖZ

Doktora tezimin araştırılması, planlanması ve uygulanmasında, akademik çalışmalarım boyunca deneysel ve teorik tüm konularda, bilgilerinden ve deneyimlerinden faydalanmamı sağlayan çok değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mustafa TÜZEN' e ve Prof. Dr. Mustafa SOYLAK' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

“Bazı toksik organik ve inorganik türlerin ayrılması, zenginleştirilmesi ve türlendirilmesi” başlık ve “2015/124” numaralı tez projesi ile maddi destek sağlayan Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalar, Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Analitik Kimya Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. SEM, FT-IR ve Raman spektroskopisi analizleri Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (ERU TAUM) ve Erciyes Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma Merkezi (ERNAM)' nde yapılmıştır. Tüm bu desteklerinden dolayı, Erciyes Üniversitesi yetkililerine teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca bana her konuda destek olan, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi' nden Dr. Öğretim Üyesi Erkan YILMAZ' a en içten teşekkürlerimi sunarım. Abdullah Gül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi' nden Dr. Öğretim Üyesi Ali DURAN' a, Dr. Yunus Emre ÜNSAL' a, doktora öğrencisi Zeliha ERBAŞ' a, Araştırma Görevlisi Furkan UZCAN' a ve tüm çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Maddi ve manevi her türlü desteğiyle, özverili ve teşvik edici tavırlarıyla yanımda olan değerli eşim M. Özer ÖZKANTAR' a sonsuz teşekkür ederim.

Bu günlere gelmem de ve eğitim- öğrenim hayatım boyunca en büyük destekçim annem Nesiha KIZIL' a, babam Abdullah KIZIL' a ve ilgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan tüm aileme çok teşekkür ederim.

Nebiye ÖZKANTAR

4 Ekim 2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Eser Elementler ve Önemleri.....	6
2.2. Tez Çalışmasında Tayini Gerçekleştirilen Eser Elementler.....	7
2.2.1. Bakır.....	7
2.2.2. Krom.....	8
2.3. Krom Türlemesi.....	11
2.4. Eser Element Analizinde Bazı Analitik Performans Kavramları.....	13
2.4.1. Doğruluk.....	13
2.4.2. Kesinlik.....	14
2.4.3. Duyarlılık.....	14
2.4.4. Gözlenebilme ve tayin sınırı.....	15
2.4.5. Sağlamlık.....	15
2.4.6. Seçicilik.....	16
2.4.7. Geri kazanım.....	16
2.4.8. Çalışma aralığı.....	17
2.5. Boyar Maddeler.....	17
2.5.1. Rodamin B.....	19
2.5.2. Eritrosin.....	20
2.6. Eser Türlerin Analizi, Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri.....	21
2.7. Sıvı- Faz Mikroekstraksiyon (LPME).....	25
2.7.1. Tek damla mikroekstraksiyonu.....	26
2.7.2. Yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon (SFODME).....	30

2.7.3. Oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon (HF- LPME).....	30
2.7.4. Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME)	31
2.7.5. Supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu (SS- LPME).....	33
2.7.6. Homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yöntemi.....	34
2.8. Katı Faz Mikroekstraksiyonu (SPME)	36
2.8.1. Manyetik katı faz mikroekstraksiyonu (MSPME).....	38
2.8.2. Manyetik karıştırma çubuğu ile ekstraksiyon (Karıştırma çubuğu sorptif ekstraksiyonu) (SBSE)	39
3. MATERYAL ve YÖNTEM	41
3.1. Materyal	41
3.1.1. Atomik absorpsiyon spektrometresi	41
3.1.2. UV-VIS spektrofotometre	41
3.1.3. FT-IR spektrometre.....	42
3.1.4. Taramalı elektron mikroskopu (SEM)	42
3.1.5. Raman spektroskopisi	42
3.1.6. Diğer cihazlar	42
3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanışları.....	43
3.2.1. Tampon çözeltiler	43
3.3. Yöntemler.....	44
3.3.1. Rodamin B' nin supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu	44
3.3.2. Eritrosinin Isı ile Uyarılan Homojen Sıvı- Sıvı Mikrosantraksiyon Yöntemiyle Mikroekstraksiyonu.....	45
3.3.3. Bakırın Pirokatekol Violet ile Doyurulmuş Manyetik Grafen Oksit (PV-MGO) Üzerinde Katı Faz Mikroekstraksiyonu	48
3.3.4. Supramoleküler Çözücü Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu ile Krom Türlemesi ..	51
4. BULGULAR.....	56
4.1. Rodamin B'nin Supramoleküler Solvent Bazlı Mikroekstraksiyonu	56
4.1.1. pH' ın etkisi	56
4.1.2. Supramoleküler çözücü türünün etkisi	52
4.1.3. Rodamin B' nin geri kazanım değerlerine dekanolik asit miktarının etkisi	58
4.1.4. THF hacminin etkisi.....	59
4.1.5. Örnek hacminin etkisi	60
4.1.6. Matris etkisi	61
4.1.7. Yöntemin analitik performansı	62

4.1.8. Geliştirilen yöntemin gerçek örneklerle uygulanması	63
4.2. Eritrosinin Isı ile Uyarılan Homojen Sıvı- Sıvı Mikrosantraksiyon Yöntemiyle Mikroekstraksiyonu	64
4.2.1. pH' nın etkisi	64
4.2.2. Sikloheksilamin hacminin etkisi	65
4.2.3. Isıtma süresinin geri kazanım değerine etkisi	63
4.2.4. Tuz miktarının geri kazanım değerine etkisi	67
4.2.5. Sıcaklığın geri kazanım değerine etkisi	68
4.2.6. Örnek hacminin geri kazanım değerine etkisi	69
4.2.7. Matriks etkisi	70
4.2.8. Son hacim taraması	71
4.2.9. Yöntemin analitik performansı	72
4.2.10. Yöntemin gerçek örneklerle uygulanması	73
4.3. Bakırın Pirokatekol Violet ile Doyurulmuş Manyetik Grafen Oksit (PV-MGO) Üzerinde Katı Faz Mikroekstraksiyonu	75
4.3.1. Sentezlenen pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin karakterizasyonu	75
4.3.2. pH' nın etkisi	80
4.3.3. Elüent türünün, hacminin ve konsantrasyonunun Etkisi	81
4.3.4. Matriks etkisi	82
4.3.5. Örnek hacminin etkisi	83
4.3.6. Adsorban miktarının etkisi	84
4.3.7. Vorteks süresinin etkisi	84
4.3.8. Analitik performans	85
4.3.9. Yöntemin gerçek örneklerle uygulanması	86
4.4. Supramoleküler Çözücü Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu ile Krom Türlemesi	89
4.4.1. H ₂ SO ₄ konsantrasyonunun etkisi	89
4.4.2. 1,5- difenilkarbazit konsantrasyonunun etkisi	90
4.4.3. Supramoleküler çözücü türü ve dekanolik asit miktarının etkisi	91
4.4.4. THF hacminin etkisi	92
4.4.5. Örnek hacminin etkisi	93
4.4.6. Ultrasonik karıştırma süresinin etkisi	93
4.4.7. Matriks etkisi	94
4.4.8. Analitik performans	95

4.4.9. Yöntemin gerçek örneklere uygulanması.....	96
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	98
5.1. Genel Değerlendirme.....	109
6. KAYNAKLAR	115
7. ÖZGEÇMİŞ	129

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
As	Arsenik
Co	Kobalt
Cr	Krom
Cu	Bakır
dk	Dakika
Fe	Demir
g	Gram
I	İyot
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
Mn	Mangan
Mo	Molibden
ppb	Milyarda Bir
ppm	Milyonda Bir
s	Saniye
Sb	Antimon
Se	Selenyum
Zn	Çinko

Kısaltmalar	Açıklama
%BSS	% Bağlı Standart Sapma
%R	% Geri Kazanım
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
AFS	Atomik Floresans Spektrometresi
c	Işık Hızı

CFME	Sürekli Akış Mikroekstraksiyonu
DLLME	Dispersif Sıvı- Sıvı Mikroekstraksiyonu
E ₀	Temel Hal Enerjisi
E ₁	Uyarılmış Hal Enerjisi
ETAAS	Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
FAAS	Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
GC-MS	Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi
GF-AAS	Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
GS	Gözlenebilme Sınırı
h	Planck Sabiti
HF-LPME	Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
HLLME	Homojen Sıvı- Sıvı Mikroekstraksiyonu
HS-SDME	Tepede Asılı Damla Mikroekstraksiyon
ICP-MS	İndüktif Eşleşmeli Plazma- Kütle Spektrometresi
ICP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi
MGO	Manyetik Grafen Oksit
MP-AES	Mikrodalga Plazma- Atomik Emisyon Spektroskopisi
MSPME	Manyetik Katı Faz Mikroekstraksiyonu
NAA	Nötron Aktivasyon Analizi
SDME	Tek Damla Sıvı Mikroekstraksiyonu
SFODME	Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyon
SPME	Katı Faz Mikroekstraksiyonu
SS-LPME	Supramoleküler Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu
T	Sıcaklık
THF	Tetrahidrofur
TS	Tayin Sınırı
TSA	Tayin Sınırının Altında
UV	UV- Vis Spektrofotometresi
ZF	Zenginleştirme Faktörü

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	Rodamin B' nin molekül yapısı.....	20
Şekil 2.2.	Eritrosin' nin molekül yapısı	21
Şekil 3.1.	Rodamin B' nin UV- Vis spektrumu	45
Şekil 3.2.	Eritrosin' in UV- Vis spektrumu	46
Şekil 4.1.	Rodamin B' nin geri kazanım değerleri üzerine pH'ın etkisi	56
Şekil 4. 2.	THF ile dekanolik asit arasındaki etkileşim	57
Şekil 4. 3.	Rodamin B' nin geri kazanım değerleri üzerine supramoleküler çözücü türlerinin etkisi.....	58
Şekil 4. 4.	Rodamin B' nin geri kazanım değerleri üzerine dekanolik asit miktarının etkisi	59
Şekil 4. 5.	Rodamin B' nin geri kazanım değerleri üzerine THF hacminin etkisi	60
Şekil 4. 6.	Rodamin B' nin geri kazanım değerleri üzerine örnek hacminin etkisi	61
Şekil 4.7.	pH' ın geri kazanım değerine etkisi.....	65
Şekil 4. 8.	Sikloheksilamin Hacminin Geri Kazınım Değerine Etkisi	66
Şekil 4. 9.	Isıtma Süresinin Geri Kazınım Değerine Etkisi	67
Şekil 4. 10.	Tuz Miktarının Geri Kazınım Değerine Etkisi	68
Şekil 4. 11.	Sıcaklığın Geri Kazınım Değerine Etkisi.....	69
Şekil 4. 12.	Örnek Hacminin Geri Kazınım Değerine Etkisi.....	70
Şekil 4. 13.	Son Hacmin Geri Kazınım Değerine Etkisi	72
Şekil 4. 14.	Grafen oksitin SEM görüntüsü (a, b).....	76
Şekil 4. 15.	Pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin SEM görüntüsü (a), pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin SEM-Mapping görüntüsü (b).....	77
Şekil 4. 16.	Grafen oksitin, manyetik grafen oksit ve pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin FT-IR spektrumu	79
Şekil 4. 17.	Grafen oksitin ve pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin Raman spektrumları.....	80
Şekil 4. 18.	Bakırın PV- MGO üzerinde adsorpsiyonunda geri kazanım değeri üzerine pH' nın etkisi (N: 3).....	81

Şekil 4. 19. Bakırın PV- MGO üzerinde adsorpsiyonunda geri kazanım değeri üzerine örnek hacminin etkisi (N: 3).....	84
Şekil 4. 20. Bakırın PV- MGO üzerinde adsorpsiyonunda geri kazanım değeri üzerine adsorban miktarının etkisi (N: 3).....	85
Şekil 4. 21. Cr(VI) ve Cr(III) iyonlarının geri kazanım değerlerine H ₂ SO ₄ konsantrasyonunun etkisi	89
Şekil 4. 22. Krom (VI)' nın geri kazanım değerlerine ligand konsantrasyonunun etkisi (N:3).....	90
Şekil 4. 23. Krom (VI)' nın geri kazanım değerlerine dekanolik asit miktarının etkisi (N:3).....	91
Şekil 4. 24. Krom(VI)' nın geri kazanım değerlerine THF hacminin etkisi.....	92
Şekil 4. 25. Krom(VI)' nın geri kazanım değerlerine örnek hacminin etkisi	93
Şekil 4. 26. Krom(VI)' nın geri kazanım değerlerine ultrasonik karıştırma zamanının etkisi (N: 3).....	94

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1. Rodamine B' nin geri kazanımına matriks iyonlarının etkisi	62
Çizelge 4.2. Yöntemin gerçek örneklerle uygulanması	64
Çizelge 4.3. Eritrosin' in Geri Kazanımına Matriks İyonlarının Etkisi	71
Çizelge 4.4. Çeşitli ilaç örneklerine yöntemin uygulanması	74
Çizelge 4.5. Gıda ve kozmetik örneklerine yöntemin uygulanması	75
Çizelge 4.6. Bakırın PV- MGO üzerinde adsorpsiyonunda geri kazanım değeri üzerine elüent türünün etkisi	82
Çizelge 4.7. Bakırın PV- MGO üzerinde adsorpsiyonunda geri kazanım değeri üzerine matriks iyonlarının etkisi	83
Çizelge 4.8. Gerçek örneklerle ekleme/ geri kazanım uygulamaları	87
Çizelge 4.9. Yöntemin gerçek örneklerle uygulanması	88
Çizelge 4.10. Sertifikalı referans madde analizi	88
Çizelge 4.11. Krom(VI)' nın geri kazanım değerlerine matriks iyonlarının etkisi	95
Çizelge 4.12. Sertifikalı referans madde analizi	96
Çizelge 4.13. Yöntemin gerçek örneklerle uygulanması	97
Çizelge 5.1. Rodamin B' nin tayini için literatürde yer alan bazı çalışmalar	100
Çizelge 5.2. Eritrosinin tayini için literatürde yer alan diğer çalışmalar	103
Çizelge 5.3. Bakırın tayini için literatürde yer alan diğer ayırma/zenginleştirme çalışmaları	106
Çizelge 5.4. Literatürde yer alan bazı krom türlemesi çalışmaları	109
Çizelge 5.5. Rodamin B boyar maddesinin supramoleküler sıvı faz mikroekstraksiyonu ile ayırma/zenginleştirme çalışmasında bulunan optimum parametre değerleri	110
Çizelge 5.6. Eritrosin boyar maddesinin ısı ile uyarılan homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyonu ile ayırma/zenginleştirme çalışmasında bulunan optimum parametre değerleri	111
Çizelge 5.7. Bakırın pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksit (PV- MGO) üzerinde katı faz mikroekstraksiyonu ile ayırma/zenginleştirme çalışmasında bulunan optimum parametre değerleri	112

Çizelge 5. 8. Supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu ile kromun zenginleştirilmesi çalışmasında bulunan optimum parametre değerleri 114

1. GİRİŞ

Sanayileşme, endüstriyel faaliyetler, nüfus artışı, gelişen teknolojinin getirdiği üretim teknikleri doğaya, sulara ve canlılara zararları gittikçe artmaktadır. Belirtilen sebeplerden dolayı oluşan zararlar, organik ve inorganik türlerin sularda, toprakta, havada, endüstriyel atıklarda, insan ve hayvan vücudunda, gıdalarda vb. birikmesiyle meydana gelmektedir. Bu organik ve inorganik türler; toksik etki gösteren ağır metaller ve gıda katkı maddelerinden olan boyar maddelerdir. Endüstriyel faaliyetler sonucu oluşan atık su, toprağı, havayı kirletmekte ve bir zincir mekanizmasıyla doğadan canlılara kadar ciddi zararlara neden olmaktadır. Endüstride yoğun kullanıma sahip olan, gerekli düzeyde bulunduğu canlılar için hayati önem taşıyan ve fazlası toksik etkiye neden olan, aşırı ve yanlış kullanımda ise kirlilik oluşturan maddelerin başında eser elementler gelmektedir.

Eser element genellikle, katılarda % 10^{-2} ' nin altındaki derişimde, çözeltilerde mg/L veya $\mu\text{g/L}$ düzeyindeki derişimde bulunan demir, bakır, kurşun, nikel, çinko gibi elementlere denir. Demir, nikel, bakır, mangan, çinko, selenyum gibi eser elementler vücutta yeterli miktarda bulunduğu enzimleri aktiflemeleri, enzimlerin yapısında bulunması, hormon ve vitaminlerin ana yapı taşları olması, immun sistem için gerekli olmaları gibi birçok yararları vardır. Eser elementlerin yetersiz alınması sonucunda birçok hastalık ve metabolik sistemlerde bozukluklar meydana gelir. Fakat bunun aksine, çevresel kirlenmeler sonucunda vücutta fazla miktarda birikmeleri organizma üzerinde toksik etki yapar ve ölümcül sayılabilecek birçok hastalıklara neden olur. Örneğin, mangan fazlalığı insanlarda kronik manganizm hastalığına, nikel fazlalığı fizyolojik bozukluklara, bakırın aşırı birikmesi Wilson hastalığına, selenyum fazlalığı sindirim sistemi sorunlarına ve kemik iliğı hastalıklarına neden olmaktadır. (Doğan ve Soylak, 2000; Duran, 2010).

Canlılarda, toprak ve su gibi doğa örneklerinde eser element düzeylerinin belirli sınırlar içinde olması gerekmektedir. Gıdalardaki ve çevresel örneklerdeki eser element düzeylerinin canlılar ve yaşam fonksiyonları için önemi her geçen gün daha da iyi anlaşılmaktadır. Bu anlayış çerçevesinde, gerçek örneklerde eser element derişimlerinin

belirlenmesi, izlenmesi ve bilinmesi gerektiğinden bu amaçla çeşitli analiz yöntemleri geliştirilmektedir.

Toksik etki gösteren diğer kirleticiler ise; kozmetik, tekstil, kâğıt, deri, matbaacılık, farmasötik, plastik ve gıda gibi endüstriyel alanlarda birçok ürünü renklendirmek amacıyla ve koruyucu olarak kullanılan boyar maddelerdir (Garg, 2004; Uçar, 2009).

Endüstriyel alanlarda, boyar maddelerin kullanımında dikkate değer şekilde su tüketilmektedir (Ravikumar, 2005). Endüstriyel işlemlerden kaynaklanan bu boyalar, fazla tüketim sonucunda ortaya çıkan atık su ile çevreye karışır ve yaşamın birçok alanında olumsuz etkileri olduğu için dikkate alınması gereken bir kirliliğe neden olmaktadır. Boyar maddeler, çevre kirlenmesinden ve gıda katkı maddesi olarak kullanılmalarından dolayı toksik etkiye neden olarak insan sağlığına zarar vermektedirler. Gıda ve ilaç örneklerinin tadı, kokusu, görünümü, yapısı ve diğer özelliklerinde istenmeyen değişiklikleri korumak, düzeltmek veya önlemek için kullanılan maddeler gıda katkı maddesi olarak adlandırılır. Bu maddelerin; koruyucu maddeler, tatlandırıcılar ve renklendirici maddeler gibi çeşitleri vardır. Gıda sanayisinde gıda katkı maddelerinin kullanımı, tüketici teknolojilerinin çeşitliliği ve gelişen teknolojinin getirdiği üretim teknikleri ile gün geçtikçe artmaktadır. Bu katkı maddelerinin en önemli ve en çok kullanılanlarından biri gıda boyalarıdır. Kaynağa göre, gıda boyaları sentetik, yarı sentetik ve doğal olarak üç gruba ayrılmaktadır. Düşük maliyet ve artan ihtiyaç nedeniyle, çoğunlukla sentetik olanlar tercih edilmektedir. Sentetik boyar maddeler; meyve suları, meyve jöleleri, sosis, salam, peynir ürünleri, kuru karışımlar, şeker ürünleri, hamur işleri gibi gıdalarda, kozmetik ürünlerde ve ilaç örneklerinde kullanılmaktadır (Erden ve Çalışkan, 2003; Boğa ve Binokay, 2010).

Bu tez çalışmasında, boyar maddelerden E127 referans numarasıyla bilinen, suda çözünebilir ksanten boyalarının sınıfına ait olan koyu pembe renkli eritrosinin ve menekşe renginde olan rodamin Bnin UV-vis spektrofotometrik tayinlerine yönelik yeni çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Eritrosin, 1907 yılında ABD Tarım Bakanlığı tarafından onaylanmasından bu yana gıda boyası olarak kullanılmaktadır (Apostol ve Gavrilăescu, 2013). Eritrosinin literatürde en

yaygın kullanılan isimleri, C.I Food Red14, FD & C Kırmızı No: 3, C.I 45430 ve Eritrosin sodyumdur. Kimyasal formülü $C_{20}H_6I_4O_5$ olan eritrosinin molekül ağırlığı 879,86 g / mol' dür ve tam kimyasal ismi disodyum 2- (2,4,5,7- tetraiyodo- 6- oksido-3- oksoksanten-9- yl) benzoattır (Shokrollahi ve ark., 2017).

Rodamin B pembe renginden dolayı gıda, tekstil, ilaç ve kozmetik endüstrileri gibi birçok endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Rodamin B' nin moleküler kütlesi 479.02 g/mol ve moleküler formülü $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ ' dir.

Rodamin B ve eritrosin çeşitli çevresel sorunlara neden olan kirletici sınıftan birini oluştururlar. Bu boyaların, üretiminde zehirli yan ürünler ve atıklar oluşabilmektedir. Rodamin B ve eritrosin boyar maddelerinin doğaya ve canlılara zararlı etkileri nedeniyle gıda ürünlerinde kullanımı birçok ülkede yasaklanmış olup gerçek örneklerde belirlenmesi için basit bir yöntem geliştirme zorunluluğu doğmuştur (Li ve ark., 2011; Wu ve ark., 2014).

Eser elementlerin ve eritrosin, rodamin B gibi boyar maddelerin tayini için çeşitli yöntemler geliştirilmiş olup bu yöntemlerden bazıları alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS), indüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP-AES) elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (ETAAS), nötron aktivasyon analizi (NAA), indüktif eşleşmeli plazma- kütle spektrometresi (ICP-MS) ve UV görünür bölge spektrofotometre gibi enstrümental yöntemlerdir. Bu analitik cihaz ve yöntemler, düşük element derişimi ve matriks etkisi gibi problemlerden dolayı başarısız olabilmektedir. Çünkü boyar maddeler ve eser elementler düşük derişimlerde olduklarında bazı enstrümental cihazlarla doğrudan tayin edilmeleri mümkün olmayabilir ve içinde buldukları ortamda bulunan bazı inorganik ve organik türler bozucu etki gösterebilmektedir. Bu maddelerin tayininden önce ayırma ve zenginleştirme yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Eser türlerin ayrılmasında ve deriştirilmesinde yaygın olarak, bulutlanma noktası ekstraksiyonu, birlikte çöktürme, elektrokimyasal biriktirme, katı faz ekstraksiyonu, sıvı- sıvı ekstraksiyon gibi yöntemler uygulanmaktadır. Bu yöntemler kullanılarak, eser elementler için matriks etkisinden uzak uygun analiz ortamı sağlanmaktadır. Ayrıca ölçülebilir derişim değerine getirilen

eser türler, uygun enstrümental tekniklerle analiz edilebilmektedir (Duran, 2010; Moghadam ve ark., 2011).

Bu yöntemlerin, önemli miktarda çözücü kayıplarının olması, fazla miktarda organik çözücü, kimyasal madde kullanımı ve atık oluşturması, ekstraksiyon süresinin zaman alması, otomasyon zorluğu gibi dezavantajları vardır (Şahin ve Tokgöz, 2010).

Son zamanlarda, bu yöntemlerin dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacıyla daha az organik çözücünün ve kimyasalın kullanıldığı çevre dostu, hızlı, kullanımı kolay, çok yönlü, ucuz ve birçok enstrümental tekniğe uygulanabilir ayırma ve zenginleştirme yöntemleri geliştirilmiştir. Bunlar; katı faz mikroekstraksiyonu (SPME), dağılımlı sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu (DLLME), tek damla sıvı faz mikroekstraksiyonu (SDME), asılı damla mikroekstraksiyon (SDME), oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon (HF-LPME), yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon (SFODME) gibi yöntemlerdir (Sarafray-Yazdi, ve Amiri, 2010; Dadfarnia ve Shabani, 2010).

Bu doktora tez çalışmasında; krom, bakır, eritrosin ve rodamin B boyar maddelerinin ayrı ayrı yukarıda bahsedilen mikroekstraksiyon yöntemlerinden katı faz mikroekstraksiyon (SPME) ve sıvı- sıvı mikroekstraksiyon (LLME) yöntemleri ile ayırma/ zenginleştirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak, eser türlerden rodamin B' nin ayırma/ zenginleştirme sonrasında spektrofotometrik tayini için basit ve duyarlı yeni bir supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntem, oje, ruj, dudak nemlendiricisi gibi kozmetik ürünlere ve musluk suyu örneklerine uygulanmıştır.

İkinci çalışmada, ilaçlarda ve gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılan eritrosinin sikloheksilamin çözücü sistemi kullanılarak ısı ile uyarılan homojen sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemiyle zenginleştirilmesi ve spektrofotometrik tayini gerçekleştirilmiştir. Gıda, kozmetik, ilaç örneklerinde geliştirilen yöntem uygulanmış ve bu örneklere ekleme geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Geliştirdiğimiz bir diğer çalışmada ise; bakır (II) iyonları, pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksit (PV-MGO) adsorbantı kullanılarak katı faz

mikroekstraksiyonu yöntemi ile uygun matriks ortamına ayrılması ve zenginleştirilmesi çalışması geliştirilmiştir. Zenginleştirilen bakır elementi alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin edilmiştir. Yapılan bu çalışma, bazı vitamin örneklerine, sigara, su, toprak gibi çevresel numunelere ve gıda örneklerine uygulanmış olup yöntemin doğruluğunu ispat etmek için sertifikalı referans madde analizleri yapılmıştır. Ayrıca gerçek örneklere ekleme/ geri kazanım çalışması uygulanmıştır.

Son olarak, supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi kullanılarak krom türlemesi çalışması yapılmıştır. Bunun için, krom(VI) ile 1,5- difenilkarbazit kompleksi oluşturulmuş ve analizler UV-Vis spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Optimize edilen mikroekstraksiyon yönteminin, sertifikalı referans madde analizleri ve çevresel su örneklerine ekleme- geri kazanma çalışmaları ile doğruluğu ispatlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Eser Elementler ve Önemleri

Eser element, genel bir ifadeyle, katılarda % 0,01 (a/a)'nin altındaki derişimde, çözeltilerde mg/L veya µg/L düzeyindeki derişimde bulunan elementlere denir. Aynı zamanda yer kabuğunda meydana gelen kimyasal elementler için jeokimyada % 0,1 (a/a)'den daha az miktarlarda ve biyolojik örneklerde, benzer konsantrasyonlarda bulunan elementler için de kullanılmaktadır (Phipps, 1981; Wada, 2004; Duran, 2010).

Eser elementler, canlılar için gerekli ve toksik olarak sınıflandırılabilir. Canlılar açısından önemli eser elementler; yetersiz alımı sonucunda işlev bozukluğuna neden olan ve fizyolojik alımı ile ilgili bozukluğun düzelmesini sağlayan elementlerdir. Toksik eser elementler ise; vücudun yapı ve işlevleri için gerekli olmayan elementlerdir. Cu, Zn, Fe, Mn, Mo, Co ve Se hayvanların, insanların ve bitkilerin büyümesi ve sağlığı için elzemdir (Webber, 1981). İnsan yaşamının kalitesi, gıdanın ve çevrenin kimyasal bileşimine bağlıdır. İnsan vücudunun temel eser elementleri arasında çinko (Zn), mangan (Mn), bakır (Cu), molibden (Mo), iyot (I), krom (Cr), kobalt (Co), ve selenyum (Se) bulunur. Her ne kadar bu elementler sadece toplam vücut ağırlığının % 0,02 sini oluştursalar da aktif enzim merkezleri veya eser biyoaktif maddeler olarak önemli rol oynarlar. Bu elementlerin eksikliklerinin sonucunda, ilgili enzimlerin aktivitesi azalmakta ve bununla birlikte her bir elementin bu kadar çok enzimle ilişkili olmasından dolayı çeşitli klinik semptomlar ortaya çıkmaktadır.

Tarımsal faaliyetler ve endüstriyel atıklar ekosisteme değişen konsantrasyonlarda eser element salınmasına neden olmaktadır. Bu salınım, ağır metallerin toprakta birikmesi, suların kirlenmesi, toprağın işlevininin kısıtlanması, bitkilerde toksisiteye neden olması ve besin zincirini kirlenmesi gibi sonuçları beraberinde getirmektedir (Henry, 2004; Zhenli ve ark., 2005).

2.2. Tez Çalışmasında Tayini Gerçekleştirilen Eser Elementler

2.2.1. Bakır

Bakır, çevre ve gıda örneklerinde yaygın olarak bulunan en önemli temel elementlerden biridir. Zeytin, badem, fasulye, üzüm, ay çekirdeği, mercimek, sakatat ve buğday gibi yiyecekler bakır içeriği yönünden zengindir. Erişkin bir insanda 100-150 mg aralığında bulunan bakır, canlı metabolizmasında önemli rol oynamaktadır. Örneğin, bazı biyolojik işlemlerde, özellikle kırmızı kan hücrelerinin sentezinde çok etkindir (Martin ve ark., 2003; Alothman ve ark., 2015; Vural ve ark., 2017). Bakır proteinleri biyolojik elektron ve oksijen taşınmasında çeşitli rollere sahiptir. Bakır ayrıca oksijenin işlenmesiyle ilişkili diğer proteinlerin bir bileşeni olarak protein sentezinde ve enerji üretiminde görev alır. Dokularda bulunarak vücudu serbest radikallere karşı korumasıyla antioksidan özellik de taşımaktadır (Allen ve ark., 1994). Bununla birlikte, vücut dokularını yenileyip kemik yapısını güçlendiren enzimler için gerekli olan bir elementtir (Alothman ve ark., 2015). Ayrıca, deniz ve tatlı su sistemlerinde eser miktarda bulunan biyolojik sistemler için de gereklidir. Canlılar ve bitkiler için çok düşük seviyelerde besin maddesi olarak da kullanılmaktadır.

Bakırın gıdalarla alınmaması ve canlı metabolizmasındaki eksikliği durumunda bazı klinik bulgular ortaya çıkmaktadır. Bakır yetersizliği; anemi, vücut direncinin azalması, zayıflık, ciltte izler, egzama gibi bazı problemleri beraberinde getirir. Ayrıca bazı enzimlerin metabolizması bakır eksikliğinden dolayı bozulmaktadır. Bu enzimlerden bazıları kardiyovasküler sağlık için önemli olmasından dolayı bakır eksikliğinde, kardiyak genişleme meydana geldiğinden bir takım kalp hastalıklarına neden olabilmektedir (Ayyat ve ark., 1965; Hunt ve Carlton, 1965; Klevay ve ark., 1985; Klevay, 2000).

Bakır canlılar için gerekli eser element kategorisine girmesine rağmen, yüksek seviyelerde alındığında toksik etkiler yaratabilmektedir. Örneğin, beyin, pankreas gibi vücudun birçok organına zarar vermesinin yanı sıra bazı organlarda aşırı dozda birikerek depresyon, yüksek tansiyon ve kanser gibi zihinsel ve fiziksel hastalıklara neden olabilmektedir. Bakır vücutta gerekli dozda bulunduğu canlı

metabolizmasında önemli görevler almasının aksine, yüksek konsantrasyonda bulunduğunda hücre zarına bağlanabilmekte ve hücre duvarından taşıma işlemini engelleyebilmektedir (Nayebi ve Moghimi, 2006; Moghimi, 2007; Moghimi, 2013; Moghimi ve ark., 2016; Yari ve ark., 2016).

Bakır, genelde kükürt cevherinden elde edilir ve günümüzde işlenen cevherin büyük kısmı düşük miktarda bakır içermektedir. Bakır, yüksek elektriksel ve termal iletkenliği, dayanıklılığının ve sertliğinin iyi olması gibi özelliklerinden dolayı elektrik- elektronik, inşaat, ulaşım, endüstriyel donanım, kimya, kuyumculuk, boya sanayi gibi birçok endüstriyel alanlarda da yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle saf bir metal olarak kullanılan bakır, daha yüksek bir sertlik gerektiğinde diğer elementler ile karıştırılıp işlenebilmektedir. Bu nedenle, gemilerin parçalarını düzenlemek için bakır kullanılmaktadır (Kunding ve Cowie, 2006; Lipowsky ve Arpacı, 2007; Shahabadi ve ark., 2017).

Sonuç olarak, endüstriyel alanlarda bakır tüketimi, atık suyun oluşmasına neden olmaktadır. Bakır endüstriyel alanlarda oluşan atıklarla çevre kirliliğine neden olur ve yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunda canlılar üzerinde toksik etkisi göstermektedir. Ayrıca canlıların metabolizmasında gerekli miktarda bulunduğunda yaşamsal önemi açısından biyolojik örnekler, besin ve çevre örneklerindeki konsantrasyonlarının belirlenmesi çok önemlidir (Farajzadeh ve Yadeghari, 2018; Klevay, 2000).

2.2.2. Krom

Krom 1798 yılında kimyager Louis- Nicholas Vauquelin tarafından keşfedilmiş olup doğada serbest metal olarak bulunmadığından kromit ($FeCr_2O_4$) cevheri olarak çıkartılmaktadır ve yer kabuğunda en bol bulunan elementtir. Türkiye, ABD, Güney Afrika, Arnavutluk, Finlandiya, İran, Madagaskar, Rusya, Güney Rhodesia, Transvaal, Küba, Brezilya, Japonya, Hindistan, Pakistan ve Filipinlerde bulunur. Atom numarası 24 olan krom elementi, periyodik tabloda 6B grubunda yer almakta olup gümüş metalik bir renge sahiptir (Anonim, 2019a). Krom havada renk değiştirmez ancak ısıtıldığında yeşil kromik oksidi oluşturur. Çoğu krom bileşiği, krom oksit ve krom hidroksit hariç, suda çözünmemektedir. Oksijen varlığında kararsız olan krom

elementi, oksijene karşı geçirimsiz olan ve altındaki metali koruyan ince bir oksit tabakası oluşturmaktadır. Cr(III) kayalarda, toprakta, bitkilerde, hayvanlarda ve volkanik emisyonlarda doğal bir şekilde oluşur. Kromun jeolojik örneklerde bulunmasının yanı sıra et, tam tahıllı ürünler, yumurta, maya ile bazı meyveler, sebzeler ve baharatlarda da bulunmaktadır.

Canlılar için gerekli eser elementlerden olan krom, metabolizma için diğer elementlere oranla daha az gereksinim duyulan bir elementtir. Bazı metabolik süreçlerin devamlılığında önemli rol oynamaktadır. Krom, vücutta karbonhidrat, yağ ve proteinin metabolizmasına ve depolanmasına karar veren bir hormon olan insülinin etkisini arttırmakta ve buna bağlı olarak kandaki glikoz seviyesini düzenleyerek pankreas/insülin/ glikoz metabolizmasının etki mekanizmasında rol oynayan temel bir eser elementtir (Gibb ve ark., 2000; Krishna ve ark., 2004). Aynı zamanda krom, lezyonların oluşumunu önleyerek ve kanın kolesterol seviyesini düşürerek yararlı bir etki göstermektedir. Serotonin hormonu üretiminde bulunduğu için, depresyon riskini azaltmaktadır (Cheung ve Ji-Dong, 2007; Broadhurst ve Domenico, 2006; Shanker ve Venkateswarlu, 2011). Rafine edilmiş gıdaların tüketilmesi ve çok fazla şeker kullanımı vücutta krom eksikliğine neden olmaktadır. Bu eksiklik, vücudun enerji ihtiyaçlarını karşılamak için glikozu kullanma yeteneğini zayıflatıp insülin gereksinimini yükseltmektedir.

Krom ve bileşikleri, kimya, deri, otomotiv, inşaat, metal sanayisi gibi endüstriyel alanlarda ve metalürjide; endüstride kaplama veya alaşımlama maddeleri, pigmentler, koruyucular veya tabaklama maddeleri olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, katalizörlerde, korozyon inhibitörlerinde, boyalarda, pigmentlerde, aşındırıcı maddelerde, refrakter malzemelerde, elektrikli yarı iletkenlerde ve fotoğraf kimyasalları olarak da kullanımı mevcuttur. Krom, kararlı ve sert bir yapıda olduğu için yüksek sıcaklıktaki uygulamalarda, nikel ile birlikte paslanmaz çelik yapımında kullanılmaktadır (Bernard, 1997; Underwood, 1997). Paslanmaz çeliğin doğası, alaşım yüzeyinde oluşan krom oksitlerin kimyasal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde, metallerin krom kaplanması, ahşabın krom kaplı bakır arsenat işleminin ve derinin krom tabaklanması koruyucu özelliklerinin tümü krom kimyasına bağlıdır.

Krom toksisitesi; ölümlerle sonuçlanabilen krom zehirlenmelerine ve akciğer kanserine, enzimatik aktiviteler ve mutajenez üzerindeki inhibisyona, bitki ve hayvanlarda düşük verime, bitkilerin yaprak ve kök büyümesi üzerindeki olumsuz etkilerine neden olmaktadır. Ayrıca, insanlar üzerindeki diğer en yaygın etkileri; cilt döküntüleri, solunum sorunları, ülser gibi mide hastalıkları, bağışıklık sisteminin zayıflaması, böbrek ve karaciğer hasarı ve genetik dengenin değişmesidir.

Stabil krom formları, üç değerlikli krom (III) ve altı değerli krom (VI) türleridir. Ancak biyolojik sistemlerde dengesiz ve geçici olan birçok başka değerlikli formları da bulunmaktadır. Krom(VI), genellikle kromat (CrO_4^{2-}) veya dikromat ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) oksianyonları olarak oksijenle ilişkili olarak ortaya çıkan en toksik krom formu olarak kabul edilir. Krom (VI), krom (III)' ün mineral bazlar ve atmosferik oksijen varlığında ısıtıldığında, endüstriyel olarak üretilir. Krom (VI), 1.33- 1.38 eV aralığında yüksek redoks potansiyeli olan güçlü bir oksidan olması, aşırı derecede tahriş edici olması, hücre zarından kolayca geçmesi, apoptozu (hücre ölümü) tetiklemesi, akciğer, karaciğer ve böbrek gibi bazı organlara zararlı etkisi ve suda kolayca çözünmesi gibi nedenlerden dolayı krom (III) 'den daha yüksek toksisiteye sahiptir. Krom (III) ün, düşük reaktiviteye, çevrede ve canlı organizmalarda düşük hareketliliğe sahip olması düşük toksisite ile sonuçlanmaktadır (Barnhart, 1997; Quevauviller , 1998; Ouejhani ve ark., 2003).

Doğada, atık sularda krom (VI) konsantrasyonlarındaki artış, deri ve tekstil üretimi, elektro-işleme ve kimya sektörlerindeki krom(VI) uygulamalarından kaynaklanmaktadır. Toplam endüstriyel kullanımın % 40' ını oluşturan deri endüstrisi, kromun biyosfere yüksek oranda salınımının ana nedenlerinden en önemlisidir (Underwood, 1997; Tripathi ve ark., 1998; Lincon, 1999; Krishna ve ark., 2004; Threeprom ve ark., 2005; Wandoyo ve ark., 2006; Narin ve ark., 2007; Shanker ve Venkateswarlu, 2011).

2.3. Krom Türlemesi

Eser elementler; canlı organizmalar üzerinde toksik etki gösterdiklerinden, büyüme ve yaşam fonksiyonları için gerekli olmalarından dolayı analizleri giderek artan bir öneme sahip olmuştur. Bu amaçla elementlerin toplam konsantrasyonlarının belirlenebilmesi için çok sayıda hassas enstrümantal yöntemler geliştirilmiştir.

Eser elementlerin toksik ya da esansiyel rolü, ekolojik sistemler ve biyolojik organizmalar üzerindeki etkisi toplam konsantrasyona göre belirlenmemektedir. Bunun için elementlerin kimyasal formların doğası ve özellikleri hakkında bilgiler gereklidir. Örneğin, bir element iyonunun toksisitesi ve organizmalar tarafından alım oranı toplam konsantrasyonu ile değil, serbest hidratlanmış iyon konsantrasyonu ile belirlenebilmektedir. Aynı zamanda bu özellikler arasında elementlerin asidik ve bazik özellikleri, sulu fazdaki redoks ve kompleksleşme potansiyelleri gösterilebilir. Bu bağlamda, aynı elementin yükseltgenme basamaklarına bağlı olarak, farklı bileşikleri oluşabilir ve bu bileşikler canlılar açısından gerekli ya da toksik olarak farklı etki gösterebilir. Örneğin, Cr (III), canlı organizması için gerekli bir element olarak nitelendirilirken, Cr (VI) kanserojendir. As(III), As(V)'ten ya da Sb(III), Sb(V)'den daha toksiktir. Bu nedenle, her bir elementin oksidasyon basamaklarının ayrı ayrı analiz edilmesi gerekir (Buffle, 1981; Duran, 2010; Michalke ve Sergio, 2013). Bu amaçla gerçekleştirilen ve arsenik, krom, kalay, mangan gibi elementlerin farklı fizikokimyasal yapılarını analiz ederek bir numunedeki toplam konsantrasyonlarının belirlenmesine türleme adı verilmektedir (Florence, 1982).

Farklı oksidasyon basamaklarına sahip krom elementinin Cr (III) formu, glikoz, lipid, protein metabolizmasını etkiler ve biyolojik fonksiyona sahiptir. Diğer taraftan Cr (VI) formu ise, yüksek oksidasyon potansiyelinden dolayı kanserojendir ve mutajenik etki gösterir. Cr(VI) nin Cr(III) e göre daha toksik etki göstermesinden dolayı, çevre ve endüstriyel atık numulerindeki analizleri çok önemlidir. Bu iki krom formu, ayrı ayrı belirlenip sınıflandırılarak tayin edilmelidir (Onchoke ve Sasu, 2016).

Krom elementi AAS, ICP- MS, FAAS, ICP- OES, UV-Vis gibi enstrümantal tekniklerle, analiz edilmeden önce sıvı- sıvı ekstraksiyon, katı- sıvı ekstraksiyon ve

mikroekstraksiyon gibi yöntemlerle zenginleştirilir. Bu cihazlarla toplam krom tayin edilebilir. Krom türlerinin (Cr(III), Cr(VI)) tayin edilebilmesi için, bir ön işlem gereklidir. Bu ön işlem genellikle iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamakta bu türlerden biri ayrılır ve zenginleştirilir ve daha sonra tayin edilir. İkinci basamakta ise, birinci basamakta aktif olmayan tür indirgenir ya da yükseltgenir. Daha sonra, ilk basamaktaki ayırma/ zenginleştirme işlemleri uygulanır ve toplam krom tayin edilir. İkinci basamakta bulunan derişimden birinci basamakta bulunan derişim çıkarılırsa birinci basamakta aktif olmayan türün derişimi belirlenmiş olur. Örneğin birinci basamakta Cr (III) aktif ise, bir ayırma ve zenginleştirme işlemi uygulanarak tayin edilir. Daha sonra, birinci basamakta tayin edilemeyen Cr (VI), ikinci basamakta indirgenerek ayrılır ve zenginleştirilir. Buradan toplam krom tayin edilir. Toplam krom derişiminden ilk basamaktaki Cr(III) derişimi çıkarılarak Cr(VI) nın derişimi hesaplanır.

Bu amaçla gerçekleştirilen, literatürde birçok krom türlemesi çalışması vardır. Bu yöntemlerden bazıları şunlardır:

Türker ve Tunçeli 2002 yılında, katı faz ekstraksiyon yöntemini kullanarak 1,5-difenilkarbazit ile Cr(VI) kompleksine dayanarak krom türlemesi çalışması geliştirmişlerdir. Toplam krom, $KMnO_4$ ile oksidasyon yoluyla Cr (III) 'ün Cr (VI)' ya dönüştürülmesinden sonra FAAS ile tayin edilmiştir (Türker ve Tunçeli, 2002).

Abadi ve arkadaşları 2013 yılında, krom türlemesi için, yüzen katı organik damla dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyonu yöntemini uygulamışlardır. Bunun için, 1,5-difenilkarbazit ile Cr(VI) kompleksi halinde Uv-vis spektrometresi ile analiz gerçekleştirmişlerdir. Toplam krom, $KMnO_4$ ile oksidasyon yoluyla Cr (III) ün Cr (VI) ya yükseltgenmesiyle belirlenmiştir. Geliştirilen yöntem, çeşitli çevresel su örneklerine uygulanmıştır (Abadi ve ark., 2013).

Tüzen ve Soylak 2006 yılında, katı faz ekstraksiyon yöntemiyle Cr(III) ile ditizon kompleksi halinde FAAS ile analiz gerçekleştirmişlerdir. Türleme basamağında, Cr(VI) yı Cr (III) e, 0.5 mL konsantre H_2SO_4 ve 0.5 mL etanol kullanarak indirgemişlerdir. Çeşitli kahve, tütün, çevresel su ve toprak örneklerinde krom tayinini gerçekleştirmişler

ve standart referans madde analizleriyle yöntemin doğruluğunu ispatlamışlardır (Tüzen ve Soylak, 2006).

