T.C

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ATOMİK SPEKTROSKOPİDE BAKIR VE İNORGANİK SELENYUM TÜRLERİNİN ESER SEVİYELERDE TAYİNLERİNE YÖNELİK ANALİTİK YÖNTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Bahar KARADEMİR TUTAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Temmuz, 2025

T.C

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ATOMİK SPEKTROSKOPİDE BAKIR VE İNORGANİK SELENYUM TÜRLERİNİN ESER SEVİYELERDE TAYİNLERİNE YÖNELİK ANALİTİK YÖNTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Bahar KARADEMİR TUTAR tarafından hazırlanan tez çalışması 25/07/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Sema DEMİRCİ ÇEKİÇ, Üye
İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa _____

Dr. Öğr. Üyesi Sezin ERARPAT BODUR, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Atomik Spektroskopide Bakır ve İnorganik Selenyum Türlerinin Eser Seviyelerde Tayinlerine Yönelik Analit Yöntemlerin Geliştirilmesi" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Bahar KARADEMİR TUTAR

İmza

Kıymetli Eşim

Ve

Biricik Kızıma...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatım boyunca hem bilimsel hem de kişisel olarak gelişmemde katkısı olan, bilgisini, inancını ve anlayışını her daim hissettiğim çok değerli danışmanım Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE'ye sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım. Onun rehberliği, bilgi ve deneyimlerini benimle her zaman paylaşması, akademik ve kişisel gelişimimde çok büyük katkı sağlamıştır.

Bu yolun en başından beri benimle tüm bilgi birikimini sabırla ve özveriyle paylaşan beni bu yolda en çok destekleyen sevgili meslektaşım ve eşim Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk TUTAR'a, en büyük sabrı gösterip annesinin her anında yanında olan onu sabırla bekleyen bitanecik sevgili kızım Duru Hüma TUTAR'a,

Tez çalışmam boyunca yardımlarını eksik etmeyen, bilgisi ve tecrübesi ile bana yol gösteren arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Sezin ERARPAT BODUR ve Süleyman BODUR'a,

Sentezlediği madde sayesinde güzel sonuçlar aldığımız Arş. Gör. Dr. Yavuz DERİN'e, bu yolda bize önderlik edip her zaman desteklediği için kayınpederim Prof. Dr. Ahmet TUTAR'a,

Üyesi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum akademik ailem "Bakırdere Araştırma Grubu" üyelerine,

Bütün eğitim hayatım boyunca maddi manevi hiçbir desteğini benden esirgemeyen, her koşulda arkamda duran varlığını hep hissettiğim kıymetli babam Hasan KARADEMİR'e, annem Serap KARADEMİR'e ve kardeşim Yunus Emre KARADEMİR'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Bahar KARADEMİR TUTAR

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ ..... **viii**

KISALTMA LİSTESİ ..... **iix**

ŞEKİL LİSTESİ ..... **xi**

TABLO LİSTESİ ..... **xvi**

ÖZET ..... **xviii**

ABSTRACT ..... **xixii**

1 1 GİRİŞ **1**

1.1 Literatür Özeti 1

1.2 Tezin Amacı 3

1.3 Hipotez 4

2 2 GENEL BİLGİLER **6**

2.1 Selenyum 6

2.2 Bakır 7

2.3 Spektroskopik Yöntemler 8

2.3.1 Absorpsiyon spektrometrisi 11

2.4 Kromatografik yöntemler 16

2.4.1 Sıvı Kromatografisi (LC) 17

2.5 Örnek Hazırlama Yöntemleri 20

2.5.1 Katı faz ekstraksiyon (KFE) 20

2.5.2 Sıvı-sıvı ektraksiyon (SSE) 21

2.6 Literatürde Yapılmış Çalışmalar 26

3 3 MATERYAL VE METOT **29**

3.1 HPLC-SAHO-AAAS Sistemi ile Su Örneklerindeki Selenit ve Selenatın Belirlenmesi 29

3.1.1 Selenyum Tayininde Kullanılan Kimyasallar 29
3.1.2 Selenyum Tayini için Kullanılan HPLC-SAHO-AAAS Sistemi..... 29
3.1.3 HPLC-SAHO-AAAS koşulları 30
3.1.4 Türlendirme için kullanılan SAHO sistemi ve indirgeme reaksiyon mekanizması 31
3.1.5 Örneklerin Hazırlanışı 33
3.2 SUPRAS-SD-SFME-AAAS Sistemi ile Çay Örneklerinde Bakır Tayini 33
3.2.1 Bakır tayininde kullanılan kimyasallar 33
3.2.2 Bakır tayininde kullanılan cihazlar 34
3.2.3 Bakır tayini için kullanılan SUPRAS-SD-SFME sistemi 34
3.2.4 SD-SFME yönteminde kullanılan sprey sistemi 35
3.2.5 Bakır tayininde kullanılan kompleksleştirme ajanının sentezi ve karakterizasyonu 36
3.2.6 Bakır tayininde kullanılan SUPRAS'ın sentezi ve karakterizasyonu . 38
3.2.7 Örneklerinin hazırlanışı 39
4 4 DENEYSEL ÇALIŞMALAR 41
4.1 HPLC-SAHO-AAAS Sistemine Ait Optimizasyon Çalışmaları 41
4.1.1 Mobil Faz Akış Hızı Optimizasyonu 41
4.1.2 Kolon Sıcaklığı Optimizasyonu 42
4.1.3 Örnek Enjeksiyon Hacmi Optimizasyonu 42
4.1.4 Mobil Faz pH Optimizasyonu 43
4.1.5 HCl içindeki Tiyoüre Optimizasyonu 44
4.1.6 HCl Konsantrasyon Optimizasyonu 45
4.1.7 $NaBH_4$ Konsantrasyon Optimizasyonu 46
4.1.8 Peristaltik Pompa Akış Hızı Optimizasyonu 47
4.1.9 İndirgenme Bobin Sıcaklığı Optimizasyonu 48

4.1.10 Taşıyıcı Gaz Akış Hızı Optimizasyonu 49
4.1.11 İndirgeme Bobin Uzunluğu optimizasyonu 50
4.1.12 HPLC-SAHO-AAAS Sistem Analitik Performansı 51
4.1.13 Geri kazanım çalışmaları 52
4.2 SUPRAS-SD-SFME-AAAS Sistemine Ait Optimizasyon Çalışmaları .. 55
4.2.1 Tampon Çözelti pH Değeri ve Hacmi Optimizasyonu 55
4.2.2 Püskürtme Sayısı Optimizasyonu 57
4.2.3 Örnek Hacmi Optimizasyonu 58
4.2.4 Karıştırma Türü 59
4.2.5 Metanol Hacmi Optimizasyonu 61
4.2.6 Kompleksleştirme Ajanının Derişim Optimizasyonu 62
4.2.7 SUPRAS-SD-SFME-AAAS Sistem Analitik Performansı 64
4.2.8 Geri Kazanım Çalışmaları 66
SONUÇ 68
KAYNAKÇA 70
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYIN 84

SİMGE LİSTESİ

≥	Büyük eşittir
nm	Nanometre
µg	Mikrogram
µL	Microlitre
cm	Santimetre
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
dk	Dakika
mL	Mililitre
mol	Mol
V	Volt
mg	Miligram
s	Saniye
m	Metre
^{o}C	Santigrad Derece
cm	Santimetre
%	Yüzde
nm	Nanometre
k/h	Kütle/Hacim
h/h	Hacim/Hacim
k/k	Kütle/Kütle