Narin ve arkadaşları, katı faz ekstraksiyon yöntemiyle Cr(III)-difenilkarbazon kompleksi oluşturarak UV-vis spektrofotometresiyle krom analizi gerçekleştirmişlerdir. Toplam krom, asidik ortamda $K_2S_2O_8$ ilavesiyle Cr (III) 'ü Cr (VI)' ya okside ettikten sonra belirlenmiştir. Gıda, su örneklerine ve bazı farmakolojik örneklerine katı faz mikroekstraksiyon yöntemini uygulamışlardır (Narin ve ark., 2007).

Zhu ve arkadaşları, çevresel su örneklerinde bulutlanma noktası ekstraksiyonu yöntemiyle Cr(VI) ile dibromofenolflorin kompleksi oluşturarak toplam krom tayinini gerçekleştirmişlerdir (Zhu ve ark., 2005).

2.4. Eser Element Analizinde Bazı Analitik Performans Kavramları

Analitik spektroskopik metotların performansı, belirli bir eser türün doğru bir şekilde nasıl analiz edileceği, çalışma özelliklerinin ne kadar hassas tespit edildiği şeklinde tanımlanabilir. Analitik performansı; duyarlılık, gözlenebilme sınırı, optimum çalışma aralığı, doğruluk, güven seviyesi, tayin sınırı, kesinlik, seçicilik vb. gibi temel geçerlilik kavramları belirler. Tekniğin düşük derişim seviyelerindeki tayinine uygulanabilir olup olmadığını değerlendirmek için, hassasiyet ve minimum gözlenebilme sınırını belirlemek gerekir (Wachasunder ve Nafade, 2001).

2.4.1. Doğruluk

Doğruluk elde edilen bir sonucun referans değere yakınlığı olarak tanımlanır. Gerçeklik ve kesinliğin bir bileşeni olarak ortaya çıkar. Ayrıca yalnızca ölçüm belirsizliği de doğruluğu ifade eder.

Ölçüm gerçekliği, sonsuz kadar sonucun ortalamasının referans değere yakınlığı olarak tanımlansa da sonsuz sayıda değer elde edilemeyeceğinden gerçeklik ölçülemez. Bunun sonucu olarak doğruluk da tam olarak tayin edilemez. Doğruluk, mutlak ve bağıl hata terimlerinin bilinmesiyle belirlenir.

Mutlak hata; ölçüm sonuçlarının ortalamasının (X_{ort}) gerçek (referans) (X_{ref}) değere farkından hesaplanır ve aşağıdaki eşitlik ile verilir.

$$E = X_{ort} - X_{ref}$$

Yüzde cinsinden bağlı hata ise aşağıdaki eşitlikle hesaplanır.

$$E_r = \frac{X_{ort} - X_{ref}}{X_{ref}} \times 100$$

Hatalar belirli ve belirsiz hata olarak gruplandırılır. Belirli hatalar; doğruluğu etkileyen kaynağı bulunabilen hatalardır. Bu hataları belirlemek için üç yaklaşım vardır:

- Standart referans maddelerin analizi
- Analit eklemesi yapılarak gerçekleştirilen geri kazanım deneyleri
- Güvenilir başka bir yöntem ile ölçülen sonuçlarla karşılaştırma yapılması

Belirsiz hatalar ise, ölçümün kesinliğini etkileyen kaynağı bilinmeyen hatalardır (Wachasunder ve Nafade, 2001; Anonim, 2014).

2.4.2. Kesinlik

Kesinlik, öngörülen şartlar altında elde edilen bağımsız deneysel sonuçların birbirlerine yakınlık derecesine denir. Ayrıca, kesinlik ardarda ve yeterli ölçümlerdeki elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliğinin bir ölçüsüdür. Ölçümün kesinliğini tanımlayan istatistiksel parametreler, optimum koşullar altında gerçekleştirilen tekrar ölçümler sonucunda belirlenen standart sapma, bağlı standart sapma ve varyans ile ifade edilir. Belirsiz (rasgele) hatalar, ölçümün kesinliğine etki eder (Menditto ve ark., 2006; Barwick ve Prichard, 2011).

2.4.3. Duyarlılık

Duyarlılık, bir yöntemde ölçülebilen en düşük analit derişimidir. Ayrıca, ölçülen analit konsantrasyonu değişimine karşı absorbans değerlerindeki değişiklik yani kalibrasyon eğrisinin eğimi olarak da tanımlanabilmektedir. Duyarlılık; cihaza, tayini yapılacak olan

eser türe, matriks bileşenlerine ve seçilen yöntemle göre değişmektedir. Atomik absorpsiyon spektroskopisinin duyarlılığı, 0.0044 absorpsiyon değeri (%1) elde edilen metal konsantrasyonu olarak tanımlanmıştır (Wachasunder ve Nafade, 2001).

2.4.4. Gözlenebilme ve tayin sınırı

Bir analitik yöntemin performansını belirleyen parametrelerden olan gözlenebilme sınırı, belirli bir güven aralığında tayin edilebilecek en düşük analit derişimi olarak tanımlanmaktadır. Gözlenebilme sınırı (LOD), kör ile yapılan en az 6 ya da genellikle 10 bağımsız ölçüm değerinin standart sapmaları üzerinden aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

$$X = X_{\text{kör}} + 3S_{\text{kör}}$$

Bu formülde;

$X_{\text{kör}}$: Kör numunelerin ölçüm sonuçlarının ortalaması

$S_{\text{kör}}$: Kör numunelerin ölçüm sonuçlarının standart sapması' dır.

Tayin sınırı (LOQ) ise, kalibrasyon grafiğinin kabul edilebilir derecede güvenilir olarak belirlenen en küçük konsantrasyon değeri olarak tanımlanmaktadır. Analitin bilinen konsantrasyonlarının azaltılmasıyla hazırlanan örneklerin ya da kör ölçümleriyle elde edilen gözlenebilme sınırının 5-10 katı olarak hesaplanır (Söğüt-Ertas ve Kayalı, 2005; Yılmaz, 2019).

2.4.5. Sağlamlık

Sağlamlık (dayanıklılık), geliştirilen bir analitik yöntemin parametreleri üzerinde yapılan bazı küçük değişikliklerin analiz sonuçlarını etkilemeden kalma uygunluğunu inceler. Analizin güvenilirlik göstergesi olan sağlamlık, prosedürün geliştirme aşamasında ve türüne göre değerlendirilmelidir. Bunun için; sıcaklık, pH, basınç, ekstraksiyon süresi, analitik çözeltilerin kararlılığı, akış hızı gibi bir dizi parametrede değişiklikler yapılır. Gerçekleştirilen bu değişikliklerin analiz sonuçları üzerinde etkisi

tanımlanır. Ölçümler analitik koşullardaki bu değişikliklerden ne kadar az etkilenirse yöntem o kadar sağlamdır sonucuna varılır (Anonim, 2005).

2.4.6. Seçicilik

Analitik kimyada performans kriterlerinden seçicilik teriminin kullanılması, benzer veya farklı diğer bileşenlerden analitleri tanımlamak ve miktarını belirtmek için önceki yöntemlere kıyasla, daha hassas ve ayırt edici yöntemlerin geliştirilmesi için ortaya konulmuştur. Analitik bir yöntemin seçiciliği, girişimsiz sinyalleri iletme ve doğru sonuçlar elde edebilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Seçicilik, karışımdaki diğer bileşenlerden etkilenmeden karmaşık bir örnekteki belirli bir analiti müdahale eden bileşenler arasında ayırım yapabilme çalışmalarıyla incelenir. Bunun için, kimyasal reaksiyonlar, adsorpsiyon, biyokimyasal veya elektrokimyasal işlemler, ışının absorpsiyonu gibi yöntemler uygulanmaktadır. Bu şekilde, çok yüksek seçici yöntemler elde edilebilmektedir. Seçicilikte, analitin örnek içerisinde birden fazla yapıda bulunabilmesi, kompleks yapıda olup olmadığı, organometalik veya inorganik olması ve farklı yükseltgenme basamağına sahip olması gibi özelliklerin dikkate alınması gerekmektedir (Vessman ve ark., 2001; Anonim, 2014).

2.4.7. Geri kazanım

Bir örnekte belirli bir derişimde bulunan analit, numune analizinden sonra geri kazanılır. Bu şekilde analiz sonucunda elde edilen analit derişiminin, başlangıçtaki derişim değerine oranı geri kazanım olarak tanımlanmaktadır. Aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmaktadır.

$$\% R = \frac{X}{X_{ref}} \times 100$$

Bu denklemde;

X: Analiz sonucunda elde edilen derişim

X_{ref}: Teorik olarak hesaplanan derişim

% R: Yüzde geri kazanım olarak tanımlanır.

2.4.8. Çalışma aralığı

Geliştirilen yöntemin uygulama aralığını belirlemek için yapılan çalışma aralığı, kalibrasyon grafiğinde tayin edilebilen en düşük derişimden, doğrusallıktan sapma gösterdiği derişime kadar olan aralık olarak tanımlanır. Çalışma aralığının en alt sınırını tayin sınırı (LOQ), en üst sınırını ise kalibrasyon grafiğinde doğrusallıktan sapmanın olduğu ve analitik duyarlılıkta bozulmanın başladığı derişim belirler. Çalışma aralığı geniş olduğunda çok sayıda analitin aynı anda tayini gerçekleştirilebilirken, dar olması durumunda seyreltme işlemine ihtiyaç duyulmaktadır (Anonim, 2014; Yılmaz, 2019).

2.5. Boyar Maddeler

Boyar maddeler, ışığı emme veya yayma kabiliyetleri ile 400-700 nm görünür bölge aralığında karakterize edilen birbirinden farklı materyalleri renklendirmek amacı ile kullanılan, toplumda psikolojik, estetik, işlevsel ve ekonomik etkiye sahip olan maddelere denir. Avrupa, Eski Mısır, Afrika' da ve Çin' de mağaralara yapılan çizimlere bakıldığında, insanların tarih öncesi dönemlerden bu yana doğal boyaları kullandığını görmekteyiz. Doğal kaynaklardan boyarmadde elde etmek için fazla miktarda bitkisel ve hayvansal kaynak kullanımı gerekmektedir. Ayrıca doğal üretimde az miktarda boyarmadde elde edildiğinden sentetik olarak üretilmeye başlanılmıştır. Egypt Blue, Han Blue ve Han Purple gibi bilinen en eski sentetik boyalar Mısır' da ve Çin' de yapılan araştırmalarda bulunmuştur (Kiel ve Heertjes, 1963; Chenciner, 2000; Langhals, 2004).

Sentetik boyar maddeler, boyama yöntemlerine ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmaktadır. Kimyasal yapılarına göre; azo, kükürt, antrakinin, indigoid, polimetin, aril karbonyum, ftalosiyanın, ksanten, nitro, kromofor grup, metal kompleks boyalar olarak sınıflandırılırlar. Uygulama yöntemlerine göre ise; reaktif, dispers, bazik, asit, solvent boyalar ve optik beyazlatıcılar olarak gruplandırılmaktadır (Metin, 2009).

Boyar maddeler, tekstil, kâğıt, kauçuk, plastik, boya, deri, yiyecek, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde ve baskı mürekkepleri, sanat- zanaat gibi alanlarda kullanılmaktadır

(Khanna ve Das, 1991; Namasivayam ve Kavitha, 2002). Gıdalarda kullanılan boyar maddeler gıda katkı maddesi olarak da isimlendirilmektedir. Gıda ürünlerinin tadında, kokusunda, görünümünde, yapısında ve diğer özelliklerinde değişiklik meydana gelmesini önlemek veya oluşan değişikliği düzeltmek için kullanılan maddelerdir. Renklendirici, koruyucu ve tat verici olarak ürünlere eklenen gıda katkı maddelerinin gıda endüstrisinde kullanımı, tüketici taleplerinin çeşitliliği ve gelişen teknolojinin getirdiği üretim teknikleri nedeniyle gün geçtikçe artmaktadır.

Bu katkı maddelerinin en önemlilerinden ve en çok kullanılanlarından biri gıda boyalarıdır. Gıda boyaları sentetik, yarı sentetik ve doğal olarak üç gruba ayrılmaktadır. Düşük maliyet ve artan ihtiyaç nedeniyle, sentetik olanlar daha çok tercih edilmektedir. Bunlar meyve suları, reçeller, bazı et ve peynir ürünleri, kuru karışımlar, şeker mamülleri, kozmetikler ve ilaçlar gibi ürünlerde kullanılırlar (Uçar, 2009)

Avrupa Birliği ülkelerinde, gıda katkı maddelerinin "E" referans numarası verilerek pratik bir kodlama sistemi amaçlanmıştır (Erden ve Çalışkan, 2003; Boğa ve Binokay, 2010). Bu boyalardan bazılarını; tartrazine (E102), quinoline yellow (E104), sunset yellow (E110), carmoisine (E122), amaranth (E123), ponceau 4R (E124), eritrosin (E127), allura red (E129), patent blue (E131), indigo karmin (E132), brilliant blue FCF (E133), brown HT (E155) gibi katkı maddeleri örnek verilebilir (Anonim, 1994; Kucharskaa ve Grabka, 2010).

Boyar maddelerinin birçoğu suları kirleterek mikrobiyolojik canlılar ve balık türleri üzerinde ve gıdalarda önerilen miktardan fazla kullanıldığında, insanlar tarafından aşırı tüketildiğinde insan metabolizması üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bu olumsuz etkilerden bazıları; suda yaşayan türler için toksik etki göstermesi ve bu türlerin oksijen salınımını bozması, çocuklarda hiperaktiviteye neden olması, insanların bağırsak florasını bozmasıdır (Hawley ve Buckley, 1976; Rafii ve ark., 1997; Kucharskaa ve Grabka, 2010). Ayrıca, insanlarda baş ağrısına, mide, böbrek, karaciğer ve sinir sistemi rahatsızlıklarına neden olmaktadır (Gemeay, 2002; Ibrahim ve ark., 1996).

Düşük konsantrasyonlarda bile sudaki yaşamı ve besin ağını olumsuz etkileyen boyar maddelerin kanserojen ve mutajenik olmasından ve gıdalardaki sentetik boyaların içeriğini kontrol etme zorunluluğundan dolayı, boyaları atık sulardan arındırmak ve gerçek örneklerde analiz etmek için bazı tayin metotları geliştirmek gerekmektedir (Khanna ve Das, 1991; Namasivayam ve Kavitha, 2002).

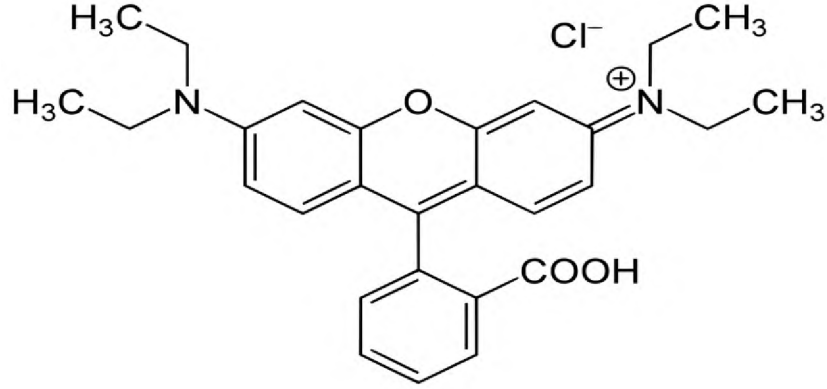
2.5.1. Rodamin B

Rodamin B, moleküler kütlesi 479,02 g/mol, moleküler formülü $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ ve menekşe kırmızı renginde olan bir boyar maddedir. Ticari ismi, D & C Red No. 19 olan rodamin B, suda çözünen ksanten boyalar sınıfındadır (Jain, 2006). Aynı zamanda rodamin basic violet 10, rodamin 610 olarak da isimlendirilmektedir.

Şekil 2.1' de kimyasal yapısı gösterilen rhodamine B, üç aril halkasının iki tanesinde dimetilamino grubu, bir tanesinde ise karboksil grubu bulundurmaktadır. Bağlanma eğilimini sağlayan oksokromlar, dimetilamino grubu; rengini veren ise, katyon grubunu oluşturan kromofor gruplarıdır (Ünsal ve ark., 2014)

Rodamin B floresans etkisi nedeni ile akış yönü ve taşıma oranını belirlemek için su yollarının takibinde; floresans mikroskopisi, akış sitometrisi, floresans korelasyon spektroskopisi ve ELISA gibi biyoteknoloji uygulamalarında; gıda, tekstil, ilaç ve kozmetik endüstriyel alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Wu ve ark., 2014; Ozkantar ve ark., 2017).

Endüstriyel uygulamalar neticesinde tüketilen ve doğaya salınan Rodamin B, insanlara ve hayvanlara cilt, gözler ve solunum yollarının tahriş olması gibi ciddi zararlar vermektedir. Ayrıca rodamin B, kanserojen etki göstermektedir. Üreme, sinir sistemine ve gelişimsel sürece olumsuz etkileri deneysel olarak kanıtlanmıştır. Rhodamine B, bir trifenilmetan boyası olduğundan zararlı etkileri nedeniyle birçok ülke, gıda örneklerinde kullanılmasını yasaklamıştır. Atık su gibi birçok örnekte bulunan rodamin B' nin olumsuz etkilerinden dolayı, ayırma zenginleştirme ve analiz yöntemleri ile uzaklaştırılması bir zorunluluk haline gelmiştir (McGregor ve ark., 1991; Richardson ve ark., 2004; Nagaraja ve ark., 2012).



Şekil 2.1. Rodamin B' nin molekül yapısı

2.5.2. Eritrosin

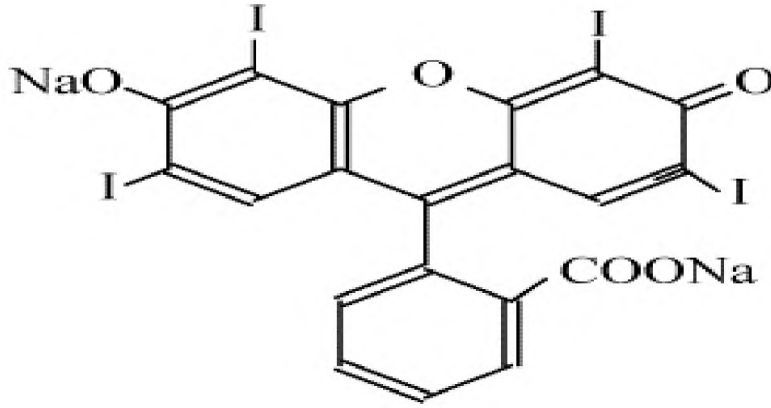
E127 referans numarası ile bilinen, su içinde yüksek oranda çözünen eritrosinin kimyasal formülü $C_{20}H_{14}O_5$ ve moleküler ağırlığı 879.86 g/ mol' dür. Eritrosinin kimyasal molekül formülü Şekil 2.2' de gösterilmiştir. Gıda Güvenliği Kurumu' na (2011) göre, literatürde eritrosin için en çok kullanılan eş anlamlıları şunlardır: CI Food Red14, FD & C Red No. 3, C. I. 45430 ve eritrosin sodyum (Shokrollahi ve ark., 2017).

1907' de ABD Tarım Bakanlığı tarafından onaylanmasından bu yana gıda boyası olarak kullanılmaya başlanmış olup en fazla gıda katkı maddesi olarak kullanımı mevcuttur. Örneğin, salam, sosis, kokteyl, konserve meyve, bisküvi, çikolata, meyve suyu ve atıştırmalık yiyecekler gibi bazı yiyeceklere büyüleyici renkler elde etmek için ilave edilmektedir. Öte yandan, bu renklendirici, birçok kozmetikte ve ilaçta da kullanılmaktadır. Ayrıca, mikroskopik lekeler için fotografik plakalarda, baskı mürekkeplerinde kullanımının yanında bir diş plağı kontrolü sağlayan ajan olarak da görev yapmaktadır (Apostol ve Gavrilescu, 2013).

Gıda katkı maddelerinin çoğu, çok fazla kullanıldığında toksiktir. Eritrosin bunlardan biridir ve oldukça toksiktir. Eritrosin, sağlıklı hayvanlarda günlük 149 mg / kg insanlarda ise 60 mg / kg doza kadar gözlenebilir toksisite göstermez (Gardner ve ark., 1987; Borzellecaand Hallagan, 1990).

Hiperaktivite artışı, mutajenlerle ilişkili olma olasılığı, çeşitli türlerde alerjileri tetikleme, tiroid aktivitesi, kanserojenite, tümörlere yol açma, anemi, DNA hasarı, nörotoksisite ve atopik hastalıklara neden olma gibi bazı yan etkileri vardır (Borzelleca

ve ark., 1987; Banat ve ark., 19996; Sasaki ve ark., 2002; Gupta ve ark., 2006; Wong ve Kwon, 2011; Shen ve ark., 2014; Nayak ve ark., 2015; Tonglairoum ve ark., 2017; Ozkantar ve ark., 2019).



Şekil 2.2. Eritrosin' nin molekül yapısı

2.6. Eser Türlerin Analizi, Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri

Eser türlerin aşağıda sıralanan nedenlerden dolayı analizi büyük önem arz etmektedir:

- Eser elementlerin bazıları, canlıların metabolizmasında enzim bileşeni olmaları, enzim aktifleyicisi olarak ve doku yapımında görev almaları, bazı hormonların ve vitaminlerin yapıtaşı olmaları, büyümeye ve gelişmeye destek olmaları gibi görevlerinden dolayı canlılar açısından önem arz etmeleri
- Sağlık açısından faydalarından dolayı besinlerdeki derişiminin belirlenmesi
- Endüstriyel ve tarımsal faaliyetler sonucunda suların, toprağın, havanın kirlenmesi
- Eser elementlerin fazlalığında toksik etki göstermeleri
- Gıda boyaları gibi eser türlerin sağlık açısından tehlike arz etmeleri

Su, toprak gibi çevresel ve biyolojik örneklerde, gıda, ilaç gibi gerçek örneklerde organik ve inorganik türlerin tayini için; indüktif eşleşmeli plazma-atomik emisyon spektrometresi (ICP-AES), indüktif eşleşmeli plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS), alevli ve grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS / GFAAS), mikrodalga plazma- atomik emisyon spektroskopisi (MP-AES), nötron aktivasyon analizi (NAA), yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi- kütle

spektrometresi (GC-MS), ultraviyole- görünür bölge spektrometresi (UV-VIS), elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (ETAAS), atomik floresans spektrometresi (AFS), indüktif eşleşmiş plazma- optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) gibi analitik cihazlar kullanılmaktadır. Gerçek örneklerdeki analit konsantrasyonunun düşük olması ve matriks iyonlarının etkisi nedeniyle, sadece enstrümantal yöntem kullanmak genellikle bu malzemeleri doğru bir şekilde analiz edemez (Wei ve ark., 2015). Eser türlerin bozucu ortam iyonlarından ve bileşenlerinden ayrılarak düşük hacme alınıp derişimi artırılmasıyla ölçülebilir seviyeye getirilir. Bu işleme zenginleştirme denir (Bachmann, 1982)

Ayırma ise, bir maddenin katı-sıvı, sıvı-sıvı, sıvı-gaz ve katı-gaz şeklinde birbiriyle temas halinde bulunan iki faz arasında farklı oranlarda dağılması esasına dayanır. Eser türler için uygun olan herhangi bir ayırma yöntemi, kontaminasyonu ve analitin kaybını en aza indirmektedir (Bachmann, 1982).

Eser türlerin analizlerinde ortam bileşenlerinin etkisi ile birçok spektral girişim olmakta ve bu durum yöntemin doğruluğunu azaltmaktadır. Bu nedenle uygulanan ayırma ve zenginleştirme yöntemleriyle aşağıdaki üstünlükler elde edilmektedir.

- Zenginleştirme çalışmalarıyla çözeltideki eser element derişimi artırıldığından yöntemin tayin kapasitesi artar.
- Bozucu etki gösteren ortam, uygun ortama alındığından zemin girişimlerinde azalma görülür.
- Yöntemin seçimliliği artar.
- Eser elementlerin uygun ortama alınmasıyla, ortamdan gelebilecek girişimlerin önlenmesinden dolayı yöntemin duyarlılığı artar.
- Ayırma yöntemleri ile eser türler için uygun ve bilinen matriks ortamı sağlanır. Bunun sonucu olarak hazırlanan standart çözeltiler ile analiti içeren örneğin ortamlarını birbirlerine benzetmek kolaylaştığından doğruluk artar.
- Büyük örnek miktarlarıyla analiz gerçekleştirilebildiğinden örneğin homojen olmamasından kaynaklanan hatalar önlenmiş olur.

Eser elementlerin matriks ortamından ayrılmasında ve zenginleştirilmesinde birlikte çöktürme, sıvı-sıvı ekstraksiyon, katı faz ekstraksiyon, bulutlanma noktası yöntemleri

kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler uzun zaman alması, otomasyonda zorluk yaşanması, karmaşık olması, bazılarının zenginleştirme faktörlerinin düşük olması, yüksek hacimde örnek gerektirmesi ve fazla miktarda çözücü kullanımı, fazla atık oluşturması, sağlık açısından riskler barındırması gibi dezavantajlara sahiptir.

Hızlı nüfus artışı, sanayileşmenin artması, yüksek gıda tüketimi, kaynakların tükenmesi, teknolojinin büyüüp gelişmesi çevre üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Tüm bu kaygılar insanları, çevreye zarar vermeyen kimyasalları tasarlamak ve kullanmak için yeni yöntemler aramaya sevk etmiştir (Tobiszewski ve ark., 2009).

1990 yılında U.S. Environmental Protection Agency (EPA) tarafından kimyagerlerin beceri, bilgi ve yeteneklerinin kullanılabileceği, her türlü kimyasal işlemde insan sağlığına ve çevreye yönelik tehditlerden kaçınmanın bir yolu olarak yeşil kimya yaklaşımı ortaya konulmuştur (Anastas, 1999). Yeşil kimya, tehlikeli kimyasal maddelerin kullanımını veya üretilmesini azaltan veya ortadan kaldıran işlemlerden oluşan bir yaklaşımdır. Bu yaklaşım, kirliliği kaynağında azaltarak, kirliliği önleme hiyerarşisinin en üst seviyesine ulaşan uygun maliyetli kimyasal maddeler ve süreçler tasarlamayı ve üretmeyi amaçlar. Yeşil kimya, aynı zamanda sürdürülebilir kimya olarak da isimlendirilmektedir. 1991 yılında “yeşil kimya” terimi ilk olarak, U.S. Environmental Protection Agency (EPA) tarafından başlatılan özel bir programda Anastas tarafından kullanılmıştır (Anastas, 1999; Tobiszewski ve ark., 2009).

Yeşil kimya araştırma ve geliştirmenin en aktif alanlarından biri analitik metodoloji geliştirmedir. Yeşil kimya hedeflerine ulaşmak için, analitik kimyadaki belirli teknolojiler araştırılmıştır. İlk “yeşil analitik kimya” terimi 1999 yılında Namiesnik tarafından ekolojik eğitim başlığı altında kullanılmıştır (Namiesnik, 1999; Tobiszewski ve ark., 2009). Analitik kimyada kullanılan kimyasal analiz metotları; çözücülere, reaktiflere ve enerjiye ihtiyaç duymakta ve atık oluşturmaktadır. Bu sebeple yeşil kimya ilkeleri, analitik kimya ile de doğrudan ilgilidir. Analitik kimya, saha analizi, tarama, ekstraksiyon, seyreltme ve parçalama yöntemleri ve alternatif mobil faz döngülerinden oluşur. Bu bağlamda yeşil analitik yöntemler bu döngü boyunca uygulanıp geliştirilmektedir.

Analitik süreçler, örnek toplama, örnek hazırlama, analiz, hesaplamalar ve sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi basamaklarından oluşmaktadır. Fazla zaman alması, fazla kimyasal tüketimi, atık oluşumu, enerji harcanması gibi nedenlerden dolayı yeşil kimya açısından bu süreçlerin en önemlisi, temizleme ve zenginleştirme basamaklarından oluşan numune hazırlamadır.

Analitik kimyacılar, kimyasal analiz yaşam döngüsünün tüm yönleriyle tehlikeli maddelerin kullanımını ve üretimini azaltan veya ortadan kaldıran basit, hızlı ve ucuz ayırma- zenginleştirme yöntemleri geliştirmişlerdir (Anastas, 1999; Koel ve Kaljurand, 2006; Marco ve ark., 2019). Bu yöntemlerin başında mikroekstraksiyon yöntemleri gelmektedir.

Mikroekstraksiyon; basit, hızlı ve minyatürleştirerek örnek hazırlama imkanı sağlayan, organik çözücü tüketimini en aza indiren, çevre dostu bir ekstraksiyon yöntemidir. Bu yöntem;

- Klasik ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla zararsız ya da daha az zararlı, ucuz ve mikrolitre seviyesinde ekstraksiyon sıvılarının kullanımı,
- Buharlaştırma, saflaştırma gibi basamaklara ihtiyaç duyulmaması,
- Zenginleştirme faktörünün ve geri kazanım değerlerinin yüksek olması,
- Ekstraksiyon ve zenginleştirmenin yanısıra saflaştırma işleminin de yapılabilmesi,
- Düşük maliyetli olması,
- Otomasyonun yapılabilmesi,
- Kimyasal atık miktarının azaltılması,
- Çok aşamalı prosedürlere kaynaklanan hata sayısının azaltılması,
- Basit olması ve zamandan tasarruf sağlaması,

gibi avantajlar sağlamaktadır (Dadfarnia ve Sahabani, 2010; Alver ve ark., 2012).

2.7. Sıvı- Faz Mikroekstraksiyon (LPME)

Sıvı faz ekstraksiyon tekniği, matriks bileşenli sıvı numunelerde kullanılan bilinen en eski ekstraksiyon yöntemlerinden biridir. Bu teknik, örneğin farklı polariteye sahip çözücülerle ekstraksiyonu esasına dayanır. Klasik sıvı faz ekstraksiyon metodu, çok aşamalı analitik prosedürler içerdiğinden oldukça zaman alıcıdır. Uzun süren bu işlemler laboratuvar personelinin kimyasal maddelere özellikle organik çözücülere uzun süre maruz kalmasına ve analitlerin kaybına ve kirliliğini artmasına neden olur. Ayrıca büyük miktarlarda örnek hacmi gerektirir ve organik çözücü tüketimi çok fazladır. Bu nedenle, minimum miktarda, güvenli ve toksik olmayan (iyonik ve süperkritik sıvılar, supramoleküler çözücüler) çözücüler kullanılan sıvı faz mikroekstraksiyon teknikleri geliştirilmiştir.

Sıvı faz mikroekstraksiyon (LPME), analit ekstraksiyonu için 100 µL veya daha düşük hacimlerde çözücü kullanılabilen örnek hazırlama tekniğidir (Kokosa, 2013; Spieteluna ve ark., 2014). LPME yönteminde, verici faz olan sulu bir örnek içerisinde bulunan analitler alıcı faz olan, su ile karışmayan organik çözücü kullanılarak ekstrakte edilirler.

LPME, çevresel, adli, zirai, biyolojik vb. örneklerden uçucu, uçucu olmayan, polar, apolar iyonik ya da metalik analitlerin ekstraksiyonunda ve saflaştırılmasında kullanılmaktadır (Kokosa, 2013).

İlk olarak, 1996 yılında tek damla- mikro damla çözücü mikroekstraksiyonu adı altında çalışılan LPME metodu uygulama şekillerden bazıları aşağıdaki sıralanmıştır (Liu ve Dasgupta, 1996; Jeannot ve Cantwell, 1996).

- Tek damla mikroekstraksiyon (SDME)
 - Doğrudan daldırma-asılı damla mikroekstraksiyon
 - Tepede-asılı damla mikroekstraksiyon
 - Üç fazlı mikroekstraksiyon
 - Sürekli akış mikroekstraksiyon
- Yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon

- Oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon
- Dağılımlı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon
- Supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu

2.7.1. Tek damla mikroekstraksiyonu

Ekstraksiyon ortamı tek bir damla şeklinde olduğundan, bu LPME çeşidine tek damla mikro ekstraksiyonu (SDME) adı verilmiştir. 1990' lı yılların ortalarında Dasgupta' nın grubu tarafından havadan amonyak ve kükürt dioksit gibi maddeleri çıkarmak için bir gaz örnekleme arayüzü olarak sıvı damlacık içeren yöntemler çalışmışlardır (Dasgupta ve Liu, 1995). Doğrudan kromatografik analizle uyumlu tek damla mikroekstraksiyon tekniklerini ilk defa Cantwell'in grubu geliştirmiştir (Cantwell ve Jeannot, 1996; Jeannot ve ark., 2010).

Tek damla mikroekstraksiyon yönteminde, 1–10 µL ekstraksiyon çözücü damlası numune çözeltisi içerisinde karışmadan enjektör ucunda asılı durur. Analit molekülleri pasif difüzyon ile sulu örnekten asılı damla içersine alınır. Sıcaklık ve çözücü viskozitesi gibi etmenler difüzyon hızında rol oynamasına rağmen, genelde difüzyonun gerçekleşmesi gereken mesafenin azaltılmasıyla difüzyon hızı artırılır. Bu amaçla örnek manyetik karıştırma, mekanik titreşim veya şırınga piston hareketi ile karıştırılır. Böylelikle analiz süresi kinetik olarak kontrol edilebilen koşullarla azaltılmış olur (Jeannot ve ark., 2010). Asılı damla içersine alınan örnek, HPLC, GC, AAS, AFS, CE ile analiz edilir (Lee ve ark., 2007).

SDME yönteminde karmaşık donanım ihtiyacının olmaması, ucuz ve basit olması, çok küçük miktarlarda çözücü kullanılması ve yüksek zenginleştirme faktörü elde edilebilmesi gibi avantajlardan numune hazırlamada yaygın olarak kullanılmaktadır. Damla yüzeyinin sınırlı olması, enjektör ucundaki damlanın kararsız olması dezavantajları arasında yer almaktadır (Dadfarnia ve Haji Shabani, 2010; Alver ve ark., 2012). Yöntem; doğrudan daldırma ve tepede boşluklu tek damla mikroekstraksiyon, sıvı- sıvı- sıvı mikroekstraksiyon, sürekli akış mikroekstraksiyon gibi dört farklı şekilde uygulanmaktadır.

Doğrudan daldırma tek damla mikroekstraksiyon

Doğrudan daldırma SDME yönteminde sistem, septum kapaklı ekstraksiyon şişesi, bir karıştırma çubuğu, bir manyetik karıştırıcı, çok küçük hacimli ekstraksiyon çözücüsü içeren bir mikro şırıngadan oluşmaktadır.

Bu yöntemde, organik çözücü içeren mikroşırınganın iğnesi bir manyetik karıştırıcıyla karışan sulu numuneye daldırılır ve ekstraksiyon çözücüsünün damlası (1-3 µL) iğnenin ucunda askıda bırakılır. Ekstraksiyon çözücüsünün mikro damlası sulu numuneyle doğrudan temas halinde olduğundan suyla karışmaması gerekmektedir. Sulu çözeltideki analit organik mikrodamlaya geçer. Ekstraksiyon sonrasında organik faz mikroşırınga içerisine geri çekilip direkt olarak, en fazla gaz kromatografisinde olmakla beraber HPLC, atomik absorpsiyon spektrometrisi veya indüktif olarak eşleşmiş plazma- kütle spektrometrisi gibi enstrümental cihazlarda analiz gerçekleştirilmektedir. Yöntem, apolar ve yarı- polar bileşiklerin analizi için uygulanabilmektedir.

Doğrudan daldırma SDME yöntemi basit ve ucuz olması gibi avantajlar sunarken, ekstraksiyon sonrası analitleri içeren mikro damlanın sulu çözeltiden dağılmadan alınabilmesinin çok zor olması, mikro seviyelerde damla oluşmasından dolayı ekstrakte edilebilen analit miktarının sınırlı olması gibi dezavantajlara sahiptir. Ayrıca, sıvı- sıvı sistemlerinde yavaş kütle transferinin bir sonucu olarak, çözeltiyi güçlü çalkalama ve hızlı karıştırma ihtiyacı doğmaktadır (Lee ve ark., 2007; Santana ve ark., 2011)

Tepede asılı tek damla mikroekstraksiyonu (HS- SDME)

Tepede asılı tek damla mikroekstraksiyon yöntemi ilk olarak 2000 yılında rapor edilmiş olup daha sonra Theis ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda ayrıntılı olarak tanımlanmıştır (Przyjazny ve Kokosa, 2003; Theis ve ark., 2001).

HS- SDME yönteminde, mikro enjektörün ucunda asılı damla, örnek çözeltisiyle temas ettirilmeden tepe boşluğuna yerleştirilir. Uçucu, yarı- uçucu ve gaz haldeki numunelerde kullanılabilen bu yöntemde gaz halindeki analit, tepe boşluğunda asılı duran bu mikrodamlaya ekstrakte olur. Damla (0,5-2 µL) ekstraksiyon süresi boyunca

şırınganın ucunda kalır ve ekstraksiyon sonrasında şırıngaya geri çekilerek, ölçümü gerçekleştirilmek üzere analitik cihaza enjekte edilir.

Analitin, su numunesi, tepe boşluğu ve organik damla arasında üç faz arasında dağılarak gerçekleştirildiği bu ekstraksiyon yönteminde uçucu olmayan ve yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerin analizi gerçekleştirilemez. Genellikle, trihalometanlar, btx hidrokarbonlar, uçucu organik bileşikler, inorganik ve organometalik türler analiz edilir. HS-SDME kullanılan en popüler ekstraksiyon çözücülerü 1-oktanol, heksadekan, dodekan ve dekandır (Przyjazny ve Kokosa, 2002; Jeannot ve ar., 2010).

HS- SDME yönteminde ekstraksiyon verimini arttırabilmek için, örnek karıştırılabilir, ısıtılabilir ya da örneğe tuz eklenir (Kokosa ve ark., 2009). Bu yöntem; karmaşık ve kirli numuneleri analiz edebilmesi, çeşitli ekstraksiyon çözücülerinin kullanılabilmesi, damlanın kararlılığının diğer tek damla mikroekstraksiyon uygulamalarından yüksek olması gibi avantajlara sahiptir. Dezavantajı ise, kullanılacak çözücünün buhar basıncı ve viskozite gibi özelliklerine dikkat edilmesi gerektiğinden çözücü sınırlamasının olmasıdır (Dadfarnia ve Shabani, 2010).

Sıvı-sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu (Üçlü Faz- SDME, LLL-ME)

Üçlü faz- tek damla mikroekstraksiyon olarak da adlandırılan yöntem, 1999 yılında Ma ve Cantwell tarafından “ eş zamanlı geri ekstraksiyon ile çözücü mikroekstraksiyonu” adı altında uygulanmıştır. Asidik ve bazik analitlerin ekstraksiyonu için en uygun yöntem olan sıvı- sıvı- sıvı mikroekstraksiyon (LLL-ME) sistemi faz pH’ın ayarlanabildiği verici faz ve alıcı faz, organik çözücü fazı olmak üzere üç fazdan oluşur. Geri ekstraksiyonlu olan bu mikroekstraksiyon yönteminde ekstraksiyon iki basamakta meydana gelir. Analit, sulu çözeltilerden önce pH’ın ayarlanması ile organik faza geçer, eş zamanlı olarak organik çözücüden alıcı çözeltilere yani organik fazın içinde asılı durumda bulunan mikro damlaya ekstrakte olur. Ekstraksiyon sonrasında HPLC ya da CE ile analiz gerçekleştirilir.

LLL-ME yönteminde, analitin zenginleştirmesini sağlamak için asit-baz özelliğinden yararlanılır. Asidik analitler için pH düşük bir değere ayarlanıp analitlerin organik çözücü içerisinde iyonlaşması engellenir. Diğer taraftan alıcı çözeltilerin pH’ ı yüksek

bir değerde tutularak analitlerin organik fazdan alıcı çözeltide toplanması sağlanır (Zhu ve ark, 2002; Jeannot ve ark., 2010). Bu yöntemde kullanılan organik çözücün yoğunluğu sudan az olmalı ve çözücü su ile karışmamalıdır (toluen, n-oktan, 1-oktanol ve n-heksan vb.)

Sıvı-sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu, fenoller, yağ asitleri veya aminler gibi hidrofilik organik bileşiklerin, polar ve yarı-uçucu maddelerin ekstraksiyonunda kullanılır (Yazdi ve ark, 2009).

Sürekli akış mikroekstraksiyonu (CFME)

Sürekli akış mikroekstraksiyon yöntemi (CFME), ilk kez 2000 yılında Liu ve Lee tarafından yapılan bir çalışmada rapor edilmiştir. İki fazlı bir sisteme sahip yöntem, içinde bir çözücü damlasının tamamen ve sürekli olarak numune çözeltisiyle temas etmesi esasına dayanır. Bu yöntemde, sulu numune (≤ 3 mL) 0,5 mL' lik bir cam ekstraksiyon haznesine sürekli olarak püskürtülür. Sürekli akan örnek çözeltisine daldırılmış, çözücü tutucu olarak görev yapan polietereterketon (PEEK) bağlantı tüpünün çıkış ucunda organik damla tutulur. Numune çözeltisi akmaya devam ederken tüp çıkışına ulaşan organik damlada analitlerin ekstraksiyonu gerçekleşir. Ekstraksiyondan sonra GC' ye enjekte edilerek ölçülür.

Hem difüzyon hem de moleküler momentum etkisi, numune ile ekstraksiyon çözücüsü arasında hızlı bir denge kurulmasını sağlar ve böylelikle yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmiş olur. CFME yöntemi, mikro damlacığın boyutunun kontrol edilebiliyor olması, istenmeyen hava baloncuklarının engellenebilir ve zenginleştirme faktörü değerlerinin yüksek olması gibi avantajlara sahiptir. Sürekli akışlı mikroekstraksiyon yönteminin, böcek ilacı, polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi apolar veya çok az polar yarı uçucu maddelerin ekstraksiyonu ile sınırlı olması ve mikroinfüzyon pompası gibi ek ekipmana ihtiyaç duyulması dezavantajları arasında sıralanabilir (Li ve ark., 2005; Jeannot ve ark., 2010; Patel ve ark., 2010; Santana ve ark., 2011).

2.7.2. Yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon (SFODME)

Sıvı faz mikroekstraksiyonun bir çeşidi olan yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon metodu, doğrudan daldırma tek damla mikroekstraksiyonunda küçük miktardaki damlacığın dağılma riskinin ortadan kalkması için, Khalili ve ark. tarafından yüzen organik damlanın katılaştırılmasına dayanan yeni bir ekstraksiyon yöntemi olarak geliştirilmiştir (Khalili ve ark., 2007). SFODME, sulu çözeltiden bir analit- ligand kompleksi çıkarmak için, bir organik çözücünün mikrodamlasının kullanılmasını içeren ekstraksiyon / zenginleştirme yöntemlerinden biridir (Akkaya ve ark., 2017).

Bu yöntemde, 10- 30 °C aralığında, oda sıcaklığına yakın erime noktasına ve düşük toksisiteye sahip, suyla karışmayan organik çözücünün (1-undekanol, n-hekzadekan, 1-dodekanol vb.) küçük bir hacmi, analitleri içeren sulu bir numunenin yüzeyine iletilir. Sulu numune çözeltisi optimize edilerek belirlenmiş bir süre boyunca çalkalanır. Dengeye ulaşıldığında, numune şişesi, kolayca çıkarılıp buz banyosuna aktarılır. Katılaştırılan organik çözücü numunedan ayrılıp oda sıcaklığında hızlı bir şekilde sıvı hale getirilir. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra uygun analitik cihazlarla ölçüm gerçekleştirilir (Chaiyasith ve ark., 2017).

Bu tekniğin avantajları basitlik, düşük maliyet, doğruluğun ve hassasiyetin yüksek olması, ekstraksiyonun kısa sürmesi, yüksek zenginleştirme faktörü, mikro damlayı desteklemek için özel bir tutucuya gerek olmaması, basit donanım gerektirmesi ve minimum düzeyde organik çözücü kullanımınıdır. Dezavantajları ise, çözücü seçerken sınırlamanın olması ve ekstraksiyon çözücüsünün donmasının sağlanması, nötral ve yüksek hidrofilik özelliğe sahip analitlerde uygulanamaması şeklinde sıralanabilir (Parviz ve Honari, 2016).

2.7.3. Oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon (HF- LPME)

Bir iğnenin ucunda tutulan küçük bir organik çözücü damlasının kararsız olabilmesi ve ekstraksiyon esnasında dağılabilmesi problemlerinin üstesinden gelebilmek amacıyla Bjergaard ve Rasmussen, sıvı- sıvı- sıvı mikroekstraksiyonu (LLLME) için basit, ucuz ve tek kullanımlık polipropilen oyuk fiberleri ekstraksiyon ünitelerine entegre ederek yeni bir çalışma geliştirmişlerdir (Bjergaard ve Rasmussen, 1999).

Bu sistemde, düşük hacimli ekstraksiyon çözeltisi, gözenekli içi boş fiberin lümeninde bulunmakta olup numune çözeltisi ile doğrudan temas halinde değildir. HF-LPME yönteminde ilk olarak oyuk fiber, organik çözücüye batırılır. 10- 20 µL hacmindeki organik çözücü, oyuk fiberin çeperi içinde ince bir katman oluşturur. Daha sonra oyuk fiber analizi yapılacak numune çözeltisi ile doldurulmuş bir numune şişesine yerleştirilir. Bu noktada ekstraksiyonu hızlandırmak için, örnek çözeltisi yoğun bir şekilde karıştırılır ve çalkalanır. Analitler, sulu örnek çözeltisinden içi boş fiberin gözeneklerindeki organik fazda ve sonrasında lümen içindeki bir alıcı çözeltiliye geçer. Oyuk fiberin tek kullanımlık yapısından dolayı, üzerinde numunenin taşınması özelliğini ortadan kaldırır ve yüksek tekrarlanabilirlik sağlamaz. Oyuk fiberin duvarlarındaki gözeneklerden dolayı, yüksek molekül ağırlıklı numuneler membran bariyerinden geçemez ve böylelikle bir seçicilik gösterir.

HF-LPME, hem iki fazlı hem de üç fazlı mikroekstraksiyon sistemlerinde gerçekleştirilebilir. İkili faz mikroekstraksiyon uygulamalarında, oyuk fiberin gözenekleri içerisinde katman oluşturan organik çözücü, alıcı çözeltilidir. Bu sistemde, analitler bu organik faz içerisinde toplanır ve GC' ye enjekte edilerek analizler gerçekleştirilir. Alıcı fazın başka bir sulu çözelti olduğu üçlü faz mikroekstraksiyon sisteminde ise, analitler sulu bir faz üzerinde ince bir tabaka oluşturan organik çözücü üzerinden başka bir alıcı sulu çözeltiliye geçer. Ekstraksiyon sonrasında analit, HPLC, CE, AAS gibi analitik cihazlara enjekte edilebilmektedir.

Hem ikili hem üçlü faz HF- LPME yöntemleri çok geniş polarite aralığında inorganik ve organik analitlerin ekstraksiyonu için uygundur. HF-LPME yönteminin, ekstraksiyon çözeltisinin kaybı olmadan hızlı bir şekilde karıştırılabilmesi ve çalkalanabilmesi, ucuz olması, otomasyona uygun olması gibi avantajları vardır (Dadfarnia ve Shabani, 2010; Namienik ve ark., 2014).

2.7.4. Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME)

Assadi ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları çalışmada, yeni bir sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi olan dağıtıcı sıvı- sıvı mikroekstraksiyonu tekniğini (DLLME) geliştirmişlerdir (Assadi ve ark., 2006). Homojen sıvı- sıvı ve bulutlanma

noktası ekstraksiyonu ile benzerlikler gösteren bu teknik üçlü faz sisteminden oluşmaktadır.

DLLME yöntemi başlarda polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), klorobenzenler ve organofosforlu pestisitler gibi organik bileşiklerin analizinde kullanılsa da sonradan yapılan çalışmalarda inorganik türlere de uygulanmaya başlanılmıştır (Kozani ve ark., 2007).

DLLME yöntemi, hacimleri mikrolitre düzeyinde olan, ekstraksiyon ve dağıtıcı çözücülerden oluşan karışımın, analizi gerçekleştirilecek olan analitleri içeren sulu bir numuneye hızlı bir şekilde enjeksiyonuna dayanmaktadır. Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi, ekstraksiyon karışımının toplam hacminin yaklaşık yüzde üçten küçük bir kısmını oluşturduğundan, bu çözücü numune çözeltisine eklendiğinde, bulanıklaşan numune çözeltisinde dağılmış küçük damlalarının oluşmasına sebep olmaktadır (su/dağıtıcı çözücü/ekstraksiyon çözücüsü). Sulu numune çözeltisi ile ekstraksiyon çözücüsü aralarındaki geniş yüzey alanı sayesinde, analitler ekstraksiyon fazına geçerek sistem dengeye hızlı bir şekilde ulaşılır ve böylece ekstraksiyon kısa bir zaman aralığında gerçekleşmiş olur. Daha sonra bulanık çözelti santrifüjlenerek zenginleştirilmiş analitleri içeren ekstraksiyon karışımı ayrılır. Yöntem, farklı matriks bilşenlerini içeren çeşitli gerçek örneklerdeki inorganik ve organik türleri belirlemede kullanılır. Ekstraksiyon sonrasında organik fazdaki analitler, HPLC, GC, AAS ve spektrofotometrik cihazlarla analiz edilir.

Bu yöntemde, ekstraksiyon çözücüsü (karbon tetraklorür, klorobenzen ve tetrakloroetilen vb.) suyun yoğunluğundan daha yüksek yoğunlukluğa ve suda düşük çözünürlüğe sahip olmalıdır. Bu özellikler ekstraksiyon çözücüsünün santrifüjleme ile sulu fazdan ayrılmasını sağlar. Ekstraksiyon çözücüsü hacmi ve dağıtıcı çözücü hacmi bulutumsu çözelti elde etmek için, ekstraksiyon verimine etki edeceğinden doğru bir şekilde ayarlanması gerekir. Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi artınca analiti içeren organik faz hacmi de artar. Fakat bu parametre doğru tespit edilmezse artan ekstraksiyon çözücüsü hacmiyle geri kazanım sabit kalır. Bunun sonucu olarak, zenginleştirme faktörü ve analiz hasasasiyeti azalır. Dağıtıcı çözücü olarak polar özellikte, su ile karışabilen genellikle aseton, tetrahidrofur, etanol, metanol ve

asetonitril gibi çözücüler kullanılmaktadır. Dağıtıcı çözücü hacmi de ekstraksiyon verimini etkileyen faktörlerdendir. Genellikle, 0.5- 1.5 mL aralığında kullanılmaktadır (Zhi ve ark., 2009).

Dispersif sıvı- sıvı mikrokstraksiyon basit, hızlı, düşük maliyetli ekstraksiyon süresinin kısa olduğu bir yöntemdir. Bu yöntemde çok düşük hacimlerde organik çözücü kullanılmakta ve düşük örnek hacimlerinde çalışılabilmektedir. Ayrıca bu yöntemle yüksek zenginleştirme faktörü ve geri kazanım değerleri elde edilmektedir.

DLLME yönteminde üç farklı çözücüye ihtiyaç duyulması, ekstraksiyon çözücüsünün seçimindeki sınırlamalar, santrifüjleme basamağının olması, karmaşık matriksli numunelerde ön ekstraksiyon basamağı gerektirmesi, ekstraksiyon çözücüsünün hacminin toksik etkiler nedeniyle minimum düzeyde tutulmasının gerekliliği gibi etkiler dezavantajları arasında gösterilebilir (Saraji, Boroujeni, 2014).

2.7.5. Supramoleküler çözücü sıvı faz mikrokstraksiyonu (SS- LPME)

Supramoleküler çözücü sıvı faz mikrokstraksiyonu ilk kez 2006 yılında, Pérez-Bendito ve ark. tarafından organik bileşiklerin ekstraksiyonu için yapılan çalışmada tanımlanmıştır (Perez- Bendito ve ark., 2006). SS- LPME, yeşil çözücüler olarak anılan ve çevre dostu olan supramoleküler çözücüler kullanılarak gerçekleştirilen bir sıvı faz mikro ekstraksiyon çeşididir. Yöntem genellikle, çevresel ve biyolojik sıvı numunelerdeki metallerin ve hidrofobik organik bileşiklerin ekstraksiyonuna uygulanmaktadır.

Supramoleküler çözücüler; sürekli bir faz içinde dağılmış suyla karışmayan çözücülerdir. Bu çözücüler, kendiliğinden sıralı birleşme ile amfifilik gruplardan oluşan moleküler ve nano yapılı sıvılardır. Yapılarında bulunan hidroksil ve karboksilik asit grubu içeren uzun karbon zincirine sahip türlerle THF gibi çözücülerin karıştırılması ile elde edilirler (Rubio ve ark., 2010).

SS- LPME amfifilik gruplar içeren homojen bir çözeltiden moleküler ve nano seviyede meydana gelen kendi kendine birleşme işlemi ile gerçekleşmektedir. Kendi kendilerine birleşme, moleküllerin çekici ve itici etkileşimlerle oluşturdukları denge aracılığıyla

birbirleriyle etkileşime girdiğinde oluşmaktadır. Bu etkileşimler genellikle zayıf ve kovalent olmayan (Van Der Waals, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler) etkileşimlerdir.

Supramoleküler çözücü oluşumu iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk olarak, amfifil gruplar sulu misel, ters misel ve kesecik yapıları oluştururlar. Daha sonra, miseller, koaservasyon olarak bilinen faz ayrılması yoluyla pH, elektrolit eklemesi, yardımcı organik çözücüler eklenmesi gibi parametreler optimize edilerek kolloidal çözeltinin kütesinden büyük sıvı faz olarak ayrılıp supramoleküler kümeler meydana getirirler (Yazdı, 2011).

Supramoleküler çözücüler, farklı polaritede bölgelere sahip olma yetenekleri sayesinde, analitleri ayırma ortamı olarak; yüksek esnekliğe sahip, farklı, polar ve apolar mikroheterojen ortamlar meydana getirirler. Ekstraksiyon işlemi için mükemmel bir reaksiyon ortamı oluştururlar. Böylece, nano boyutta misellerden oluşan bu çözücüler, analit ile daha fazla etkileşirler ve yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmesini sağlarlar.

Supramoleküler çözücü sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu (SS-LPME); çevre dostu, kısa ekstraksiyon süresine sahip, zararlı atık oluşumunun az olduğu, laboratuvar koşullarında kolaylıkla uygulanabilir, erişilebilir, hızlı, düşük maliyetli ve yüksek verimli bir sıvı faz ekstraksiyon tekniğidir (Soylak ve ark., 2017). Ayrıca SS-LPME supramoleküler kümelerin yanıcı ve uçucu olmaması nedeniyle oldukça güvenli bir yöntemdir (Rubio ve ark., 2010).

2.7.6. Homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yöntemi

Yeşil analitik kimya çerçevesinde araştırmacılar, geleneksel katı faz ve sıvı faz ekstraksiyon yöntemlerinin dezavantajlarını ortadan kaldırmak ya da en az düzeye indirmek için; düşük toksik organik çözücü tüketen, basit ve düşük maliyetli çok çeşitli minyatür yöntemler geliştirmiştir. Tek damla mikro ekstraksiyon, oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyonu, dağıtıcı sıvı faz mikroekstraksiyonu bu yöntemlerden bazılarıdır. Bu amaçla geliştirilen bir diğer yöntem ise, homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyonudur (HLLME).

HLLME, homojen bir sulu çözelti içinde bulunan analizi yapılacak olan eser maddenin (organik ve ya inorganik tür), bir faz ayırma fenomeni aracılığıyla suyla karışmayan çözücü fazına geçişini esas alan sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemidir. Bu yöntemde, başlangıçta analit, homojen bir çözelti içerisinde ve su fazı ile ekstraksiyon çözücüsü fazı arasında bir arayüz yoktur ya da arayüz yüzey alanı son derece geniştir. HLLME yönteminde ekstraksiyon boyunca sulu faz ile ekstraksiyon fazı arasındaki yüzey temasından kaynaklanan engellerin olmaması nedeniyle ekstraksiyon oldukça hızlı gerçekleşmektedir (Berijani ve ark., 2016).

HLLME yönteminin avantajlarından bazıları şunlardır;

- Ekstraksiyon süresinin kısa olması
- Maliyetinin düşük olması
- Organik çözücü tüketiminin ve maruziyetinin az olması
- Kuvvetli bir mekanik karıştırmaya ihtiyaç duyulmaması
- Yalnızca reaktif eklenmesini gerektirdiğinden basit bir yöntem olması (Yazdanfar ve ark., 2014).

Homojen sistemler; yüzey aktif madde, iyon çifti ve pH bağlı sistemler gibi çeşitli şekillerde oluşturulabilir. (Dehghan-Abkenar ve ark., 2010) Aşağıda bu homojen sistemlerle ilgili yapılan HLLME çalışmalarından bazılarına örnekler verilmiştir.

Ahmara ve çalışma grubu, idrar örneklerindeki metamfetaminin GC- MS' de tayini için yeni bir pH destekli homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyonu yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada, ekstraksiyon çözücüsü olarak dipropilamin (DPA) kullanılmış olup değişken pH değerleriyle, sulu numune çözeltisinin homojen özelliği belirlenmiştir (Ahmara ve ark., 2018).

Yamini ve arkadaşları, polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH' ların) ekstraksiyonu için üçlü çözücü faz ayrılma sistemini (su / metanol / kloroform) kullanarak HLLME yöntemini geliştirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada, faz ayırma işlemi tuz ilavesiyle gerçekleştirilmiştir (Yamini ve ark., 2008).

Igarashi ve Sudo tarafından, klorofilin spektroflorimetrik tayini için floro yüzey aktif maddelerden olan Zonil FSA kullanılarak yeni bir HPLLME yöntemi geliştirmişlerdir (Igarashi ve ar., 1996).

Sorouraddina ve arkadaşları, sulu örneklerde bazı ağır metallerin zenginleştirilmesi amacıyla, ısıyla uyarılmış homojen sıvı-sıvı mikroekstraksiyon çalışmasını yapmışlardır. Ekstraksiyon çözücüsü ve kompleks oluşturma reaktifi olarak sikloheksilamin kullanmışlardır (Sorouraddina ve ark, 2017).

2.8. Katı Faz Mikroekstraksiyonu (SPME)

Katı faz ekstraksiyonu (SPE), 1970' li yılların başında başlamış ve 1980 yılından sonra yapılan çalışmalarla, geliştirilmiştir. Bu yöntemin temeli, ekstraksiyon kolonu veya disklerine doldurulmuş katı sorbent ile katı faz boyunca hareket eden örnek çözeltisi arasında analitlerin dağılımına dayanmaktadır. SPE yönteminde kullanılan katı faz genellikle, organik polimerlerden, iyon değiştiricilerden ve küçük gözenekli silika parçacıklarından oluşmaktadır. Katı faz ekstraksiyonu, kullanılan katı fazın türüne göre; ayırma, adsorpsiyon veya iyon değiştirme mekanizmaları ile gerçekleşmektedir. Bu yöntemle, organik ve inorganik her iki türün de ekstraksiyonu gerçekleştirilebilmekte olup ağırlıklı olarak metal iyonlarını ayırma/ zenginleştirme işleminde kullanılmaktadır (Biparva ve Matin, 2012).

SPE yöntemleri, fazla miktarda toksik çözücü kullanımı, faz ayrımının zorluğu, otomasyon zorluğu, fazla miktarda atık oluşturduğu için çevre dostu bir yöntem olmaması, uzun ekstraksiyon zamanına sahip olması, karmaşık işlemler içermesi gibi problemlere neden olmaktadır. Bu problemleri ortadan kaldırmak amacıyla, yeşil analitik kimya kapsamında, tüm basamakların minyatürleştirildiği katı faz mikroekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir.

Katı faz mikroekstraksiyon yöntemi (SPME), ilk olarak 1990 yılında, Arthur ve Pawliszyn tarafından geliştirilmiştir. Yöntem, çevresel, aromatik, gıda, biyolojik ve farmakolojik örneklerle kolaylıkla uygulanabilmiştir (Arthur ve Pawliszyn, 1990). Ayırma, zenginleştirme ve temizleme basamaklarının bir arada tamamlandığı basit bir yöntemdir.

SPME yönteminde, bir kaynaşık silika fiber ince polimerik sabit faz ile kaplanır. Matris ortamında örnek içerisinde bulunan analit ile fiber üzerinde adsorpsiyon ya da absorpsiyon yoluyla ekstrakte edilir. Daha sonra, adsorban üzerinde tutulan analit, uygun bir analitik cihaza desorpsiyonu ile analiz edilir. SPME ile birleştirilmiş GC, uçucu ve yarı uçucu maddelerin analizi için en verimli yöntemdir. Bununla birlikte, GC veya GC- MS' ye uygun olmayan zayıf uçucu veya termal olarak kararsız bileşiklerin analizi genellikle, HPLC ve sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) ile SPME birleştirilerek gerçekleştirilir (Kataoka ve ark., 2000; Risticovic ve ark., 2009).

SPME' de yaygın olarak, divinilbenzen, polidimetilsiloksan ve karboksen gibi kalınlıklarına ve polaritelerine göre farklılık gösteren kaplama malzemeleri kullanılmaktadır. Örneğin, apolar analitlerin ekstraksiyonunda genellikle apolar yapıdaki fiberler (polidimetilsiloksan), polar analitler için ise, poliakrilat gibi polar yapıdaki fiberler kullanılmaktadır. Ayrıca, uçucu bileşiklerin ekstraksiyonunda genel olarak kalın bir polimer kaplama gerekirken yarı uçucu bileşikler için ince bir kaplama kullanılabilir (Kataoka ve ark., 2000).

SPME yönteminin avantajları;

- Fiber türü değiştirilerek seçicilik sağlanabilir.
- SPME, çözücü ihtiyacı duyulmadan ya da düşük hacimlerde çözücü kullanılarak gerçekleştirilebilir.
- SPME uygun kromatografik cihazlarla birleştirilerek uygulanabilir. Analitlerin büyük kısmının analitik cihazlara başarıyla aktarımı sağlanır yani analit kaybı azaltılabilir. Böylece hassasiyet artar.
- Aynı farklı polariteye sahip analitlerin ekstraksiyonunda kullanılabilir.
- Uygulaması kolay olan bir mikroekstraksiyon yöntemidir.
- Analiti matris ortamından tek adımda ekstrakte edebilen bir yöntemdir (Arthur ve Pawliszyn, 1990).

2.8.1. Manyetik katı faz mikroekstraksiyonu (MSPME)

Manyetik katı faz mikroekstraksiyonu (MSPE) teriminin ilk kullanımı ve analitik olarak ilk uygulaması, 1999 yılında silanize edilmiş manyetit kullanılarak bir bakır ftalosiyanın boyasının ayrılması için Safarikov a ve Safarik tarafından geliştirilmiştir (Safarikove ve Safarik, 1999; Latorre ve ark., 2015).

Katı faz mikroekstraksiyon yönteminde; analitik duyarlılık, hassasiyet ve seçiciliği belirleyen en önemli etki adsorpsiyon materyallerindedir. SPE' de çeşitli adsorbanlar kullanımından dolayı analitleri ayırma/zenginleştirilme basamakları bazen karmaşık ve zaman alıcı olabilmekte ve her zaman yüksek gerikazanım değerleri elde edilememektedir. Bu sınırlamaların azaltılmasını ve ortadan kaldırılmasını sağlamak amacıyla SPE adsorbanlarının bir alternatifi olarak 1- 100 nm boyut aralığında nano partiküller geliştirilmiştir.

Küçük partikül boyutlarına sahip nano partiküller, büyük ve spesifik yüzey alanlarına, aktif yüzey bölgelerine sahip olmalarından dolayı yüksek adsorpsiyon kapasitesi sağlamaktadırlar. Ancak nano partiküllerin ekstraksiyon süresince sulu çözülden ayrılmaları çok zordur. Bu nedenle, SPME adsorbanlarının; birlikte çöktürme, termal ayrışma, hidrotermal sentez, koloidal ve yüksek enerjili bilyalı frezleme yöntemleriyle manyetik özellik kazandırılarak sentezlenmeleri gerekmektedir. Böylelikle çözelti ortamından kısa sürede ve kolaylıkla uzaklaştırılmaları sağlanmış olur (Arenas- Alatorre ve ark., 2007; Morales ve ark., 2013).

MSPME yönteminde adsorban, analizi yapılacak olan numune çözeltisine yerleştirilir. Nanopartiküller, analitle doğrudan temas halinde olduğundan kısa bir karıştırma işlemi sonucunda katı yüzeyinde seçici adsorpsiyon sağlanmış olur. Adsorpsiyon işlemi sonrasında, santrifüj ya da filtrasyon işlemleri ihtiyacı olmadan analit adsorbe edilmiş manyetik nano partiküller, mıknatıs (manyetik alan) kullanılarak sulu çözeltideki matriks ortamından ayrılır. Daha sonra uygun bir elüasyon çözeltisi kullanılarak desorbe edilen analit, uygun kromatografik ya da spektroskopik yöntemle analiz edilir (Wierucka ve Biziuk, 2014). MSPME yönteminin avantajlarından bazıları aşağıda verilmiştir.

- Manyetik nanopartiküller kullanılarak gerçekleştirilen katı faz mikroekstraksiyonla ekstraksiyon işleminin süresini önemli ölçüde kısaltabilir.
- MSPE yönteminde, düşük miktarlarda adsorban kullanılır.
- Yüksek seçicilik elde edilmektedir.
- Kolon dolgusu, enjektör kullanımı ile ilgili sorunları ortadan kaldıran basit ve uygulaması kolay bir yöntemdir (Latorre ve ark., 2015).

Eser türlerin, MSPME yöntemi kullanılarak zenginleştirilmesiyle ilgili yapılan ve literatürde yer alan metotlardan bazılarını aşağıda örnekler verilmiştir.

Jin ve arkadaşları, amin fonksiyonlu manyetik grafen oksit sentezleyerek çevresel su örneklerinde klorofenollerin analizi için manyetik katı faz ekstraksiyonu yöntemini kullanmışlardır (Jin ve ark., 2014).

Hu ve arkadaşları, hücre örneklerinde Cd, Hg, Pb ETV-ICP-MS' te tayini için yeni bir manyetik katı faz mikroekstraksiyonu yöntemi geliştirmişlerdir (Hu ve ark., 2010)

Soylak ve arkadaşları, su ve gıda örneklerinde Cu, Zn, Cd, Pb eser elementlerinin ICP-MS ile analizi için, yeni bir manyetik adsorban sentezleyerek ($Fe_3O_4-SiO_2-TiO_2$) MSPE yöntemini uygulamışlardır (Soylak ve ark., 2016).

Rajabi ve çalışma arkadaşları, biyolojik sıvılardaki bazı antidepresan ilaçların HPLC–UV' de tayini öncesinde, setil trimetil amonyum bromür kaplanmış manyetik nanopartikülleri sentezleyerek zenginleştirilmesi çalışmasını yapmışlardır (Rajabi ve ark., 2012).

2.8.2. Manyetik karıştırma çubuğu ile ekstraksiyon (Karıştırma çubuğu sorptif ekstraksiyonu) (SBSE)

1999 yılında Baltussen ve arkadaşları tarafından sıvı numunelerdeki uçucu ve yarı uçucu mikro kirleticilerin analizi için polidimetilsiloksan kaplanmış karıştırma çubuğuyla SBSE yöntemini geliştirmişlerdir (Baltussen ve ark., 1999).

Çevresel, gıda ve biyolojik örneklerde bulunan uçucu ve yarı uçucu bileşenlerin analizinde kullanılan SBSE yönteminde, cam üzerine polidimetilsiloksan kaplanmış 1,5 cm uzunluğunda manyetik çubuk ekstraksiyon kabına yerleştirilir. Analizi yapılacak olan numune karıştırılarak manyetik çubuk üzerindeki PDMS tarafından adsorbe edilir. Bu yöntemde, yaygın olarak, geniş sıcaklık aralığında kullanılabilen (220- 320 °C), termo kararlı olan polidimetilsiloksan (PDMS) ekstraksiyon fazı kullanılmaktadır.

Analitler manyetik çubuktan termal desorpsiyon (TD) ya da sıvı desorpsiyon (LD) ile ekstrakte edilir. Termal desorpsiyon ile buharlaştırıldığında GC' ye enjekte edilerek apolar ve yarı polar bileşikler analiz edilir. Sıvı desorpsiyonda ise HPLC, CE ile yüksek polariteli veya termal olarak kararsız bileşiklerin tayini gerçekleştirilir.

SBSE yöntemi ekstraksiyon süreçleri bakımından SPME ile benzerlikler göstermektedir. Ancak SPME' de daha düşük miktarda PDMS kullanıldığından zenginleştirme faktörü SBSE' ye göre çok daha fazladır. SBSE ise, karmaşık matrislerde analitlerin tayininde SPME' ye göre daha iyi kesinliğe ve duyarlılığa sahiptir.

SBSE yaygın olarak, sulu numunelerde PAH analizinde ve meyve, bal, sebze vb. ürünlerdeki pestisit oranlarının belirlenmesinde kullanılabilir (Alver ve ark.,2012; Nakazawa ve ark., 2006).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Atomik absorpsiyon spektrometresi

Gıda, çevre ve su örneklerinde bulunan bakırın katı faz mikroekstraksiyon yöntemiyle zenginleştirdikten sonra analizi için, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi' nde bulunan Varian AA240 model alevli atomik absorpsiyon spektrometresi kullanılmıştır. Hava/asetilen gazları kullanılan bakır için aletsel değişkenler; dalga boyu 324,8 nm, yarık genişliği 0,7 nm, lamba akımı 30 mA olarak ayarlanmıştır. Hava/ asetilen karışımının akış hızı hava için 17 L/dk, asetilen için ise, 2L/dk' dır.

3.1.2. UV-VIS spektrofotometre

Eritrosin, rodamin B boyar maddelerinin sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemiyle zenginleştirme işlemi gerçekleştirildikten sonra analizi ve krom (VI)' nin 1,5- difenilkarbazit ile kompleksi halinde toplam krom miktarının spektrofotometrik tayini için, Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi' nde bulunan Hitachi marka UH 5300 model UV-VIS spektrofotometresi kullanılmıştır.

UV-VIS spektrometresinde rodamin B boyar maddesi için artan konsantrasyonlarda spektrum taraması gerçekleştirilmiştir. Rodamin B boyar maddesi için, en yüksek absorbans değeri 558 nm dalga boyunda elde edilmiştir. Optimizasyon çalışmaları bu dalga boyu ayarlanarak yapılmıştır.

UV-VIS spektrofotometresinde tayini gerçekleştirilen diğer madde, gıda boyası olarak kullanılan eritrosindir. Eritrosinin artan konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltileri ile dalga boyu taraması yapılmış ve en yüksek absorbans 535 nm de elde edilmiştir. Diğer deneysel çalışmalar bu dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

Krom türlemesi çalışmasında krom (VI)' nin 1,5 difenilkarbazit kompleksi halinde tayini UV-VIS spektrofotometresi kullanılarak 540 nm' de gerçekleştirilmiştir.

3.1.3. FT-IR spektrometre

Katı faz ekstraksiyonun da kullanılmak için sentezlenen adsorbanın karakterizasyonunda Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi' nde bulunan Perkin–Elmer marka 400 model FT-IR spektrometresi kullanılmıştır.

3.1.4. Taramalı elektron mikroskopu (SEM)

Katı faz mikroekstraksiyon yönteminde kullanılmak üzere sentezlenen adsorbanın Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi' nde bulunan LEO 440 marka taramalı elektron mikroskopu cihazı ile yüzey analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.1.5. Raman spektroskopisi

Katı faz mikroekstraksiyonunda kullanılan adsorbanın karakterizasyonunda, Erciyes Üniversitesi Nanoteknoloji Merkezi' nde bulunan WIT ec alpha 300 M Raman spektroskopisi kullanılmıştır.

3.1.6. Diğer cihazlar

Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi' nde bulunan aşağıda belirtilen cihazlar;

- Manyetik katı faz mikroekstraksiyonunda adsorban analit etkileşimini sağlamak ve hızlandırmak amacıyla Wiggen Hauser marka vorteks karıştırıcı,
- Gerçek örnekler, reaktifler, adsorban gibi maddelerin tartımları için OHAUS Adventurer Pro marka hassas terazi (hassasiyet 0,1 mg),
- Çözeltilerin pH ayarlamaları için Sartorius PT-10 model cam elektrotlu pH metre (Göttingen, Germany),
- Çözelti hazırlanması ve sonikasyon işlemleri için Sonorex marka DT-255 model ultrasonik banyo,
- Hazırlanan adsorbanların ve deney malzemelerin kurutulması işlemi için Nüve marka FN 400 (NUVE A.Ş., Ankara, Türkiye) etüv ve Milli-Q-Direct 18 marka saf su cihazı çalışmaları süresince kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanışları

Tüm çalışmalar boyunca aksi belirtilmedikçe analitik saflıktaki kimyasallar kullanılmıştır.

3.2.1. Tampon çözeltiler

pH 2 tamponu: 100 mL pH 2 tamponu hazırlamak için, 245 μ L % 85' lik H_3PO_4 ve 3,118g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ kullanılmıştır.

pH 3 tamponu: 100 mL pH 3 tamponu hazırlamak için, 135 μ L % 85' lik H_3PO_4 ve 3,118g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ kullanılmıştır.

pH 4 tamponu: 100 mL pH 4 tamponu hazırlamak için, 15,4 g CH_3COONH_4 ve 57,6 mL derişik CH_3COOH kullanılmıştır.

pH 5 asetat tamponu: 100 mL pH 5 tamponu hazırlamak için, 15,4 g CH_3COONH_4 ve 8 mL derişik CH_3COOH kullanılmıştır.

pH 6 tamponu: 100 mL pH 6 tamponu hazırlamak için, 11,7 g CH_3COONH_4 suda 500 μ L derişik CH_3COOH kullanılmıştır.

pH 6 fosfat tamponu: 100 mL pH 6 tamponu hazırlamak için 2,109 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 0,761g $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ kullanılmıştır.

pH 7 tamponu: 100 mL pH 6 tamponu hazırlamak için 1,244 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ve 1,067 g $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ kullanılmıştır.

pH 8 tamponu: 100 mL pH 6 tamponu hazırlamak için 1,07 g NH_4Cl ve 78 μ L derişik NH_3 kullanılmıştır.

3.3. Yöntemler

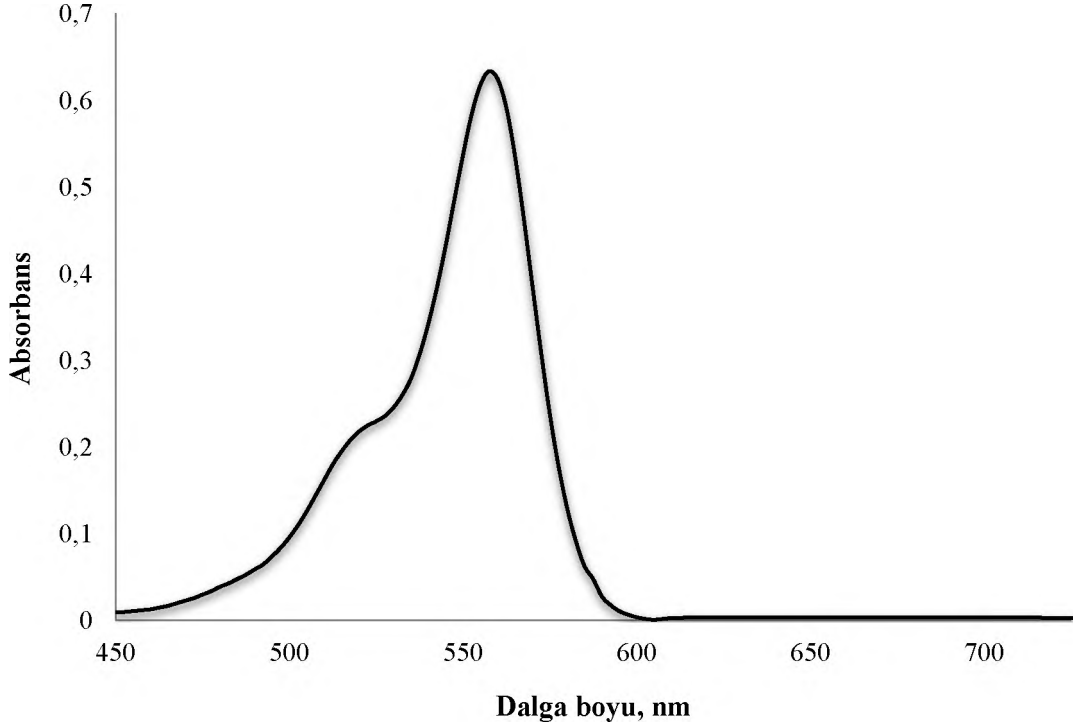
3.3.1. Rodamin B' nin supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu

Rodamin B boyar maddesinin supramoleküler çözücü sıvı faz mikro ekstraksiyon yöntemi ile zenginleştirilmesi için, basit ve duyarlı bir spektrofotometrik tayin metodu geliştirilmiştir. Rodamin B boyar maddesinin (Merck, Darmstadt, Germany) tayini için ortam sıcaklığında yapılan sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi, supramoleküler çözücüler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Supramoleküler çözücü sistemi tetrahidrofuran (THF) (Merck, Darmstadt, Germany) ve dekanolik asit (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) kullanılarak oluşturulmuştur.

Rodamin B' nin analizi için geliştirilen supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yönteminin optimizasyon çalışmaları; pH, supramoleküler çözücü türü ve miktarı, örnek hacmi, ultrasonik karıştırma süresi gibi parametreler yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Yöntem

1×10^{-6} M rodamin B içeren 10 mL örnek çözeltilerine uygulanmıştır. Örnekler, 50 mL' lik bir santrifüj tüplerine alınıp üzerlerine 2 mL tampon çözeltisi ilave edilmiştir. Elde edilen örnek çözeltilerinin pH' sı, NaOH ve HCl çözeltileri kullanılarak pH 3,0' e ayarlanmıştır. Daha sonra, supramoleküler çözücünün oluşturulması için sırasıyla, 150 mg dekanolik asit ve 600 μ L THF numune çözeltisine ilave edilmiştir. Elde edilen numune çözeltisi, 5 dakika ultrasonik banyoda bırakıldıktan sonra bulanıksız bir çözelti oluşmuştur. Daha sonra bu çözelti 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjleme işleminin sonunda, ekstraksiyon çözücüsü fazı sulu fazdan tamamen ayrılmıştır. Alttaki su fazı bir enjektör yardımıyla alınıp atılmıştır. Tüpün içerisinde kalan rodamin B analitini içeren ekstraksiyon fazı (yaklaşık 200 - 300 μ L), etanol ile 1000 μ L' ye tamamlanmıştır. Son çözeltinin 558 nm' de UV- Vis spektrofotometresi ile absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Yöntem, eser düzeyde rodamin B bulunan oje ve ruj gibi kozmetik numunelerine ve musluk suyu örneklerine uygulanmıştır.



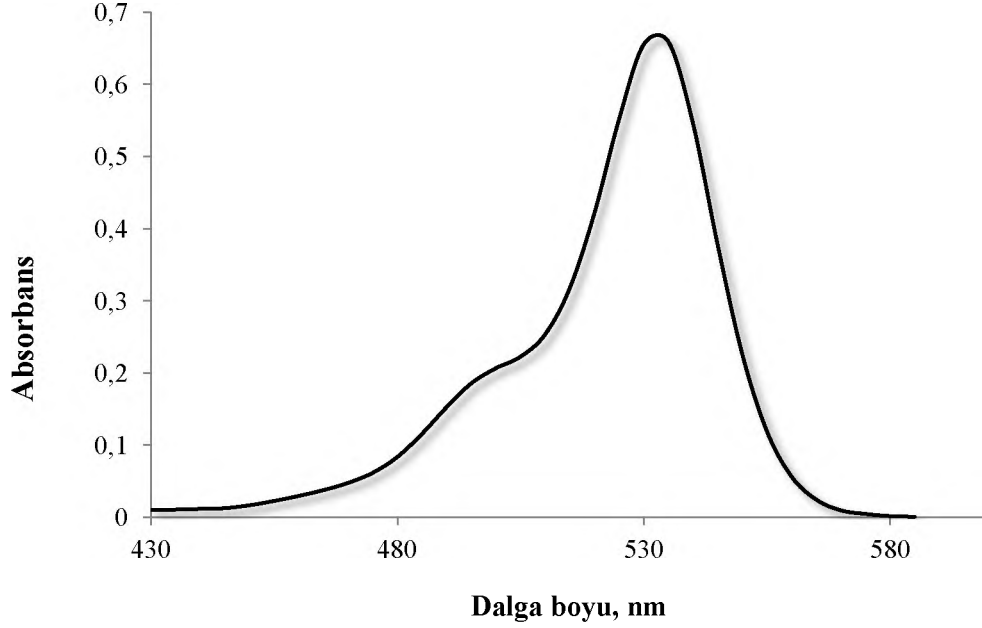
Şekil 3.1. Rodamin B' nin UV- Vis spektrumu

Şekil 3.1' de rodamin B boyar maddesine ait UV-Vis spektrumu verilmiştir. 450-750 nm dalgaboyu aralığında absorpsiyon spektrumları kaydedilmiştir. Rodamin B'ye ait spektrum incelendiğinde, derişime bağımlı monomer ve dimerin dengede yer aldığı karakteristik iki bandın oluştuğu görülmektedir (Tajalli ve ark., 2009). Dimerin yaklaşık 517 nm'de soğurum yaptığı yerde, boyanın monomer formu için maksimum absorbans değeri olan 558 nm dikkate alınmış ve ölçümler süresince bu dalgaboyu kullanılmıştır.

3.3.2. Eritrosinin Isı ile Uyarılan Homojen Sıvı- Sıvı Mikroekstraksiyon Yöntemiyle Mikroekstraksiyonu

Çeşitli örneklerdeki Eritrosin boyar maddesinin tayini için sikloheksilamin çözücü sistemine dayanan ve ısı ile uyarılan homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon metodu geliştirilmiştir. Deneyleerde kullanılan sikloheksilamin Merck firmasından (S21253 729 Merck- Schuchardt) temin edilmiştir. Kimyasal formülü $C_6H_{13}N$ olan sikloheksilamin (bkz. Şekil 3.3) ksanten boyalar grubunda olan eritrosinin yapısındaki oksijenlerle hidrojen bağı yaparak etkileşime girmekte olup optimum deney şartları sağlanarak eritrosinin kolaylıkla ekstrakte olması sağlanmıştır. Sikloheksilamin (SHA) miktarı, pH,

matriks iyonlarının etkisi, tuz etkisi gibi analitiksel parametreler optimize edilmiştir. Eritrosin gıda boyasının pH 5' te geri kazanım değerleri % 95 in üzerinde bulunmuştur.



Şekil 3.2. Eritrosin' in UV- Vis spektrumu

Optimum pH 5 olarak belirlenmiştir. Eritrosin, ayırma/zenginleştirme yöntemi sonrasında 535 nm dalgaboyunda UV- Vis spektrofotometresi kullanılarak tayin edilmiştir. Şekil 3.2' de eritrosin boyar maddesine ait UV- Vis spektrumu verilmiştir. 430- 580 nm dalgaboyu aralığında absorpsiyon spektrumları kaydedilmiştir. Eritrosine ait spektrum incelendiğinde, monomer ve dimerin derişime bağımlı olarak dengede birarada yer aldığı görülmüş; 495 nm de dimerin soğurum yaptığı yerde maksimum ölçüm dalgaboyu olarak monomere ait 535 nm boyanın spektrofotomerik izlenmesinde optimal ölçüm dalgaboyu olarak benimsenmiştir.

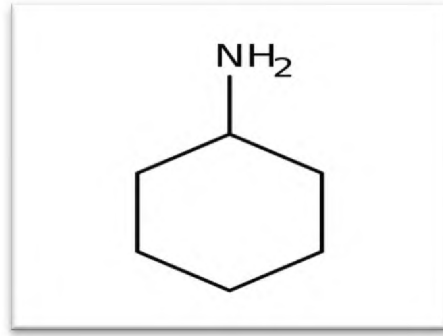
Yöntem

Geliştirilen homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yönteminin optimizasyon çalışmaları 1.0×10^{-6} M eritrosin içeren 10 mL örnek çözeltilerine uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Homojen bir çözelti içinde 50 mL' lik santrifüj tüplerine 1.4 g tuz (NaCl) ve 5 ml distile su ilave edilmiştir. Tuz vorteks yardımıyla karıştırılarak çözüldükten sonra, tampon

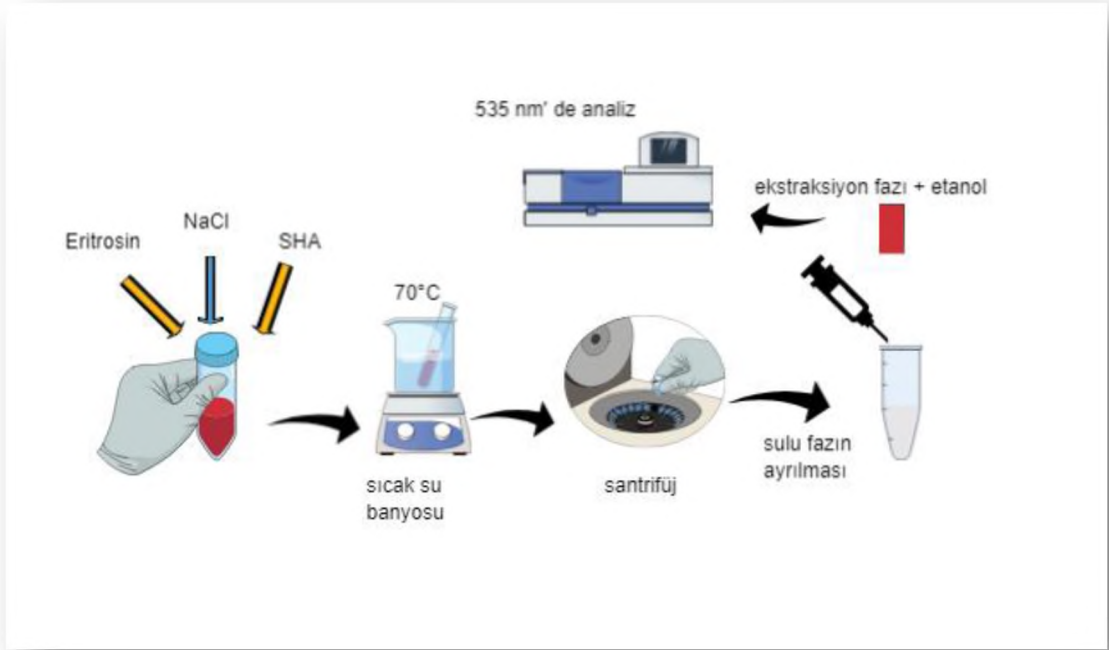
çözelti ile pH 5' e ayarlanmıştır. Daha sonra 350 µL sikloheksilamin ekstraksiyon çözücüsü ilave edilip model çözelti distile su ile 10 ml' ye tamamlanmıştır. Hazırlanan model çözeltiler vortex aracılığı ile çalkalanıp 70 ° C' deki su banyosunda 8 dakika bırakılmıştır. Sikloheksilaminin çözünürlüğünün azalmasından dolayı bulanıklaşan çözelti, eritrosinin zenginleştirildiği ekstraksiyon fazını ayırmak için 4000 rpm' de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme işleminin sonunda, organik çözücünün bulunduğu faz, sulu fazdan tamamen ayrılmıştır.

Ekstraksiyon işleminin sonunda altta kalan su fazı bir enjektör ile ayırdıktan sonra, kalan fazın hacmi etanol ile 400 µL' ye tamamlanmıştır. Son çözeltilde ölçüm, 535 nm' de UV-vis spektrofotometresi ile gerçekleştirilmiştir.

Geliştirdiğimiz yöntemin doğruluğunu tespit etmek için gıda, kozmetik ve ilaç örneklerine ekleme geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Homojen sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemiyle eritrosinin zenginleştirilmesi Şekil 3.4' de şematize edilmiştir.



Şekil 3. 3. Sikloheksilaminin molekül yapısı



Şekil 3. 3. Eritrosinin homojen sıvı- sıvı ekstraksiyon yöntemiyle zenginleştirilmesinin şematik gösterimi

3.3.3. Bakırın Pirokatekol Violet ile Doyurulmuş Manyetik Grafen Oksit (PV-MGO) Üzerinde Katı Faz Mikroekstraksiyonu

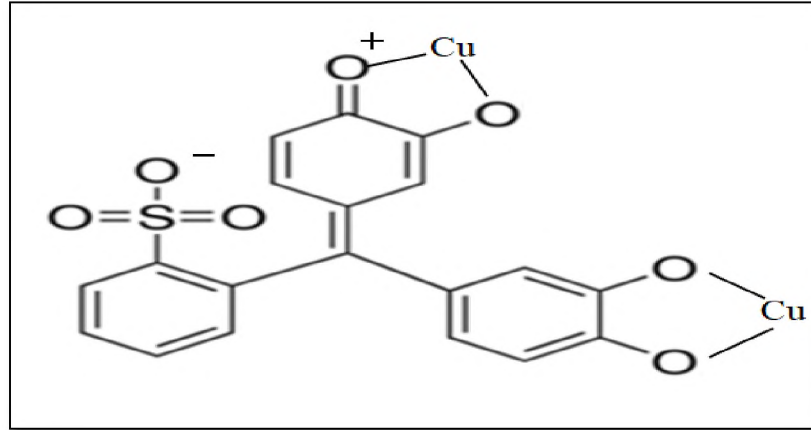
Bu çalışmada, bakırın pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksit (PV-MGO) üzerine katı faz adsorpsiyonu sonrası, 2 M HNO₃ çözeltisi ile elüe edilip alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS) ile tayini gerçekleştirilmiştir. MGO' nun doyurulması için pirokatekol violet reaktifi (Sigma Chem P-7884) kullanılmıştır. Çalışmada, optimum pH 5 olarak belirlenmiştir. Geliştirilen yöntemi optimize etmek için, pH, eluent türü ve hacmi, vorteks süresi, manyetik adsorban miktarı, örnek hacmi gibi çeşitli parametrelerin ve matriks iyonlarının etkileri incelenmiştir.

Geliştirdiğimiz manyetik katı faz mikroekstraksiyon yönteminde MGO' nun doyurulması için (bkz. Şekil 3.5), reaktif olarak pirokatekol violet kullanılmıştır. Pirokatekol violet, suda ve sulu etanolde kolayca çözülebilen organik çözücülerde çözünmeyen bir şelatlama reaktifidir. Pirokatekol violet; Be, Al, Bi, Co, Cu, Fe, Ga, Mn, Pb, Zn gibi metallerle en fazla mavi olmakla beraber renkli çözelti halinde şelat

oluşturur. Ağır metallerin spektrofotometrik tayinde kullanılan önemli reaktiflerden biridir. Pirokatekol violetin sulu çözeltisi zayıf asidik koşullarda sarı, alkali koşullarda ise menekşe rengindedir (Ross ve White, 1961; Soylak ve ark., 2004).