KISALTMA LİSTESİ

AAAS	Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
AAS	Alevli Absorpsiyon Spektrometresi
AFS	Atomik Floresanns Spektrometresi
DSSME	Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon
ESC	Dış Standart Kalibrasyonu
GC	Gaz Kromatografisi
GC-AAS	Gaz Kromatografi-Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
GC-ICP-MS	Gaz Kromatografi- İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
GFAAS	Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
GK	Geri Kazanım
GL	Gözlemlenebilme Lİmiti
HCL	Oyuk Katot Lamba
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
HSC	Harici Standart Kalibrasyonu
HPLC-HO-AFS	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Hidrür Oluşturma-Atomik Floresans Spektroskopisi
HPLC-ICP-MS	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi- İndüktüf Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
HPLC-ICP-OES	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi- İndüktüf Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi
HPLC-SAHO	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Sürekli Akış Hidrür Oluşturma
HPLC-SAHO-AAAS	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Sürekli Akış Hidrür Oluşturma-Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
HO	Hidrür Oluşturma
HR-ICP-MS	Yüksek Çözünürlüklü- İndüktüf Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
ICP-MS	İndüktüf Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
ICP-OES	İndüktüf Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi

IP-HPLC-HO-AFS	Iyon Çifti- Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi- Hidrür Oluşturma- Atomik Floresans Spektroskopisi
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
KFE	Katı Faz Ekstraksiyon
LC	Sıvı Kromatografi
LC-AAAS	Sıvı Kromatografi-Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
LC-GFAAS	Sıvı Kromatografi-Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
LC-ICP-MS	Sıvı Kromatografi- İndüktüf Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
LC-ICP-OES	Sıvı Kromatografi-İndüktüf Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi
LIBS	Lazer Uyarımlı Bozunma Spektrometresi
MEK	Matriks Eşleştirme Kalibrasyonu
MMC	Matriks Uyumlu Kalibrasyon
MS	Kütle Spektrometresi
SAHO	Sürekli Akış Hidrür Oluşturma
SD	Sprey Destekli
SD-SFME	Sprey Destekli- Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
SFME	Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
SSE	Sıvı Faz Ekstraksiyonu
SUPRAS	Supramolekül
SUPRAS-SD-SFME	Supramolekül- Sprey Destekli-Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu
TL	Tayin Limiti
UFUBO	Ultraviyole Fotokimyasal Uçucu Bileşik Oluşturma

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Selenit ve selenat molekül yapıları [49] 7

Şekil 2.2 Spektroskopik yöntemlerin özet gösterimi [62] 9

Şekil 2.3 a) Atomik emisyon b) atomik absorpsiyon c) atomik floresans spektrometreleri için görsel diyagram [62] 10

Şekil 2.4 AAAS sisteminin şematik diyagramı [75] 12

Şekil 2.5 AAAS sistemi ve bileşenleri [78] 13

Şekil 2.7 Uzunlamasına ısıtmalı (A) ve enine ısıtmalı (B) elektrotermal atomlaştırıcı konfigürasyonları. A: Su soğutmalı grafit elektrik bağlantı silindiri, B: Grafit tüp, C: Örnek enjeksiyon deliği, D: Işın yolu [83] 16

Şekil 2.8 Yüksek performanslı sıvı kromatografi sistemi; a) mobil gaz rezervuarı b) pompa; c) örnek girişi d) analitik kolon e) detektör; f) veri toplama ve işleme; g) atık [93] 18

Şekil 2.9 KFE yöntemi uygulama diyagramı [104] 21

Şekil 2.10 DSSME yöntemi şematik gösterimi [121] 24

Şekil 2.11 SD-DO-SFME'nin şematik diyagramı [114] 25

Şekil 3.1 Selenyum türlerinin belirlenmesi için HPLC-SAHO-AAAS sisteminin şematik diagramı[157] 32

Şekil 3.2 SD-SFME yönteminde kullanılan sprey tasarımı [162] 36

Şekil 3.3 Kompleksleştirme ajanının sentezi [163] 36

Şekil 3.4 Sentezlenen kompleksleştirme ajanına ait ^{1}H NMR (A), ^{13}C NMR (B), ^{1}H NMR and D_2O değişimli ^{1}H NMR (C) ve FT-IR (D) spektrumları ... 37

Şekil 3.5 Kompleksleştirme ajanına ait öncü iyon (A) ve ürün iyonları (B). 38

Şekil 3.6 THF, 1-dekanol ve SUPRAS'a ait FT-IR spektrumları 39

Şekil 4.1 Mobil faz akış optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre ($p_{Tukey}<0.05$, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir) 41

Şekil 4.2 Kolon sıcaklığı optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir) 42

Şekil 4.3 Örnek enjeksiyon hacmi optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir).....43

Şekil 4.4 Mobil faz pH optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir) 44

Şekil 4.5 HCl içindeki tiyoüre optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir).....45

Şekil 4.6 HCl optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir) 46

Şekil 4.7 $NaBH_4$ optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir) 47

Şekil 4.8 Peristaltik pompa akış hızı optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir).....48

Şekil 4.9 İndirgenme bobin sıcaklığı optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir).....49

Şekil 4.10 Taşıyıcı gaz akış hızı optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir).....50

Şekil 4.11 İndirgenme bobini uzunluğu optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir).....51

Şekil 4.12 HPLC-SAHO-AAAS ile karışım standart çözeltilerden elde edilen Se(IV) ve Se(VI)'ya ait dış standart kalibrasyon doğruları 52

Şekil 4.13 Musluk suyu örneklerinden (A bölgesinden toplanan) HPLC-SAHO-AAAS ile elde edilen Se(IV) ve Se(VI)'ya ait matriks eşleştirme kalibrasyon doğruları 53

Şekil 4.14 HPLC-SAHO-AAAS sisteminden standart çözelti (A) ve standart eklemesi yapılmış örnekler (B: A bölgesinden toplanan musluk suyu, C: B bölgesinden toplanan musluk suyu ve D: C bölgesinden toplanan musluk suyu) için elde edilen analitik sinyaller..... 55

Şekil 4.15 Tampon çözeltisi pH optimizasyonu (Tampon çözelti pH değeri optimizasyonunda, 49,1 µg/kg bakır standart çözeltisi, iki kez püskürtme, 8 mL örnek hacmi, 1 mL tampon çözeltisi, kloroform içinde %0,10 (k/k) kompleksleştiri madde, 15 saniye vorteks karıştırma süresi, 200 µL nitrik asit parametreleri sabit tutulmuştur)..... 56

Şekil 4.16 Tampon çözeltisi hacmi optimizasyonu (Tampon çözelti hacmi optimizasyonunda, 52,70 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) kompleksleştiri madde, 15 saniye vorteks karıştırma süresi, 100 µL analitçe zengin faz ve 100 µL methanol parametreleri sabit tutulmuştur)..... 57

Şekil 4.17 Püskürtme sayısı optimizasyonu (Püskürtme sayısı optimizasyonunda, 127,67 µg/kg bakır standart çözeltisi, 8,0 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) oranında kompleksleştirici madde, 15 saniye vorteks süresi, 100 µL analitçe zengin faz ve 100 µL methanol parametreleri sabit tutulmuştur)..... 58

Şekil 4.18 Örnek hacmi optimizasyonu (Örnek hacmi optimizasyonunda, 127,67 µg/kg, üç kez püskürtme, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) kompleksleştirici madde, 15 saniye vorteks karıştırma süresi, 100 µL analitçe zengin faz ve 100 µL methanol parametreleri sabit tutulmuştır)..... 59

Şekil 4.19 Karıştırma türü optimizasyonu (Karıştırma türü optimizasyonunda, 74,05 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek

hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) kompleks oluşturucu madde, 15 saniyelik karıştırma işlemi, 100 µL analitçe zengin faz ve 100 µL methanol parametreleri sabit tutulmuştur) 60

Şekil 4.20 Karıştırma süresi optimizasyonu (Karıştırma süresi optimizasyonunda, 73,02 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) kompleks oluşturucu madde, vorteks karıştırma işlemi, 100 µL analitçe zengin faz ve 100 µL methanol parametreleri sabit tutulmuştur) 61

Şekil 4.21 Metanol hacmi optimizasyonu (Metanol hacmi optimizasyonunda, 54,55 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) kompleks oluşturucu madde,15 saniye vorteks karıştırma işlemi ve 100 µL analitçe zengin faz parametreleri sabit tutulmuştur) 62

Şekil 4.22 Sulu standart çözeltiler için SUPRAS içerisindeki kompleksleştirme ajanının derişimi optimizasyonu (Sulu standart çözeltiler için SUPRAS'da kompleksleştirme ajanının derişim optimizasyonunda, 40,92 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, 15 saniyelik vorteks karıştırma işlemi, 100 µL analitçe zengin faz ve 200 µL metanol parametreleri sabit tutulmuştur) 63

Şekil 4.23 Rezene çayı örnekleri için SUPRAS içerisindeki kompleksleştirme ajanının derişim optimizasyonu (Sulu standart çözeltiler için SUPRAS'da kompleksleştirme ajanının derişim optimizasyonunda, 47,33 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, 15 saniyelik vorteks karıştırma işlemi, 100 µL analitçe zengin faz ve 200 µL metanol parametreleri sabit tutulmuştur) 64

Şekil 4.24 AAAS sisteminden elde edilen kalibrasyon doğrusu (A), SUPRAS-SD-SFME-AAAS sisteminden elde edilen kalibrasyon doğrusu (B) ve SUPRAS-SD-SFME-AAAS sistemi için analite ait TL sinyali (5,07 µg/kg) (C). 65

Şekil 4.25 Optimum SUPRAS-SD-SFME-AAAS koşulları altında, standart eklemesi yapılmış Marka A rezene çayı örneklerinden elde edilen kalibrasyon doğrusu 68

Şekil 4.26 Optimum SUPRAS-SD-SFME-AAAS koşulları altında elde edilen, standart eklemesi yapılmış Marka A, B ve C rezene çayı örneklerine ait analitik sinyaller. 69

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1 Selenyum türlerinin belirlenmesi için HPLC-SAHO-AAAS koşulları 30

Tablo 3.2 Bakır tayininde kullanılan SUPRA-SD-SFME-AAAS koşulları 35

Table 4.1 HPLC-SAHO-AAAS sistemi aracılığıyla standart madde eklenmiş musluk suyu örneklerinden elde edilen geri kazanım sonuçları. 53

Tablo 4.2 Standart madde eklenmiş rezene çayı örnekleri için dış standart kalibrasyonu ve matriks uyumlu kalibrasyon stratejileri ile elde edilen geri kazanım sonuçları. 67

ÖZET

Atomik Spektroskopide Bakır ve İnorganik Selenyum Türlerinin Eser Seviyelerde Tayinlerine Yönelik Analitik Yöntemlerin Geliştirilmesi

Bahar KARADEMİR TUTAR

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

İnorganik selenyum türleri, selenit (Se(IV)) ve selenat (Se(VI)) gibi farklı oksidasyon durumlarına sahip, her biri farklı toksisite ve biyoyararlanım özellikleri gösterdiğinden, inorganik selenyum türlerinin belirlenmesi önemli bir araştırma alanıdır. Bu nedenle, musluk suyu örneklerinde inorganik selenyum tayini yapmak için yüksek performanslı sıvı kromatografisi - sürekli akış hidrür oluşturma (çevrimiçi bir ön indirgeme işlemi içeren)- alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (HPLC-SAHO-AAAS) önerilmiştir. HPLC ve SAHO sistemlerinin parametreleri, analitlere ait yüksek pik çözünürlüğü ve sinyal/gürültü oranı elde etmek için kapsamlı bir şekilde optimize edilmiştir. Se(IV) ve Se(VI) için gözlemlenebilme limiti (GL)/tayin limiti (TL) sırasıyla 0,09/0,31 mg/kg (Se olarak) ve 0,23/0,77 mg/kg (Se olarak) olarak kaydedilmiştir. Matriks eşleştirme kalibrasyon yöntemi üzerinden elde edilen geri kazanım sonuçları (%72,0 - %101,5), (%104,0 - %115,9) önerilen yöntemin, inorganik selenyumun tür tayini

için musluk suyu örneklerine doğru bir şekilde uygulanabilir olduğunu göstermiştir.

Bakır, vücutta önemli biyokimyasal işlevlere sahip bir eser element olup, doğru seviyelerde bulunması sağlık için gereklidir. Ancak, bakırın aşırı birikmesi toksik etkiler yaratabileceği gibi, eksikliği de çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilir. Bu nedenle, Supramoleküler çözücü bazlı sprey destekli sıvı faz mikroekstraksiyonu (SUPRAS-SD-SFME) olarak adlandırılan basit ve etkili bir ön deriştirme yöntemi, AAAS ile birleştirilmiştir. Rezene çayı örneklerinde eser seviyelerde bakır tayini için bir SD-SFME prosesinde geleneksel organik çözücüler yerine ekstraksiyon çözücüsü olarak ilk kez bir alkanol (1-dekanol)/THF bazlı SUPRAS (kompleksleştirme ajanı içeren) kullanılmıştır. Optimum koşullar altında, geliştirilen yöntemin sistem analitik performansı değerlendirilmiş ve GL ve TL değerleri 1,91/ 6,37 µg/kg olarak kaydedilmiştir. Sistem analitik performanslarının değerlendirilmesinden sonra, AAAS ve SUPRAS-SD-SFME-AAAS sistemlerinin gözlemlenebilme limiti değerleri/kalibrasyon grafiği eğimleri karşılaştırıldığında tespit gücü ve kalibrasyon duyarlılığındaki artış sırasıyla 21,3/21,8 kat olarak bulunmuştur. Metodun uygulanabilirliği rezene çayı örnekleri için standart ekleme deneyleri ile test edilmiş ve düşük, orta ve yüksek bakır seviyeleri için kabul edilebilir geri kazanım sonuçları (%80,2 - %111,8) elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Birleştirilmiş analitik yöntemler, kromatografi, spektroskopi, mikroekstraksiyon, türlendirme

ABSTRACT

Development of Analytical Methods for the Determination of Copper and Inorganic Selenium Species at Trace Levels in Atomic Spectroscopy

Bahar KARADEMİR TUTAR

Deparment of Chemistry

Master of Science Thesis

Danışman: Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Inorganic selenium species such as selenite (Se(IV)) and selenate (Se(VI)) have different oxidation states and each of them shows different toxicity and bioavailability properties, thus; the determination of inorganic selenium species is an important research area. Therefore, high performance liquid chromatography - continuous flow hydride generation (including an online pre-reduction process) - flame atomic absorption spectrometry (HPLC-CFHG-FAAS) was proposed for the determination of inorganic selenium in tap water samples. The parameters of the HPLC and CFHG systems were extensively optimized to obtain high peak resolution and signal-to-noise ratio of the analytes. The limit of detection (LOD)/limit of quantification (LOQ) for Se(IV) and Se(VI) were recorded as 0.09/0.31 mg/kg (as Se) and 0.23/0.77 mg/kg (as Se), respectively. The recovery results (%72.0 - %101.5) , (104.0% - 115.9%) obtained via matrix matching calibration method show that the proposed method can be accurately applied to tap

water samples for the determination of inorganic selenium species.

Copper is a trace element with important biochemical functions in the body and its presence at the accurate levels is essential for health. However, excessive accumulation of copper can cause toxic effects, and its deficiency can lead to various health problems. Therefore, a simple and effective preconcentration method named supramolecular solvent-based spray-assisted liquid phase microextraction (SUPRAS-SA-LPME) was combined with the FAAS. For the first time, an alkanol (1-decanol)/THF-based SUPRAS (containing complexing agent) was used as extraction solvent instead of conventional organic solvents in a SA-LPME process to determine the trace levels of copper in fennel tea samples. Under the optimized conditions, the analytical performance of the method developed was evaluated and the limit of detection (LOD)/limit of quantification (LOQ) values were found to be 1.91 and 6.37 µg/kg. After the evaluation of the system analytical performances, the increase in calibration sensitivity/detection power was found to be 21.8/21.3 folds when the calibration plot slopes and LOD values of FAAS and SUPRAS-SA-LPME-FAAS systems were compared to each other. The applicability of the method was tested by spiking experiments for fennel tea samples and acceptable recovery results (80.2% - 111.8%) were obtained for low, medium and high spike concentration levels.