Çalışmada ilk aşamada, literatüre göre manyetik grafen oksit sentezlenmiştir (Chen ve ark., 2013; Khan ve ark., 2016; Acar ve ark., 2017).

İkinci aşamada ise, manyetik grafen oksit pirokatekol violet ile doyurulmuştur. Bunun için ilk olarak, etanolde % 0.2' lik pirokatekol violet çözeltisi hazırlanmıştır. 1 g manyetik grafen oksit bir behere tartılıp üzerine hazırlanan % 0.2' lik pirokatekol violet (PV) ilave edilmiştir. Bu karışım yaklaşık bir saat boyunca karıştırılmıştır. Pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksit (PV/ MGO), bir neodinyum mıknatıs yardımıyla çözelti fazından ayrılmıştır. Elde edilen PV/ MGO distile su ile yıkandıktan sonra kuruması için 100 °C etüvde bekletilmiştir. Manyetik grafen oksit üzerinde adsorplanan pirokatekol violet miktarını hesaplamak için, ayırdığımız süzütünün artan miktarlarda UV-Vis spektrofotometrisi ile 445 nm' de absorpsiyon ölçümü gerçekleştirilmiştir. Manyetik grafen oksit üzerinde pirokatekol violetin % 71.4' nün adsorplandığı tespit edilmiştir.

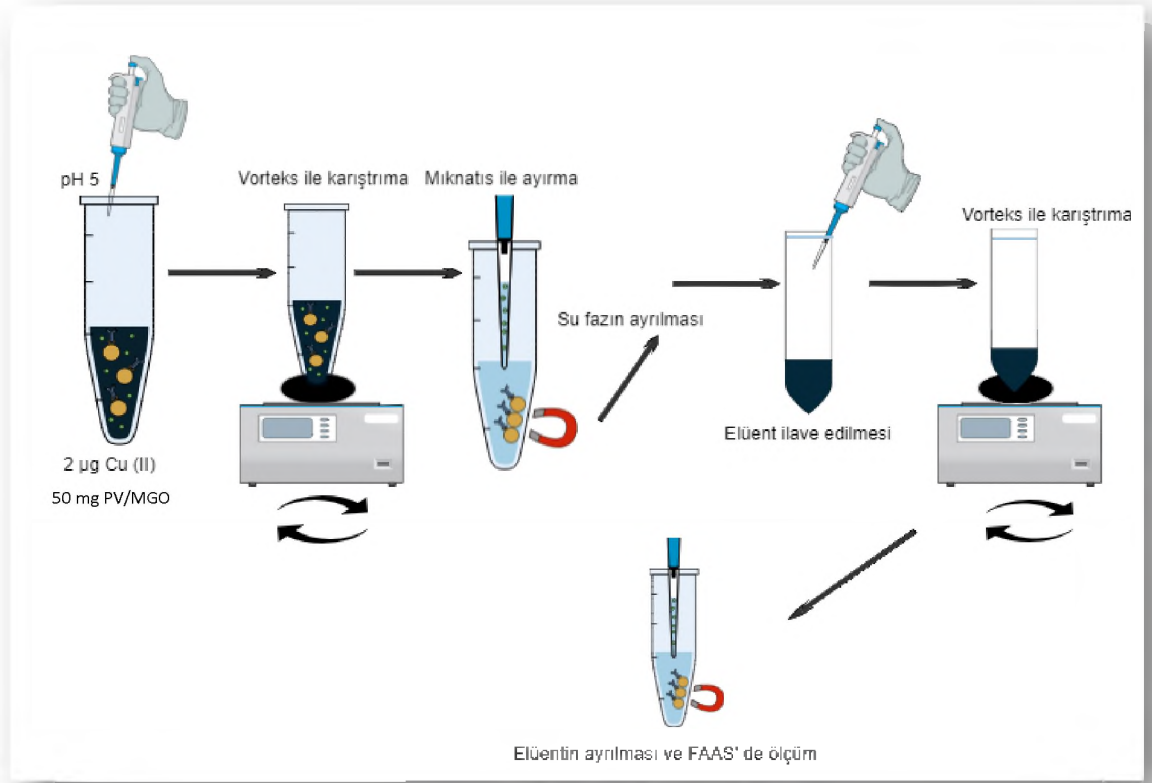


Şekil 3. 4. Pirokatekol violet' in bakır (II) ile oluşturduğu kompleksin yapısı (Granato ve ark., 2014)

Yöntem

Bakır (II) iyonlarının pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksit (PV- MGO) üzerinde katı faz mikroekstraksiyonu ile zenginleştirilmesi çalışmasında ilk olarak, 50 ml' lik tüplere sentezlenen 50 mg PV/ MGO tartılmıştır. Daha sonra ayrı ayrı tüplere, 2 µg Cu (II) içeren 10 mL hacimli model çözeltiler hazırlanmıştır. Model çözeltilerin pH değeri 1 mL tampon çözelti kullanılarak pH 5' e ayarlanmıştır. Hazırlanan model çözelti ayrı tüpe tartılan 50 mg PV/ MGO ile karıştırılmıştır. Bakır iyonlarının PV/ MGO üzerinde adsorpsiyonu için, 40 x 100 rpm devir hızında ayarlanan vorteks karıştırıcıda 1 dakika boyunca karıştırılmıştır. Adsorpsiyon basamağından sonra neodinyum mıknatısı yardımıyla sulu faz ayrılıp atılmıştır. PV/ MGO üzerinde adsorbe olan Cu (II), 2 mL 2 M HNO₃ çözeltisi ile elüe edilmiştir. Cu (II) içeren elüent çözeltisi alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile analiz edilmiştir. Yöntem, Şekil 3.6' da şematize edilmiştir.

Geliştirilen yöntem gıda, su, çevre örneklerine ve bazı vitamin kapsüllerine uygulanmıştır. Ayrıca yöntemin doğruluğunu tespit etmek için, TMDA 64.2 (National Water Research Institute, Canada), NCSZC73032 Celery (China National Analysis Center, P.R. China) ve CRM025- 050 metals on soil (RTC, Resource Technology Corp., Laramie) standart referans maddelerinin analizleri gerçekleştirilmiştir.



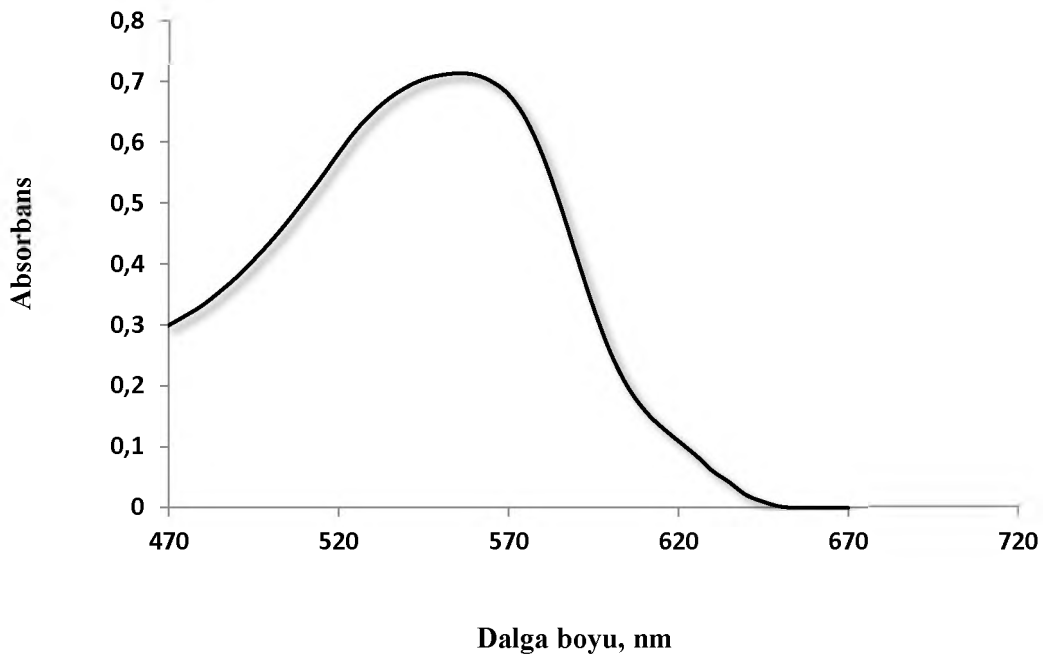
Şekil 3. 5. Bakır(II)' nin manyetik katı faz mikroekstraksiyon yöntemiyle zenginleştirilmesinin şematik gösterimi

3.3.4. Supramoleküler Çözücü Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu ile Krom Türlemesi

Bu çalışmada ligand olarak, 1.25×10^{-4} M 1,5- difenilkarbazit (DPC) (SIGMA-ALDRICH Lot numarası: MKBQ7782V) kullanılmış olup çözeltisi günlük olarak hazırlanmıştır. Cr (VI) iyonu ile 1,5- difenilkarbazit arasında oluşan kompleksin yapısı Şekil 3.9' da gösterilmiştir. Yöntemin temeli, Cr(III) iyonlarının % 5' in altında geri kazanım değerlerine sahip olmasından dolayı ekstrakte edilememesine ve Cr(VI) iyonlarının ise, kantitatif olarak geri kazanılmasına dayanmaktadır. Bu bağlamda, Cr (III)' ün asidik ortamda %1' lik (w/v) $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ çözeltisi ile Cr (VI)' ya oksidasyonu gerçekleştirdikten sonra supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi ile ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Analizler, UV-VIS spektrofotometresi kullanılarak yapılmıştır.

Supramoleküler çözücü sistemi, dekanolik asit (Sigma–Aldrich (St. Loius, MO, USA)) ve tetrahidrofuran, Merck (Darmstadt, Germany)) dağıtıcı çözücü kullanılarak oluşturulmuştur. Model çözelti içerisindeki krom (VI) iyonlarının, dekanolik asit kullanılarak oluşturulan ve tetrahidrofuran- su karışımlarında dağılmış ters misellerden oluşan koaservasyon olarak bilinen faz ayrılması yoluyla ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir (Abadi ve ark., 2013).

Geliştirilen yöntemi optimize etmek için, pH, örnek hacmi, supramoleküler çözücü miktarı, ultrasonik karıştırma süresi, ortam asitliği gibi çeşitli parametrelerin ve matriks iyonlarının etkileri incelenmiştir.

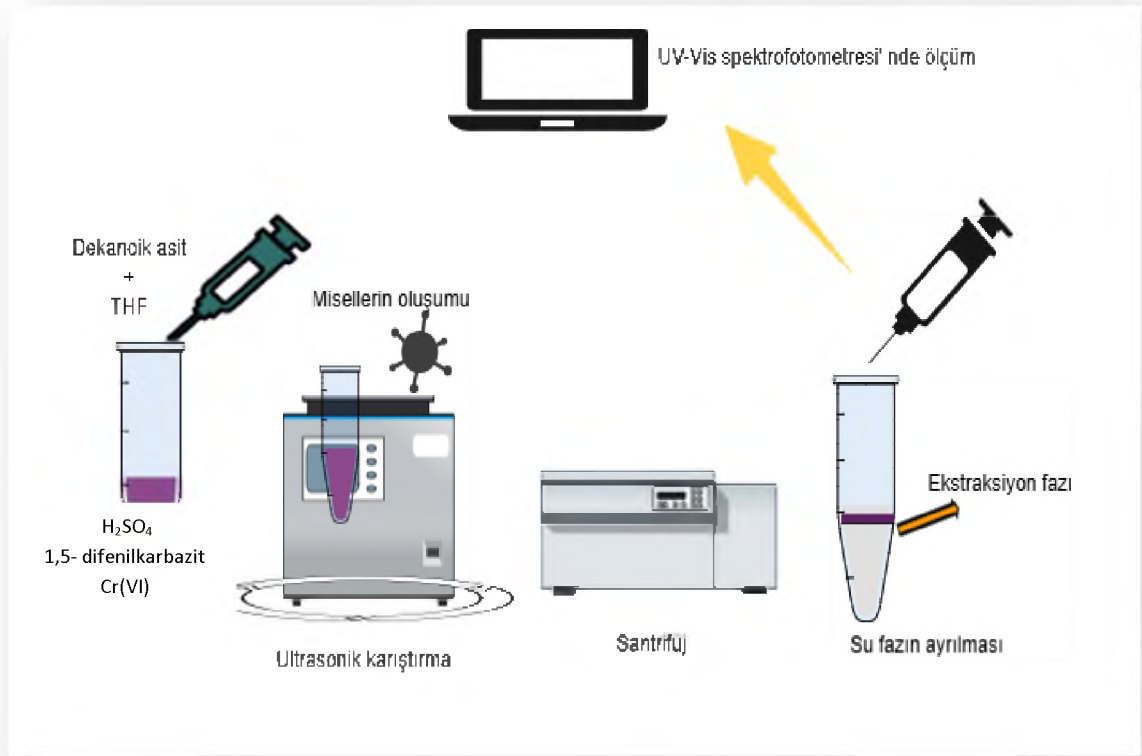


Şekil 3. 6. 1,5- difenil karbazitin Cr(VI) ile oluşturduğu kompleksin UV-Vis spektrumu

Yöntem

Yöntemin optimizasyonu için, $1,25 \times 10^{-4}$ M 1,5- difenilkarbazit çözeltisi, 1 µg Cr (VI) ve 0.002 M H₂SO₄ içeren 10 mL çözelti ortamında zenginleştirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Menekşe renginde Cr (VI) ve 1,5-difenil karbazit arasında ön indirgenme sonrası açığa çıkan türler arasında (Cr(III) ve 1,5-difenil karbazon) katyonik

şelat kompleksin oluşumu gerçekleştikten sonra, 200 mg dekanolik asit ve 700 µL THF model çözeltiliye hızlı bir şekilde ilave edilmiştir. Katyonik şelat kompleksi ve ekstrakte edici dekanolik asit arasında oluşan iyon-çifti kompleksin yapısı Şekil 3.9’ da gösterilmiştir. Elde edilen numune çözeltisi, 4 dakika ultrasonik banyoda bırakıldıktan sonra bulutumsu bir çözelti oluşmuştur. Oluşan kompleksin ekstraksiyon fazından su fazına geçişini hızlandırmak amacıyla bulutumsu çözelti, 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjleme işleminin sonunda, ekstraksiyon çözücüsü fazı sulu fazdan tamamen ayrılmıştır. Alttaki su fazı bir enjektör yardımıyla alınıp atılmıştır. Tüpün içerisinde kalan ekstraksiyon fazı etanol ile 400 µL’ ye tamamlanmıştır. Nihai çözeltinin 540 nm’ de UV- Vis spektrofotometresi ile absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir (bkz. Şekil 3.7). Geliştirilen yöntem Şekil 3.8’ de şematize edilmiştir.



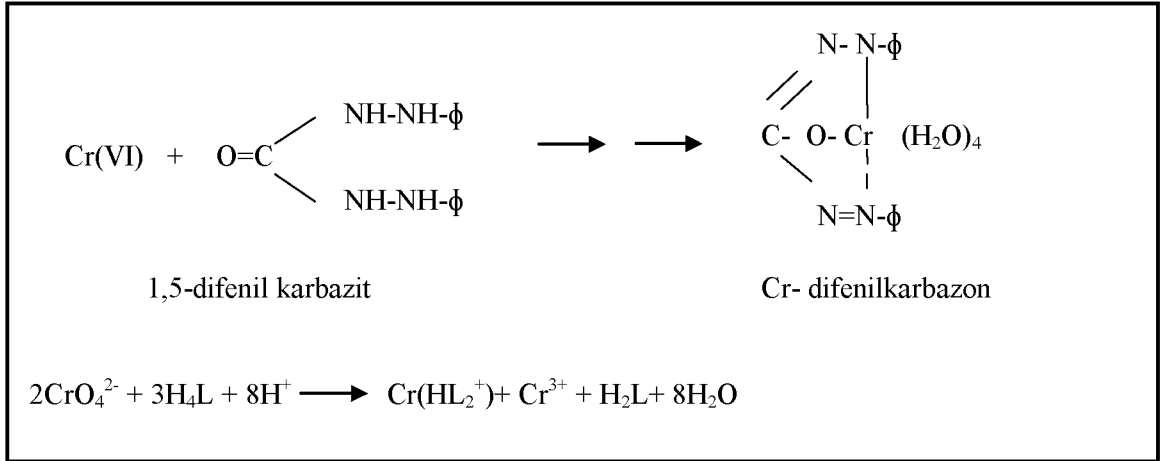
Şekil 3. 7. Cr(VI) ve Cr(III)' in supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemiyle zenginleştirilmesinin şematik gösterimi

Toplam Krom Tayini

Geliştirilen yöntem, Cr(III) iyonlarının zenginleştirilmesine uygulandığında % 1- 4 geri kazanma değerleri elde edilmiştir. Bu sebeple toplam krom içeriği, Cr (VI) tayin edilerek belirlenmiştir. Bu amaçla, asidik ortamda bulunan çözeltiye, %1' lik (w/v) $(\text{NH})_4\text{S}_2\text{O}_8$ ilavesiyle Cr (III) 'ün Cr (VI)' ya oksidasyonu gerçekleştirdikten sonra supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır.

Cr (III) iyonlarının Cr(VI)' ya yükseltgenmesi için, bu iyonları içeren bir beherdeki çözeltiye 0,1 M' lık H_2SO_4 çözeltisinden 0.5 mL, % 1' lik $(\text{NH})_4\text{S}_2\text{O}_8$ çözeltisinden 0.5 mL ilave edildikten sonra bu çözelti 65 °C' de yaklaşık 30 dakika ısıtılmıştır (Narin ve ark., 2006; Wang ve Xue, 2006). Cr(III) iyonlarının tamamının Cr(VI)' ya yükseltgenme işlemi tamamlandıktan ve $(\text{NH})_4\text{S}_2\text{O}_8$ fazlası ısıtılarak çözelti ortamından ayrıldıktan sonra geliştirilen yöntem uygulanmıştır. Ekstraksiyon fazları UV- Vis spektrofotometresi ile tayin edilmiştir. Örnek içerisinde bulunan Cr(III) ün konsantrasyonu, toplam Cr miktarından Cr (VI) miktarının çıkartılmasıyla hesaplanmıştır.

Geliştirilen yöntem uygulanarak çeşme suyu ve çeşitli çevresel su örneklerinde krom (VI) tayini gerçekleştirilmiştir. Ayrıca yöntemin doğruluğunu ispat etmek amacıyla geliştirdiğimiz yöntem, Kanada' dan temin edilen (National Water Research Institute, Canada) TMDA- 53.3 (Fortified water) ve TMDA- 64.2 (Fortified water) sertifikalı referans çevresel su örneklerine uygulanmıştır.



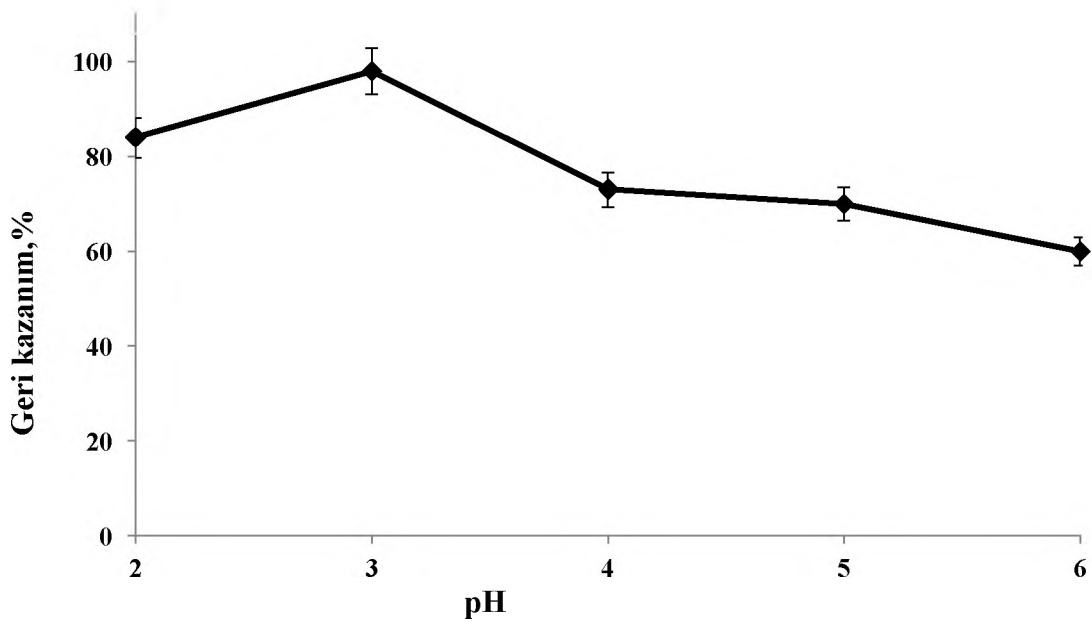
Şekil 3. 8. 1,5- difenil karbazitin Cr(VI) ile oluşturduğu kompleksin yapısı. H₄L: 1,5-difenil karbazit H₂L: 1,5-difenil karbazon (Narin ve ark., 2008; Stancheva ve ark., 2013; Bawa ve Omairi, 2017).

4. BULGULAR

4.1. Rodamin B'nin Supramoleküler Solvent Bazlı Mikroekstraksiyonu

4.1.1. pH' ın etkisi

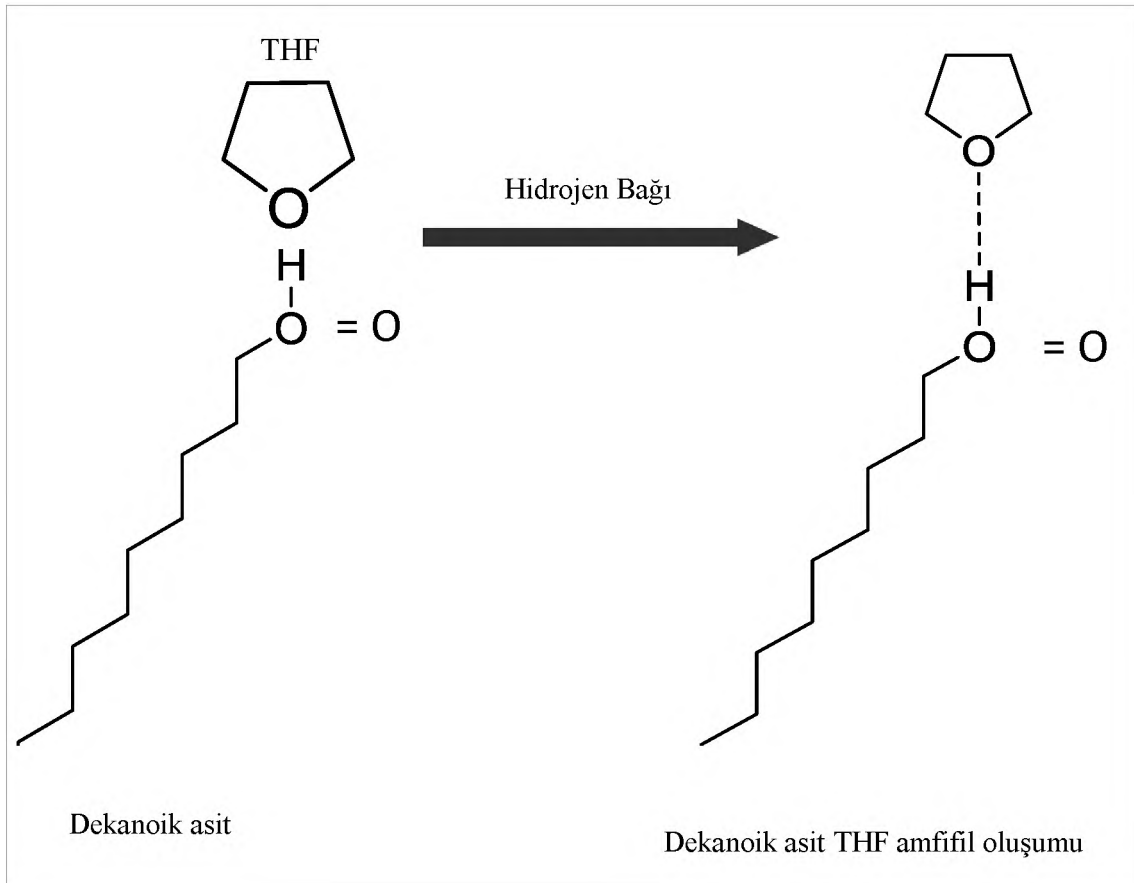
pH değerlerindeki değişim rodamin B'nin iyonik türlerinin oluşumunu belirlediğinden pH'nın etkisi geliştirilen yöntemin en önemli parametresidir. Tampon çözeltiler ile pH' ı 2- 6 aralığında ayarlanmış model çözeltideki rodamin B'nin çözelti ortamından ekstrakte edilmesi için dekanolik asit ve tetrahidrofurandan oluşan supramoleküler çözücü kullanılmıştır. Nano ve moleküler boyuttaki misellerin oluşumu ultrasonik banyo içerisinde gerçekleştirilmiştir. pH 2- 6 aralığında çalışmalar yapılmış olup pH 3' te maksimum geri kazanımlar elde edilmiştir. Bu pH değerinde, ikiz iyon yapısı baskındır (pKa:3.7). Böylece rodamin B su fazından ekstraksiyon fazına kolayca ekstrakte olur. Bu, monomerlerin karboksil ve ksanten grupları arasındaki elektrostatik etkileşiminden kaynaklanmaktadır. Daha yüksek pH değerlerine gidildikçe dekanolik asidin iyonlaşması artacağından, ekstraksiyon fazın su fazından ayrılması zorlaşır (Zamouche ve Hamdaoui, 2012; Inyinbor ve ark., 2015). Böylece, optimum pH değeri 3 olarak belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.1' de gösterilmiştir.



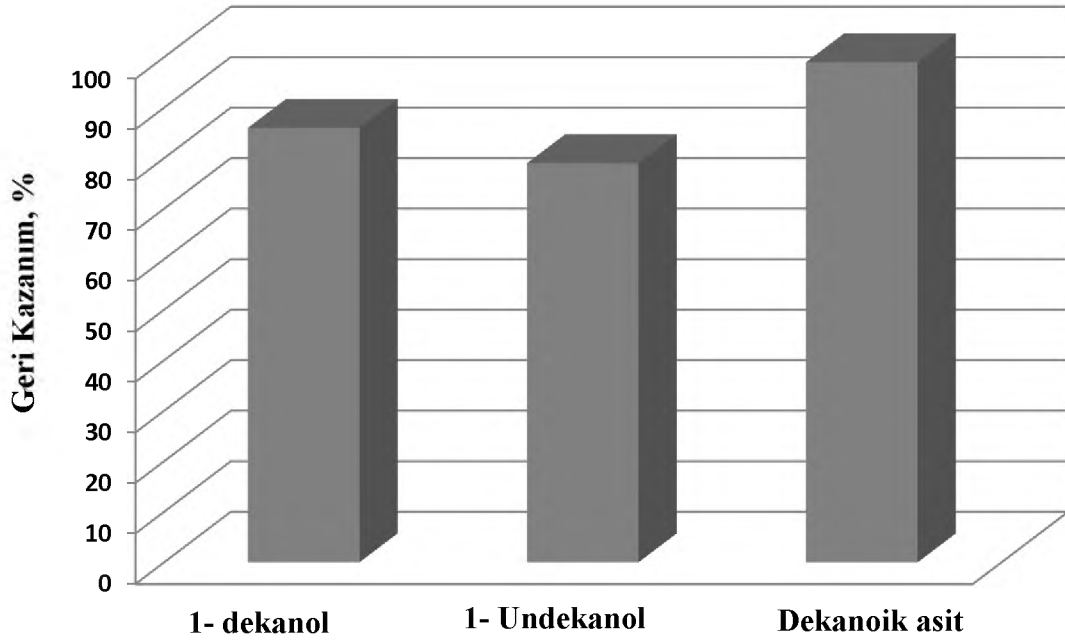
Şekil 4.1. Rodamin B'nin geri kazanım değerleri üzerine pH'ın etkisi

4.1.2. Supramoleküler çözücü türünün etkisi

Yapısında hidroksil (OH) ve karboksilik asit (COOH) grubu bulunan uzun karbon zincirine sahip 1-dekanol ile THF, undekanol ile THF ve THF ile dekanolik asitle karşılaştırılmış ve sırasıyla % 86, % 79 ve % 99 oranında geri kazanım değeri elde edilmiştir. Şekil 4.3' de görüldüğü üzere, en yüksek geri kazanım değerleri, dekanolik asit ile tetrahidrofuranın karıştırılmasından oluşan supramoleküler çözücü kullanıldığında elde edilmiştir. Bu nedenle ekstraksiyon çözücüsü olarak dekanolik asit tercih edilmiş ve bundan sonraki parametreler dekanolik asit varlığında gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.2' de THF ile dekanolik asit arasındaki moleküller arası etkileşim gösterilmiştir.



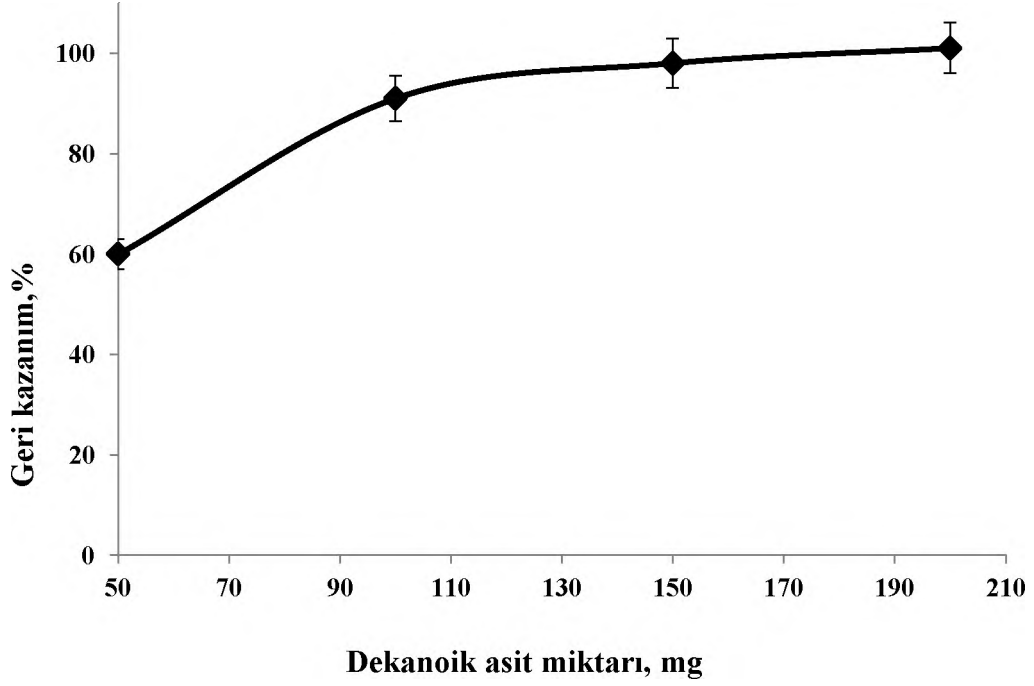
Şekil 4. 2. THF ile dekanolik asit arasındaki moleküller arası etkileşim



Şekil 4. 3. Rodamin B'nin geri kazanım değerleri üzerine supramoleküler çözücü türlerinin etkisi

4.1.3. Rodamin B' nin geri kazanım değerlerine dekanolik asit miktarının etkisi

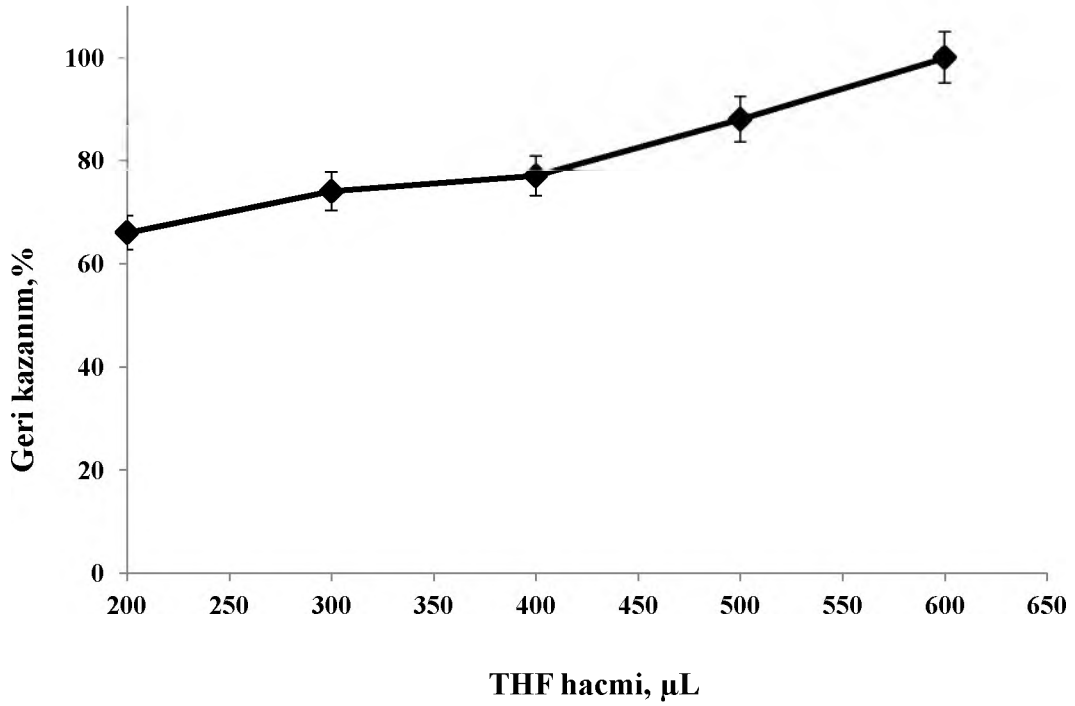
Farklı miktarda dekanolik asit kullanılarak supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu yöntemi uygulanmış ve elde edilen geri kazanım değerleri Şekil 4.4' de gösterilmiştir. Optimum dekanolik asit miktarını belirlemek için, 50- 200 mg aralığında dekanolik asit içeren model çözeltilere 600 µL THF eklenmiş ve geliştirilen yöntem uygulanmıştır. 150 mg dekanolik asit kullanıldığında rodamin B için kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Bu sebeple, optimum dekanolik asit miktarı 150 mg olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. 4. Rodamin B'nin geri kazanım değerleri üzerine dekanoik asit miktarının etkisi

4.1.4. THF hacminin etkisi

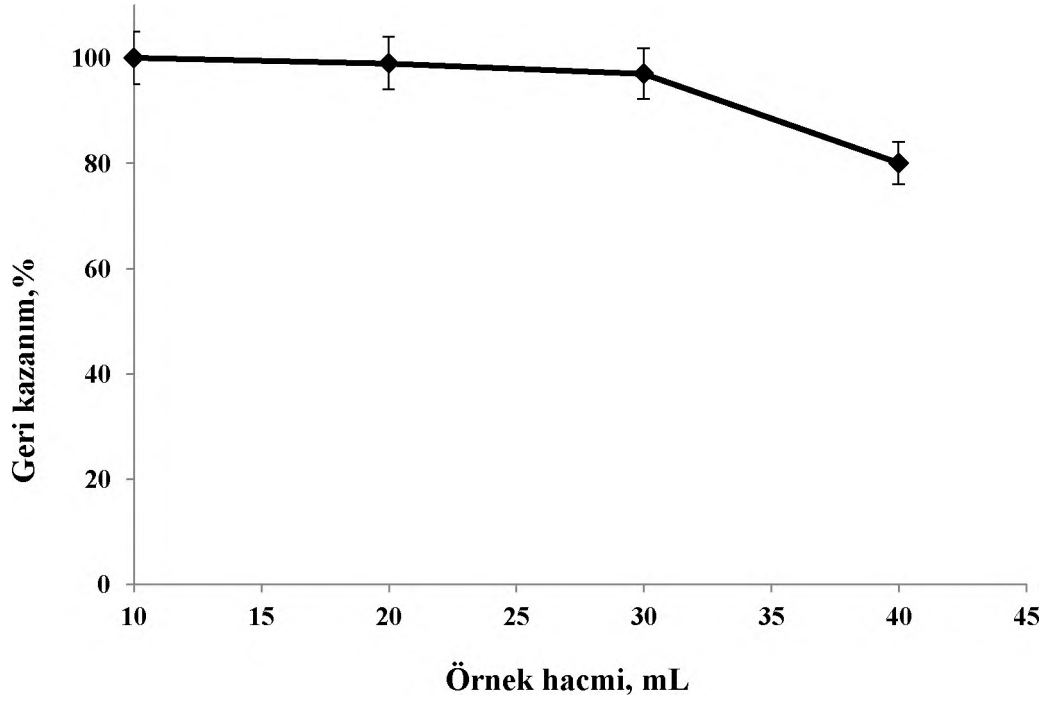
Rodamin B'nin geri kazanımı için supramoleküler çözücü oluşturmak amacıyla model çözeltide bulunması gereken THF hacminin etkisi incelenmiştir. Supramoleküler çözücü sisteminde THF çift etkiye sahiptir. THF, hem dağıtıcı çözücü görevi görür hem de dekanoik asidin kendi kendine birleşmesini sağlar. THF'nin bu etkilerinden dolayı rodamin B'nin supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu ile tayini çalışmasında THF hacminin etkisi en önemli parametrelerden birisidir. Bu amaçla rodamin B içeren model çözeltilere, 150 mg dekanoik asit ve artan hacimlerde tetrahidrofuran eklenmiştir. Şekil 4.5' de görüldüğü üzere, model çözeltilere 200- 600 μ L aralığında THF ilave edilmiştir. En yüksek geri kazanım değerleri 600 μ L THF kullanıldığında elde edilmiştir. Bu sebeple, optimum THF hacmi 600 μ L olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. 5. Rodamin B' nin geri kazanım değerleri üzerine THF hacminin etkisi

4.1.5. Örnek hacminin etkisi

Optimum şartlar altında, 10 ile 40 mL arasında değişen hacimlerde model çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilere geliştirilen mikroekstraksiyon yöntemi uygulanarak örnek hacminin rhodamin B' nin geri kazanma verimine etkisi incelenmiştir. 30 mL örnek hacmine kadar elde edilen tüm sonuçlar kantitatifdir. Son hacim 1 mL olduğu için 30 katlık bir zenginleştirme faktörü elde edilmiştir. Şekil 4.6' da rodamine B' nin geri kazanım değerleri üzerine örnek hacminin etkisinin sonuçları verilmiştir.



Şekil 4. 6. Rodamin B'nin geri kazanım değerleri üzerine örnek hacminin etkisi

4.1.6. Matriks etkisi

Geliştirilen metodu uygularken yabancı iyonların matris etkisini etkin bir şekilde değerlendirmek en önemli parametrelerden biridir. Alkali metaller, toprak alkali metaller, bazı anyonlar ve katyonlar, chromotrope FB, sudan I, sudan orange G, chicao sky blue 6B, brillant black BN gibi boyaların her birinin rodamin B'nin geri kazanım değerlerine etkileri incelenmiştir. Tolerans değerleri Çizelge 4.1' de gösterilmiştir. Rodamin B boyar maddesi için, Çizelge 4.1' de yer alan matriks iyonları ve boyar maddelerin belirtilen konsantrasyonlarında kantitatif geri kazanma değerleri elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 4.1. Rodamine B' nin geri kazanımına matris iyonlarının etkisi

Yabancı İyonlar	Eklendiği Madde	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	Geri Kazanım (%)
K ⁺	KCl	2000	96±4 ^a
Mg ²⁺	MgCl ₂	1000	95±3
Ca ²⁺	CaCl ₂	1000	96±3
SO ₄ ²⁻	Na ₂ SO ₄	2500	95±3
Na ⁺	NaCl	2000	100±1
Pb ²⁺	Pb(NO ₃) ₂	100	97±2
Cu ²⁺	Cu(NO ₃) ₂	50	98±3
Zn ²⁺	Zn(NO ₃) ₂	50	98±1
Chromotrope FB	-	100	96±5
Sudan I	-	1	100±2
Sudan Orange G	-	1	101±3
Chicago Sky Blue 6B	-	100	97±5
Brillant Black BN	-	20	97±1

^a ± Standart sapma

4.1.7. Yöntemin analitik performansı

Bu çalışmada, gözlenebilme sınırını ve tayin sınırını belirlemek için, 10 paralel 30 mL kör çözeltilere optimum şartlar altında supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Standart çözeltilere karşı UV- Vis spektrofotometresi ile derişimler tayin edilmiştir. Gözlenebilme sınırı değeri, kör değerlerin standart sapmasının 3 katının kalibrasyon doğrusunda bulunan eğime bölünmesi ve 30 katlık zenginleştirme faktörü dikkate alınarak hesaplanmıştır. Tayin sınırı değeri ise, derişim değerlerinin standart sapmasının 10 katının kalibrasyon doğrusunda bulunan eğime bölünmesi ile elde edilmiştir.

Geliştirilen rodamin B' nin supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon prosedürüyle spektrofotometrik tayini çalışmasında, $0.49 \mu\text{g L}^{-1}$ gözlenebilme sınırı (LOD) ve $1.47 \mu\text{g L}^{-1}$ tayin sınırı (LOQ) değerleri elde edilmiştir. Rodamin B' nin geri kazanımındaki numune hacmi maksimum 30 mL olduğunda kantitatif sonuçlar elde edilmiş ve son hacim 1 mL olduğundan 30 katlık zenginleşme faktörü elde edilmiştir. 0.5×10^{-4} M derişim düzeyinde boyanın tekrarlı ölçümünden kesinlik bağıl standart sapma (BSS) ise, % 5.8 (n=5) olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon doğrusu değerlerine göre korelasyon katsayısı (R^2) 0.9997, kalibrasyon doğrusu denklemi $A = 0.140 C + 0.0012$, doğrusal çalışma aralığı ise, 1.5- 70.0 $\mu\text{g/L}$ olarak belirlenmiştir (A: Absorbans, C: Derişim (mg/L))

4.1.8. Geliştirilen yöntemin gerçek örneklere uygulanması

Supramoleküler çözücü sıvı faz mikro ekstraksiyon yönteminin geçerliliğini ispatlamak için ekleme/ geri kazanım deneyleri gerçekleştirildi. Bunun için, numune çözeltisine bilinen konsantrasyonlarda rodamine B ilave edilmiş ve geliştirilen yöntem uygulanmıştır.

Ekleme/ geri kazanım çalışmaları; Kayseri' deki pazarlardan temin edilen orijinal ürünlerin muadilleri olan dudak nemlendiricisi, ruj, oje örneklerine ve Kayseri çeşme suyuna uygulanmıştır. Geliştirilmiş mikroekstraksiyon metodunu uygulamadan önce, ruj ve oje numunelerinden 0.5 g tartılıp tüplere alınmıştır. Tartılan örneklerin üzerine 10 mL etil alkol ilave edilip boya fazının çözülmesi için yaklaşık 2 saat çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Etanol fazına geçen rodamin B santrifüj işlemi yapılarak geliştirilen yöntem uygulanmak üzere ayrılmıştır (Yılmaz, 2016). Bu numune çözeltilerine 0.0- 7.2 μg aralığında rodamin B ilave edildikten sonra geliştirilen mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Ayrıca çeşme suyuna da ekleme geri kazanma yöntemi uygulanmıştır. Bunun için 50 mL' lik tüplere çeşme suyundan eklenip 2 mL tampon çözelti ile pH 3' e ayarlanmıştır. Üzerlerine 0.0- 9.6 μg aralığında analit ilavesi yapıp geliştirilen yöntem uygulanmıştır. Nihai çözeltideki rodamine B konsantrasyonları bir UV-Vis spektrofotometresi ile 558 nm' de tayin edilmiştir. Kalibrasyon doğrusu yöntemiyle elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2' de gösterilmiştir. Gerçek örneklere yapılan tüm ekleme/ geri kazanım çalışmalarında kantitatif geri kazanma değerleri elde edilmiştir.