Keywords: Hyphenated analytical methods, chromatography, spectroscopy, microextraction, speciation

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Selenyum, insan sağlığı için gerekli olan, ancak yalnızca eser miktarlarda bulunan bir elementtir [1]. Canlı organizmaların günlük yaşamında önemli bir rol oynar, konsantrasyonlarına bağlı olarak toksik veya faydalı olabilir. Avrupa Gıda Bilim Komistesi verilerine göre yetişkinler için günde kişi başına 300 µg üst sınır olarak belirlenmiş, güvenli ve yeterli selenyum alımı aralığı önerilmiştir [2] ve üst sınır alımı 400 µg/gün olup, bebekler ve çocuklar için buna karşılık gelen daha düşük aralıklar vardır [2–4]. Uygun miktarlarda kansere karşı korunmaya [5], bağışıklığı güçlendirmeye ve direnci artırmaya yardımcı olabilir. Selenyum toksisitesi, saç dökülmesi, tırnaklarda pürüzlenme ve mide bulantısı gibi belirgin semptomlarla kendini gösterebilir [6] . Ayrıca organizmaların büyümesini engelleyebilir ve diyet yoluyla alınan besinler ile günlük 5 mg/gün gibi yüksek değerlere ulaştığında zehirlenmelere yol açabilir [7]. Buna ek olarak, inorganik selenyumun toksisite düzeyi, organik selenyum formlarına kıyasla yaklaşık 40 kat daha yüksektir. İnorganik selenyum türleri, özellikle selenit (Se(IV)) ve selenat (Se(VI)), içme suyu ve çevresel su kaynaklarında yaygın olarak bulunmaktadır [8]. Ayrıca, Se(IV), Se(VI)'ya göre daha az biyoyararlanıma [9] ve daha yüksek toksisiteye sahiptir [10–12]. Selenyum, kayaların ayrışması ve toprak erozyonu gibi jeokimyasal süreçlerin bir sonucu olarak doğal sularda eser miktarda bulunur ve genellikle selenat veya selenit formunda mevcuttur. Bununla birlikte, selenyumun aşırı miktarları, canlı organizmalarda toksik etkilere yol açabilir ve bu toksisite, kimyasal form, pH değeri ve diğer iyonların varlığı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterir [13]. Selenyumun inorganik türleri Se(IV), daha yüksek çözünürlüğü ve biyoyararlanımı nedeniyle su ekosistemindeki organizmalar için Se(VI)'dan daha tehlikeli kabul edilir [14].

Bir elementin toplam içeriğinin belirlenmesi birçok uygulama açısından değerli bilgiler sağlasa da biyoyararlanabilirlik ve toksisite gibi elementin kimyasal formuna bağlı özellikleri hakkında yeterli bilgi vermemektedir. Bu nedenle, türlendirme çalışmaları, hem çevresel hem de klinik analizlerde büyük önem

taşıyan bir konu olarak analitik kimya alanında önemli bir yer tutmaktadır [15].

Türlendirme çalışmalarında, analitlerin doğru ve duyarlı bir şekilde ayrılması ve tayin edilmesi amacıyla, kromatografik yöntemler çoğunlukla spektroskopik tekniklerle birlikte kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında, gaz kromatografisi-indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (GC-ICP-MS) [16] ve sıvı kromatografisi-indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (LC-ICP-MS) [17] sistemleri bulunmaktadır. Ayrıca, sıvı kromatografi-indüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (LC-ICP-OES) [18], sıvı kromatografi-alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (LC-AAAS) [19], sıvı kromatografi-grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometresi (LC-GFAAS) [19] ve gaz kromatografi-atomik absorpsiyon spektrometresi (GC-AAS) [20–22] sistemleri de türlendirme analizlerinde kullanılmıştır.

İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS) [23], indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometrisi (ICP-OES) [24], alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAAS) [25] ve grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometrisi (GFAAS) [26] çeşitli matrikslerde toplam selenyum tayini için kullanılan cihazlardan bazılarıdır. Öte yandan, bir örnekteki organik veya inorganik selenyum türlerinin belirlenmesi için yüksek performanslı sıvı kromatografisi- indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (HPLC-ICP-MS) [27], yüksek performanslı sıvı kromatografisi-hidrür oluşturma-atomik floresans spektrometresi (HPLC-HO-AFS) [28] ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi-indüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (HPLC-ICP-OES) [29] gibi birleştirilmiş analitik yöntemler kullanılmıştır.

Bakır (Cu), hayati biyolojik süreçlerde görev alan çeşitli önemli enzimlerin ayrılmaz bir bileşenidir [30]. Bakır; insan, hayvan ve bitkiler için gerekli bir metaldir, ancak optimum seviyelerin üzerinde potansiyel olarak toksiktir [31]. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi tarafından kabul edilebilir günlük alım değerinin 0,15 mg/kg'dan 0,07 mg/kg'a düşürülmesi önerilmektedir [32]. Çünkü bakıra aşırı maruz kalmak insan sağlığını tehdit etmektedir [31,33]. Geleneksel tıpta, bitki çayları tedavi edici ajanlar olarak kullanılır ve tüm dünyada popülerliğe sahiptir [34]. Rezene çayı bağırsak bakterilerini ve kancalı kurtları uzaklaştırma özelliğine sahiptir. Bu nedenle; tılsımlı bitki olarak adlandırılan rezene, insanları sağlık olumsuzluklarından korumak için kullanılmaktadır [35]. Ancak bakır, çay bitkisi

tarafından biriktirilebilmekte ve bu durum insan sağlığı için risk oluşturmaktadır [36]. Bu nedenle, rezene çayı örneklerindeki bakır içeriğini belirlemek için doğru, uygulanabilir ve duyarlı bir analitik yöntemin geliştirilmesi, insanlar için olumsuz sağlık etkilerini azaltmak amacıyla önemlidir.

Literatürde bakır elementini tayin etmek için atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) [37], indüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) [38], yüksek çözünürlüklü-indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (HR-ICP-MS) [39] gibi analitik cihazlar kullanılmaktadır.

1.2 Tezin Amacı

Bu tezin temel amacı olarak, ilk çalışmada, çevresel örneklerde bulunan selenyum inorganik türlerinin (Se(IV) ve Se(VI)) seçici, duyarlı ve güvenilir bir şekilde tayin edilmesini sağlayacak analitik bir yöntem geliştirmektir. Geliştirilecek yöntemin, selenyumun biyoyararlanabilir formlarını ayırt edebilmesi ve düşük tayin limitlerine ulaşarak halk sağlığı açısından potansiyel toksisite risklerinin değerlendirilmesine katkı sunması hedeflenmektedir. Musluk suyu örneklerinde inorganik selenyum türlerinin tayini amacıyla yüksek performanslı sıvı kromatografisi-sürekli akış hidrür oluşturma-alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (HPLC-SAHO-AAAS) tabanlı bir yöntem geliştirilmiştir. Bu sistemde SAHO kısmı, tiyoüre bazlı bir çevrimiçi önindirgeme ünitesi olarak işlev görmekte ve Se(VI)'nın Se(IV)'e indirgenmesini sağlamaktadır.