Çizelge 4.2. Yöntemin gerçek örneklere uygulanması

Örnekler	Eklenen (µg)	Bulunan (µg)	BSS %	Geri kazanım (%)
	0,0	TSA ^a	-	-
Çeşme Suyu	2.4	2.36±0.02 ^b	0.85	98
	4.8	4.75±0.03	0.63	98
	7.2	7.23±0.05	0.69	100
	9.6	9.67±0.02	0.21	101
Dudak nemlendiricisi	0.0	1.12±0.02	1.78	-
	2.4	3.50±0.02	0.57	99
	7.2	8.25±0.10	1.21	99
Ruj	0.0	1.49±0.01	0.67	-
	4.8	6.47±0.10	1.54	104
	7.2	8.72±0.20	2.29	100
Oje	0.0	0.03±0.00	-	-
	2.4	2.47±0.04	1.62	102
	4.8	4.84±0.05	1.03	100

^aTSA: Tayin sınırının altında

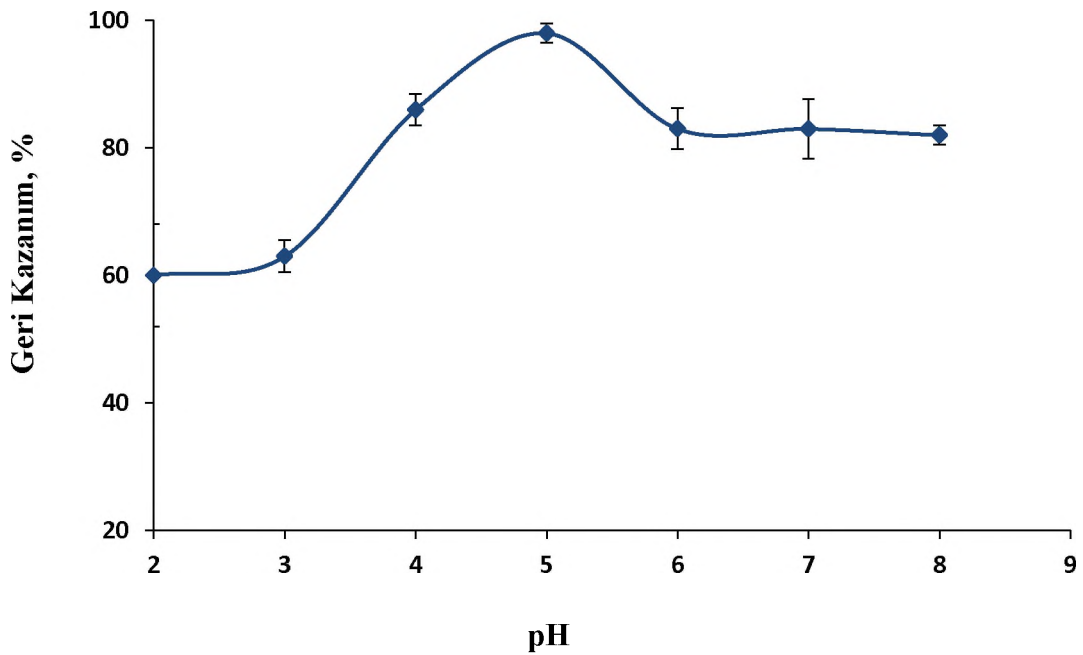
^bXort ± s (Xort: Bulunan ortalama değer s: standart sapma)

4.2. Eritrosinin Isı ile Uyarılan Homojen Sıvı- Sıvı Mikrosantraksiyon Yöntemiyle Mikroekstraksiyonu

4.2.1. pH' nin etkisi

Eritrosinin tayini için geliştirilen bu zenginleştirme çalışmasında pH değerleri eritrosinin organik faza geçişinde etkin rol almaktadır. Çünkü ekstraksiyonda, çekici ve itici iyonik kuvvetler pH değişikliğinden etkilenmektedir. Bunun için 2-8 aralığında pH taraması yapılmıştır. Çok asidik pH değerinde ise, siklohegzilamin ile hidronyum iyonu etkileşime girebileceğinden geri kazanımlar kantitatif değildir. pH değeri arttıkça geri kazanım değerleri artmış pH 5' te ekstraksiyon verimi maksimuma ulaşmıştır. Asidik bir boya olan eritrosinin pKa değeri 5.3' tür. pH değeri düşük olduğunda moleküler eritrosin baskındır. Bu nedenle, ekstraksiyon faza kolaylıkla geçebilmektedir. pH 5' ten

sonra geri kazanım değerleri tekrardan azalmaya başlamıştır. Çünkü pH 5.3' ten yüksek olduğunda negatif yüklü eritrosin ile siklohegzilamin arasında elektrostatik itme meydana gelir (Asghari ve ark., 2017). Bu sebeple, optimum pH değeri 5 olarak belirlenmiştir. Eritrosin için yapılan sıvı faz bazlı ekstraksiyon çalışmalarının çoğu pH 5' de gerçekleştirildiğinden literatürle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir (Du ve ark., 2013; Shokrollahi ve ark., 2017) Elde edilen sonuçlar Şekil 4.7' de verilmiştir.

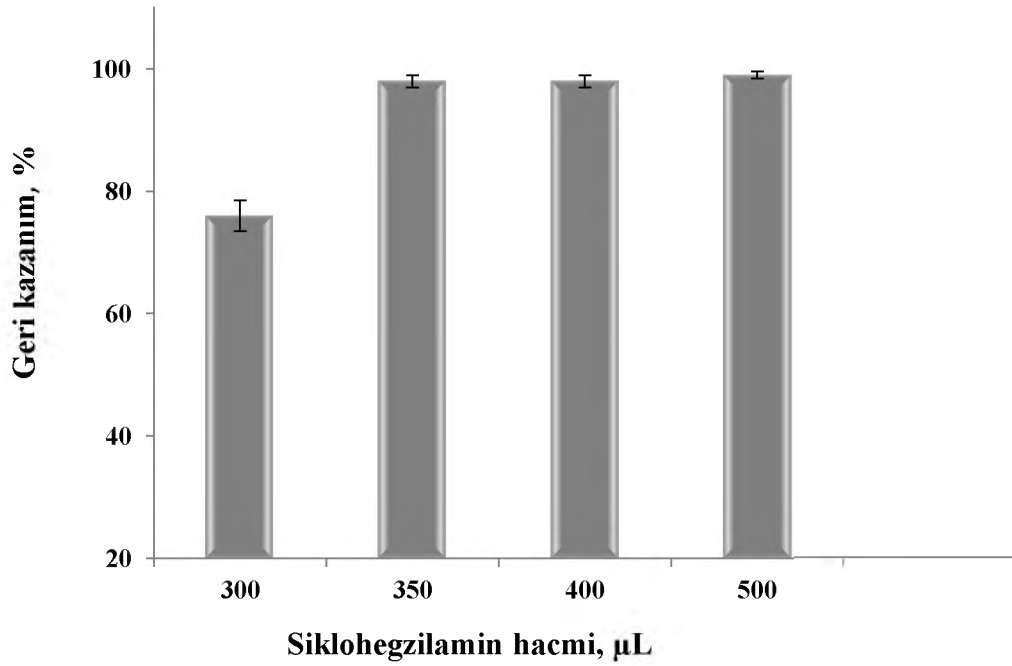


Şekil 4.7. pH' ın geri kazanım değerine etkisi

4.2.2. Siklohegzilamin hacminin etkisi

Eritrosinin tayini için uygulanan ısı ile uyarılan homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yönteminde, ekstraksiyon çözücüsü, ekstraksiyon verimliliğini belirleyen en önemli faktörlerden biridir. Geliştirdiğimiz yöntemde ekstraksiyon çözücüsü seçerken, NaCl eklediğimizde ve sıcaklığı arttırdığımızda su ile iki fazlı bir sistem oluşturma kabiliyetine bakılmıştır (Sorouraddina ve ark, 2017). Bu bağlamda, sulu numuneden ekstrakta olabilme kabiliyetinden dolayı ekstraksiyon çözücüsü olarak siklohegzilamin kullanılmıştır.

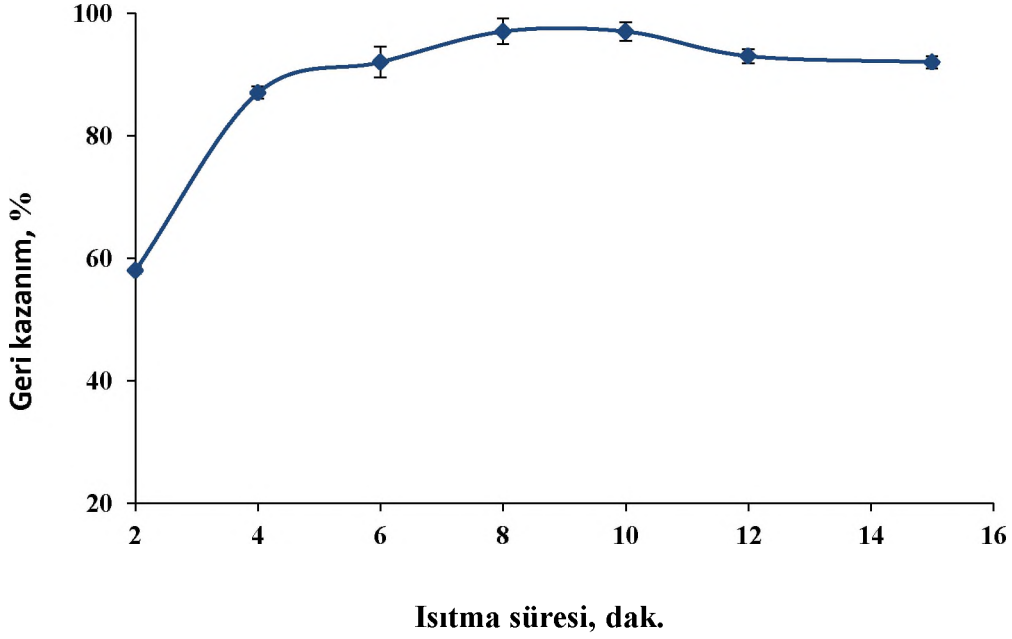
Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi, ekstraksiyon çalışmalarında analitin geri kazanım değerini etkileyen önemli bir faktördür. Bu amaçla, 300-500 µL aralığında artan hacimlerde sikloheksilamin model çözeltilere eklenerek geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Şekil 4.8' de görüleceği üzere 350 µL nin üzerinde sikloheksilamin kullanıldığında kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir.



Şekil 4. 8. Sikloheksilamin Hacminin Geri Kazanım Değerine Etkisi

4.2.3. Isıtma süresinin geri kazanım değerine etkisi

Isıtma süresinin geliştirilen yöntemin verimliliği üzerindeki etkisini araştırmak için, eritrosin ve sikloheksilamin içeren sulu çözelti farklı zamanlarda 70 °C' ye kadar ısıtılmıştır. Bu parametrede ısıtma süresi 2- 15 dak aralığında çalışılarak önerilen yöntem etkisi araştırılmıştır. Şekil 4.9' da belirtilen sonuçlara göre 8. dakikada optimum geri kazanım değerine ulaşılmış olup geri kazanım değerleri % 95' in üzerinde hesaplanmıştır.

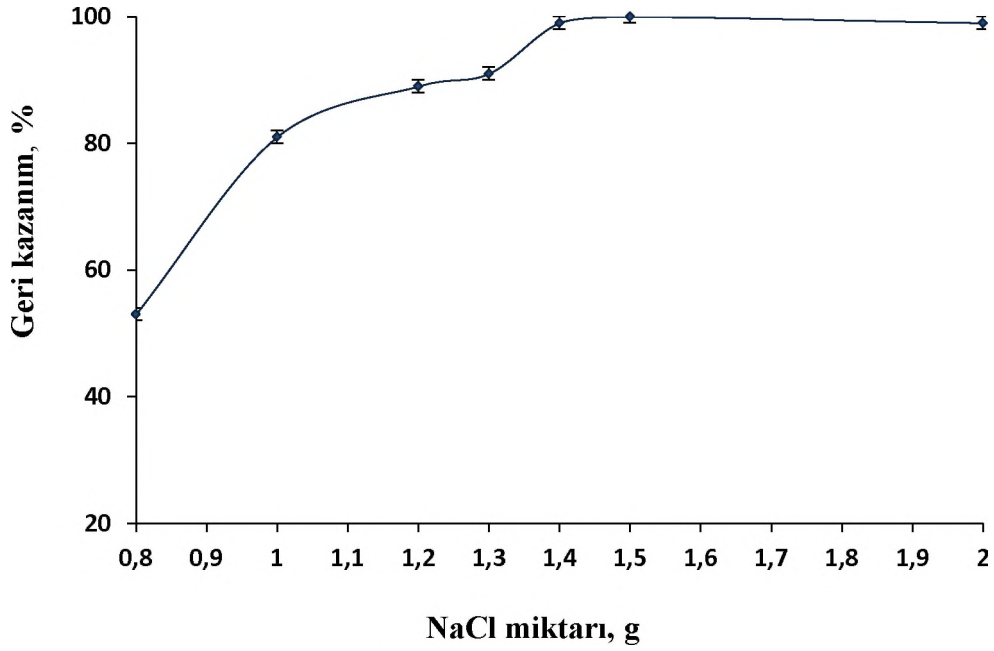


Şekil 4. 9. Isıtma Süresinin Geri Kazanım Değerine Etkisi

4.2.4. Tuz miktarının geri kazanım değerine etkisi

Bu çalışmada tuz miktarı, eritrosinin organik fazda birikmesini ve geri kazanım değerini en fazla etkileyen parametrelerden birisidir. Başlangıçta, tuz (NaCl) miktarı parametresi ısıtma işlemi olmadan eritrosin ve sikloheksilamin içeren model çözeltilere 1.0- 3.0 g artan miktarlarda NaCl ilave edilerek gerçekleştirilmiştir. 2.5 ve 3.0 g NaCl kullanıldığında, geri kazanım değerleri % 95' in üzerinde elde edilmiştir. Fakat bu şekilde sadece tuz ilavesine dayanan mikroekstraksiyon çalışmasında, fazla miktarda tuz kullanılmıştır. Bu nedenle diğer basamakta, tuz miktarını minimize etmek için, hazırlanan model çözeltiler 70 ° C' ye ayarlanan su banyosunda ısıtılarak geliştirilen yöntem uygulanmıştır.

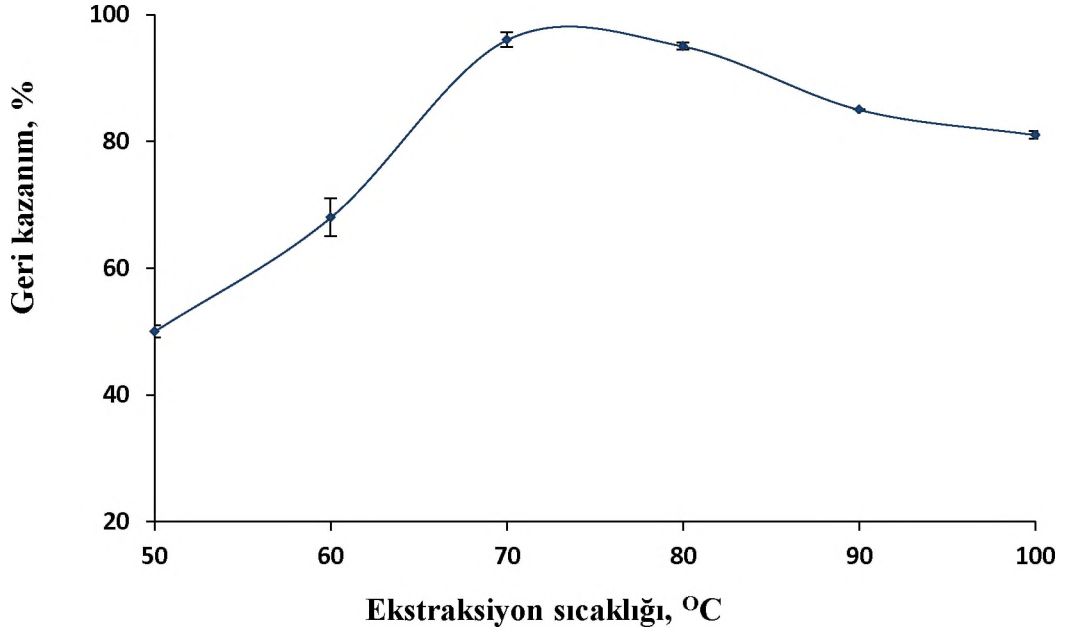
Bunun için 0.8- 2.0 g aralığında NaCl eklenen model çözeltiler, 70 ° C su banyosunda ısıtılarak eritrosinin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. 1.3 g NaCl ilavesine kadar bir faz ayrımı oluşumu gözlemlenmemiştir. Sonuçlar, 1.4 g NaCl ve daha fazlası ilave edildiğinde kantitatif geri kazanımların elde edildiğini göstermektedir (Şekil 4.10). Sonuç olarak, tüm parametreler 70 ° C' de 1.4 g NaCl kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4. 10. Tuz Miktarının Geri Kazanım Değerine Etkisi

4.2.5. Sıcaklığın geri kazanım değerine etkisi

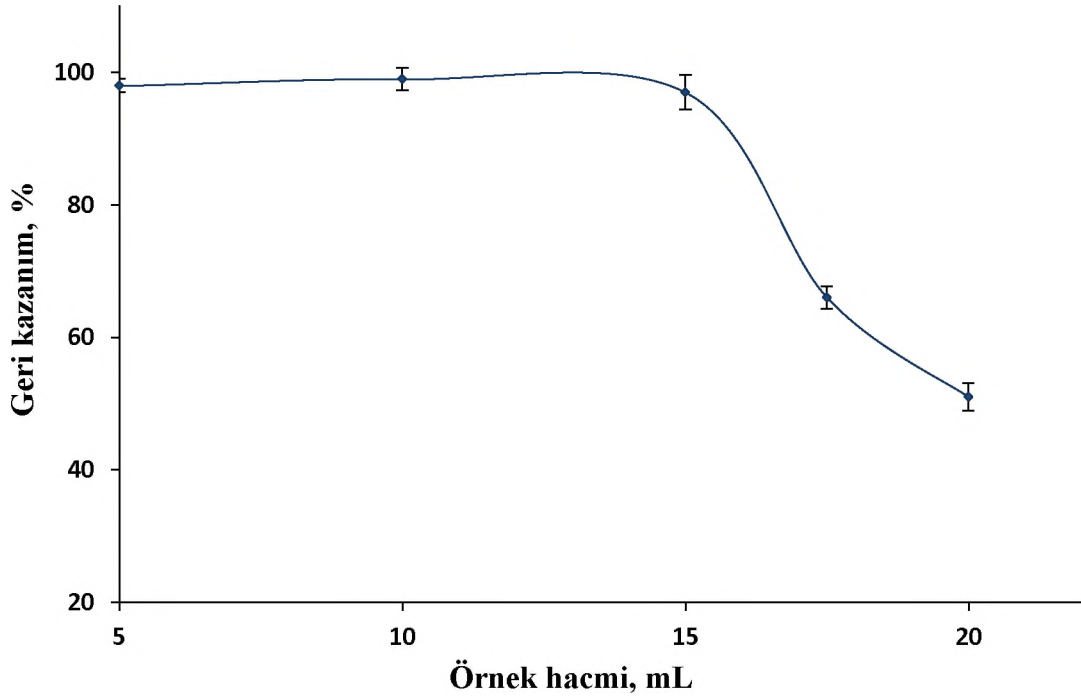
Çalışmanın bu bölümünde artan sıcaklığın eritrosinin geri kazanım değerine nasıl bir etkisi olduğu araştırılmıştır. Bu amaçla 30- 100 °C aralığında, çözeltiler ısıtılarak geliştirilen yöntem uygulanmıştır. 30 ve 40 °C' de faz oluşumu gözlemlenmemiştir. 70 ve 80 °C'de ısıtıldığında % 95 in üzerinde geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Sikloheksilamin içeren homojen bir çözeltide sıcaklık arttıkça sikloheksilaminin sudaki çözünürlüğü azaldığından iki fazlı bir sistem oluşumu etkin bir şekilde gerçekleşmiştir. 90- 100 °C' de gerikazanım değerleri azalmaya başlamıştır. Bu nedenle optimum sıcaklık 70 °C olarak belirlenmiştir. 70 °C' den sonra geri kazanım değerlerindeki azalma, sikloheksilaminin buharlaşmasından kaynaklı olabilir. Elde edilen tüm sonuçlar Şekil 4.11' de gösterilmiştir.



Şekil 4. 11. Sıcaklığın Geri Kazanım Değerine Etkisi

4.2.6. Örnek hacminin geri kazanım değerine etkisi

Geri kazanım değerini düşürmeden en yüksek örnek hacmini belirlemek, zenginleştirme faktörü (ZF), gözlenebilme sınırı (LOD) gibi analitik parametrelerinin hesaplamalarında önem arz etmektedir. Optimum koşullar altında eritrosinin geri kazanım değerine örnek hacminin etkisini incelemek için, 5-20 mL hacim aralığında model çözeltiler hazırlanmıştır. Bu model çözeltilere geliştirilen yöntem uygulanıp UV-Vis spektrofotometresi ile absorbans ölçümleri gerçekleştirildikten sonra, eritrosinin geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. 15 mL örnek hacmine kadar kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.12' de gösterilmiştir.



Şekil 4. 12. Örnek Hacminin Geri Kazanım Değerine Etkisi

4.2.7. Matriks etkisi

Geliştirdiğimiz homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yöntemi için, alkali metaller, Mn^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} gibi toprak alkali metaller ve Sudan III, Metil orange gibi boyalar kullanılarak matriks etkisi incelenmiştir. Tolere edilebilir konsantrasyon oranları Çizelge 4.3' te gösterilmiştir. Na^+ , K^+ , Ca^{2+} gibi iyonların tolerans konsantrasyonları diğer matris iyonlarınınkinden daha yüksektir. Elde edilen sonuçlara göre, incelenen inorganik ve organik türlerin tolere edilebilir seviyeleri ilaç, gıda ve kozmetik ürünleri gibi gerçek numunelerde eritrosinin tayini için uygun olduğu anlaşılmaktadır.

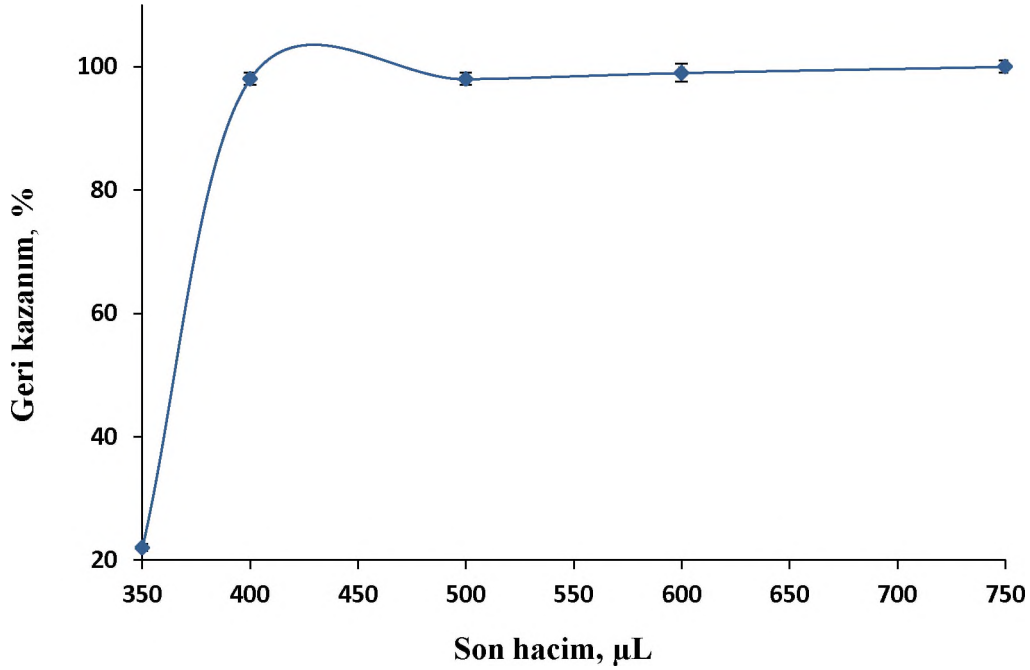
Çizelge 4.3. Eritrosin' in Geri Kazanımına Matriks İyonlarının Etkisi

Yabancı İyonlar	Eklendiği Madde	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	Geri Kazanım (%)
K ⁺	KCl	3000	96± 1 ^a
Na ⁺	NaNO ₃	2000	99± 2
Ca ²⁺	CaCl ₂	1000	96 ± 1
Pb ²⁺	Pb(NO ₃) ₂	50	97± 2
Cu ²⁺	Cu(NO ₃) ₂	30	98± 1
Zn ²⁺	Zn(NO ₃) ₂	20	98± 2
Mn ²⁺	Mn(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	3	100± 1
Sudan III	-	0,02	98± 2
Metil	-	1	96± 3
Orange	-	1	96± 3

^a± Standart sapma

4.2.8. Son hacim taraması

Eser türlerin tayininde verimliliği etkileyen önemli etkenlerden biri zenginleştirme faktörüdür. Bu çalışmada, zenginleştirme faktörünün yüksek ya da düşük değerlere sahip olmasını belirleyen son hacim miktarı incelenmiştir. Bu amaçla, eritrosin içeren model çözeltilere geliştirilen yöntem uygulanmıştır. Nihai çözelti, UV-Vis spektrofotometresinde ölçüm alınmadan önce 350- 750 µL aralığında hacim taraması yapılmıştır. Şekil 4.13'de görüldüğü üzere 400- 750 µL aralığındaki hacimlerde % 95' in üzerinde kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Optimum son hacim 400 µL olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. 13. Son Hacmin Geri Kazanım Değerine Etkisi

4.2.9. Yöntemin analitik performansı

Gözlenebilme sınırı, tayin sınırı, bağıl standart sapma, kalibrasyon grafiği ve zenginleştirme faktörü gibi değerler hesaplanarak geliştirdiğimiz yöntemin analitik performansı incelenmiştir. Bunun için, 11 paralel 15 mL kör çözeltilere optimum şartlar altında geliştirilen yöntem uygulanmış olup standart çözeltilere karşı konsantrasyon değerleri tayin edilmiştir.

Gözlenebilme sınırı değeri, kör değerlerin standart sapmasının 3 katının kalibrasyon doğrusunda bulunan eğime bölünmesi ($3s/m$) ve 37.5 katlık zenginleştirme faktörü dikkate alınarak hesaplanmıştır. Tayin sınırı değeri ise, derişim değerlerinin standart sapmasının 10 katının kalibrasyon doğrusunda bulunan eğime bölünmesi ($10s/m$) ile elde edilmiştir.

Geliştirilen eritrosinin ısı ile uyarılan homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon metoduyla spektrofotometrik tayini çalışmasında, $0.006 \mu\text{g mL}^{-1}$ gözlenebilme sınırı (LOD) ve $0.021 \mu\text{g mL}^{-1}$ tayin sınırı (LOQ) değerleri elde edilmiştir. Bununla birlikte, 15 mL örnek hacmine kadar kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiş ve son hacim 0.4 ml

olduğundan zenginleşme faktörü 37.5 olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntem için % bağıl standart sapma değeri (% BSS) ve korelasyon (tayin) katsayısı (R^2) sırası ile % 2.9 (n=5) ve 0.9989 olarak bulunmuştur. Ayrıca zenginleştirilmiş kalibrasyon doğrusu denklemi $A = 1.619 C + 0.0107$ olarak elde edilmiştir (A: Absorbans, C: Konsantrasyon, mg/L) Doğrusal kalibrasyon aralığı 0.03- 1.4 mg L⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

4.2.10. Yöntemin gerçek örneklerle uygulanması

Geliştirdiğimiz yöntemin doğruluğunu belirlemek için ilaç, kozmetik ve gıda numuneleri üzerinde ekleme/ geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. İlk olarak, Kayseri marketlerinden alınan sosis ve meyve suyu gibi gıda örneklerindeki eritrosinin tayini ve bu örneklerle ekleme/geri kazanım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Bunun için, 20 g sosis örneğini küçük parçalara ayrılıp 50 mL'lik bir tüpe alınmıştır. Bu numunelere 25 mL etil alkol ilave edilmiştir. Elde edilen karışım, eritrosinin etanol fazına geçmesini hızlandırmak için karıştırıcı üzerinde yaklaşık 2 saat karıştırılmıştır. Etanol fazına geçen eritrosin santrifüj işlemi yapılarak ayrılmıştır. Boyar maddenin ayrıldığı bu sosis örneği çözeltisinden ve meyve suyundan 0.25 mL üçer paralel olarak tüplere alınmıştır. Daha sonra tüplere 0.0- 12.5 µg aralığında eritrosin eklenip hacimleri 10 mL' ye tamamlanmıştır (Shokrollahi ve Zarghampour, 2016). Son olarak, bu numune çözeltilerine geliştirilen mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır.

Kozmetik ürün olarak ruj örneğine ekleme/ geri kazanım çalışmaları uygulanmıştır. Bu amaçla, 0.5 g ruj numunesi 50 mL'lik bir tüpüne alınıp üzerine 10 ml etil alkol ilave edilmiştir. Eritrosin etanol fazına geçmesi için elde edilen karışım çalkalayıcıda yaklaşık 2 saat karıştırılmıştır. Çözelti fazına geçen eritrosin santrifüj yapıldıktan sonra geliştirilen yöntem uygulanmıştır.

Eczanelerden temin edilen, farklı tedavilerde kullanılan dört çeşit ilaç örneği değişen miktarlarda örnekler tartılıp üzerlerine distile su eklenmiştir. Elde edilen karışımlar eritrosin sulu faza geçene kadar bir çalkalama banyosunda karıştırılmıştır. Bu şekilde ilaç numunelerindeki eritrosin su fazına geçmiş olup santrifüj yapılarak tam olarak ayrılması sağlanmıştır. Eritrosinin çözelti fazına geçisi sağlanan dört farklı ilaç

örneğinden, 0.05 mL, 0.1 mL, 0.2 mL ve 0.4 mL tüplere alınıp hazırlanan numune çözeltilerine eklenilmiştir. Model çözeltilere, 4.40- 16.7 µg aralığında analit ilavesi yapılarak geliştirdiğimiz mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Son çözeltilerdeki eritrosin, UV-Vis spektrofotometresi ile 535 nm’ de tayin edilmiştir. Kalibrasyon doğrusu yöntemiyle elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5’ de gösterilmiştir. Gerçek örneklere yapılan tüm ekleme/ geri kazanım çalışmalarında kantitatif geri kazanma değerleri elde edilmiştir.

Çizelge 4.4. Çeşitli ilaç örneklerine yöntemin uygulanması

İlaç (Endikasyonları)	Eklenen (µg)	Bulunan (µg)	BSS (%)	Geri kazanım (%)
İlaç 1	0.00	4.80 ± 0.43 ^a	8.9	-
(Mantar enfeksiyon)	4.40	9.16 ± 1.38	15.1	99
	8.35	13.09 ± 1.24	9.5	99
İlaç 2	0.0	4.53 ± 0.3	16.1	-
(alerjik ve inflamatuvar durumlar)	8.35	12.80 ± 0.24	1.9	99
	16.7	20.41 ± 0.09	0.4	96
İlaç 3	0.0	5.61 ± 0.69	12.3	-
(arteriyovenöz dolaşım)	4.40	9.95 ± 1.70	17.1	99
	8.35	13.84 ± 2.92	21.1	99
İlaç 4	0.0	1.34 ± 0.05	3.73	-
(hipertansiyon ve kalp has.)	8.35	9.45 ± 1.10	11.6	97
	16.7	17.63 ± 0.88	4.99	98

^aXort ± s (Xort: Bulunan ortalama değer, s: standart sapma)

Çizelge 4.5. Gıda ve kozmetik örneklerine yöntemin uygulanması

Örnek	Eklenen (µg)	Bulunan (µg)	BSS %	Geri kazanım (%)
Ruj	0.00	TSA ^a	-	-
	8.35	8.40 ± 0.08 ^b	0.95	100
	12.50	12.70 ± 0.01	0.08	102
Vişne suyu	0.00	T.S.A	-	-
	8.35	8.20 ± 0.30	3.65	98
	12.50	12.67 ± 0.36	2.84	101
Sosis	0.00	T.S.A	-	-
	8.35	8.35± 0.44	5.27	100
	12.50	12.40 ±0.79	6.37	99

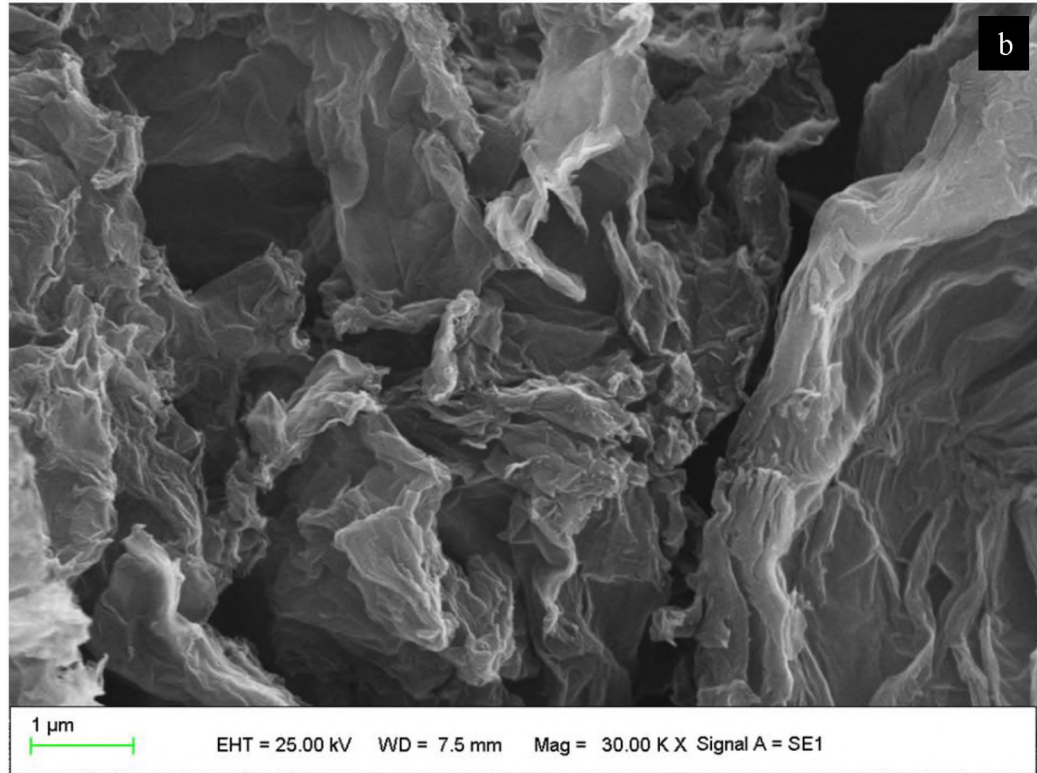
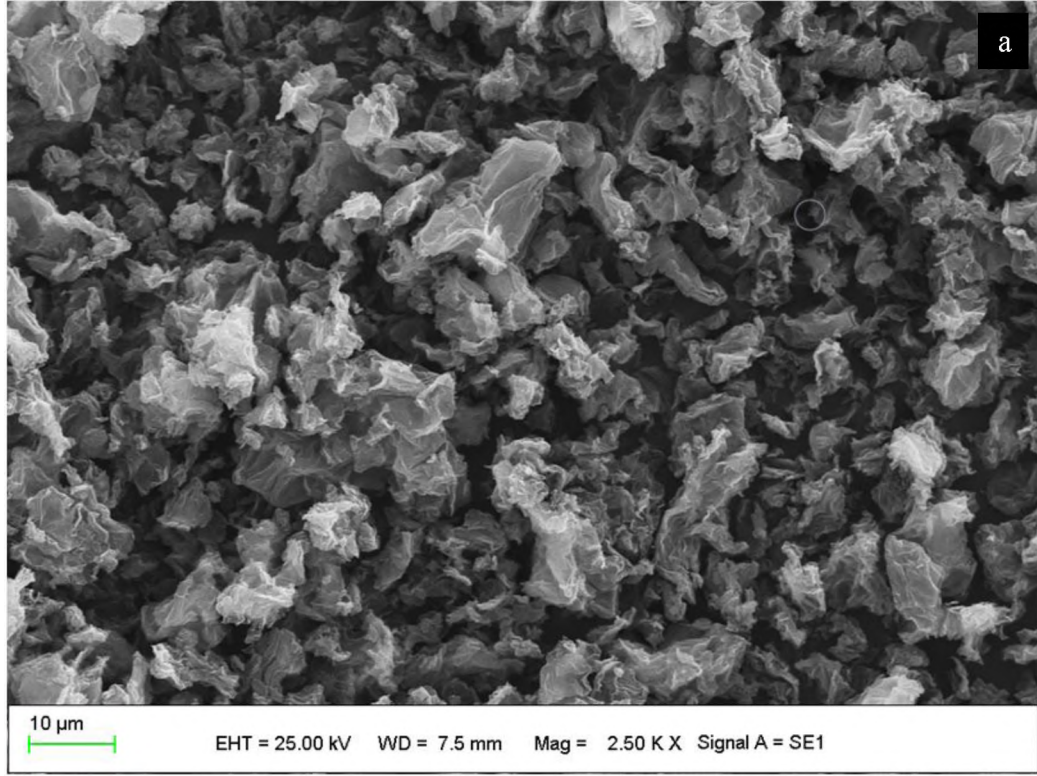
^bTSA: Tayin sınırının altında ^bXort ± s (Xort: Bulunan ortalama değer s: standart sapma)

4.3. Bakırın Pirokatekol Violet ile Doyurulmuş Manyetik Grafen Oksit (PV-MGO) Üzerinde Katı Faz Mikroekstraksiyonu

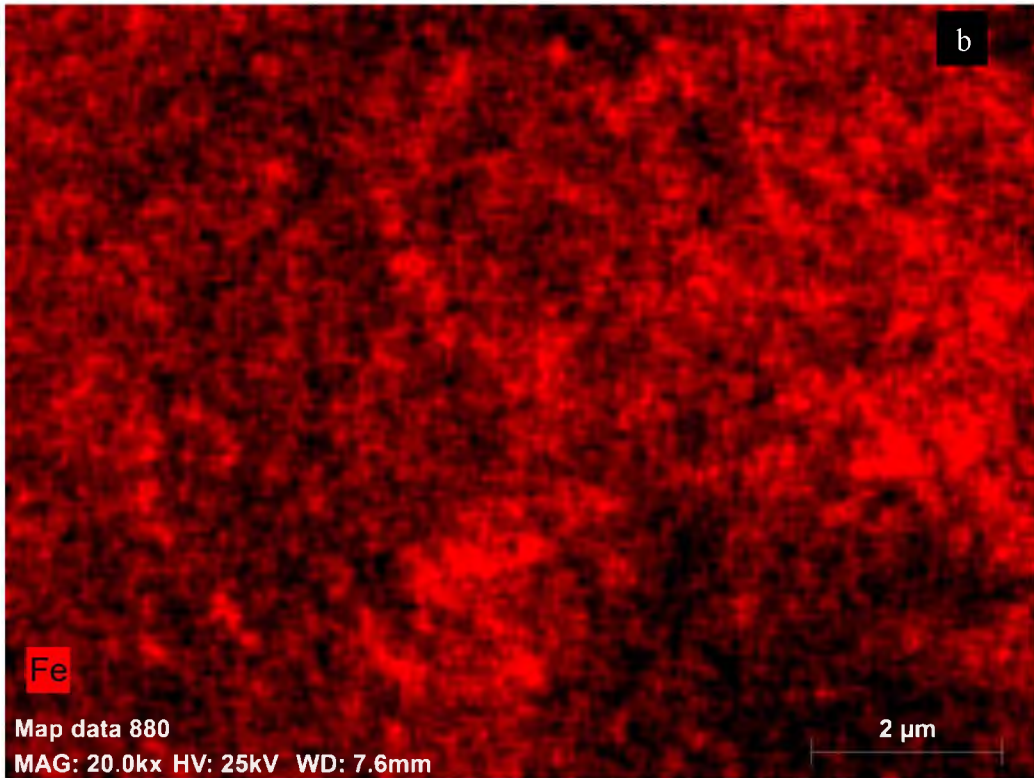
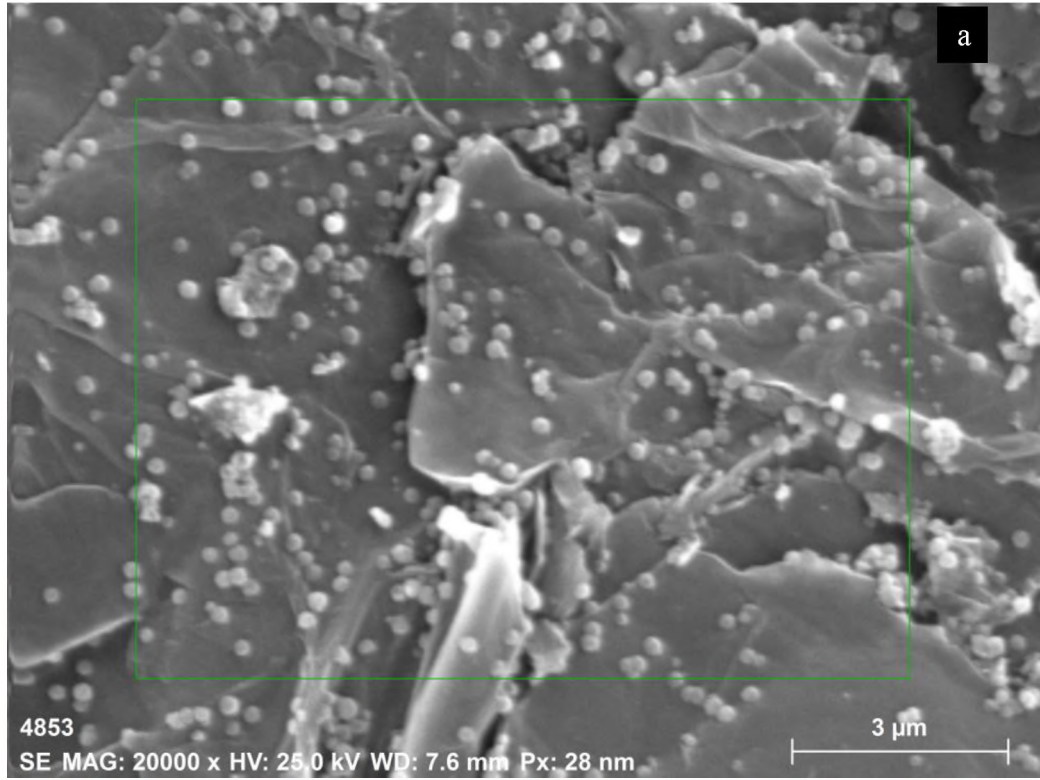
4.3.1. Sentezlenen pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin karakterizasyonu

Bu çalışmada sentezlenen grafen oksite, kimyasal birlikte çöktürme işlemi ile manyetik özellik kazandırılmıştır. Grafen oksitin ve pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin karakterizasyonu, karbonlu malzemeleri karakterize etmek için güçlü, tahribatsız bir enstrümental yöntem olan Raman Spektroskopisi, SEM ve FTIR yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.14 (a,b)' de grafen oksitin, Şekil 4.15 (a)' de pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin SEM görüntüsü ve Şekil 4.15 (b)' de pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin SEM-Mapping görüntüsü gösterilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, iki maddenin SEM görüntülerinde farklılıklar olduğu ve manyetikleştirilen grafen oksitin yüzey yapısında değişiklikler meydana geldiği yüzeyindeki Fe₃O₄ nanopartiküllerin görüntülerinden anlaşılmaktadır.



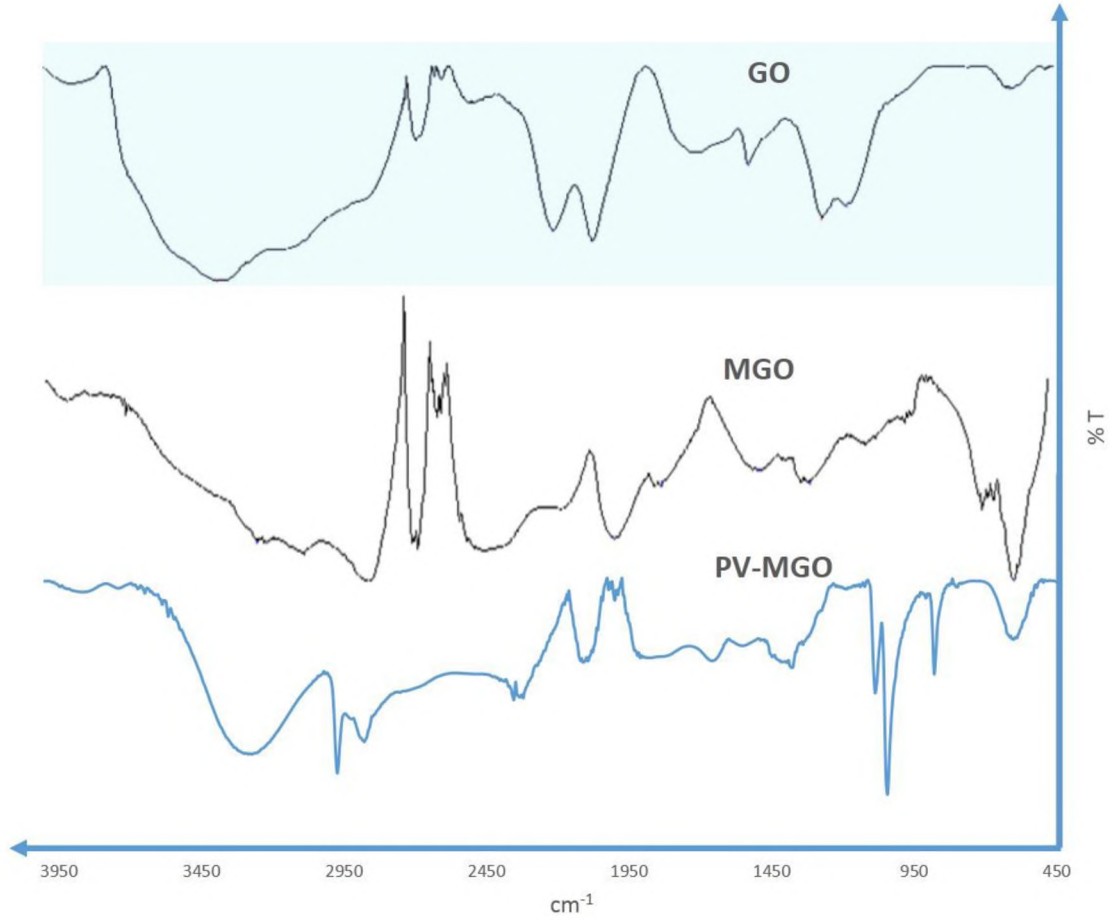
Şekil 4. 14. Grafen oksitin SEM görüntüsü (a, b)



Şekil 4. 15. Pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin SEM görüntüsü (a), pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin SEM-Mapping görüntüsü (b)

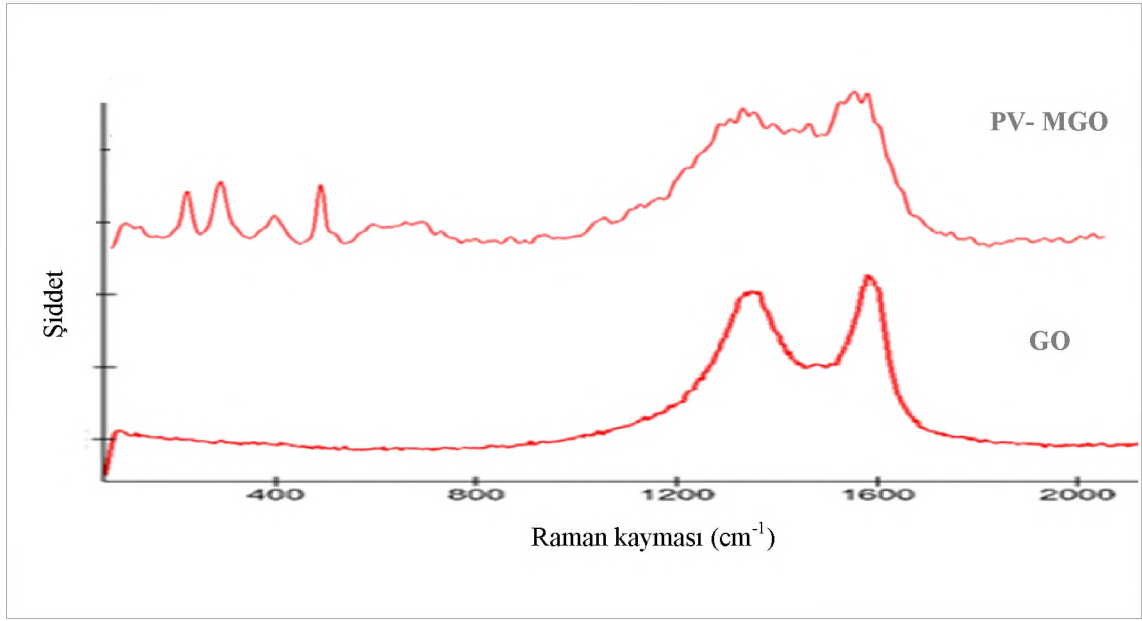
Ayrıca, Şekil 4.15 (b)' te gösterilen PV-MGO SEM-Mapping görüntüsü Fe_3O_4 nanopartiküllerinin GO yüzeyinde homojen olarak oluştuğunu kanıtlamaktadır.