Rezene çayı örneklerinde eser düzeyde bakır tayini amacıyla, supramoleküler çözücü bazlı sprey destekli sıvı faz mikroekstraksiyon (SUPRAS-SD-SFME) olarak adlandırılan basit ve etkili bir önderiştirme yöntemi geliştirilmiş ve alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (AAAS) ile birleştirilmiştir. Bu çalışmada, geleneksel organik çözücüler yerine ekstraksiyon çözücüsü olarak, kompleksleştirme ajanı içeren bir alkanol (1-dekanol)/THF bazlı SUPRAS sisteminin bir SD-SFME sürecinde ilk kez kullanımı gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen analitik yöntemlerin performansını artırmak amacıyla, analite ait sinyal/gürültü oranını iyileştirmeye yönelik olarak temel parametrelerin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Yöntemlerin doğruluk, kesinlik ve duyarlılık gibi analitik yeterlilikleri ise sistematik analitik performans değerlendirmeleri ve geri kazanım çalışmaları ile kapsamlı bir şekilde incelenmiştir.

1.3 Hipotez

İnorganik selenyum türleri, özellikle selenit (Se(IV)) ve selenat (Se(VI)), toksisite ve biyoyararlanım açısından önemli farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle, bu türlerin doğru bir şekilde tayin edilmesi, insan sağlığı ve çevresel risk değerlendirmeleri için büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, musluk suyu örneklerinde inorganik selenyum türlerinin tayini için HPLC ile SAHO ve AAAS sistemlerinin birleştirildiği yeni bir analitik yöntem önerilmektedir. Bu yöntem, selenyum türlerinin tayininde geleneksel yöntemlere kıyasla daha düşük GL ve tayin limiti TL sağlayarak, daha duyarlı ve doğru sonuçlar elde edilmesini mümkün kılacaktır.

Bu yöntemin selenyum türlerinin tayininde önemli bir avantaj sağlayacağı öngörülmektedir. Özellikle, selenatın (Se(VI)) selenite (Se(IV)) çevrimini sağlayan çevrimiçi önindirgeme sistemi (tiyoüre/HCl karışımı kullanılarak) ile birlikte, yöntemin selenyum türlerinin tayininde daha yüksek bir doğruluk ve duyarlılık sunacağı beklenmektedir. Ayrıca, bu yöntemin musluk suyu matrikslerinden kaynaklanan matriks etkilerini düşürerek, daha güvenilir sonuçlar sağlayacağı öngörülmektedir. Matriks eşleştirme kalibrasyon stratejisi kullanılarak, pozitif veya negatif matriks etkilerinin giderilmesi ve daha doğru geri kazanım sonuçları elde edilmesi hedeflenmektedir.

Rezene çayı gibi bitkisel çaylar, insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri nedeniyle yaygın olarak tüketilmektedir. Ancak, bu çayların yetiştirildiği topraklardan kaynaklanan ağır metal birikimi, özellikle bakır gibi eser elementlerin yüksek konsantrasyonlarda bulunması, insan sağlığı için potansiyel bir risk oluşturabilir. Bakır, eser miktarlarda insan vücudu için gerekli olmakla birlikte, yüksek dozlarda toksik etkilere neden olabilir. Bu nedenle, rezene çayı gibi bitkisel ürünlerdeki bakır konsantrasyonlarının duyarlı ve doğru bir şekilde tayin edilmesi büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, rezene çayı örneklerindeki eser düzeydeki bakır miktarlarının belirlenmesi için, supra moleküler çözücü temelli sprey destekli sıvı faz mikroekstraksiyon (SUPRAS-SD-SFME) yöntemi, AAAS)ile birleştirilmiştir. SUPRAS, geleneksel organik çözücülere kıyasla daha çevre dostu, yüksek ekstraksiyon verimliliği ve düşük maliyetli bir alternatif olarak öne çıkmaktadır.

Ayrıca, SUPRAS'nın kendiliğinden organize olabilen yapısı, kompleks matrikslerden hedef analitlerin seçici bir şekilde ekstrakte edilmesini kolaylaştırır.

Bu yöntem SUPRAS-SD-SFME'nin, bakır iyonlarını rezene çayı gibi kompleks matrikslerden yüksek verimlilikle ekstrakte edebileceği ve AAAS ile birleştirildiğinde, geleneksel yöntemlere kıyasla daha düşük GL ve TL sağlayacağı yönündedir. SUPRAS-SD-SFME yönteminin, rezene çayı örneklerindeki bakır miktarlarının belirlenmesinde, geleneksel yöntemlere kıyasla daha etkili, çevre dostu ve uygulanabilir bir alternatif olacağını öne sürmektedir.

2
GENEL BİLGİLER

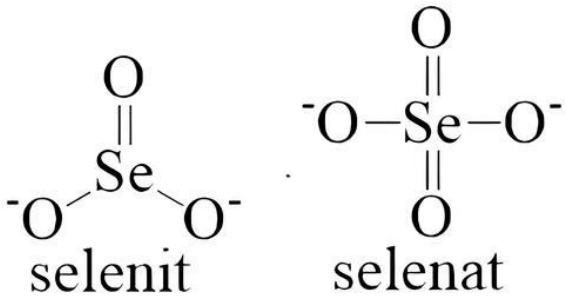
2.1 Selenyum

Selenyum, periyodik tablonun 16. grubunda ve 4. periyodunda yer alır ve −II (selenür, SeH^-), 0 (elemental selenyum, Se^0), +IV (selenit, SeO_3^{2-}) ve +VI (selenat, SeO_4^{2-}) gibi 4 tane oksidasyon numarasına sahiptir [40]. 1818 yılında Jöns Jacob Berzelius tarafından keşfedilmiştir [41]. Kimyasal özellikleri bakımından sülfür ve tellür ile benzerlik gösteren, yarı metal özellikli bir elementtir [42,43]. Atom numarası 34'dür [42,44]. [Ar] $3d^{10}$ $4s^2$ $4p^4$ elektronik konfigürasyonuna sahiptir [41].

Selenyum, biyoyararlanımı, biyolojik işlevleri ve toksik etkileri üzerinde belirleyici olan çeşitli kimyasal formlarda bulunur. İnorganik selenyum, doğada genellikle selenit ve selenat formlarında mineraller içerisinde yer alırken, organik selenyum bileşikleri başlıca selenoamino asitler, selenopeptitler ve selenoproteinlerden oluşmaktadır [41]. Elementel selenyum nispeten toksik değildir ve temel bir eser element olarak kabul edilir. Genellikle −2 (selenit, Se^{2-}) oksidasyon durumuna indirgenebilir veya +4 (selenit, SeO_3^{2-}) veya +6 (selenat, SeO_4^{2-}) oksidasyon durumlarına oksitlenebilir [41].

Selenyum, büyüme-gelişme sürecinde yer alma [45], kanseri önleme [46], antioksidan [47] ve tiroid hormon metabolizmasını düzenleme [48] gibi faydalı özellikleri nedeniyle insan sağlığı için önemli bir elementtir. Bununla birlikte, selenyuma aşırı maruz kalma yorgunluk, bulantı, saç dökülmesi, tırnak deformasyonu ve organizmaların büyümesinin engellenmesi gibi bazı olumsuz sağlık sorunlarına yol açmaktadır [7]. Buna ek olarak, inorganik selenyumun toksisite seviyesi organik formlarından yaklaşık 40 kat daha yüksektir ve inorganik selenyum türleri (özelikle Se(IV) ve selenat Se(VI)) içme ve çevre sularında bulunur [8].

Ayrıca, Se(IV), Se(VI)'ya göre daha az biyoyararlanıma [9] ve daha yüksek toksisiteye [11] sahiptir. Bu nedenlerle, inorganik selenyum türlerinin belirlenmesi, türlerin dağılımını belirlemenin yanı sıra toksisite seviyelerini ve biyoyararlanımlarını değerlendirmek için önemli bir konudur.