Grafen oksite ait FT-IR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.16) 1711 cm^{-1} ' de grafen oksitin C=O titreşimine, 1613.9 cm^{-1} ' de C=C titreşimine, 1034.6 cm^{-1} C-O titreşimine ve 3112.6 cm^{-1} ' de O-H titreşimine ait piklerin elde edildiği görülmektedir. Bu grafen oksitin sentez sürecinde meydana gelen -COOH grubunun oluşumundan kaynaklanmaktadır. Manyetik Grafen oksite ait FT-IR spektrumu incelendiğinde ise, 535.45 cm^{-1} ' de Fe-O titreşimine ait spesifik pikin oluştuğu görülmektedir. Ayrıca, GO spektrumunda 3112.6 cm^{-1} ' de elde edildilen O-H titreşim pikinin ve C- O bandının MGO' ya ait spektrumunda azaldığı görülmektedir. Bu, ısı işlemin oksijeni hidroksil gruplarından uzaklaştırdığını göstermektedir (Shen ve ark., 2010). Pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin FT-IR spektrumunda ise, 3500-3400, 1600, 1540, 1390 cm^{-1} ve 1150 cm^{-1} dalga sayılarında görünen piklerin O-H, C=O, S=O, C-OH ve S-O gruplarına ait titreşim pikleri olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, bu iki spektum arasındaki önemli farklar grafen oksitin Fe_3O_4 ile başarılı bir şekilde modifiye edildiğini göstermektedir.



Şekil 4. 16. Grafen oksitin, manyetik grafen oksit ve pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin FT-IR spektrumu

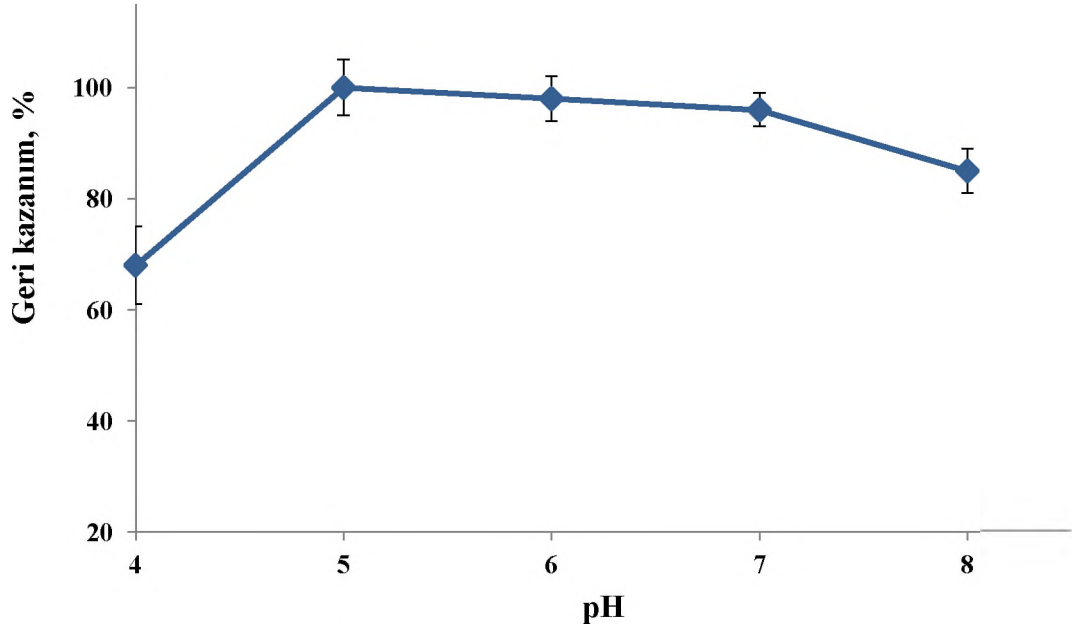
Karbon nanomalzemelerin Raman spektrumu, 1200 ile 1800 cm^{-1} arasında değişen iki ana kayma ile karakterize edilir. Grafen oksitin ve pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin Raman spektrumu Şekil 4.17' de gösterilmiştir. Grafen oksit için karakteristik pikler olan 1351.12 cm^{-1} ve 1585.56 cm^{-1} de iki güçlü bant gözlenmiştir. GO' nun Raman spektrumu, 1585.56 cm^{-1} de bir G- bandını ve 1351.12 cm^{-1} de ise, bir D- bandını gösterir. Spektrumda gözlemlenen G- bandı, grafit karbonlarla ilişkili olup D-bandı ise, yapısal bozukluklarla ya da kısmen düzensiz grafitik alanlarla ilişkilidir. Her iki spektrumdaki D-bantları, güçlüdür ve grafen bazal düzlemlerinin kafes çarpıklıklarını doğrulamaktadır (El-Khodary ve ark., 2014). Bununla birlikte pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin Raman Spektrumu incelendiğinde 200 cm^{-1} ile 500 cm^{-1} arasındaki piklerin Fe_3O_4 e ait olduğu görülmektedir.



Şekil 4. 17. Grafen oksitin ve pirokatekol violet ile doydurulmuş manyetik grafen oksitin Raman spektrumları.

4.3.2. pH'nın etkisi

pH' nın PV- MGO' nun adsorpsiyon verimi üzerinde etkisini incelemek amacıyla, Cu(II) iyonları içeren model çözeltilerin pH' sı tampon çözeltiler kullanılarak 4- 8 aralığında ayarlanmış olup hangi pH' da kantitatif geri kazanımlar elde edileceği araştırılmıştır. Şekil 4.18' de, pH 5.0- 7.0 arasında elde edilen tüm sonuçların kantitatif olduğu ve en yüksek geri kazanım değerinin pH 5.0' de elde edildiği görülmektedir. Çok düşük pH değerlerinde H⁺ iyonları, analit iyonlarıyla rekabet halinde olduğundan ve PV-MGO' nun pozitif yüklü yüzeyi ile Cu(II) arasında elektrostatik itme meydana geldiğinden ekstraksiyon veriminde azalma meydana gelmiştir. Böylece, optimum pH değerinin pH 5 olduğu belirlenmiş olup bundan sonraki çalışmalar model çözeltinin pH' ı 5' e ayarlanarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4. 18. Bakırın PV- MGO üzerinde adsorpsiyonunda geri kazanım değeri üzerine pH' nın etkisi (N: 3)

4.3.3. Elüent türünün, hacminin ve konsantrasyonunun etkisi

Geri kazanım değerini etkileyen diğer bir önemli faktör, analitin adsorbandan desorpsiyonu için kullanılan elüent çözeltisinin tipi, hacmi ve konsantrasyonudur. Bakırın PV/MGO üzerinden desorpsiyonu HCl ve HNO₃ çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, aseton ya da distile suda ve farklı konsantrasyonlarda HCl ve HNO₃ çözeltileri hazırlanmıştır. Çizelge 4.6' da listelenen sonuçlar bakırın desorpsiyonu için 2 M HNO₃ kullanıldığında % 95 in üzerinde geri kazanım değerleri elde edildiğini göstermektedir.

Elüent türü ve konsantrasyonunun belirlenmesinden sonra, geliştirdiğimiz katı faz mikroekstraksiyonu yöntemi ile bakırın geri kazanılmasında maksimum verimi ve minimum elüent tüketimini belirlemek için, 2 M HNO₃' ten hangi hacimlerde çalışmamız gerektiği incelenmiştir. Bu amaçla, 1 ile 5 mL hacim aralığında 2 M HNO₃ kullanılarak desorpsiyon gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, 2 mL 2 M HNO₃ kullanıldığında, kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Çizelge 4.6. Bakırın PV- MGO üzerinde adsorpsiyonunda geri kazanım değeri üzerine elüent türünün etkisi

Elüent Türü ve derişimi	Geri kazanım, (%)
1M HCl	94± 4 ^a
2M HCl	85± 5
1M HNO ₃	75± 4
2M HNO ₃	98± 3
3 M HNO ₃	92± 3
Asidik Aseton (1 M HNO ₃)	60± 3
Asidik Aseton (2 M HNO ₃)	85± 5
Asidik Aseton (3 M HNO ₃)	92± 3

^a± Standart sapma

4.3.4. Matriks etkisi

Matriks iyonları ile analit, adsorpsiyonda bağlanma bölgeleri için rekabet edebileceklerinden, bu iyonların varlığı geri kazanım değerlerini etkileyebilmektedir. Geliştirdiğimiz manyetik katı faz mikroekstraksiyon yöntemi için, alkali- toprak alkali metallerinin, anyonların ve geçiş metallerinin girişim etkileri incelenmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda matriks iyonları ve bakır (II) içeren model çözeltilere pH 5' de geliştirilen yöntem uygulanmıştır. Matriks iyonlarının tolerans sınırı değerleri Çizelge 4.7' de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, geliştirilen yöntemin, matriks iyonları varlığında başarılı bir şekilde uygulandığı görülmektedir.

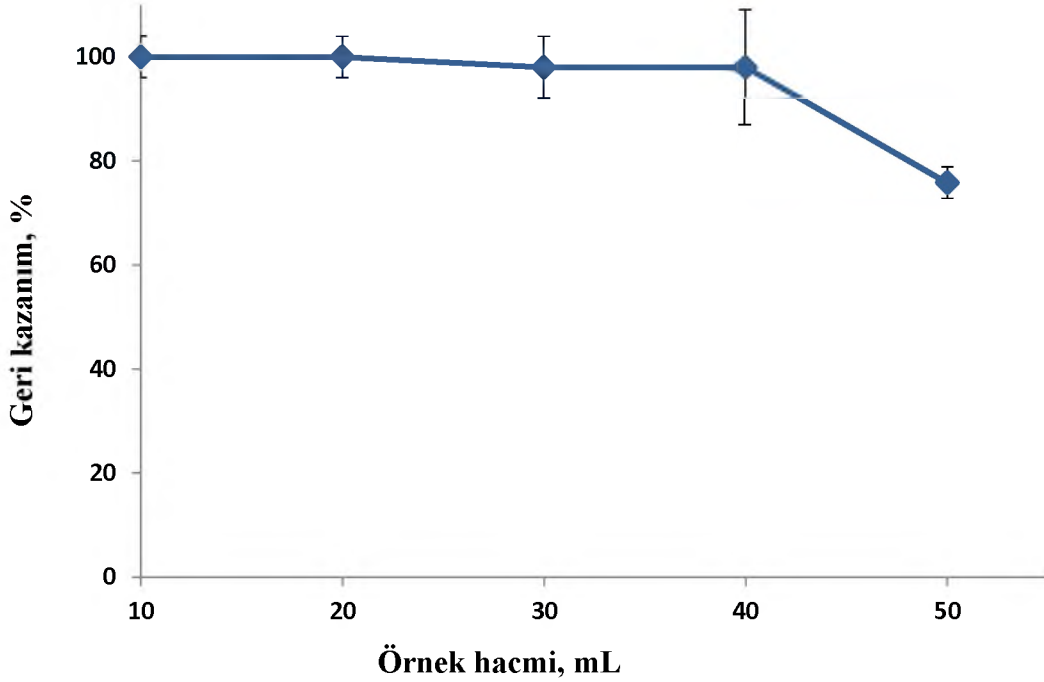
Çizelge 4.7. Bakırın PV- MGO üzerinde adsorpsiyonunda geri kazanım değeri üzerine matriks iyonlarının etkisi

Yabancı İyonlar	Eklendiği Madde	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	Geri Kazanım (%)
Na ⁺	NaCl	5000	96± 2 ^a
CO ₃ ²⁻	Na ₂ CO ₃	2000	96± 2
K ⁺	KCl	2000	98± 4
SO ₄ ²⁻	Na ₂ SO ₄	1000	97± 3
Cl ⁻	KCl	2500	95± 0
Ca ²⁺	CaCl ₂	500	96 ±2
Cd ²⁺	Cd(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	20	97± 3
Zn ²⁺	Zn(NO ₃) ₂ . 6H ₂ O	10	98± 6
Mn ²⁺	Mn(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	10	100± 4
Al ³⁺	Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	10	98± 4
Pb ²⁺	Pb(NO ₃) ₂	5	96± 3
Ni ²⁺	Ni(NO ₃) ₂ . 6H ₂ O	5	97± 5

^a± Standart sapma

4.3.5. Örnek hacminin etkisi

Örnek hacminin bakır (II)' nin geri kazanım değerlerine etkisini incelemek amacıyla optimum koşullar altında 10- 50 mL hacim aralığında model çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan model çözeltilere geliştirdiğimiz manyetik katı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Üçer paralel olarak hazırlanan her bir çözeltide adsorban üzerinde tutulan bakır (II), 2 mL 2 M HNO₃ kullanılarak elüe edilmiştir. Alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi ile absorbans ölçümleri gerçekleştirildikten sonra geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. 40 mL örnek hacmine kadar kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.19' da gösterilmiştir. 2 mL elüent kullanıldığı ve kantitatif geri kazanım değerleri 40 mL örnek hacmine kadar elde edilebildiği için, zenginleştirme faktörü 20 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. 19. Bakırın PV- MGO üzerinde adsorpsiyonunda geri kazanım değerine örnek hacminin etkisi (N: 3)

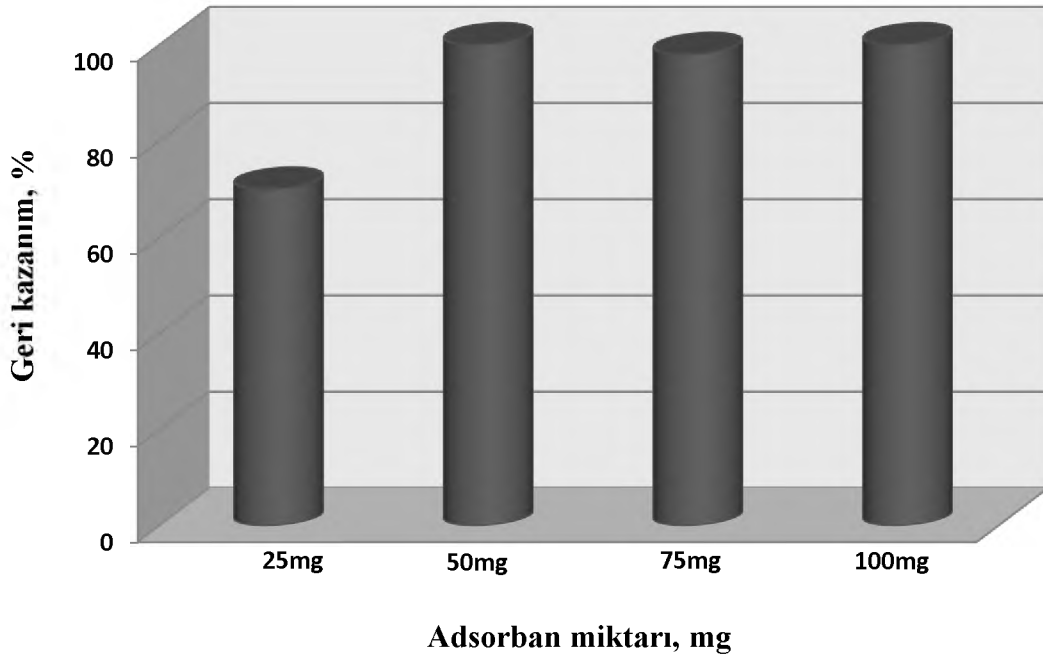
4.3.6. Adsorban miktarının etkisi

Eser türlerin manyetik kazı faz mikroekstraksiyon yöntemiyle zenginleştirilmesinde, kullanılan adsorban miktarına göre ekstraksiyon verimi değişiklik göstermektedir. Bu nedenle kullanılan adsorbanın miktarının incelenmesi önem arz etmektedir. Bu amaçla PV/ MGO adsorbanından 25- 100 mg aralığında değişen miktarlarda model çözeltilere ilave edilip geliştirilen mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Elde edilen geri kazanım değerleri Şekil 4.20' de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre, 50 mg adsorban ilavesinden itibaren kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Böylece, optimum adsorban miktarı 50 mg olarak belirlenmiştir.

4.3.7. Vorteks süresinin etkisi

Bakır (II) iyonlarının PV/MGO üzerinde tutulması için uygulanan katı faz mikroekstraksiyon yönteminde, adsorbanın ve model çözeltilerin bulunduğu 50 mL' lik tüpler vorteks aracılığıyla karıştırılmıştır. Bu karışımların ne kadar süre ile karıştırıldığı, bakır (II)' nin adsorpsiyon ve desorpsiyon verimliliğini etkilemektedir. Bu etkinin

incelenmesi amacıyla pH 5' de model çözeltiler hazırlanmış ve 50 mg adsorban ilavesi yapılmıştır. Daha sonra bu karışım, adsorpsiyon ve desorpsiyon işlemleri için, 0- 5 dak aralığında, vorteks kullanılarak karıştırılmıştır. 1. ve 2. dakikada kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiş olup optimum temas süresi 1 dakika olarak belirlenmiştir. Geliştirilen yöntemde sentezlenen adsorbanın geniş yüzey alanına sahip olmasından dolayı örnek çözeltisi ile hızlı kütle transferi gerçekleşmektedir. Elde edilen sonuçlara göre, ekstraksiyonun kısa zamanda gerçekleşmesi, yöntemin en önemli avantajlarından biridir.



Şekil 4. 20. Bakırın PV- MGO üzerinde adsorpsiyonunda geri kazanım değerine adsorban miktarının etkisi (N: 3)

4.3.8. Analitik performans

Manyetik katı faz mikroekstraksiyon yöntemiyle bakırın zenginleştirildiği yöntemin analitik performansını incelemek amacıyla gözlenebilme sınırı, tayin sınırı, % bağıl standart sapma, zenginleştirme faktörü gibi analitik parametreler belirlenmiştir. Bunun için, 11 paralel kör çözeltilere optimum şartlar altında geliştirilen yöntem uygulanmış olup standart çözeltilere karşı konsantrasyon değerleri tayin edilmiştir. Gözlenebilme

sınırı; kör çözeltilerin absorban ölçüm değerlerinin standart sapmasının üç katının kalibrasyon doğrusundan elde ettiğimiz eğime bölünmesiyle elde edilir (3s/ m). Tayin sınırı ise; kör çözeltilerin absorban ölçüm değerlerinin standart sapmasının on katının kalibrasyon doğrusundan elde ettiğimiz eğime bölünmesiyle yani 10S/ m formülü ile hesaplanmıştır.

Geliştirilen yöntemde, 40 mL örnek hacmine kadar bakır kantitatif olarak elde edilmiş olup 2 mL son hacimde ölçümler gerçekleştirilmiştir. Böylece, 20 katlık bir zenginleştirme faktörü değeri elde edilmiştir. Yöntemin gözlenebilme sınırı değeri 0.004 µg mL⁻¹ ve tayin sınırı 0.013 µg mL⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca önerilen yöntemde, 0.025 µg mL⁻¹ derişim düzeyinde % bağıl standart sapma değeri (% BSS) ve korelasyon (tayin) katsayısı (R²) sırası ile % 4.93 (n=5) ve 0.9997 olarak bulunmuştur ve kalibrasyon doğrusu denklemi A= 0.58 C + 0.0001 olarak elde edilmiştir (A: Absorbans, C: Konsantrasyon (mg/L)).

4.3.9. Yöntemin gerçek örneklere uygulanması

Geliştirdiğimiz yöntem eczanelerden satın alınan vitamin, omega 3 kapsüllerine, Kayseri marketlerinden alınan sigara ve gıda örneklerine, Niğde ili çeşme suyuna, Antalya deniz suyuna, Gaziantep ilinden temin edilen maden örneğine uygulanmıştır.

Önerilen yöntem uygulanmadan önce; omega 3, vitamin, çay ve sigara örneklerinden değişen miktarlarda bir behere tartılmıştır. Tartılan örneklerin üzerine 10 mL HNO₃ eklenip kuruluğa kadar ısıtıcı tabla üzerinde buharlaştırılmıştır. Aynı işlem 5 mL HNO₃ eklenerek tekrarlanmıştır. Çözünürleştirilen örnekler soğutulduktan sonra 5 mL H₂O₂ ilave edilip çözünmenin tamamen gerçekleşmesi için kuruluğa kadar ısıtılmıştır. Distile su eklenerek beherden alınan örnekler, mavi bant süzgeç kağıdıyla süzölmüştür. Ortam pH' ı 5 ayarlanıp 10 mL örnek hacmine tamamlandıktan sonra geliştirilen yöntem uygulanmıştır. Ayrıca göl suyu örneği ve sertifikalı referans su örnekleri, 0,45 µm' lik selüloz membran filtre düzeneğinden süzöldükten sonra analiz gerçekleştirilmiştir (Yılmaz, 2016).

0,5 g maden örneğinden ve sertifikalı referans maddesinden (CRM025- 050 metals on soil) ayrı ayrı beherlere tartılıp üzerine 12 mL HNO₃ (% 65) ve 4 mL HCl (% 37)

eklenmiştir ve kuruluğa kadar buharlaştırılmıştır. Aynı işlem 9 mL HNO₃ ve 3 mL HCl kullanılarak tekrarlanmıştır. Soğumaya bırakılan örnekler distile su ile beherden alındıktan sonra mavi bant süzgeç kâğıdıyla süzümüştür (Duran, 2010). Çözünürleştirilen örneklerin pH ayarı yapıldıktan sonra, 10 mL örnek hacmine tamamlanıp geliştirilen manyetik katı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem ile yapılan, ekleme/ geri kazanım ve bazı gerçek örneklerde bakır tayini çalışmaları başarı ile uygulanmıştır. Çizelge 4.8' de ve Çizelge 4.9' da verilen sonuçlara göre, % 95- 103 arasında geri kazanım değerleri elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 4.8. Gerçek örneklere ekleme/ geri kazanım uygulamaları

Örnekler	Eklenen (µg/mL)	Bulunan (µg/ mL)	BSS (%)	Geri kazanım (%)
Çeşme suyu	0.00	TSA ^a	-	-
	0.10	0.095± 0.014 ^b	14.7	95
	0.20	0.197± 0.014	7.1	98
Deniz suyu	0.00	TSA	-	-
	0.10	0.099± 0.011	11.1	99
	0.20	0.196± 0.007	3.6	98
Maden örneği	0.00	TSA	-	-
	0.10	0.099± 0,011	11.1	99
	0.20	0.19± 0.02	10.5	95
Çay	0.00	0.27± 0.02	7.4	-
	0.10	0.38± 0.01	2.6	103
	0.20	0.45± 0.03	6.7	96

^aTSA: Tayin sınırının altında

^bXort ± s (Xort: Bulunan ortalama değer, s: standart sapma)

Önerilen yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla, yöntem NCS ZC73032 Celery, CRM025-050 metals on soil, TMDA-64.2 fortified water çevresel su gibi sertifikalı referans maddelere uygulanmıştır. Çizelge 4.10' da verilen sonuçlara göre, yöntemin sertifikalı referans maddelere başarı ile uygulandığı kanıtlanmıştır.

Çizelge 4.9. Yöntemin gerçek örneklere uygulanması (N=3)

Örnekler	Bakır derişimi ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Kabak çekirdeği yağı kapsülü	1.31± 0.01 ^a
Omega 3+Q10 kapsül	TSA ^b
Omega 3 kapsül(I)	TSA
Omega 3 kapsül(II)	TSA
Q10 kapsül	TSA
Ashwagandha bitkisi kapsülü	2.25± 0.01
Isırgan kökü kapsülü	2.68± 0.04
Sigara1	3.60± 0.04
Sigara2	4.95± 0.00

^aXort ± s (Xort: Bulunan ortalama değer s: standart sapma)

^bTSA: Tayin sınırının altında

Çizelge 4.10. Sertifikalı referans maddelerin analizi (N=3)

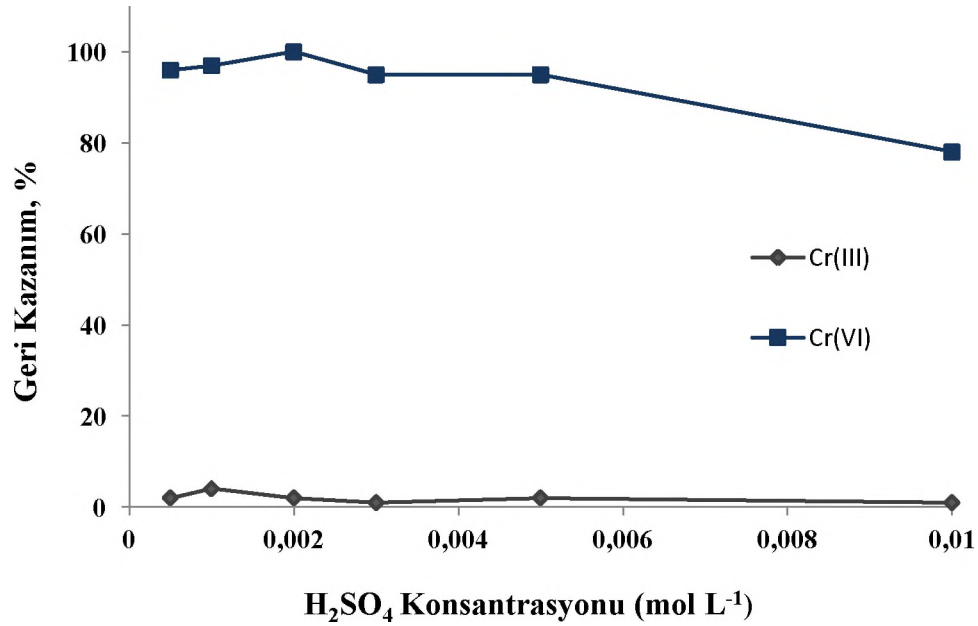
Sertifikalı referans maddeler	Sertifikalı değer	Bulunan değer	BSS %	Geri kazanım %
CRM025- 050 (Toprak) (mg/kg)	7.76± 1.68	7.16±0.27 ^a	3.8	91
NCS ZC73032 (Kereviz) (mg/kg)	8.2 ± 0.4	8.12±0.27	3.3	99
TMDA 64.2 (Çevresel su) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	274	266± 8	3.0	97

^aXort ± s (Xort: Bulunan ortalama değer, s: standart sapma)

4.4. Supramoleküler Çözücü Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu ile Krom Türlemesi

4.4.1. H₂SO₄ konsantrasyonunun etkisi

Cr(VI) ile 1,5-difenilkarbazit arasında oluşan kompleks asidik ortamda meydana geldiğinden H₂SO₄ konsantrasyonunun geri kazanım değerine etkisi en önemli parametrelerden biridir (Narin ve ark., 2006; Abadi ve ark., 2013). Bu amaçla, Cr(III)' ün ve Cr(VI)' nın geri kazanımı üzerine asit konsantrasyonunun etkisinin araştırılması için, 0.0005- 0.01 mol L⁻¹ H₂SO₄ kullanılarak bir dizi optimizasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.21' de gösterilen sonuçlara göre, 0.005 mol L⁻¹ ye kadar kantitatif geri kazanım değerlerinin elde edildiği görülmektedir.



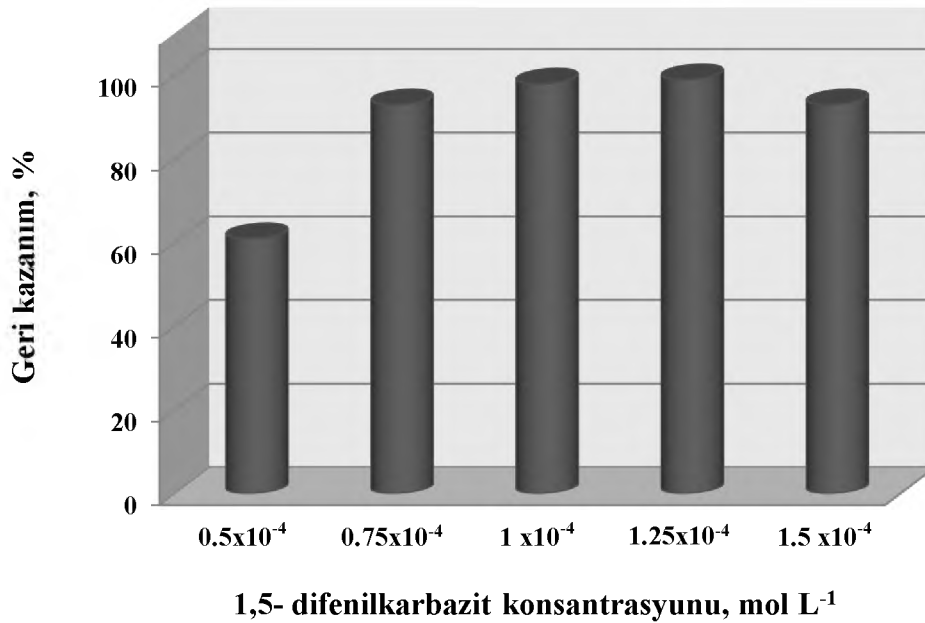
Şekil 4. 21. Cr(VI) ve Cr(III) iyonlarının geri kazanım değerlerine H₂SO₄ konsantrasyonunun etkisi

Cr(VI) için belirlenen optimum H₂SO₄ konsantrasyonu aralığında kantitatif geri kazanım değerleri elde edilirken, Cr(III) için % 5' den daha düşük geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Bu bağlamda, geliştirilen yöntem sadece Cr(VI) iyonunun tayinine olanak sağladığından her iki tür (Cr(III) ve Cr(VI)) ayrı ayrı analiz edilebilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada, Cr(VI)' nın geri kazanım değerleri üzerine

H₂SO₄ konsantrasyonunun etkisi araştırılmış olup optimum H₂SO₄ konsantrasyonu 0.002 mol L⁻¹ olarak belirlenmiştir.

4.4.2. 1,5- difenilkarbazit konsantrasyonunun etkisi

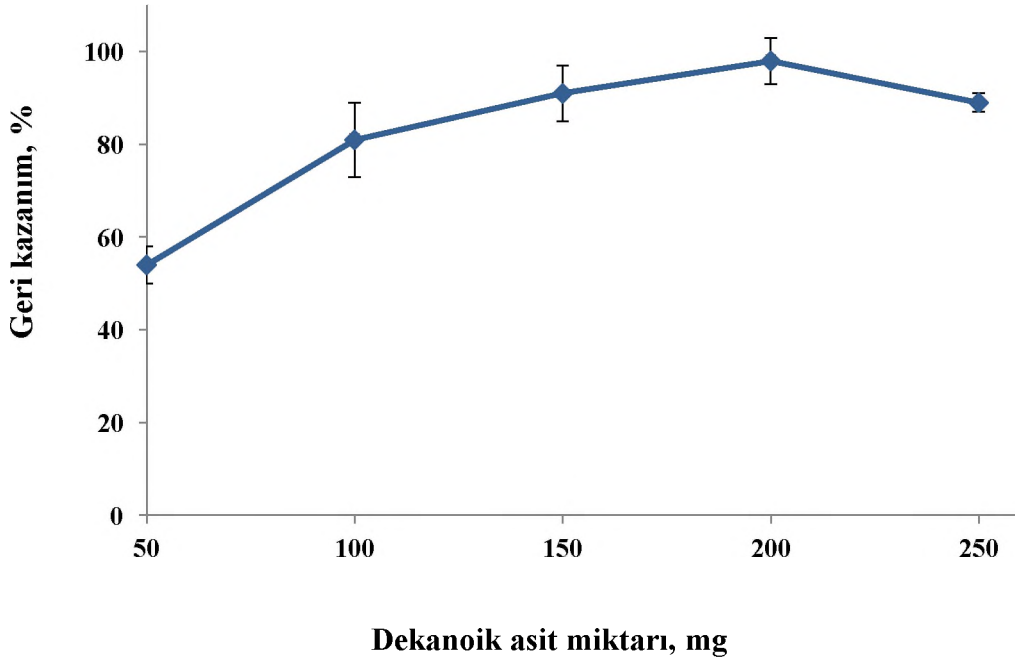
Yapılan literatür araştırmaları sonucunda bu çalışmada, 1,5- difenilkarbazit, asidik ortamda krom (VI) ekstraksiyonu için bir kompleks oluşturucu olarak belirlenmiştir (Narin ve ark., 2006; Abadi ve ark., 2013). Ligand olarak kullanılan 1x10⁻³ mol L⁻¹ 1,5- difenilkarbazit çözeltisi etanolde günlük olarak hazırlanmıştır. Krom (VI)' nın geri kazanım değerlerine 1,5- difenilkarbazit konsantrasyonunun etkisini araştırmak amacıyla, 1µg Cr(VI) içeren model çözeltilere 0.5x10⁻⁴-1.5x10⁻⁴ mol L⁻¹ aralığında artan konsantrasyonlarda 1,5- difenilkarbazit çözeltisinden eklenmiştir. Daha sonra bu çözeltilere, geliştirdiğimiz supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Şekil 4.22' de görüldüğü üzere, 1.0x10⁻⁴ mol L⁻¹ ve 1.25x10⁻⁴ mol L⁻¹ 1,5- difenilkarbazit kullanıldığında % 95' in üzerinde geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Optimum ligand konsantrasyonu 1.25x10⁻⁴ mol L⁻¹ olarak belirlenmiştir. Bu nedenle, optimizasyon basamakları 1.25x10⁻⁴ mol L⁻¹ 1,5- difenilkarbazit kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4. 22. Krom (VI)' nın geri kazanım değerlerine ligand konsantrasyonunun etkisi

4.4.3. Supramoleküler çözücü türü ve dekanoik asit miktarının etkisi

Supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yönteminde ekstraksiyon ve dağıtıcı çözücülerin seçimi ve miktarları ekstraksiyon verimi için çok önemlidir. Bu amaçla, dağıtıcı çözücü olarak THF kullanılmış olup ekstraksiyon çözücüsü olarak 1- dekanol ve dekanoik asitin ekstraksiyon verimlilikleri araştırılmıştır. 1- dekanol ile yapılan çalışmalarda %5-30 aralığında geri kazanım değerleri; dekanoik asit ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanıldığında ise, % 90' ın üzerinde kantitatif değerler elde edilmiştir. Bundan sonraki çalışmalar ekstraksiyon çözücüsü olarak; sudan daha küçük yoğunluğa, düşük uçuculuğa ve erime noktasına sahip dekanoik asit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Dekanoik asit miktarının geri kazanım değerlerine etkisini incelemek amacıyla, krom(VI) içeren model çözeltilere 50- 250 mg aralığında dekanoik asit ilave edilmiş ve geliştirilen yöntem uygulanmıştır. 200 mg dekanoik asit kullanıldığında krom(VI)' nın geri kazanımında kantitatif değerler elde edilmiş olup sonuçlar, Şekil 4.23' de gösterilmiştir. Optimum dekanoik asit miktarı 200 mg olarak belirlenmiştir.

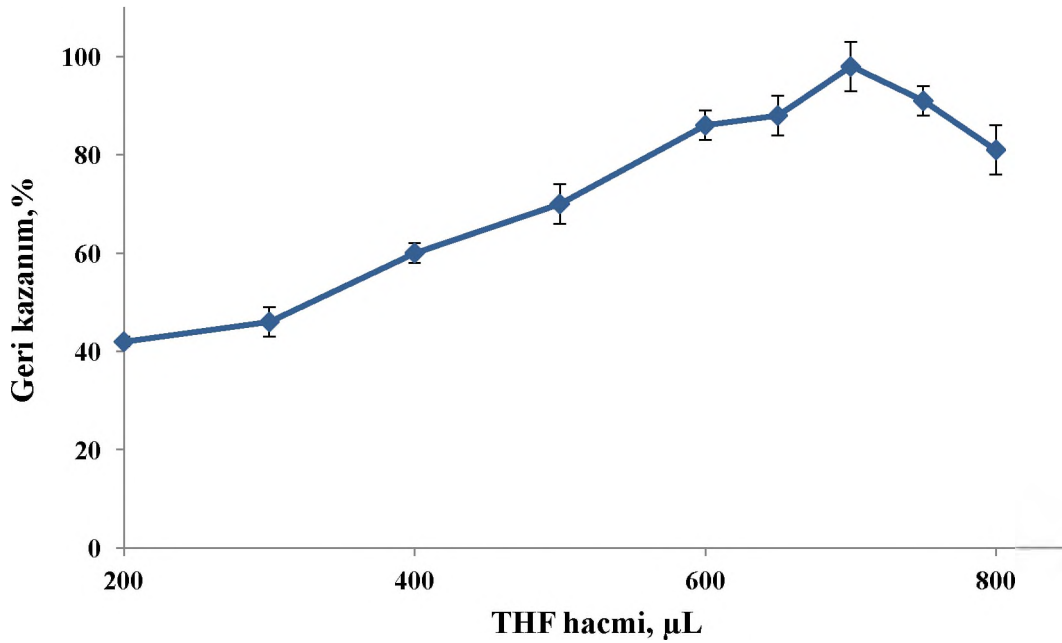


Şekil 4. 23. Krom (VI)' nın geri kazanım değerlerine dekanoik asit miktarının etkisi

4.4.4. THF hacminin etkisi

Krom(VI)' nin geri kazanımı için geliştirilen yöntemde, supramoleküler çözücü oluşturmak amacıyla model çözeltilerde bulunması gereken tetrahidrofuran (THF) hacminin etkisi, incelenmiştir. Bu çalışmada, dekanolik asitle beraber dağıtıcı çözücü olarak THF kullanılmıştır. Krom(VI)' nin ekstraksiyon faza geçişini sağlamasından dolayı THF' nin model çözeltilere hangi oranlarda eklenmesi gerektiği geri kazanım değerlerini etkileyen önemli parametrelerden biridir.

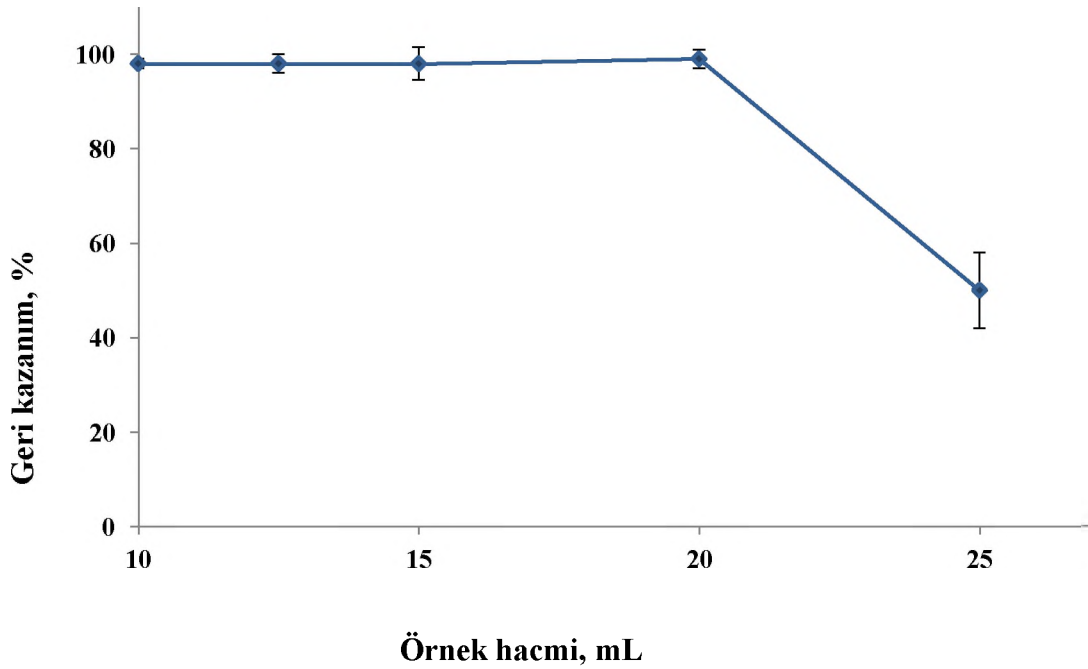
Bu amaçla, asidik ortamda Cr(VI) içeren model çözeltilere, 200 mg dekanolik asit ve artan hacimlerde tetrahidrofuran eklenmiştir. Şekil 4.24' de görüldüğü üzere, model çözeltilere 200-800 μ L aralığında THF ilave edilmiştir. En yüksek geri kazanım değerleri 700 μ L THF kullanıldığında elde edilmiştir. Bu sebeple, optimum THF hacmi 700 μ L olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. 24. Krom(VI)' nin geri kazanım değerlerine THF hacminin etkisi

4.4.5. Örnek hacminin etkisi

Geri kazanım değerini düşürmeden en yüksek örnek hacmini belirlemek, zenginleştirme faktörü (ZF), gözlenebilirlik sınırı (LOD) gibi analitik parametrelerinin hesaplanmasında önemli yer almaktadır. Optimum koşullar altında krom(VI)'nın geri kazanımına örnek hacminin etkilerini araştırmak için 10-25 mL aralığında model çözeltiler hazırlanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.25' de gösterilmektedir. Krom(VI)'nın geri kazanım değerleri 20 mL örnek hacmine kadar kantitatif (% 95' in üzerinde) olup 20 mL' nin üzerinde, geri kazanım değerleri azalmaya başlamıştır.

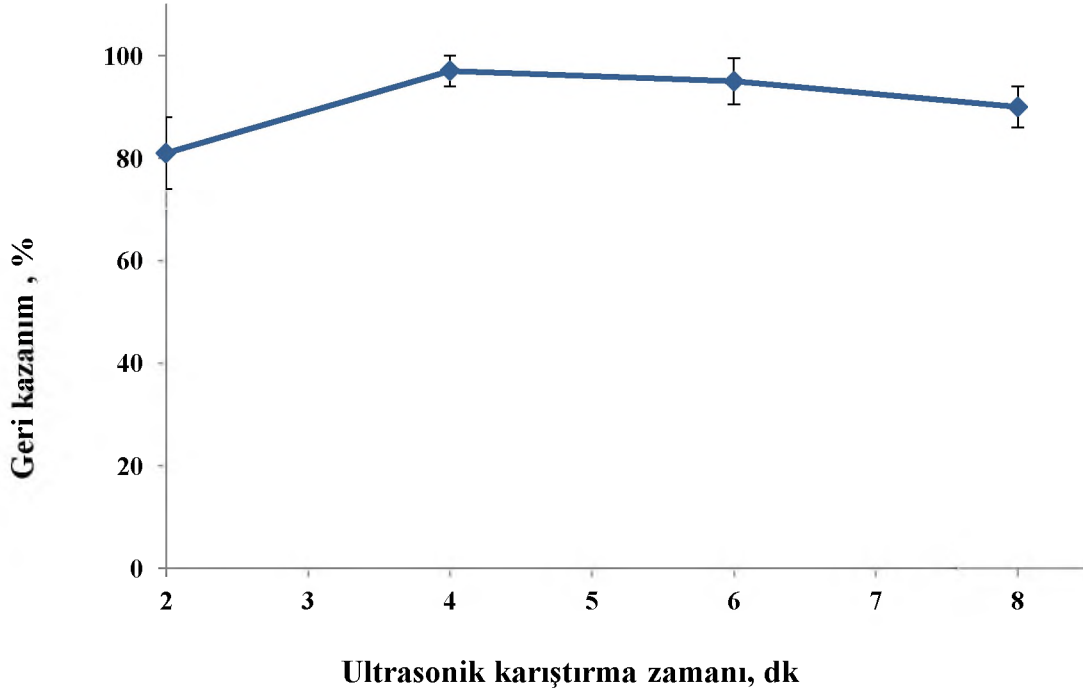


Şekil 4. 25. Krom(VI)'nın geri kazanım değerlerine örnek hacminin etkisi

4.4.6. Ultrasonik karıştırma süresinin etkisi

Amfifil kümelerden oluşan supramoleküler çözücüler geniş bir polarite- yük aralığında farklı kutuplara ve çözünme potansiyeline sahip, polar ya da apolar kutuplu bölgeler sağlar. Böylece hidrofobik çözücüler hidrokarbon bölgesine çözündürülmüş olur. Polar yüklü analitler çeşitli etkileşimlerle polar bölgede dağılıp miseller oluşarak makromoleküllere dahil edilirler (Ruiz ve ark., 2007)

Bu çalışmada, yukarıda anlatıldığı gibi gerçekleşen supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon sisteminde, nano ve moleküler boyuttaki miseller ultrasonik banyo içerisinde tutularak oluşturulmuştur. Bu sebeple, ultrasonik banyoda karıştırma süresi ekstraksiyon verimi için çok önemlidir. Krom(VI)'nın supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemiyle tayini çalışmasında ultrasonik banyoda kalma zamanını incelemek amacıyla hazırlanan model çözeltiler, 2-8 dakika aralığında ultrasonik banyo içerisine bırakıldıktan sonra geliştirilen yöntem uygulanmıştır. En yüksek ve kantitatif geri kazanma değeri 4 dk'da elde edilmiştir. Sonuçlar, Şekil 4.26' da gösterilmiştir.