Şekil 2.1 Selenit ve selenat molekül yapıları [49]

İçme ve çevre sularında bulunan selenyumun inorganik formları esas olarak selenit Se(IV) ve selenat Se(VI)'dır. Yetişkin insanlar için önerilen günlük selenyum alım miktarı 55 µg'dır ve tolere edilebilir günlük üst alım sınırı 400 µg'dır. Dünya Sağlık Örgütü selenyum için 40 µg/L sınırını önermektedir. Ancak, bu değer sağlık veritabanlarındaki belirsizlikler nedeniyle geçici bir kılavuz olarak kabul edilmektedir. Kanada, Japonya, Tayland, Yeni Zelanda, Avrupa Birliği ülkeleri, Avustralya ve Amerika Birleşik Devletleri gibi bazı ülkelerde içme suyundaki selenyum için üst sınır değeri 10 µg/L olarak belirlenmiştir [8]. Tolere edilebilir üst günlük alım sınırının aşılması durumunda selenoza yol açabilir; bu durumun tipik semptomları arasında gastrointestinal bozukluklar, saç dökülmesi, tırnakların dökülmesi, diş çürükleri, dermatit ve mide bağırsak rahatsızlıkları almaktadır [6,50–52].

2.2 Bakır

Bakır, doğada kaya, toprak, su ve havada bulunan kırmızımsı renkte bir metaldir [53]. İnsanlar da dahil olmak üzere tüm canlılar için düşük miktarlarda gerekli olup, birçok biyolojik süreçte görev alır. Redoks aktif bir metal olan bakır ,bugüne kadar incelenen tüm türler için temel bir besin maddesidir [54]. Kütle numarası 63,55 g/mol, atom numarası 29 ve yoğunluğu 8,96 g/cm^3'tür. Erime noktası 1083 °C ve kaynama noktası 2595 °C'dir [55–57].

Hayati biyolojik süreçler için çeşitli önemli enzimlerin bütünleyici bir parçası olan bakır [30], Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi tarafından aşırı bakır maruziyetinin insan sağlığını tehdit etmesi nedeniyle kabul edilebilir günlük alım değerinin 0,15 mg/kg (vücut ağırlığına göre) 0,07 mg/kg'a düşürülmesi önerilmektedir [32].

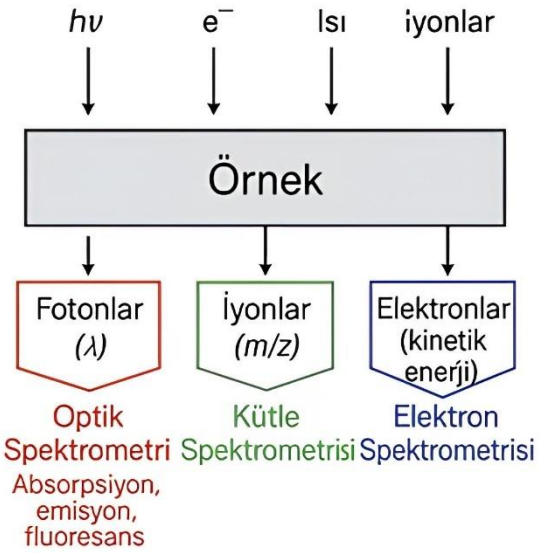
Bakır, en yüksek konsantrasyonları karaciğerde olmak üzere çeşitli hücre ve

dokularda az miktarda bulunan temel bir eser elementtir [58]. Bakır iyonları hem oksitlenmiş, kuprik (Cu^{2+}) hem de indirgenmiş, kupröz (Cu^{+}) halde bulunabilir [59]. Cu takviyeleri 1920'lerde hayvanlarda anemiyi tedavi etmek için kullanılmış [60]. Bakır başta enzimler olmak üzere birçok biyolojik süreçte yer alır ve bu enzimler büyüme, gelişme ve bakım için gerekli olan bir dizi biyolojik süreçte görevlidir [30].

Literatürde bakır elementini tayin etmek amacıyla atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) [61], indüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) [38] ve yüksek çözünürlüklü-indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (HR-ICP-MS) [39] gibi analitik cihazlar kullanılmaktadır.

2.3 Spektroskopik Yöntemler

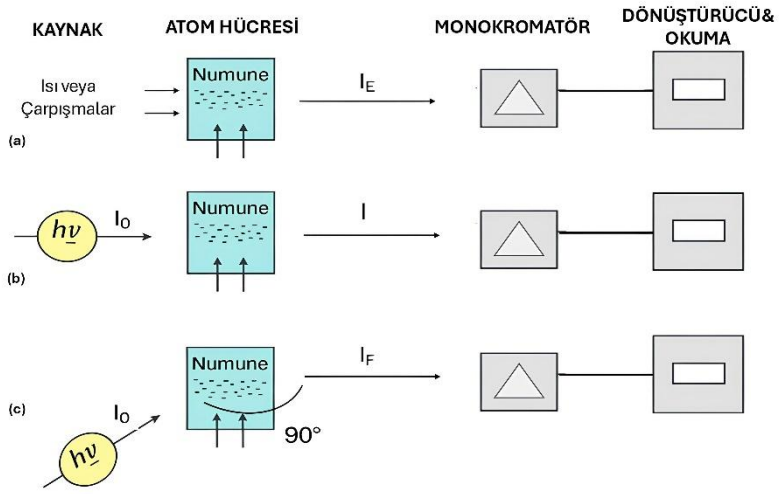
Spektroskopik yöntemler, özellikle elementel düzeyde bilgi elde edilmesine olanak tanıyan güçlü ve duyarlı analitik tekniklerdir. Bu yöntemler, sistemde tespit edilen parçacıkların türüne göre üç temel kategori altında sınıflandırılmaktadır: 1) optik atomik spektroskopisi, örnekten yayılan ya da örnek tarafından soğurulan elektromanyetik radyasyonu, yani fotonları tespit eder, 2) inorganik kütle spektrometrisi, (aynı zamanda atomik ya da elemental kütle spektrometrisi olarak da adlandırılır), analiz edilen elementlerin iyonlaşmış formlarını yani iyonları saptayarak kantitatif ve kalitatif bilgi sunar, 3) Elektron spektroskopisi, sistemde bulunan elektronları tespit ederek özellikle elementlerin yüzey özelliklerinin ve kimyasal durumlarının belirlenmesine olanak tanır (Şekil 2.2). Bu yöntemlerden biri olan optik atomik spektroskopi sistemlerinde, analiz edilen örnek tarafından soğurulan (absorpsiyon) ya da yayılan (emisyon) fotonlar, genellikle foton enerjisinin bir fonksiyonu olarak ölçülmektedir [62]. Bu ölçümler, bir elementin karakteristik enerji düzeylerine dayalı olarak gerçekleştirilir ve her elementin kendine özgü bir spektral imzası olduğundan, elemental tanımlama oldukça duyarlı bir şekilde yapılabilir. Bu yöntem, özellikle AAAS , indüktif eşleşmeli plazma optik emisyon spektroskopisi (ICP-OES) ve lazer uyarımlı emisyon spektroskopisi (LIBS) gibi alt tekniklerle yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 2.2 Spektroskopik yöntemlerin özet gösterimi [62]