Şekil 4. 26. Krom(VI)'nın geri kazanım değerlerine ultrasonik karıştırma zamanının etkisi (N: 3)

4.4.7. Matris etkisi

Geliştirilen metodu gerçek örneklerle uygularken yabancı iyonların matris etkisini etkin bir şekilde değerlendirmek gerekmektedir. Bu amaçla, alkali metaller, toprak alkali metaller ve anyonlar gibi yabancı iyonların her birinin tolerans konsantrasyonları araştırılmış ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Yöntemin seçiciliğini belirleyen

matriks iyonlarının Cr(VI) iyonunun geri kazanım değerleri üzerine etkisini incelemek amacıyla hazırlanan örnek çözeltilerine farklı konsantrasyonlarda yabancı iyonlar eklenmiştir. Daha sonra bu çözeltilere belirlenen optimum şartlarda geliştirilen sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.11’ de gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre, tüm yabancı iyonlar için Çizelge 4.11’ de verilen konsantrasyonlarda kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Çizelge 4.11. Krom(VI)’ nın geri kazanım değerlerine matriks iyonlarının etkisi (N=3)

Yabancı İyonlar	Eklendiği Madde	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	Geri Kazanım (%)
SO ₄ ²⁻	Na ₂ SO ₄	1000	98±2 ^a
CO ₃ ²⁻	Na ₂ CO ₃	250	95±4
Cd ²⁺	Cd(NO ₃) ₂	1	98±7
Mn ²⁺	Mn(NO ₃) ₂	10	98±4
Pb ²⁺	Pb(NO ₃) ₂	5	96±3
Zn ²⁺	Zn(NO ₃) ₂	5	97±6
Al ³⁺	Al(NO ₃) ₃	10	96±1
Ni ²⁺	Ni(NO ₃) ₂	15	97±3

^a± Standart sapma

4.4.8. Analitik performans

Krom(VI)’ nın supramoleküler sıvı faz mikroekstraksiyonu ile tayini çalışmasının analitik performansı; gözlenebilme sınırı, tayin sınırı, zenginleştirme faktörü ve % bağıl standart sapma gibi değerler hesaplanarak belirlenmiştir. Analitik performans değerlerinin hesaplanması amacıyla, 7 paralel kör çözeltilere optimum şartlar altında supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Bu çalışmada, 20 mL örnek hacmine kadar kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiş olup son hacim 0.4 mL olarak belirlenmiştir. Buradan örnek hacminin son hacme bölünmesiyle, zenginleştirme faktörü 50 olarak hesaplanmıştır. Gözlenebilme sınırı 50 katlık zenginleştirme faktörü esas alınarak, $3s/m$ (s : kör değerlerin standart sapması, m : kalibrasyon doğrusunun eğimi) denklemiyle $0.79 \mu\text{g L}^{-1}$, tayin sınırı ise kör çözeltilerin absorpsiyon ölçüm değerlerinin standart sapmasının on katının kalibrasyon

doğrusundan elde ettiğimiz eğime bölünmesiyle yani $10s/m$ formülü ile $2.64 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, $20 \mu\text{g L}^{-1}$ derişim düzeyinde tekrarlı ölçümden % bağıl standart sapma (BSS) olarak kesinlik, % 2.40 (n=5) kalibrasyon grafiğinden elde edilen kalibrasyon denklemi ise, $A = 9.62 C + 0.0061$ olarak elde edilmiştir (A: Absorbans, C: Konsantrasyon (mg/L)). Doğrusal kalibrasyon aralığı $4.5-135 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

4.4.9. Yöntemin gerçek örneklere uygulanması

Uygulanan supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yönteminin geçerliliğini ispatlamak için Kayseri çeşme ve göl suyu, Malatya çeşme suyu ve Antalya deniz suyu örneklerine Cr(III) ve Cr(VI) formları değışen miktarlarda ilave edilerek ekleme/ geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Su örnekleri $0.45 \mu\text{m}$ ' lik selüloz membran filtre düzeneğinden süzöldükten sonra, bu örneklere geliştirilen yöntem uygulanmıştır. Bunun için krom(VI) ve krom(III) içeren örnekler üçer paralel olacak şekilde bir behere alınıp bölüm 3.3.4' te bahsedilen yöntem uygulanmıştır. UV- Vis spektrofotometresi ile gerçekleştirilen ölçümler sonucunda hesaplanan ekleme/ geri kazanım sonuçları Çizelge 4.13' de gösterilmektedir.

Ayrıca geliştirdiğimiz supramoleküler sıvı faz mikroekstraksiyon yönteminin doğruluğunu test etmek amacıyla, TMDA- 64.2 (Fortified Water) ve TMDA- 53.3 (Fortified water) gibi çevresel su sertifikalı referans maddelere uygulanmıştır. Çizelge 4.12' de verilen sonuçlara göre, yöntemin sertifikalı referans maddelerin değerleriyle karşılaştırıldığında başarı ile uygulandığı görölmektedir.

Çizelge 4.12. Sertifikalı referans madde analizi (N=3)

Sertifikalı referans maddeler	Sertifika değeri	Bulunan değer	BSS %	Geri kazanım %
TMDA 53.3	$344 \mu\text{g L}^{-1}$	$342 \pm^a 8$	2.3	99
TMDA 64.2	$290 \mu\text{g L}^{-1}$	271 ± 14	5.2	93

^aXort \pm s (Xort: Bulunan ortalama değer, s: standart sapma)

Çizelge 4.13. Yöntemin gerçek örneklere uygulanması (N:3)

Çeşme suyu (1)								
Eklenen, µg		Bulunan, µg					Geri Kazanma, %	
Cr(III)	Cr(VI)	Cr(VI)	BSS %	Toplam Cr	BSS %	Cr(III)	Cr(III)	Cr(VI)
0.00	0.00	TSA ^a	-	TSA	-	TSA	-	-
0.5	0.25	0.24±0.005 ^b	2.1	0.73±0.13	17.8	0.49	98	96
0.50	0.50	0.50± 0.05	10.0	1.01±0.12	11.8	0.51	102	98
Çeşme suyu (2)								
0.00	0.00	TSA	-	TSA	-	TSA	-	-
0.50	0.25	0.25±0.01	4.0	0.71±0.05	7.04	0.46	92	100
0.50	0.50	0.50± 0.07	14.0	0.98±0.03	3.1	0.48	96	100
Deniz suyu								
0.00	0.00	TSA	-	0.24±0.002	-	0.24	-	-
0.50	0.25	0.24±0.01	4.2	0.94±0.01	10.6	0.70	94	96
0.50	0.50	0.49±0.005	1.02	1.24±0.07	5.6	0.75	101	98
Göl suyu								
0.0	0.0	TSA	-	TSA	-	TSA	-	-
0.50	0.25	0.24±0.03	12.5	0.70±0.10	14.3	0.46	92	96
0.25	0.75	0.71±0.04	5.6	0.96±0.04	4.2	0.25	100	95

^aTSA: Tayin sınırının altında

^bXort ± s (Xort: Bulunan ortalama değer s: standart sapma)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Eritrosin ve rodamin B gibi boyar maddelerin ve krom, bakır gibi eser elementlerin yüksek dozda alımı, canlılarda toksik etkiye neden olmaktadır. Sağlık üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle gıda, içecek, ilaç ürünlerinin ve kozmetik maddelerin güvenliğini sağlamak için bu gıda katkı maddelerinin ve eser elementlerin tayininde UV-Vis spektrofotometresi, AAS, ICP-OES, ETAAS, ICP-MS gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin en büyük dezavantajlarından biri analitin çok düşük konsantrasyonlarda olması diğeri ise ortamdaki girişim etkisi gösteren bileşenlerin varlığıdır. Bu problemlerin üstesinden gelmek için sıvı-sıvı ekstraksiyon, katı faz ekstraksiyon, bulutlanma noktası ekstraksiyonu gibi ayırma ve zenginleştirme metotları uygulanmaktadır.

Katı faz ekstraksiyon, sıvı-sıvı ekstraksiyon gibi klasik ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla son yıllarda yaygın olarak kullanılan mikroekstraksiyon teknikleri; düşük gözlenebilme ve tayin sınırı elde edilmesi, kısa zamanda uygulanabilir ve basit olması, çok düşük hacimlerde organik çözücü tüketimi, atık oluşumunun minimum düzeyde olması, ekstraksiyon veriminin yüksek ve otomasyona uygun olması vb. birçok açıdan üstünlükler sağlamaktadır. Mikroekstraksiyon tekniklerinin avantajlarından dolayı, bu tez çalışmasında rodamin B, eritrosin gibi boyar maddeler ve krom, bakır gibi eser elementler gibi dört farklı eser türün analizi için, supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu, homojen sıvı sıvı mikroekstraksiyonu ve manyetik katı faz mikroekstraksiyonu olmak üzere üç farklı mikroekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir.

İlk çalışmada, UV- Vis spektrofotometre kullanılarak eser miktarlarda rodamin B' nin tayini için supramoleküler çözücü sistemine dayanan sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Model çözeltiler pH 3' e ayarlanarak supramoleküler çözücü türü ve miktarı, örnek hacmi, ultrasonik karıştırma süresi gibi parametreler incelenerek yöntemin optimizasyon basamakları gerçekleştirilmiştir. Rodamin B' nin tayini 558 nm' de UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak yapılmıştır.

Rodamin B' nin organik faza ekstrakte edilmesinde pH önemli bir etken olduğundan, çalışmanın ilk basamağında pH'ın etkisi incelenmiştir. Rodamin B' nin en yüksek geri

kazanma değeri, tampon çözeltiler yardımıyla model çözeltilerin pH'sı 2-6 aralığında ayarlanarak araştırılmıştır. Şekil 4.1 de gösterilen sonuçlara göre optimum geri kazanım pH 3' de elde edilmiştir.

Deneysel parametrelerin ikinci basamağında supramoleküler çözücü türünün etkisinin incelenmesi yer almaktadır. Rodamin B' nin zenginleştirilmesinde en yüksek ekstraksiyon verimini elde etmek amacıyla THF- 1 dekanol, THF- undekanol ve THF- dekanolik asitten oluşan supramoleküler çözücü türlerinin rodamin B' nin geri kazanım değerine etkisi araştırılmıştır. Şekil 4.3 de verilen sonuçlara göre, % 99 geri kazanım değeriyle THF- dekanolik asit supramoleküler çözücü olarak belirlenmiştir. Daha sonra, dekanolik asit miktarının ve THF hacminin optimum değerlerini tespit etmek amacıyla 50- 200 mg aralığında dekanolik asit, 200- 600µL aralığında ise THF model çözeltilere eklenerek supramoleküler çözücü mikroekstraksiyonu yöntemi uygulanmıştır. Şekil 4.4' de ve Şekil 4.5' de görüldüğü üzere en yüksek geri kazanım değerleri ve etkin faz ayrımı 150 mg dekanolik asit ile 600 µL THF kullanıldığında elde edilmiştir.

Yöntemin optimizasyon parametreleri tamamlandıktan sonra Çizelge 4.1' de verilen bazı organik ve inorganik türlerin yöntem üzerindeki girişim etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, belirtilen konsantrasyonlardaki matriks iyonlarının bozucu etkisinin olmadığı ve yöntemin iyi bir seçiciliğe sahip olduğu görülmektedir. Bu avantajlar sayesinde önerilen yöntem, çevresel su örneklerine ve kozmetik numunelere kısa sürede ve güvenle uygulanabilmektedir. Sonuçlar Çizelge 4.2' de gösterilmiştir.

Son olarak, yöntemin analitik performansını belirleyen parametre değerleri gözlenebilirlik sınırı için, $0.49 \mu\text{g L}^{-1}$, tayin sınırı için $1.47 \mu\text{g L}^{-1}$ ve bağıl standart sapma (% BSS) için % 5. 8 olarak hesaplanmıştır.

Rodamin B tayini için önerilen supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon çalışması, literatürde yer alan farklı ekstraksiyon ve analiz yöntemleriyle karşılaştırılmıştır. Zenginleştirme faktörü, % bağıl standart sapma ve gözlenebilirlik sınırı yönünden incelenen yöntemler Çizelge 5.1' de gösterilmiştir. Sunulan veriler dikkate alındığında, uygulanan yöntem literatürdeki bazı çalışmalara göre düşük gözlenebilirlik ve tayin sınırına sahip olması gibi üstünlükler sağlamaktadır.

Çizelge 5.1. Rodamin B' nin tayini için literatürde yer alan bazı çalışmalar

Zenginleştirme yöntemi	Analiz yöntemi	BSS ^a %	GS ^b	ZF ^c	Kaynak
Dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon	UV-Vis spektrofotometresi	4	2.1 µg L ⁻¹	-	Unsal ve ark., 2015
İki fazlı iyonik sıvı sistemli sıvı sıvı ekstraksiyonu	UV-Vis spektrofotometresi	3.8	3.2 ngL ⁻¹	-	Wu ve ark., 2014
Katı faz ekstraksiyonu	HPLC	-	3.6 µg L ⁻¹	-	Wu ve ark., 2015
Ultrasonik destekli dispersif katı faz mikroekstraksiyonu	HPLC	< 6.8	0.28 µg L ⁻¹	91	Xu ve ark., 2015
Katı faz ekstraksiyonu	HPLC	<1.71	3.4	-	Su ve ark., 2015
Supramoleküler çözücü sıvı faz ekstraksiyonu	UV-Vis spektrofotometresi	5.8	0.49 µg L ⁻¹	30	Tez çalışması

^aBSS: Bağlı standart sapma ^bGS: Gözlenebilme sınırı, ^cZF: Zenginleştirme faktörü

İkinci çalışmada, eritrosin boyar maddesinin tayini için sikloheksilamin çözücü sistemine dayanan ısıya duyarlı homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon metodu geliştirilmiştir. Sikloheksilamin miktarı, pH, matriks iyonlarının etkisi, NaCl etkisi gibi analitiksel parametreler 535 nm' de UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak optimize edilmiştir.

Yöntemin optimizasyon çalışmalarına pH' nın etkisinin incelenmesiyle başlanılmıştır. 2-8 pH aralığında model çözeltiler hazırlanarak eritrosinin sıvı fazdan organik faza geçişinde en yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmeye çalışılmıştır. Şekil 4.7' de

verilen sonuçlara göre pH 5' te % 95' in üzerinde geri kazanım değerine ulaşılmıştır. Belirlenen bu optimum pH' da, eritrosin organik molekülünün nötr formda olmasından dolayı misellerin oluşumu artacağından ekstraksiyon veriminin buna paralel arttığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada, ekstraksiyon çözücüsü olarak sikloheksilamin kullanılmıştır. Sikloheksilamin soğuk su ortamında homojen bir çözelti oluştururken, ortama tuz ilave edilip çözelti yaklaşık 70 ° C' de sıcaklıkta ısıtıldığında hidrofobik faz oluşturmaktadır. Bu nedenle eritrosinin sulu fazdan ekstraksiyonu için, optimum sikloheksilamin hacminin belirlenmesi çok önemlidir. Bu amaçla, 300-500 µL hacim aralığında sikloheksilamin kullanılmış olup sonuçlar Şekil 4.8' de gösterilmiştir. Eritrosinin ayırma/ zenginleştirme çalışmasında 350 µL hacimde sikloheksilamin kullanarak kantitatif geri kazanım değerleri elde edilebilmiştir.

Sikloheksilamin, sıcaklığın ve tuzun etkisi ile sudaki çözünürlüğü azalarak polar fazda bulunan analiti kolaylıkla apolar faza ekstrakte edebilmektedir. Bunun için ilk olarak, pH 5' de eritrosin ve sikloheksilamin içeren model çözeltilere NaCl ilave edilerek ekstraksiyon gerçekleştirilmiş fakat yüksek miktarda NaCl kullanıldığında kantitatif sonuçlar elde edildiğinden yöntem çözeltiler ısıtılarak devam edilmiştir. 70 °C' de 8 dakika ısıtılarak uygulandığında, optimum tuz miktarı 1.4 g olarak belirlenmiştir. Sonuçlar, Şekil 4.10' da gösterilmiştir.

Sikloheksilaminin ısıtmanın etkisiyle eritrosini ekstrakte edebilme kabiliyeti değiştiğinden diğer basamakta, 30-100 °C artan sıcaklıklarda ısıtılan çözeltilere homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. 30 ve 40 °C' de faz ayrımı gerçekleşmemiş olup en etkin faz ayrımı, 70 °C' de elde edilmiştir. Çünkü sikloheksilaminin sudaki çözünürlüğü bu sıcaklık değerinde azalmış ve çözeltinin bulanıklığı artmıştır. Böylece eritrosin, su fazından sikloheksilamin fazına kolaylıkla transfer edilmiştir. Şekil 4.10' da gösterilen sonuçlara göre, sıcaklık değeri arttıkça yani 90- 100 °C' de geri kazanımlar azalmaya başlamıştır. Bu yüksek sıcaklıklarda, su fazın buharlaşmasından dolayı optimum numune hacminde azalma olmuştur. Bu da, ekstraksiyon verimliliğinin azalmasına neden olmuştur.

Matriks bileşenlerinin girişim etkisini incelemek amacıyla, yöntem Çizelge 4.3' te verilen bazı metal iyonları, anyonlar ve boyar maddeler varlığında gerçekleştirilmiş ve belirtilen konsantrasyonlarda eritrosinin geri kazanımına bozucu bir etki yapmadığı anlaşılmıştır.

Eritrosinin ısı ile uyarılan homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon metoduyla spektrofotometrik tayini çalışmasında, % 2.9 bağıl standart sapma ve 0.9989 (R^2) korelasyon katsayısı, 0.006 $\mu\text{g mL}^{-1}$ gözlenebilme sınırı ve 0.021 $\mu\text{g mL}^{-1}$ tayin sınırı değerleri elde edilmiştir. Ayrıca, 15 mL örnek hacmine kadar kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiş ve son hacim 0.4 ml olduğundan zenginleşme faktörü 37.5 olarak hesaplanmıştır.

Bu yöntem, farklı tedavilerde kullanılan ilaçlarda, kozmetik ve gıda örneklerinde eritrosinin analizi için uygulanmış olup sonuçlar Çizelge 4.4' de ve Çizelge 4.5' de gösterilmiştir. Çalıştığımız tüm ilaç örneklerinde 1.34- 5.61 μg aralığında eritrosin hesaplanmıştır. Analizi yapılan gıda ve kozmetik örneklerinde ise, gıda boyası olarak kullanılan eritrosinin konsantrasyonunun yöntemin tayin sınırından daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, tüm gerçek örneklere ekleme/ geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Örneklere ilave edilen eritrosin miktarları ile geri kazanılan analit miktarları arasında önemli bir fark görülmemiştir.

Literatürde eritrosin gıda boyasının analizi için sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle, geliştirdiğimiz yöntem, birçok gerçek örnek analizinde eritrosinin tayini açısından büyük öneme sahiptir. Homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yöntemiyle eritrosinin zenginleştirme çalışmasını diğer tekniklerle karşılaştırdığımızda, düşük gözlenebilme ve tayin sınırı değerlerine sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 5.2). Bu çalışma çok küçük hacimde ekstraksiyon çözücüsü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca ilaç, gıda ve kozmetik örneklere kolaylıkla ve başarı ile uygulanmıştır.

Çizelge 5.2. Eritrosinin tayini için literatürde yer alan diğer çalışmalar

Method	GS ^a	BSS ^b %	ZF ^c	Kaynak
Supramoleküler çözücü sistemine dayanan sıvı sıvı mikroekstraksiyonu	0.6 µg L ⁻¹	1.4	33.33	Shokrollahi ve ark., 2017
Katı faz ekstraksiyonu	0.12 mg/L	<5	-	Al-Degs ve ark., 2012
MCR(Ortalama Oran Spektrumunun Merkezlenmesi)	0.498 µg mL ⁻¹	-	-	Kaur ve Gupta, 2012
Bulutlanma noktası ekstraksiyonu	11.24 µg L ⁻¹	2.41	45.22	Nambiar ve ark., 2017
Elektroforez	0.4 µg L ⁻¹	-	-	Ryvolova ve ark.,2007
Bulutlanma noktası ekstraksiyonu(Uv-Vis)	0.022 µg mL ⁻¹	3.27	15.00	Shokrollahi and Zarghampou, 2016
Homojen sıvı sıvı mikroekstraksiyonu	0.006 µg mL ⁻¹	2.9	37.5	Tez çalışması

^aGS: Gözlenebilirlik sınırı, ^bBSS: Bağıl standart sapma, ^cZF: Zenginleştirme faktörü

Üçüncü çalışmada, bakır(II)'nin zenginleştirilmesi için manyetik katı faz mikroekstraksiyonu ile zenginleştirilmesi çalışması gerçekleştirilmiştir. Bunun için yeni bir manyetik grafen oksit adsorbanı sentezlenmiştir. Sentezlenen manyetik grafen oksit ligand olarak seçilen pirokatekol violet ile doyurulmuştur. Bakır(II), PV/MGO üzerinde adsorbe edilerek matriks ortamından ayrılıp zenginleştirilmiştir. Yöntemin optimizasyon basamakları eluent türü ve hacmi, vorteks süresi, manyetik adsorban miktarı, örnek hacmi gibi çeşitli parametreler incelenerek tamamlanmıştır. Zenginleştirilen bakır elementi, alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin edilmiştir.

Manyetik özellik kazanmış grafen oksit karakterizasyonu FT-IR, SEM, XRD analizleri ile yapılmıştır. Şekil 4.14 (a,b)' de grafen oksitin, Şekil 4.15 (a)' de pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin SEM görüntüsü, Şekil 4.15 (b)' de pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin SEM-Mapping görüntüsü verilmiştir. Ayrıca grafen oksitin ve pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksitin FT-IR spektrumu Şekil 4.16' da, Raman spektrumu ise, Şekil 4.17' de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçların literatürle uyumlu olduğu görülmektedir. Ayrıca, sentezlenen MGO' nun ekstraksiyon verimliliğinin yüksek olmasından dolayı, yöntemin başarı ile tamamlandığı kanıtlanmıştır.

Bakır (II)' nin PV- MGO üzerinde katı faz mikroekstraksiyonu çalışmasında ilk olarak, hem adsorbe edilen analitten hem de adsorbanın fonksiyonel gruplarından dolayı adsorpsiyon işlemini etkileyen en önemli parametrelerden biri olan optimum pH değeri araştırılmıştır. Bu amaçla, pH değerleri 4.0- 8.0 aralığında olan çözeltiler hazırlanmış olup bakır (II)' nin PV- MGO üzerinde adsorpsiyonuna etkisi incelenmiştir. Şekil 4.18' de verilen sonuçlar göstermektedir ki pH 5.0- 7.0 aralığında % 95' in üzerinde geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Bu çalışma, kantitatif geniş pH aralığından dolayı, basit ve verimli bir çalışma imkanı sunmaktadır. pH 5' de ise, en yüksek geri kazanım değeri elde edilmiştir.

Bakır(II) iyonlarını içeren model çözeltilere 25- 100 mg PV- MGO ilave edilerek adsorban miktarının etkisi incelenmiş ve optimum değer 50 mg olarak belirlenmiştir. Bu basamakta, adsorbanın minimum miktarıyla adsorbe edebilme kabiliyeti araştırılmıştır. Şekil 4.20' de sonuçlar göstermektedir ki 50 mg adsorban kullanımı katı faz mikroekstraksiyon yönteminde bakırın adsorpsiyonu için yeterli olmuştur. Bu nedenle, geliştirilen ekstraksiyon yöntemini uygulamak, ekonomik açıdan ve zaman kazancı açısından avantaj sağlamıştır.

Maksimum geri kazanımlar elde etmek amacıyla, adsorbanla analitin temas süresi 0- 5 dakika arasında incelenmiş olup 1. ve 2. dakikada % 95' in üzerinde geri kazanımlar elde edilmiştir. Adsorpsiyon ve desorpsiyon çalışmalarının kısa sürede yapılması hızlı kütle transferinden dolayı, yöntemin zaman açısından maksimum verimle tamamlanmasını sağlamıştır.

Desorpsiyon işlemi için, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan HCl ve HNO₃ elüent çözeltileri kullanılmıştır. Çizelge 4.6' da gösterilen sonuçlara göre, en yüksek geri kazanım 2 mL 2M HNO₃ çözeltisi kullanıldığında elde edildiği görülmektedir.

Optimizasyon basamağı tamamlanan katı faz mikroekstraksiyon yöntemi su, toprak ve gıda numuneleri gibi bazı gerçek örneklerle uygulandığından, bozucu etki yapabilecek bazı metallerin ve anyonların girişim etkileri incelenmiştir. Çizelge 4.7' de verilen konsantrasyonlardaki matriks türlerinin varlığında, yöntem başarı ile uygulanmış olup kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Yöntemin gözlenebilirlik sınırı değeri 0.004 µg mL⁻¹ ve tayin sınırı 0.013 µg mL⁻¹, bağıl standart sapma % 4.93 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca 40 mL örnek hacmine kadar bakır için elde edilen geri kazanımlar kantitatifdir. 2 mL elüent kullanılan yöntemde zenginleştirme faktörü 20 olarak belirlenmiştir.

Yöntemin doğruluğunu kanıtlamak için NCS ZC73032 kereviz, CRM025-050 toprak, TMDA- 64.2 çevresel su gibi sertifikalı referans maddelere optimize edilen yöntem uygulanmıştır. Çizelge 4.10' da verilen sonuçlara göre, yöntem sertifikalı referans maddelere başarı ile uygulandığı anlaşılmıştır. Ayrıca bu çalışma; çevresel su ve toprak numunelerine, gıda ve bazı vitamin örneklerine, sigara gibi çeşitli gerçek örneklerle uygulanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.8' de ve Çizelge 4.9' da gösterilmiştir.

Çizelge 5.3' te bakırın zenginleştirilmesi için literatürde yer alan diğer çalışmalardan bazıları verilmiştir. Analitik performans değerleri diğer bazı çalışmalara göre üstünlük göstermektedir.

Çizelge 5.3. Bakırın tayini için literatürde yer alan diğer ayırma/zenginleştirme çalışmaları

Zenginleştirme yöntemi	GS ^a	BSS ^b	ZF ^c	Kaynak
Katı faz ekstraksiyonu	5.0 µg L ⁻¹	-	125	Topuz ve ark.,2017
Sıvı faz mikroekstraksiyonu	0.024 µg L ⁻¹	2.1	25	Zeeb ve ark., 2011
Dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyonu	0.93 µg L ⁻¹	-	20	Karataş ve Kara, 2017
Asılı damla sıvı faz mikroekstraksiyonu	3.0 µg L ⁻¹	2.4	52.6	Goudarzi ve ark., 2014
Yüzen katı organik damla Mikroekstraksiyon	4.1 µg L ⁻¹	1.2	13.0	Khayatian ve Hassanpoor 2013
İyonik sıvı dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyonu	0.81 µg mL ⁻¹	1.09	5	Çağlar ve Saka, 2017
Katı faz ekstraksiyonu	5.6 µg L ⁻¹		35.9	Tarley ve ark., 2014
Manyetik katı faz mikroekstraksiyonu	0.004 µg mL ⁻¹	4.93	20	Tez çalışması

^aGS: Gözlenebilirlik sınırı, ^bBSS: %Bağıl standart sapma, ^cZF: Zenginleştirme faktörü

Dördüncü ve son çalışmada, krom(III) ve krom(VI) iyonlarının türlendirilerek spektrofotometrik tayini için supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Krom(VI) iyonu, 1,5 difenilkarbazit ile kompleks oluşturularak UV-Vis spektrofotometresi ile tayin edilmiştir. Bu yöntemde, krom(III)'ün geri kazanımı için, kantitatif değerler elde edilememiştir. Sonuçlar Şekil 4.21' de gösterilmiştir. Toplam krom, tetrahidrofuran (THF) ve dekanolik asit kullanılarak uygulanan supramoleküler çözücü ile 540 nm' de UV- Vis spektrofotometresi ile tayin edilmiştir. Ortam asitliği,

numune hacmi ve ultrasonik banyo süresi gibi bazı parametrelerin etkileri optimize edilmiştir.

Krom türlemesi çalışmasında ilk olarak, ortam asitliği incelenmiştir. Bunun için, 0.0005- 0.01 mol L⁻¹ konsantrasyon aralığında H₂SO₄ çözelti ortamına ilave edilmiştir. Cr(VI) için 0.005 mol L⁻¹ ye kadar kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiş olup optimum H₂SO₄ konsantrasyonu 0.02 mol L⁻¹ olarak belirlenmiştir. Şekil 4.20' de gösterilen sonuçlara göre Cr(III) , sadece % 5' e kadar geri kazanılabilmektedir. Bu durumda geliştirilen mikroekstraksiyon yöntemiyle ilk basamakta, Cr(VI) için ayırma zenginleştirme çalışmaları uygulanabilmektedir. Diğer basamakta ise, Cr(III) yükseltgenerek toplam krom miktarından analiz edilmiştir. Bu adım, Bölüm 3.3.4' te ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Bu çalışmada, Cr(VI) için spesifik kompleks oluşturucu reaktif olan 1,5- difenilkarbazit kullanılmıştır. 1,5- difenilkarbazit konsantrasyonu 0.5x10⁻⁴ mol L⁻¹ – 1.5 mol L⁻¹ aralığında incelenmiş olup 1.25x10⁻⁴ mol L⁻¹ de maksimum geri kazanım elde edilmiştir. Bu konsantrasyondan sonra geri kazanım değerleri düşmeye başlamıştır. Sonuçlar Şekil 4.22' de gösterilmiştir.

Geliştirilen sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemde supramoleküler çözücü sistemi kullanılmıştır. Bu nedenle, bu çözücülerin türünün seçimi ve seçilen çözücülerin hacimlerinin ve miktarlarının belirlenmesi için, çalışmalar yapılmıştır. Bölüm 4.4.3' de açıklandığı üzere, ekstraksiyon çözücüsü olarak dekanolik asit ve dağıtıcı çözücü olarak THF seçilmiştir. Oda sıcaklığında katı halde bulunan dekanolik asit, Cr(VI) içeren çözeltilere 50- 250 mg arasında eklenmiş olup Şekil 4.23' den anlaşılacağı üzere, 200 mg dekanolik asit kullanıldığında maksimum geri kazanıma ulaşılmıştır. THF ise, 200- 800 µL hacim aralığında çalışılmış ve Şekil 4.24' de gösterilen sonuçlara göre, 700 µL' de % 95'in üzerinde geri kazanım değeri elde edildiği anlaşılmaktadır.

Geliştirilen supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yönteminde, misellerin oluşumu ultrasonik banyoda gerçekleştirilmiştir. 4 dakika içerisinde bulutumsu çözelti oluşarak etkin faz ayrımı elde edilmiştir.

Sonuç olarak, 0.02 mol L⁻¹ H₂SO₄ ile ortam asitliği sağlanan 10 mL' lik model çözeltiler, 200 mg dekanolik asit, 700 µL THF, 1.25x10⁻⁴ mol L⁻¹ 1,5- difenilkarbazit kullanılarak hazırlanmıştır. Ayrıca, yöntem üzerinde bozucu etki yapabilecek Çizelge 4.11' de verilen bazı iyonların etkileri incelenmiş olup belirtilen tolerans konsantrasyon değerlerinde % 95'in üzerinde kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Bu yöntemde, 0.79 µg L⁻¹ gözlenebilme sınırı, 2.64 µg L⁻¹ tayin sınırı, % 2.40 bağıl standart sapma değerleri elde edilmiştir. Örnek hacmi 20 mL' ye kadar ayarlandığında % 95'in üzerinde geri kazanımlar elde edilmiştir. Son hacim 0.4 mL olduğundan 50 katlık bir zenginleştirme faktörü hesaplanmıştır.

Geliştirdiğimiz supramoleküler sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla TMDA- 64.2 ve TMDA- 53.3 gibi çevresel su sertifikalı referans madde analizi ve ekleme geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar referans değerleri ile karşılaştırıldığında geri kazanımların % 93-100 aralığında olduğu görülmektedir. Sonuçlar Çizelge 4.12' de ve 4.13' de verilmiştir.

Çizelge 5.4' te krom türlemesi ile ilgili literatürde yer alan bazı çalışmalar verilmiştir. Uygulanan yöntem, gözlenebilme sınırı, zenginleştirme faktörü, bağıl standart sapma gibi değerlerle literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Bu değerler göz önüne alındığında geliştirilen yöntem, literatürdeki bazı çalışmalara göre analitik performans kriterleri açısından üstünlükler sağlamaktadır.

Çizelge 5.4. Literatürde yer alan bazı krom türlemesi çalışmaları

Zenginleştirme yöntemi	GS ^a	BSS ^b %	ZF ^c	Kaynak
Yüzen katı organik damla supramoleküler dispersive sıvı sıvı mikroekstraksiyonu	0.23 µg L ⁻¹	3.8	50	Abadi ve ark., 2013
Sıralı enjeksiyon yenilenebilir yüzey tekniği	2.4 µg L ⁻¹	1.3	-	Wang ve Xue, 2006
Katı faz ekstraksiyonu	3.4 µg L ⁻¹	<6	30	Narin ve ark., 2006
Sıvı faz mikroekstraksiyonu	2.22 ng L ⁻¹	1.6	20	Noroozifar ve Khorasani- Motlagh, 2003
Katı faz ekstraksiyonu	15 µg L ⁻¹	<5	-	Tehrani ve ark.,2004
Katı faz ekstraksiyonu	45 µg L ⁻¹	<1	25	Türker ve Tunçeli, 2002
Supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu	0.79 µg L ⁻¹	2.40	50	Tez çalışması

^aGS: Gözlenebilirlik sınırı, ^bBSS: Bağıl standart sapma, ^cZF: Zenginleştirme faktörü

5.1. Genel Değerlendirme

Bu tez çalışmasında eser türlerin analizi için, supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu, homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyonu ve katı faz mikroekstraksiyonu yöntemleri geliştirilmiştir.

İlk çalışmada, boyar maddelerden rodamin B nin analizi için supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmış olup yöntemin temeli rodamin B nin THF ile dekanoik asitten oluşan supramoleküler çözücü fazına ekstraksiyonunu esas alır. Yöntemin çevresel su örneklerine ve kozmetik numunelere uygulanabilmesi ve verimli sonuçlar elde edilebilmesi için tüm analitik parametreler optimize edilmiş olup Çizelge 5.5’ de listelenmiştir.

Çizelge 5. 5. Rodamin B boyar maddesinin supramoleküler sıvı faz mikroekstraksiyonu ile ayırma/zenginleştirme çalışmasında bulunan optimum parametre değerleri

Parametreler	Elde edilen optimum değerler
pH	3
Supramoleküler çözücü türü	THF-dekanoik asit
Dekanoik asit miktarı	150 mg
THF hacmi	600 µL
Örnek hacmi	30 mL
Son hacim	1000 µL

Analizlerin 558 nm' de UV-Vis spektrofotometresiyle gerçekleştirildiği, rodamin B boyar maddesinin zenginleştirilmesi için geliştirilen supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi, birçok avantaj sunmaktadır. Bunlar;

- Koaservasyon denen faz ayrımı ile gerçekleşen bu yöntemde bulutlanma noktasında olduğu gibi ısıtma işlemi basamağına ihtiyaç duyulmaması,
- Yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmesi,
- Tekrarlanabilirliğin iyi olması,
- Düşük gözlenebilme ve tayin sınırına sahip olması,
- Etkin faz ayrımının elde edilebilmesinden dolayı basit bir yöntem olması,
- Farklı matriks ortamlarındaki gerçek örneklerle uygulanabilir olması,
- Minimum hacimde organik çözücü tüketiminden ve sağlık üzerinde neredeyse hiçbir olumsuz etkisi olmamasından dolayı yeşil kimya ilkelerine uygun olmasıdır.

Geliştirilen yöntemin, daha sonraki yapılacak olan akademik çalışmalar için yukarıda belirtilen avantajlarından dolayı yol gösterici olması beklenmektedir. Bu yöntem, rodamin B boyar maddesinin supramoleküler çözücü fazına ekstraksiyonuna olanak sağladığından, ortamda bulunan diğer türler su fazında kalmaktadır. Bu özellik supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu ile rodamin B nin zenginleştirilmesi yöntemine seçicilik kazandırmıştır. Ayrıca, kimyasal atık önleme çabasından ve organik çözücülerin çok düşük seviyelerde kullanımından dolayı çevre dostu olması, insan sağlığı açısından çok önemlidir.

Diğer mikroekstraksiyon çalışmasında, eritrosin boyar maddesinin zenginleştirilmesi için ısı ile uyarılan homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemin esası eritrosinin tuz ortamında, ısı yardımıyla siklohegzilamin ekstraksiyon çözücüsü fazına ekstraksiyonunu esas alır. Yöntemin çalışılan optimum parametre değerleri Çizelge 5.6' da verilmiştir.

Çizelge 5.6. Eritrosin boyar maddesinin ısı ile uyarılan homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyonu ile ayırma/zenginleştirme çalışmasında bulunan optimum parametre değerleri

Parametreler	Elde edilen optimum değerler
pH	5
Siklohegzilamin hacmi	350 µL
NaCl miktarı	1.4 g
Sıcaklık	70 C°
Isıtma süresi	8 dakika
Son hacim	400 µL
Örnek hacmi	15mL

Bu yöntemde analizler, 535 nm' de UV- Vis spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Eritrosinin ayırma/zenginleştirme çalışması için önerilen ısı ile uyarılan homojen sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yöntemi aşağıda sıralandığı üzere bazı avantajlara sahiptir.

- Eritrosin gıda katkı maddesinin (gıda boyası) tayini, kullanımı kolay ve ucuz UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.
- Yalnızca siklohegzilamin kullanılarak analit ekstrakte edilebilmiştir.
- Kullanılan ekstraksiyon çözücüsünün hacmi minimum düzeydedir.
- Mikro seviyelerde örnelemeye uygundur.
- Ekstraksiyon verimi oldukça iyidir.
- Çevre dostu bir yöntemdir.
- Yöntemin analitik performans değerlerinin oldukça iyi olmasıdır (Düşük gözlenebilme ve tayin sınırı, iyi tekrarlanabilirlik).
- Yüksek oranda seçicidir.

Eritrosinin gıdalarda, ilaçlarda, kozmetik ürünlerde vb. birçok alanda kullanım alanına sahip olmasından dolayı, bu sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yönteminin geliştirilmesi çok büyük öneme sahiptir. Çünkü eritrosin fazla tüketildiğinde oldukça toksik bir boyar madde özelliği göstermektedir. Bölüm 2.5.2' de anlatıldığı üzere sağlıklı hayvanlarda ve insanlarda günlük doz alımının toksik etki göstermemesi için, belirlenen konsantrasyonun üzerinde tüketilmemesi gerekmektedir. Bu tez çalışmasında, eritrosin içeren birkaç ilaç örneği ve kozmetik ürününe geliştirilen yöntem uygulanmış ve içerdikleri eritrosin miktarları hesaplanmıştır. Eritrosin içeren daha fazla ürün skalası bulunmasından dolayı, önerilen yöntem başka araştırmacılar için birçok örnekte eritrosin analizinde kullanılmak üzere rehber olabilecektir.

Bunun yanı sıra, siklohegzilaminin hem ekstraksiyon çözücüsü hem de kompleksleştirici reaktif özelliğine sahip olması, katyonik eser türlerin de zenginleştirilmesi çalışmalarına olanak sağlayabileceği düşünülmektedir (Sorouraddina ve ark, 2017).

Bakırın zenginleştirilmesi için geliştirilen manyetik katı faz mikroekstraksiyon yöntemi ise, manyetik özellik kazandırılmış ve pirokatekol violet ile doyurulmuş grafen oksit adsorban olarak kullanılması esasına dayanmaktadır. Yöntemin parametreleri optimize edilerek yöntem, çok farklı matris ortamlarındaki gerçek örneklerle kolaylıkla ve doğru bir şekilde uygulanabilmiştir. Optimum parametreler Çizelge 5.7' de gösterilmiştir.

Çizelge 5. 7. Bakırın pirokatekol violet ile doyurulmuş manyetik grafen oksit (PV-MGO) üzerinde katı faz mikroekstraksiyonu ile ayırma/zenginleştirme çalışmasında bulunan optimum parametre değerleri

Parametreler	Elde edilen optimum değerler
pH	5
Elüent	2 mL 2 M HNO ₃
Adsorpsiyon ve desorpsiyon süresi	1 dakika
Adsorban miktarı	50 mg
Örnek hacmi	40 mL
Son hacim	2 mL

Bakırın ayırma/zenginleştirme çalışması için önerilen manyetik katı faz mikroekstraksiyon yönteminin birçok açıdan avantajı vardır. Bu avantajlar;

- Yöntemin klasik katı faz ekstraksiyon metodlarına kıyasla oldukça basit olması
- Manyetik özellikteki adsorbanın çözelti ortamından herhangi bir işleme ihtiyaç olmadan, neodinyum mıknatıs kullanılarak çok kolay ve hızlı bir şekilde ayrılması
- Zenginleştirme işleminin çok kısa sürede gerçekleştirilebiliyor olması,
- Çok düşük miktarda adsorbanın tekrarlı kullanılabilir olması,
- Analizlerin AAS' de kolaylıkla yapılabilir olması,
- Düşük gözlenebilirlik ve tayin sınırına sahip olması,
- Geniş pH aralığında çalışılabilir olması şeklinde sıralanabilir.

Bakır, canlıların organizmalarında önemli görevlere sahip olmasından dolayı insan vücudu için gerekli elementler sınıfında yer almaktadır. Eksikliğinde bazı hastalıklara neden olurken, metabolizmada aşırı birikmesi durumunda ise toksik etki göstermektedir. Bu sebeple geliştirilen yöntemin gıda, su, toprak numunelerinde ve vitamin, sigara örneklerinde bakırın analizi için uygulanması çok büyük önem taşımaktadır.

Son çalışmada, kromun supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi kullanılarak UV-Vis spektrofotometresi ile tayini gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın esası, krom(VI) iyonunun 1,5 difenilkarbazit reaktifi ile asidik ortamda kompleks oluşturmasına dayanmaktadır. Geliştirilen yöntemin optimum parametre değerleri Çizelge 5.8' de listelenmiştir.

Çizelge 5. 8. Supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu ile kromun zenginleştirilmesi çalışmasında bulunan optimum parametre değerleri

Parametreler	Elde edilen optimum değerler
H ₂ SO ₄ konsantrasyonu	0.02 mol L ⁻¹
Dekanoik asit miktarı	200 mg
THF hacmi	700 µL
1,5 difenilkarbazit konsantrasyonu	1.25x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹
Örnek hacmi	20 mL
Son hacim	400 µL

Ayrıca, bu supramoleküler çözücü sıvı faz mikroekstraksiyonu yöntemi ile krom(III) ve krom(VI) iyonlarının türlendirilerek, çeşitli su örneklerinde spektrofotometrik tayinleri kolaylıkla gerçekleştirilebilmiştir.

Yöntem;

- Zenginleştirme faktörü, ekstraksiyon verimi gibi analitik performans değerlerinin iyi olmasının yanı sıra düşük gözlenebilme ve tayin sınırına sahip olması
- Düşük organik çözücü tüketimi sağlaması
- Çevre dostu olması
- Farklı analitik cihazlarla analiz imkânı sağlaması
- Krom(III) ve krom(VI) türlerinin tayininde kullanılabilir olması
- Basit ve ucuz olması gibi avantajlar sunmaktadır.

Önerilen yöntemin doğruluğunun, standart referans madde analizleri ve gerçek örneklere ekleme geri kazanım çalışmaları ile ispatlanması mikroekstraksiyonun uygulanabilirliğini arttırmıştır. Ayrıca, krom(VI) nın oldukça toksik olmasından dolayı farklı örneklerde analizi için farklı metodların geliştirilmesi gerekmektedir. Bu açıdan önerilen yöntem ile literatüre farklı formlardaki kromun analizine yol göstermesi açısından yeni bir çalışma kazandırılmıştır.