Atomik spektroskopik yöntemlerde gözlemlenen absorpsiyon ve emisyon çizgileri (Şekil 2.3), bir atom içerisindeki elektronların belirli enerji seviyeleri arasında geçiş yapması sonucu ortaya çıkan karakteristik olaylardır. Bu çizgiler, her element için kendine özgü olup, atomik yapıya dair doğrudan bilgi sunar ve bu sayede elemental analizde oldukça yüksek özgüllük sağlar. Bu geçişler, atomik orbitaller arasında gerçekleşir; her orbital belirli bir enerji seviyesine sahiptir. Absorpsiyon olayı, bir elektronun bulunduğu daha düşük enerjili orbitalden (temel hal) daha yüksek enerjili bir orbitale (uyarılmış hal) geçmesiyle meydana gelir. Bu geçişin gerçekleşebilmesi için, elektronun geçiş yapacağı enerji farkına eşit miktarda bir elektromanyetik ışınım (foton) atom tarafından soğurulmalıdır. Yani, foton enerjisi ile orbital enerji farkı eşleşmelidir. Bu durum, atomik absorpsiyon spektrumunun oluşmasına yol açar. Emisyon olayı ise, bunun tersine, daha yüksek bir enerji seviyesinde bulunan (uyarılmış durumdaki) bir elektronun daha düşük enerjili bir seviyeye geri dönmesiyle gerçekleşir. Bu geçiş sırasında, elektron fazla enerjisini foton formunda dışarıya yayar. Bu yayılan ışın, dedektörler tarafından ölçülerek atomik emisyon spektrumu elde edilir. Uyarılmış hale geçen atomlar genellikle kısa sürede kararsız hale gelir ve temel haline dönerken yayılan bu ışımalar oldukça tanımlayıcıdır. Bu tür spektral çizgiler, elementin kendisine özgü olduğu için hem nitel hem de nicel analizde yüksek doğrulukla kullanılabilir. Ayrıca bu çizgilerin

dalga boyu ve şiddeti, yalnızca elementin türünü değil, aynı zamanda örnekteki miktarını da belirlemede temel alınır [63].



Şekil 2.3 a) Atomik emisyon b) atomik absorpsiyon c) atomik floresans spektrometreleri için görsel diyagram [62]

Atomik floresans spektroskopisi (AFS), elementlerin oldukça düşük derişimlerde bile duyarlı şekilde tayin edilmesine olanak tanıyan, yüksek duyarlılığa sahip bir atomik spektroskopi tekniğidir. Bu yöntem, özellikle bazı elementler için atomik absorpsiyon spektroskopisine (AAS) göre daha düşük tayin limitlerine ulaşabilmektedir. AFS'nin temel prensibi, analit atomlarının bir enerji kaynağı tarafından (genellikle monokromatik radyasyon) uyarılması ve ardından bu atomların uyarılmış durumdan temel hale dönerken yaydığı floresans radyasyonunun ölçülmesine dayanır. Bu floresans ışınımı, genellikle uyarma radyasyonuyla aynı dalga boyunda veya daha uzun dalga boyunda olabilir. Analit atomlarının bu uyarılması, çeşitli atomlaştırıcı kaynaklar kullanılarak gerçekleştirilebilir; örneğin alev, akkor deşarj (glow discharge), plazma ve grafit fırın gibi atomlaştırıcı kaynaklar kullanılabilir [64]. Atomik floresans yönteminin en büyük avantajlarından biri, ölçüm sırasında arka plan sinyalinin oldukça düşük olmasıdır. Bu durum, özellikle düşük konsantrasyondaki elementlerin tayininde sinyal/gürültü oranını iyileştirerek daha yüksek duyarlılık ve seçicilik sağlar. Bu nedenle, özellikle hidrit oluşturan (As, Se, Sb, Bi) ya da civa (Hg) gibi soğuk buhar tekniği ile tayin edilebilen elementlerin analizinde oldukça etkilidir [65–68].

Bu tür elementler için AFS sistemine entegre edilen hidrür üretimi ya da soğuk buhar oluşumu işlemleri, analitlerin gaz fazına dönüştürülerek floresans

verimliliğini artırır. Bu ön işlemler, sadece duyarlılığı artırmakla kalmaz, aynı zamanda matriks etkilerini de azaltarak tayin sınırlarını trilyonda bir (ppt) düzeyine kadar düşürebilmektedir [62]. Sonuç olarak, AFS; özellikle eser element analizlerinde, çevresel örneklerde toksik metal tayinlerinde ve biyolojik örneklerde eser düzeyde metal tespiti gereken durumlarda kritik bir analitik araç olarak ön plana çıkmaktadır.

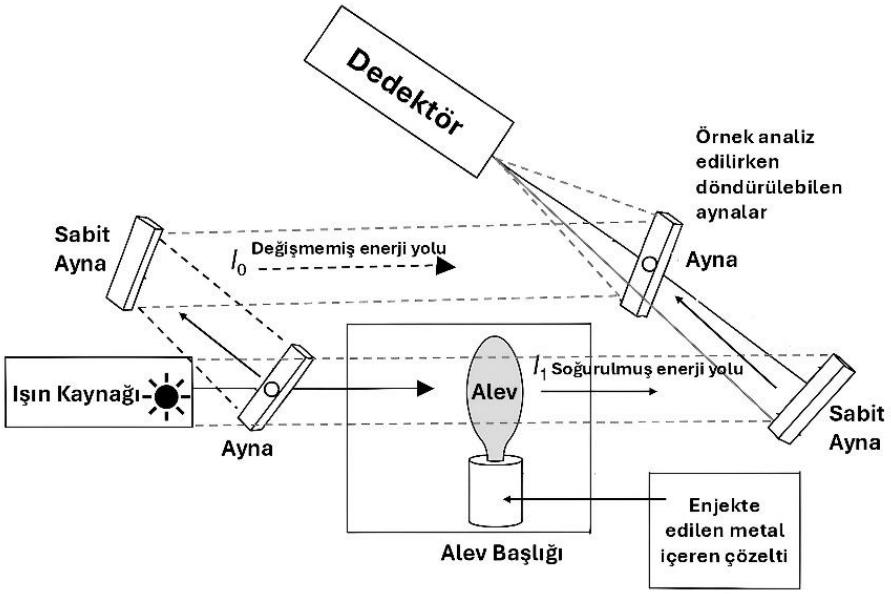
2.3.1 Absorpsiyon spektrometrisi

Atomik absorpsiyon spektrometrisi, elemental analizde yaygın olarak kullanılan bir tekniktir ve özellikle metallerin ve bazı metaloidlerin kalitatif (nitel) ve kantitatif (nicel) tayininde etkilidir. Bu yöntem, bir örnekteki hedef elementlerin atomik hallerine dönüştürüldükten sonra, belirli bir dalga boyundaki ışını absorplama yeteneklerini ölçmeye dayanır. Temel çalışma prensibinin ilk aşaması olan atomlaştırmada, örnekteki elementler yüksek sıcaklıkta (genellikle alev veya grafit fırın kullanılarak) serbest atomlara dönüştürülür. Bu atomlaştırma işlemi, analiz edilecek elementin ölçülebilir formunun oluşturulmasını sağlar. Serbest hale gelen atomlar, kendi karakteristik dalga boylarında bir ışık kaynağından (genellikle boş katot lambası) gelen ışığı absorplar. Bu absorpsiyon miktarı, analitin konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Absorplanan ışığın miktarı, dedektör tarafından ölçülerek analitin miktarı hesaplanır. Alevli atomlaştırma ve elektrotermal atomlaştırma başlıca atomlaştırma yöntemlerindendir [69]. Alevli atomlaştırma, hızlı ve pratik olup, yüksek hacimli analizlerde yaygın olarak kullanılır. Elektrotermal atomlaştırma yöntemi, daha yüksek duyarlılık sunar ve düşük konsantrasyonlar için uygundur, fakat alevli atomlaştırmaya göre daha yüksek maliyetlidir [70,71].