6. KAYNAKLAR

- Aaron, L.T., Waldack, A.J., Hansen, S.M. ve Jeannot, M.A., 2001. Headspace solvent microextraction. *Analytical Chemistry*, 73 (23), 5651- 5654.
- Abadi, M.D.M., Chamsaz, M., Arbab-Zavara, M.H. ve Shemiranib, F., 2013. Supramolecular dispersive liquid–liquid microextraction based solidification of floating organic drops for speciation and spectrophotometric determination of chromium in real samples. *Analytical Methods*, 5 (12), 2971-2977.
- Aggett, J. ve Sprott, A.J., 1974. Non-flame atomization in atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 72, 49-56.
- Al-Degs, Y.S., Abu-El-Halawa, R. ve Abu-Alrub, S.S., 2012. Analyzing adsorption data of erythrosine dye using principal component analysis. *Chemical Engineering Journal*, 191, 185-194.
- Allen, K. G. ve Klevay, L.M., 1994. Copper: an antioxidant nutrient for cardiovascular health. *Current Opinion in Lipidology*, 5 (1), 22-28.
- Alothman, Z.A., Unsal, Y.E., Habila, M., Shabaka, A., Tüzen, M. Ve Soylak, M., 2015. Determination of copper in food and water by dispersive liquid-liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry. *Analytical Letters*, 48(11), 1738-1750.
- Alver, E., Demirci, A., Özcimder, M., 2012. Microextraction Methods. *Journal of Engineering and Natural Sciences*, Sigma 30, 75-90. *Analytica Chimica Acta*. 585 (2), 286-293.
- Anastas, P.T., 1999. Green chemistry and the role of analytical methodology development. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 29 (3), 167-175.
- Anonim, 1994. European Parliament and Council Directive 94/36/EC of 30 June 1994 on colours for use in foodstuffs. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A31994L0036> (27.02.2019).
- Anonim, 2005. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1), ICH harmonised tripartite guideline, 17p., Switzerland.
- Anonim, 2014. Analitik Metodların Amaca Uygunluğu. https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_TR.pdf; (15.03.2019).
- Anonim, 2015. Enstrümental analiz. <http://content.lms.sabis.sakarya.edu.tr/Uploads/49147/39037/enstr%C3%BCmantal-uv-v%C4%B1s.pdf>; (05.02.2019).
- Anonim, 2019 a. Chemical reactions of the elements. <https://www.webelements.com/chromium/contents.html>; (14.01.2019).
- Apostol, L.C. ve Gavrilescu, M., 2013. Erythrosine B in the environment removal processes. *Food and Environment Safety*, 3, 253- 264.
- Asghari, A., Sharifzade, G. ve Rajabi, M., 2017. Highly effective adsorption of xanthene dyes (rhodamine B and erythrosine B) from aqueous solutions onto lemon citrus peel active carbon: characterization, resolving analysis, optimization and mechanistic studies. *RSC Adv.*, 7, 5362–5371.
- Arthur, C.L., ve Pawliszyn, J., 1990. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.*, 62(19), 2145-2148.
- Ayyat, M. S., Marai I. F. M. ve Alazab, A.M., 1965. Copper- protein nutrition of New Zealand white rabbits under Egyptian conditions. *World Rabbit Science*, 3 (3), 113-118.

- Bachmann, K., 1982. Separation of trace elements in solid samples by formation of volatile inorganic compounds. *Talanta*, 29 (1), 1-25.
- Ballesteros-Gomez, A., Scilia, M.D. ve Rubio, S., 2010. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review. *Analitica Chimica Acta*, 677 (2), 108-130.
- Baltussen, E., Sandra, P., David, F. ve Cramers, C., 1999. Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles. *Journal of Microcolumn Separations*, 11 (10), 737-747.
- Banat, I.M., Nigam, P., Singh, D. ve Marchant, R., 1996. Microbial decolorization of textile-dyecontaining effluents: A review. *Bioresource Technology*, 58 (3), 217-227.
- Barnett, W.B., Volier, J.W. ve De Nuzza, S.M., 1976. The application of RF electrodeless discharge lamps in atomic absorption. *Atomic Absorption Newsletter*, 5 (3), 15-33.
- Barnhart, J., 1997. Occurrences, uses, and properties of chromium. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 26 (1), S3-S7.
- Barwick, V.J. ve Prichard, E., 2011. *Eurachem Guide: Terminology in analytical measurement – Introduction to VIM 3*, Eurachem, ISBN 978-0-948926-29-7, UK.
- Bawa, S. ve Omairi, T., 2017. Bioremediation of Higher Amounts of Chromium (VI) by the Methane Oxidising Bacteria *Methylococcus capsulatus*". *EC Microbiology*, 12 (1), 02-07.
- Berijani, S., Sadigh, M. ve Pournamdari, E., 2016. Homogeneous liquid-liquid microextraction for determination of organophosphorus pesticides in environmental water samples prior to gas chromatography-flame photometric detection. *Journal of Chromatographic Science*, 54(6), 1-7.
- Bernard, A., 1997. Overview of Epidemiological Studies on The Carcinogenicity of Metals. *Carcinogenicity of Inorganic Substances: Risk from Occupational Exposure, Part 3*, Ed: I.J. Duffus. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 146-159.
- Biparva, P. ve Matin, A.A., 2012. Microextraction techniques as a sample preparation step for metal analysis. <https://www.intechopen.com/books/atomic-absorption-spectroscopy/microextraction-techniques-as-a-sample-preparation-step-for-metal-analysis>; (01.03.2019)
- Bjergaard, S.P. ve Rasmussen, K.E., 1999. Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 71 (14), 2650-2656
- Boga, A. ve Binokay, S., 2010. Food additives and effects to human health archives. *Medical Review Journal*, 19 (3), 141- 154.
- Borzelleca, J., Capen, C. ve Hallagan, J., 1987. Lifetime toxicity/carcinogenicity study of FD & C Red No. 3 (erythrosine) in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 25 (10), 723-733.
- Borzelleca, J.F. ve Hallagan, J.B., 1990. Multigeneration study of FD & C Red No. 3 (erythrosine) in sprague-dawley rats. *Food and Chemical Toxicology*, 28 (12), 813-819.
- Broadhurst, C.L. ve Domenico, P., 2006. Clinical studies on chromium picolinate supplementation in diabetes mellitus-- a review. *Diabetes Technology and Therapeutics*, 8 (6) 677-687.

- Buffle, J., 1981. Speciation of trace elements in natural waters. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 1(4), 90-95.
- Cal-Prieto, M.J., Sotelo, M.F., Carlosena, A., Andrade, J.M., Lo'pez-Mah'ia, P., Muniategui, S. ve Prada, D., 2002. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000. *Talanta*, 56 (1) 1-51.
- Chen, B. Heng, S., Peng, H., Hu, B., Yu, X., Zhang, Z., Pang, D., Yue, X. ve Zhu, Y., 2010. Magnetic solid phase microextraction on a microchip combined with electrothermal vaporization-inductively coupled plasma mass spectrometry for determination of Cd, Hg and Pb in cells. *Journal of Analytical. Atomic Spectrometry*, 25, 1931-1938.
- Chen, J., Li, C. ve Shi, G., 2013. An improved Hummers method for eco-friendly synthesis of graphene oxide. *Carbon*, 64, 225-229.
- Chenciner, R., 2000. *Mader Red: a History of Luxury and Trade*. Routledge Curzon Press, 384p, Richmond.
- Cheung, K.H. ve Ji-Dong, G., 2007. Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A previous review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 59 (1), 8-15.
- Churella, D.J. ve Copeland, T.R., 1978. Interference of salt matrices in the determination of copper by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization. *Analytical Chemistry*, 50 (2), 309-314.
- Çağlar, Y. ve Saka, E.T., 2017. Ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction procedure for the spectrophotometric determination of copper using 3-dimethylamino rhodanine as a chelating agent in natural waters. *Karbala International Journal of Modern Science*, 3 (4), 185-190.
- Dadfarnia, S. ve Haji Shabani, A.M., 2010. Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals—A review. *Analytica Chimica Acta*, 658 (2), 107-119.
- Dadfarnia, S., Shakerian F. ve Haji A.M., 2013. Suspended nanoparticles in surfactant media as a microextraction technique for simultaneous separation and preconcentration of cobalt, nickel and copper ions for electrothermal atomic absorption spectrometry determination. *Talanta*, 106, 150-154.
- De Carvalho, J.F., De Medeiros, S.N., Morales, M.A., Dantas, A.L. ve Carriço, A.S., 2013. Synthesis of magnetite nanoparticles by high energy ball milling. *Applied Surface Science*, 275, 84-87.
- Dehghan-Abkenar, S., Saeedi, S., Bagheri Sadeghi, H., Hosseini, M., Salavati-Niasari, M. ve Jamali, M.R., 2010. Homogeneous liquid-liquid extraction for the preconcentration of copper using a new schiff base and determination in water samples by flame atomic absorption spectrometry. *Journal of Applied Chemical Research*, 13, 90-101.
- Dikicioğlu, R., Karabaş, M., Kula, İ. ve Vaizoğullar, A.İ., 2016. Assessing of As(III) and total inorganic arsenic (IAs) in water samples collected from Muğla (Turkey) province using hydride generation-atomic absorption spectrometry. *Mugla Journal of Science and Technology*, 2 (2), 160-165.
- Doğan, M. ve Soylak, M. 2000. *Su Kimyası*, Erciyes Üniversitesi Yayınları, No:120, 206s, Kayseri.

- Duran, A., 2010. AAS ile Tayin Öncesi Bazı Ağır Metallerin Zenginleştirilmesi ve Türleştirmesi. (Doktora Tezi), Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- El-Khodary, A.S., El-Enany, G.M., El-Okr, M. ve Ibrahim, M., 2014. Preparation and characterization of microwave reduced graphite oxide for high-performance supercapacitors. *Electrochimica Acta*, 150, 269-278.
- Erden, Ç. ve Çalışkan, N., 2003. Food additives and effects to human health, *Journal of Faculty of Pharmacy*, 32 (3), 193-206.
- Fan, Z. ve Liu, Xi., 2008. Determination of methylmercury and phenylmercury in water samples by liquid-liquid-liquid microextraction coupled with capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1180 (1-2) 187-192.
- Farajzadeh, M.A. ve Yadeghari, A., 2018. Extraction and preconcentration of nickel, cadmium, cobalt, and lead cations using dispersive solid phase extraction performed in a narrow-bore tube. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 59, 377-387.
- Florence, T.M., 1982. The speciation of trace elements in waters. *Talanta*, 29 (5), 345-368.
- Gardner, D.F., Utiger, R.D., Schwartz, S.L., Witorsch, P. ve Meyers, B., 1987. Effects of oral erythrosine (29,49,59,79-tetraiodofluorescein) on thyroid-function in normal men. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 91, 299-304.
- Garg, V.K., Kumar, R. ve Gupta, R., 2004. Removal of malachite green dye from aqueous solution by adsorption using agro-industry waste: a case study of *Prosopis cineraria*. *Dyes and Pigments*, 62 (1), 1-10.
- Gemeay, A.H., 2002. Kinetics and mechanism of the reduction of some azo-dyes by inorganic oxysulfur compounds. *Dyes and Pigments*, 54 (3), 201-212.
- Gibb, H.J., Lees, P.S.J, Pinsky, P.F. ve Rooney, B., 2000. Lung cancer among workers in chromium chemical production. *American Journal of Industrial Medicine*, 38 (2), 115-126.
- Goudarzi, N., Chamjangali, M.A., Vatankhahan, E., ve Amin, A.H., 2014. Suspended droplet solvent microextraction-flame atomic absorption spectrometry (SDSME- FAAS) determination of trace amounts of copper in river and sea water samples. *Journal of Analytical Chemistry*, 69 (11), 1061-1065.
- Gupta, V.K., Mittal, A., Kurup, L. ve Mittal, J., 2006. Adsorption of a hazardous dye, erythrosine, over hen feathers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 304 (1), 52- 57.
- Habila, M.A., Alothman, Z.A., El-Toni, A.M., Labis, J.P. ve Soylak, M., 2016. Synthesis and application of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{TiO}_2$ for photocatalytic decomposition of organic matrix simultaneously with magnetic solid phase extraction of heavy metals prior to ICP-MS analysis. *Talanta*, 154, 539-547.
- Hawley, C. ve Buckley, R.E., 1976. Hyperkinesia and Sensitivity to the aniline food dyes. *Journal of Orthomolecular Psychiatry*, 5 (2), 129-137.
- He, Z.L., Yang, X.E. ve Stoffellab, P.J., 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19 (2-3), 125-140.
- Henry, F., Amara, R., Courcot, L., Lacouture, D. ve Bertho, M.L., 2004. Heavy metals in four fish species from the French coast of the Eastern English Channel and Southern Bight of the North Sea. *Environment International*, 30 (5), 675-683.

- Herrero-Latorre, C., Barciela-García, J., García-Martín, S., Pena-Crecente, R.M. ve Otarola-Jimenez, J., 2015. Magnetic solid-phase extraction using carbon nanotubes as sorbents: A review. *Analitica Chimica Acta*, 892, 10-26.
- Hunt, C.E., ve Carlton, W.W., 1965. Cardiovascular lesions associated with experimental copper deficiency in the rabbit. *Journal of Nutrition*, 87 (4), 385-394.
- Ibrahim, M., Poonam, N., Datel, S. ve Roger, M., 1996. Microbial decolorization of textile-dyecontaining effluents: A review. *Bioresource Technology*, 58 (3), 217-227.
- Inyinbor, A.A., Adekola, F.A. ve Olantunji, G.A., 2015. Adsorption of rhodamine B dye from aqueous solution on *Irvingia gabonensis* biomass: Kinetics and thermodynamics studies. *S.Afr.J.Chem.*, 68, 115-125.
- Jackson, W.K., 1999. *Electrothermal Atomization for Analytical Atomic Spectrometry*, John Wiley&Sons press, 484p, New York, USA.
- Jain, R., Mathur, M., Sikarwar, S. ve Mittal A., 2006. Removal of the hazardous dye rhodamine B through photocatalytic and adsorption treatments. *Journal of Environmental Management*, 85 (4), 956-964.
- Jeannot, M.A. ve Cantwell, F.F., 1996. Solvent microextraction into a single drop. *Analitica Chimica Acta*, 68 (13), 2236-2240.
- Jeannot, M.A., Przyjazny, A. ve Kokosac, J.M., 2010. Single drop microextraction—Development, applications and future trends. *Journal of Chromatography A*, 1217 (16), 2326-2336.
- Karataş, C., ve Kara, D., 2017. Dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic drop for preconcentration and determination of trace amounts of copper by flame atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 220, 242-248.
- Kataoka, H., Lord, H.L ve Pawliszyn, J., 2000. Applications of solid phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 880 (1-2), 35-62.
- Kaur, A. ve Gupta, U., 2012. Simultaneous spectrophotometric determination of eosin and erythrosine with Cr(VI) reagent in micellar media using mean centering of ratio spectra. *Chemical Science Transactions*, 1 (2), 424-430.
- Kawaguchi, M., Ito, R. Saito, K. ve Nakazawa, H., 2006. Novel stir bar sorptive extraction methods for environmental and biomedical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40 (3), 500-508.
- Kaya-Dalcı, B., 2014. *Sulu Örneklerde Eser Düzeydeki Ağır Metal İyonlarının Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile Tayini İçin Katılaştırılmış Yüzen Organik Damla Mikroekstraksiyon Tekniği ile Önderiştirilmesi*. (Y.Lisans Tezi), Hacettepe Üniversitesi, Kimya ABD, Ankara.
- Khalili Zanjani M.R., Yamini, Y., Shariati, S. ve Jönsson, J.A., 2007. A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop. *Analytica Chimica Acta*, 585 (2), 286-293.
- Khan, M., Yılmaz, E. ve Soylak, M., 2017. Supramolecular solvent microextraction of uranium at trace levels from water and soil samples. *Turk Journal of Chemistry*, 41, 61-69.
- Khan, M., Yılmaz, E., Sevinç, B., Şahmetlioğlu, E., Shah, J., Jan, MR. ve Soylak, M., 2016. Preparation and characterization of magnetic allylamine modified graphene oxide-poly(vinyl acetate-co-divinylbenzene) nanocomposite for vortex

- assisted magnetic solid phase extraction of some metal ions. *Talanta*, 146, 130-137.
- Khanna S.K. ve Das, M., 1991. Toxicity, carcinogenic potential and clinicoepidemiological studies on dyes and dye intermediates. *Journal of Science and Industrial Research*, 50, 965-74.
- Khayatian, G., ve Hassanpoor, S., 2013. Development of ultrasound-assisted emulsification solidified floating organic drop microextraction for determination of trace amounts of iron and copper in water, food and rock samples. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 10, 113-121.
- Kiel, E.G. ve Heertjes, P.M., 1963. Metal complexes of alizarin 1- the structure of the calcium- aluminium lake of alizarin. *Journal of the Society of Dyers and Colourist*, 79 (1), 21-27.
- Klevay, L.M., 2000. Cardiovascular disease from copper deficiency- A history. *The Journal of Nutrition*, 130 (2), 489-492.
- Klevay, L.M., Milne, D.B. ve Wallwork, J.C., 1985. Comparison of some indices of copper deficiency in growing rats. *Nutrition reports international*, 31(4) 963-971.
- Koel, M. ve Kaljurand, M., 2006. Application of the principles of green chemistry in analytical chemistry. *Pure and Applied Chemistry*, 78 (11), 1993-2002.
- Kokosa, J.M., 2013. Advances in solventmicroextraction techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 43, 2-13.
- Kornbrust, D. ve Barfknecht, T., 1985. Testing of 24 food, drug, cosmetic, and fabric dyes in the in vitro and the in vivo/in vitro rat hepatocyte primary culture/DNA repair assays. *Environmental Mutagenesis*, 7 (1), 101-120.
- Kozani, R.R., Assadi, Y., Shemirani, F., Milani-Hosseini, M.R. ve Jamali, M.R., 2007. Determination of trihalomethanes in drinking water by dispersive liquid-liquid microextraction then gas chromatography with electron-capture detection. *Chromatographia*, 66 (1-2), 81-86.
- Krishna, P.G., Gladis, J.M., Rambabu U., Rao, T.P. ve Naidu, G.R.K., 2004. Pre-concentrative separation of chromium(VI) species from chromium(III) by coprecipitation of its ethyl xanthate complex onto naphthalene. *Talanta*, 63 (3), 541-546.
- Kucharskaa, M. ve Grabka, J., 2010. A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes. *Talanta*, 80 (3), 1045-1051.
- Kundig, K.J.A. ve Cowie, J.G., 2006. *Copper and Copper Alloys: Mechanical Engineers' Handbook*. Wiley Interscience Press, 1360s, New Jersey, USA.
- L'vov, B.V, 1969. The potentialities of the graphite crucible method in atomic absorption spectroscopy. *Spectrochim. Acta*, 24 (1), 53-56.
- Langhals, H., 2004. *Color Chemistry. Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*. 3rd, ed: Zollinger, H., Wiley- VCH, 454p, Switzerland.
- Li, X.Y., Li, M., Chen, Q.F., Wei, S.Y., Luo, Y. ve Tong, H.J., 2011. Determination of rhodamine B in red wine by solid phase extraction- high performance liquid chromatography. *Food Science*, 32, 238-242.
- Li, Y., Zhang, T., ve Liang, P., 2005. Application of continuous-flow liquid-phase microextraction to the analysis of volatile halohydrocarbons in water. *Analytica Chimica Acta*, 536(1), 245-249.
- Lincon, J.C., 1999. Geology and mineralogy, applications of atomic spectroscopy. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, 3rd, Ed: Tranter, G.,J., Lindon, J., Koppenal, D. Academic Press, New York, 667-668.

- Lipowsky, H. ve Arpacı, E., 2007. Copper in the Automotive Industry. Wiley Interscience Press, 170s, New Jersey, USA.
- Liu, H., ve Dasgupta, P.K., 1996. Analytical chemistry in a drop. Solvent extraction in a microdrop. *Analytical Chemistry*, 68(11), 1817-1821.
- Liu, S. ve Dasgupta, P.K., 1995. Liquid Droplet. A renewable gas sampling interface. *Analytical Chemistry*, 67 (13), 2042-2049.
- Liu, Y., Hashi, Y. ve Lin, J.M., 2007. Continuous-flow microextraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in water. *Analytica Chimica Acta*, 585 (2), 294-299.
- Ma, M. ve Cnatwell, F.F., 1999. Solvent microextraction with simultaneous back-extraction for sample cleanup and preconcentration: Quantitative extraction. *Analytical Chemistry*, 71 (2), 388-393.
- Mahugo-Santana, C., Sosa-Ferrera, Z., Torres-Padron, M.E. ve Santana-Rodríguez, J.J., 2011. Application of new approaches to liquid-phase microextraction for the determination of emerging pollutants. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30 (5), 731-748.
- Marco, A.B., Rechelo, B.S., Totoli, E.G., Kogawa, C. ve Salgado, H.R.N., 2019. Evolution of green chemistry and its multidimensional impacts: A review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27 (1), 1-8.
- Martin, M.I., Lopez, F.A., Lopez-Delgado, A.C. ve Perez, F.J., 2003. Possibilities of using steelmaking industry residues in the removal of metals from liquid effluents. *Rev. Metal. Madrid*, 40 (5), 324-328.
- Martínez-Mera, I., Espinosa-Pesqueira, M.E., Pérez-Hernández, R. ve Arenas-Alatorre, J., 2007. Synthesis of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles without surfactants at room temperature. *Materials. Letters*, 61 (23), 4447-4451.
- McCurdy, D.L. ve Sibakoti, T.R., 2011. Hydride Generation Atomic Absorption Spectrophotometry (HGAAS) for the Determination of Lead (Pb). Truman State University, 9p, Kirksville, Missouri.
- McGregor, D.B., Brown, A.G., Howgate, S., McBride, D., Riach, C. ve Caspary, W.J., 1991. Responses of the L5178Y mouse lymphoma cell forward mutation assay. V: 27 coded chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 17 (3), 196-219.
- Menditto, A., Patriarca, M. ve Magnusson, B. 2006. Understanding the meaning of accuracy, trueness and precision. *Accreditation and Quality Assurance*, 12 (1), 45-47.
- Metin, E., 2009. Kimyasal Çöktürme Çamurlarının Organik Madde Adsorpsiyonunda Kullanımı. (Y. Lisans Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Michalke, B., ve Caroli, S., 2013. Speciation of the trace elements. *Essential of Medical Geology*, 611-632.
- Moghadam, M.R., Dadfarnia, S. ve Shabani, A.M. H., 2011. Speciation and determination of ultra trace amounts of chromium by solidified floating organic drop microextraction (SFODME) and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal Hazardous Materials*, 186 (1), 169-74.
- Moghimi, A., Yarı, M. ve Fakhari, S., 2016. Preparation of modified magnetic nano-Fe₃O₄ chitosan/ graphene oxide for the preconcentration and determination of copper (II) ions in biological and environmental water samples prior to flame

- atomic absorption spectrometry. *Oriental Journal of Chemistry*, 32 (3), 1659-1669.
- Moghimi, A., 2007. Preconcentration and determination of trace amounts of heavy metals in water samples using membrane disk and flame atomic absorption spectrometry. *Chinese Journal of Chemistry*, 25, 640-644.
- Moghimi, A., 2013. Solid phase extraction of trace amount of Cu(II) using functionalized- graphene. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 87 (11), 1851-1858.
- Nagaraja, R., Kottam, N., Girija, C.R. ve Nagabhushana, B.M., 2012. Photocatalytic degradation of Rhodamine B dye under UV/solar light using ZnO nanopowder synthesized by solution combustion route. *Powder Technology*, 215-216, 91-97.
- Namasivayam, C., Kavitha, D., 2002. Removal of Congo Red from water by adsorption onto activated carbon prepared from coir pith, an agricultural solid waste. *Dyes and Pigments*, 54 (1), 47-58.
- Nambiar, A.P., Sanyal, M., ve Shrivastav, P.S., 2017. Performance evaluation and thermodynamic studies for the simultaneous cloud point extraction of erythrosine and tartrazine using mixed micelles in food samples. *Food Analytical Methods*, 10(10), 3471-3480.
- Namiesnik, J., 1999. Pro-ecological education. *Environmental Science and Pollution Research*, 6 (4), 243-244.
- Narin, İ., Kars, A. ve Soylak, M., 2008. A novel solid phase extraction procedure on Amberlite XAD-1180 for speciation of Cr(III), Cr(VI) and total chromium in environmental and pharmaceutical samples. *Journal of Hazardous Materials*, 150 (2), 453-458.
- Narin, İ., Sürme, Y., Soylak, M. ve Doğan, M., 2006. Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in environmental samples by solid phase extraction on Ambersorb 563 resin. *Journal of Hazardous Materials*, 136 (3), 579-584.
- Narin, İ., Tüzen, M. ve Soylak, M., 2004. Aluminium determination in environmental samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after solid phase extraction on Amberlite XAD-1180/pyrocatechol violet chelating resin. *Talanta*, 63 (2), 411-418.
- Nayak, D.S., Shetti, N.P. ve Katrahalli, U., 2015. Electrochemical behavior of xanthene food dye erythrosine at glassy carbon electrode and its analytical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Clinical Research*, 8 (4), 125-129.
- Nayebi, P. ve Moghimi. A., 2006. Preconcentration and determination of copper (II) by 1-(2-Pyridyl Azo) 2-Naphthol (PAN) modified octadecyl silica. *Oriental Journal of Chemistry*, 22 (3), 507-512.
- Noroozifar, M. ve Khorasani-Motlagh, M., 2003. Specific extraction of chromium as tetra-butylammonium-chromate and spectrophotometric determination by diphenylcarbazide: Speciation of chromium in effluent streams. *Analytical Science*, 19 (5), 705-708.
- Onchoke, K.K. ve Sasu, S.A., 2016. Determination of hexavalent chromium (Cr(VI)) concentrations via Ion chromatography and UV-vis spectrophotometry in samples collected from Nacogdoches wastewater treatment plant, East Texas (USA). *Advances in Environmental Chemistry*, 1-10.
- Ouejhani, A., Dachraoui, M., Lalleve, G. ve Fauvarque, J.F., 2003. Hexavalent chromium recovery by liquid-liquid extraction with tributylphosphate from acidic chloride media. *Analytical Science*, 19 (11), 1499-1504.

- Özgat, D., 2009. Bazı Gıda Maddelerinde Ambalaj Malzemesinden Kaynaklanan Eser Metal Kirliliğinin Araştırılması. (Y. Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Özkantar, N., Soylak, M. ve Tüzen, M., 2017. Spectrophotometric detection of rhodamine B in tap water, lipstick, rouge, and nail polish samples after supramolecular solvent microextraction. *Turk Journal of Chemistry*, 41, 987-994.
- Pan, S.D., Zhou, L.X., Zhao, Y.G., Chen, X.E., Shen, H.Y., Cai, M.Q. ve Jin, M.C., 2014. Amine-functional magnetic polymer modified graphene oxide as 2 magnetic solid-phase extraction materials combined with liquid 3 chromatography-tandem mass spectrometry for chlorophenols 4 analysis in environmental water. *Journal of Chromatography A*, 1362, 34-42.
- Parviz, R. ve Honari, M., 2016. Solidified floating organic drop micro-extraction (SFODME) for simultaneous separation/pre-concentration and determination of cadmium by atomic absorption spectroscopy. *Bulgarian Chemical Communications*, 48 (D), 43-50.
- Patel, K., Mehta, P., Sahoo, U., Sen, A.K. ve Dhanya, B., 2010. A Single Drop Microextraction and Future Trends . *International Journal of ChemTech Research*, 2 (3), 1638-1652.
- Phipps DA., 1981. Effect of Heavy Metal Pollution on Plants: Chemistry and biochemistry of trace metals in biological systems. Liverpool Politechnic University Press, 342 p, UK.
- Przyjazny, A. ve Kokosa, J. ve Jeannot, M., 2009. Solvent Microextraction: Theory and Jhon Wiley&Sons Press, 344p, Flint, USA.
- Przyjazny, A. ve Kokosa, J., 2002. Analytical characteristics of the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in water by headspace solvent microextraction. *Journal of Chromatography A*, 977 (2), 143-153.
- Przyjazny, A. ve Kokosa, J., 2003. Headspace microdrop analysis—an alternative test method for gasoline diluent and benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in used engine oils. *Journal of Chromatography A*, 983, 205-214.
- Quevauviller, P., 1998, Method Performance Studies for Speciation Analysis. The Royal Society of Chemistry, 272 p, Cambridge, UK.
- Rafii, F., Hall, J.D. ve Cerniglia, E.D., 1997. Mutagenicity of azo dyes used in foods, drugs and cosmetics before and after reduction by Clostridium species from the human intestinal tract. *Food Chemical Toxicology*, 35 (9), 897-901.
- Rajabi, A.A., Yamini, Y., Faraji, M. ve Seidi, S., 2013. Solid-phase microextraction based on cetyltrimethylammonium bromide-coated magnetic nanoparticles for determination of antidepressants from biological fluids. *Medicinal Chemistry Research*, 22 (4), 1570-1577.
- Ravikumar K., Deebika, B. ve Balu, K., 2005. Decolourization of aqueous dye solutions by a novel adsorbent: application of statistical designs and surface plots for the optimization and regression analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 122 (1-2), 75- 83.
- Rezaee, M., Assadi, Y., Milani-Hosseini, M.R., Aghaee, E., Ahmadi, F. ve Berijani, S., 2006. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1116 (1-2), 1-9.

- Risticevic, S., Niri, V.H., Vuckovic, D. ve Pawliszyn, J., 2009. Recent developments in solid-phase microextraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393 (3), 781-795.
- Ross, W.J. ve White, J.C., 1961. Application of pyrocatechol violet as a colorimetric reagent for tin. *Analytical Chemistry*, 33 (3), 421-424.
- Ruiz, F.J., Rubio, S. ve Pe´rez-Bendito, D., 2006. Tetrabutylammonium-induced coacervation in vesicular solutions of alkyl carboxylic acids for the extraction of organic compounds. *Analytical Chemistry*, 78 (20), 7229-7239.
- Ruiz, F.J., Rubio, S. ve Pe´rez-Bendito, D., 2007. Water-induced coacervation of alkyl carboxylic acid reverse micelles: phenomenon description and potential for the extraction of organic compounds. *Analytical Chemistry*, 79 (19), 7473-7484.
- Ryvolova, M., Taborsky, P., Vrabel, P., Krasensky, P. ve Preisler, J., 2007. Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1141(2), 206-211.
- Saatcı, D., 2011. Eser Elementlerin Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile Tayininde Modifiye Edilmiş Nono Malzemelerle Ayrılması ve Zenginleştirilmesi. (Doktora Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Safarikov, M. ve Safarik, I., 1999. Magnetic solid-phase extraction. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 194, 108-112.
- Santos, J.S., Brizola, V. R. A. ve Granato, D., 2014. High-throughput assay comparison and standardization for metal chelating capacity screening: A proposal and application. *Food Chemistry*, 515- 522.
- Sarafraz Yazdi, A. ve Amiri, A., 2010. Liquid- phase microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29 (1), 1-14.
- Saraji, M. ve Boroujeni, M.K., 2014. Recent developments in dispersive liquid–liquid microextraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406 (8), 2027-2066.
- Sasaki, Y.F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniguchi, K. ve Tsuda, S., 2002. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutation Research/ Genetic Toxicology Environmental Mutagenesis*, 519 (1-2), 103-119.
- Shahvandi, S.K., Banitaba, M.H. ve Ahmar, H., 2018. Development of a new pH assisted homogeneous liquid-liquid microextraction by a solvent with switchable hydrophilicity: Application for GC-MS determination of methamphetamine. *Talanta*, 184, 103-108.
- Shanker, A.K. ve Venkateswarlu, B., 2011. Chromium: Environmental pollution, health effects and mode of action. *Encyclopedia of Environmental Health*, 650-659.
- Shen, J., Hu, Y., Shi, M., Li, N., Ma, H., ve Ye, M., 2010. One Step Synthesis of Graphene Oxide–Magnetic Nanoparticle Composite. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(3), 1498-1503.
- Shen, Y., Zhang, X., Prinyawiwatkul, W. ve Xu, Z., 2014. Simultaneous determination of red and yellow artificial food colourants and carotenoid pigments in food products. *Food Chemistry*, 157, 553-558.
- Shokrollahi, A. ve Zarghampour, F., 2016. Determination of erythrosine in food samples by CPE-scanometry as a new method and comparison with spectrophotometric results. *Analytical and Bioanalytical Chemistry Research*, 3 (2), 159-168.

- Shokrollahi, A., Pili, H.B. ve Doust, K.H., 2017. Microspectrophotometric determination of erythrosine in beverage and water samples after ultrasonic assisted supramolecular-based dispersion solidification liquid-liquid microextraction. *Journal of Analytical Chemistry*, 72 (6), 617- 623.
- Skudra, A., Revalde, G., Denisova, N. ve Zorina, N., 2007. Study of electrodeless discharge lamp properties and plasma/wall interaction. *Plasma Processes and Polymers*, 4(1), 1026-1029.
- Sorouraddina, S.M., Farajzadeha, M.Z. ve Okhravia, T., 2017. Cyclohexylamine as extraction solvent and chelating agent in extraction and preconcentration of some heavy metals in aqueous samples based on heatinduced homogeneous liquid-liquid extraction. *Talanta*, 175, 359- 365.
- Soylak, M., Acar, D., Yılmaz, E., El-Khodary, S.A. ve Ibrahim, M., 2017. Magnetic graphene oxide as an efficient adsorbent for the separation and preconcentration of Cu(II), Pb(II), and Cd(II) from environmental samples. *Journal of AOAC International*, 100 (5), 1544-1550.
- Söğüt- Ertaş, Ö. ve Kayalı, A., 2005. An overview on analytical method validation. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 34 (1), 41-57.
- Spieteluna, A., Marcinkowskia, L., Guardiab, M. ve Namienika, J., 2014. Green aspects, developments and perspectives of liquid phase microextraction techniques. *Talanta*, 119, 34-45.
- Stancheva, K.A., Bogdanov, B.I., Georgiev, D.P., Hristov, Y.H. ve Markovska, I.G., 2013. Spectrophotometric determination of hexavalent chromium content in commercial cement – an assessment of the optimal conditions for the analysis of chromium (VI). *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 8 (1), 10-16.
- Sturgeon, R.E., Willie, S.N. ve Bermani S., 1985. Hydride generation-atomic absorption determination of antimony in seawater with in situ concentration in a graphite furnace. *Analytical Chemistry*, 57, 2311-2314.
- Su, X., Li, X., Li, J., Liu, M., Lei, F., Tan, X., Li, P. ve Luo, W., 2015. Synthesis and characterization of core-shell magnetic molecularly imprinted polymers for solid-phase extract ion and determination of Rhodamine B in food. *Food Chemistry*, 171, 292-297.
- Sudo, T. ve Igarashi, S., 1996. Homogeneous liquid-liquid extraction method for spectrofluorimetric determination of chlorophyll. *Talanta*, 43 (2), 233-237.
- Sulistyaningrum, I., Putri, M., Utamia, G., Istiningruma, R.B. ve Siregar, I.M., 2015. Comparison between the calibration and the standard addition methods in determining dissolved lead in Borobudur's control tanks water by flame atomic absorption spectrophotometry (F-AAS). *Procedia Chemistry*, 17, 70-74.
- Svanberg, S., 2001. *Atomic and Molecular Spectroscopy: Basic Aspects and Practical Applications*. Springer Press, 349p, Sweden.
- Şahin, Ç.A. ve Durukan, İ., 2011. Ligandless-solidified floating organic drop microextraction method for the preconcentration of trace amount of cadmium in water samples. *Talanta*, 85(1), 657-661.
- Tajalli, H., Ghanadzadeh, A.G., Gilani, Zakerhamidi, M.S. ve Moghadam, M. 2009. Effects of surfactants on the molecular aggregation of rhodamine dyes in aqueous solutions. *Spectrochimica Acta Part A* 72, 697–702.
- Tarley, C.R.T., Rodrigues, T.M., Gorla, F.A., Germiniano, T.O., Alves, J.C., Inagaki, C.S., Paschoal, V.H., Alfaya, A.A.S., ve Segatelli, M.G., 2014. Analytical

- performance of new mixed oxide (SiO₂/TiO₂/ZnO)-based sorbent for development of a reliable mechanized enrichment system for copper determination in water and food samples. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 25 (11), 2054-2062.
- Tavakoli, L., Yamini, Y., Ebrahimzadeh, H. ve Shariati, S., 2008. Homogeneous liquid–liquid extraction for preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons using a water/methanol/chloroform ternary component system. *Journal of Chromatography A*, 1196-1197, 133-138.
- Tehrani, M.S., Ebrahimi, A.A. ve Rastegar, F., 2004. Chromium speciation by surfactant assisted solid-phase extraction and flame atomic absorption spectrometric detection. *Annali di Chimica*, 94 (5-6), 429-435.
- Thongsaw, A., Sananmuang, R., Ross, G.M. ve Chaiyasith, W.C., 2017. Solidified floating organic drop microextraction– electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of trace amounts of lead in water samples. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 21 (1), 72-81.
- Threeprom, J., Purachaka, S. ve Potipan, L., 2005. Simultaneous determination of Cr(III)–EDTA and Cr(VI) by ion interaction chromatography using a C18 column. *Journal of Chromatography A*, 1073 (1-2), 291-295.
- Tobiszewski, M., Mechlińska, A., Zygmunt, B. ve Namiesnik, J., 2009. Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28 (8), 943-951.
- Tonglairoum, P., Theerasak, R., Tanasait, N., Prasert, A., Ruchadaporn, K. ve Praneet, O., 2017. Erythrosine incorporated fast-dissolving patches for dental plaque disclosing. *Advances in Pharmacology and Pharmacy*, 5 (1), 12- 19.
- Topuz, B. ve Adanur, Ş.M., 2017. A new method for simultaneous determination of trace amounts of Cu(II) and Ni(II) ions by preconcentration and spectrophotometric analysis. *Turkish Journal of Chemistry*, 41, 619-629.
- Tripathi, R.M., Raghunath, R., Kumar, A.V. ve Krishnamoorthy, T.M., 1998. Intake of chromium by the adult population of Mumbai city. *Environmental Monitoring and Assessment*, 53 (2), 379-389.
- Tunçeli, A. ve Türker, A.R., 2002. Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in water after preconcentration of its 1,5-diphenylcarbazone complex on amberlite XAD-16 resin and determination by FAAS. *Talanta*, 57(6), 1199-1204.
- Tüzen, M. ve Soylak, M., 2006. Chromium speciation in environmental samples by solid phase extraction on Chromosorb 108. *Journal of Hazardous Materials*, 129 (1-3), 266-273.
- Uçar, B., 2009. *Tekstil Atık Sularındaki Reaktif Boyaların Farklı Katı Atıklar Kullanılarak Adsorpsiyonla Giderimi. (Y. lisans tezi), Ankara Üniversitesi. Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara.*
- Underwood, E.J., 1997. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. Academic Press, 560p, New York.
- Ünsal, Y.E., Soylak, M. ve Tüzen, M., 2015. Dispersive liquid–liquid microextraction–spectrophotometry combination for determination of rhodamine B in food, water, and environmental samples. *Desalination and Water Treatment*, 55 (8), 2103-2108.
- Ünsal, Y.E., Soylak, M., ve Tuzen, M., 2014. Spectrophotometric Detection of Rhodamine B after Separation-Enrichment by Using Multi-walled Carbon Nanotubes. *Journal of AOAC International*, 97, 1459-62.

- Vessman, J., Stefan, R.I., Staden, J.F.V., Danzer, K., Lindner, W., Burn, D.T., Fajgeli, A. ve Müller, H., 2001. Selectivity in analytical chemistry. *Pure and Applied Chemistry*, 73 (8), 1381-1386.
- Vural, A., Gündoğdu, A., Akpınar, I. ve Baltacı, C., 2017. Environmental impact of Gümüşhane City, Turkey, waste area in terms of heavy metal pollution. *Natural Hazards*, 88 (2), 867-890.
- Wachasunder, S.D. ve Nafade, A., 2001. Precision and accuracy control in the determination of heavy metals by atomic absorption spectrometry. *International Journal of Environmental Studies*, 58 (4), 517-528.
- Wada, O., 2004. What are Trace Elements?-Their deficiency and excess states-. *JMAJ*, 47(8), 351-358.
- Wang, J. ve Xue, B., 2006. Sequential injection analysis for Cr(VI) and Cr(III) with renewable surface reflection spectrophotometry. *Analytical Sciences*, 22 (9), 1233-1236.
- Webber J., 1981. Effect of Heavy Metal Pollution on Plants: Metals in the environment. Liverpool Politechnic University Press, 342 p, UK.
- Wei, X.S., Wu, Y.W., Han, L.J., Wei, X.S., Wu, Y.W. ve Han, L.J., 2015. Determination of lead and cadmium in water and pharmaceutical products by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with preconcentration by thiourea immobilized silica. *Analytical Letters*, 48(6), 996-1008.
- Wierucka, M. ve Biziuk, M., 2014. Application of magnetic nanoparticles for magnetic solid-phase extraction in preparing biological, environmental and food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 59, 50-58.
- Wong, H.D. ve Kwon, I., 2011. Xanthene food dye, as a modulator of alzheimer's disease amyloid-beta peptide aggregation and the associated impaired neuronal cell function. *Pone Journals*, 6 (10), 813-819.
- Wu, H., Guo, J.B., Du, L.M., Tian, H., Hao, C.X, Wang, Z.F. ve Wang, J.Y., 2013. A rapid shaking-based ionic liquid dispersive liquid phase microextraction for the simultaneous determination of six synthetic food colourants in soft drinks, sugar- and gelatin-based confectionery by high-performance liquid chromatography. *Food chemistry*, 141 (1), 182-186.
- Wu, J., Fu, H. ve Zhu, X., 2014. Separation/analysis rhodamine B by anion surfactant/ionic liquid aqueous two- phase systems coupled with ultraviolet spectrometry. *Scientific Research*, 2014, 2 (3), 17-25.
- Wu, J., Fu, H. ve Zhu, X., 2014. Separation/analysis rhodamine B by anion surfactant/ionic liquid aqueous two-phase systems coupled with ultraviolet spectrometry. *Detection*, 2 (3), 17-25.
- Wu, Z.L., Liu, Q., Chen, X.Q. ve Yu, J.G., 2015. Preconcentration and analysis of Rhodamine B in water and red wine samples by using magnesium hydroxide/carbon nanotube composites as a solid-phase extractant. *Journal of Separation Science*, 38 (19), 3404-3411.
- Xu, L., Basheer, C. ve Lee, H.K., 2007. Developments in single-drop microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1152 (1-2), 184-192.
- Yazdanfar, N., Yamini, Y. ve Ghambarian, M., 2014. Homogeneous liquid-liquid microextraction for determination of organochlorine pesticides in water and fruit samples. *Chromatographia*, 77, 329-336.
- Yazdi, A.S., 2011. Surfactant-based extraction methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30 (6), 918-929.

- Yazdi, A.S., Mofazzeli, F. ve Es'haghi, Z., 2009. Determination of 3-nitroaniline in water samples by directly suspended droplet three-phase liquid-phase microextraction using 18-crown-6 ether and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1216 (26), 5086-5091.
- Yılmaz, A., 2019. Kimyasal Analizlerde Metot Validasyonu ve Verifikasyonu http://turklab.org/tr/TURKLAB_Rehber_01_Rev.2.pdf; (15.03.2019).
- Yılmaz, E., 2016. Mikroekstraksiyon ile Eser Türlerin Ayrılması, Zenginleştirilmesi ve Türlendirilmesi. (Doktora Tezi), Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Yılmaz, E. ve Soylak, M., 2018. A Novel and simple deep eutectic solvent based liquid phase microextraction method for rhodamine B in Cosmetic products and water samples prior to its spectrophotometric determination, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 202, 81- 86.
- Zamouche, M. ve Hamdaoui, O., 2012. Sorption of rhodamine by cedar cone:effect of pH and ionic strength. *Energy Procedia*, 18, 1228-1239).
- Zang, X.H., Wu, Q.H., Zhang, M.Y., Xi, GH. ve Wang, Z., 2009. developments of dispersive liquid-liquid microextraction technique. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 37(2), 161-168.
- Zare-Shahabadi, V., Asaadi, P., Abbasitabar, F. ve Shirmardi, A., 2017. Determination of traces of Ni, Cu, and Zn in wastewater and alloy samples by flame-AAS after ionic liquid-based dispersive liquid phase microextraction. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 28 (5), 887-894.
- Zeeb, M., Ganjali, M.R., Norouzi, P., ve Kalaei, M.R., 2011. Separation and preconcentration system based on microextraction with ionic liquid for determination of copper in water and food samples by stopped-flow injection spectrofluorimetry. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5), 1086-1091.
- Zhu L, Tay CB, Lee HK., 2002. Liquid-liquid-liquid microextraction of aromatic amines from water samples combined with high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A.*, 963(1-2), 231-237.
- Zhu, X., Hu, B., Jiang, Z., ve Li, M., 2005. Cloud point extraction for speciation of chromium in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Water Research*, 39(4), 589-595.

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Nebiye ÖZKANTAR

Doğum Yeri: Adana

Doğum Tarihi: 01.09.1984

Eğitim Bilgileri:

Lisans: Erciyes Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

Yüksek Lisans: Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya

Yabancı Dil: İngilizce

Çalıştığı Kurum: Gaziantep Çalışma ve İş Kurumu İl Müdürlüğü

İletişim Bilgileri: nebiyekizil@hotmail.com