2.3.1.1 Alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAAS)

Alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (AAAS), çeşitli örneklerde bulunan elementlerin kalitatif ve kantitatif tayininde yaygın olarak kullanılan, duyarlı ve güvenilir bir atomik spektroskopi yöntemidir. Bu teknik, analiz edilecek elementlerin alev ortamında atomlaştırılması ve ardından bu serbest atomlar tarafından belirli bir dalga boyundaki elektromanyetik radyasyonun absorplanması esasına dayanır. AAAS sisteminin temel çalışma prensibi, bir ışık kaynağından çıkan monokromatik radyasyonun, alev ortamına gönderilerek burada

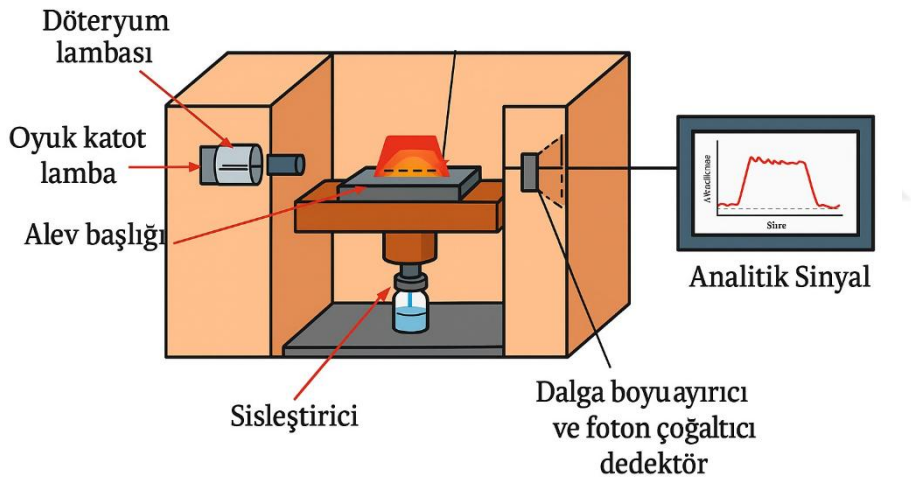
atomlaştırılmış analit elementlerle etkileşime girmesiyle başlar. Genellikle katot lambası kullanılarak elde edilen bu ışık, yalnızca hedef elemente özgü dalga boylarını üretir. Alevde bulunan serbest atomlar, bu ışığın bir kısmını temel enerji seviyesinden uyarılmış enerji seviyesine geçebilmek için absorplar. Bu absorpsiyon miktarı, doğrudan analit konsantrasyonu ile ilişkilidir. Işık demeti daha sonra sırasıyla alev ortamından, ardından istenmeyen dalga boylarını filtreleyerek sadece hedef dalga boyunu geçiren bir monokromatörden geçer. Son aşamada, ışığın absorplanmayan kısmı bir dedektör tarafından ölçülerek sinyale dönüştürülür. Bu sinyal, analiz sonucu elde edilen örnekteki hedef elementin miktarını belirlemek için kullanılır. Özellikle Lambert-Beer yasası, bu ölçümler sırasında konsantrasyon-absorpsiyon ilişkisini tanımlamada temel alınır [72]. AAAS sistemi, başta alkali ve toprak alkali metaller, geçiş metalleri ve bazı yarı metaller olmak üzere çok çeşitli elementlerin analizinde tercih edilmektedir. Bununla birlikte, sadece tek bir elemente ait ışığı üreten lambaların kullanılması, sistemin tek elementli analiz ile sınırlı kalmasına neden olur. Ayrıca, alevli atomlaştırmanın yeterli olduğu elementlerle sınırlı olup, uçuculuğu düşük olan veya daha yüksek sıcaklık gerektiren elementlerde duyarlılık sınırlı olabilir [70,73,74]. AAAS sistemine ait genel bileşenlerin akışını gösteren bir şematik diyagram Şekil 2.4'te sunulmuştur.



Şekil 2.4 AAAS sisteminin şematik diyagramı [75]

AAAS sistemlerinde, sıvı örnek çözeltisi, bir pnömatik sisleştirici yardımıyla ince

aerosol damlacıklarına dönüştürülür. Bu damlacıklar, bir taşıyıcı gaz (genellikle hava veya asetilen gibi) yardımıyla alev bölgesine taşınır. Büyük damlacıklar atığa yönlendirilirken, küçük damlacıklar yakıt-oksidan karışımı ile birlikte atomizasyon bölgesine ulaşır. Alev bölgesinde, çözeltideki çözücü ve kalan katı parçacıklar buharlaştırılır. Moleküller parçalanarak serbest atomlar oluşturulur ve elementler, atomik forma dönüşerek ölçülebilir hale gelir. Her element için karakteristik olan belirli dalga boylarında ışık yayan oyuk katot lambası (HCL) kullanılır. Bu ışık, alev içindeki atomik buharın içinden geçerken, o elementin atomları tarafından absorplanır. Alevden çıkan ışığın şiddeti, monokromatörden geçerek özgül dalga boyuna sahip fotonlar bir dedektör aracılığıyla ölçülür [76]. Örnekte elementin derişimi arttıkça, absorpsiyon da artar. Absorpsiyon ile konsantrasyon arasındaki ilişki, Beer-Lambert yasası ile açıklanır [77]. AAAS sistemi ve bileşenleri Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5 AAAS sistemi ve bileşenleri [78]

AAAS sistemlerinde bazı elementler için düşük duyarlılık gözlenmektedir; bunun temel nedeni, örnek çözeltisinin en fazla %10'luk bir kısmının atomizasyon bölgesine ulaşabilmesidir. Buna ek olarak, atomların bu bölgede kalma süresi oldukça sınırlıdır ve yaklaşık olarak 10^{-3} saniyedir [79].

Hidrür Oluşturma (HO) yöntemi, başta AAS, AFS, ICP-OES ve ICP-MS olmak üzere çeşitli spektrometrik tekniklerle entegre edilerek, bu sistemler için etkin bir örnek gönderme tekniği olarak kullanılmaktadır [80]. Bu yöntemin temelinde, analit asitli ortamda uygun bir indirgeme reaktifi (örneğin, sodyum borhidrür

($NaBH_4$) veya kalay(II) klorür ($SnCl_2$)) yardımıyla uçucu hidrür bileşiklerine dönüştürülmesi yer alır. Elde edilen bu uçucu türler, gaz-sıvı ayırıcı sistem aracılığıyla inert bir taşıyıcı gaz (genellikle argon) ile atomlaştırıcı ünitelere yönlendirilir. Bu işlem sırasında herhangi bir sisleştirici kullanılmasına gerek kalmadığından sistem duyarlılığındaki kayıp en aza indirilir [81,82]. HO tekniği, yalnızca hidrür oluşturabilen elementlerle sınırlı olup, bu elementler arasında arsenik (As), bizmut (Bi), germanyum (Ge), kurşun (Pb), antimon (Sb), selenyum (Se), kalay (Sn) ve tellür (Te) gibi bazı metal ve yarı metaller yer almaktadır [82–84]. Ayrıca, kadmiyum (Cd) ve cıva (Hg) gibi bazı elementler de uçucu türevler oluşturabilmektedir; ancak bu elementlerin bileşikleri oda sıcaklığında dahi kararsız ve uçucu olduklarından, ışın yoluna doğrudan yönlendirilebilirler. Bu nedenle, Cd ve Hg tayinlerinde uygulanan bu özel yaklaşım, literatürde soğuk buhar yöntemi olarak adlandırılmaktadır [85–89]. Öte yandan, HO yönteminde kullanılan indirgeme reaktiflerinin (örneğin $NaBH_4$) yüksek maliyetli, reaktif olarak kararsız ve çevreye potansiyel zararlı olabilmesi, bu yöntemin sınırlayıcı yönleri arasında yer almaktadır. Bu bağlamda, HO'ya alternatif olarak geliştirilen ultraviyole fotokimyasal uçucu bileşik oluşturma (UFUBO) yöntemi, son yıllarda dikkat çekmektedir [90]. UFUBO yönteminde, $NaBH_4$ gibi maliyetli reaktifler yerine, daha ekonomik ve çevre dostu olan düşük moleküler ağırlıklı organik asitler kullanılır. Ayrıca, bu yöntem, geçiş metallerinden kaynaklanabilecek spektroskopik girişimlerin azaltılmasında da etkin bir çözüm sunmaktadır [91]. Hidrür oluşturma yöntemi, indirgen bir ortamda hidrojen radikallerinin meydana gelmesine dayanmaktadır. Bu mekanizma, Dedina ve Tsalev [92] tarafından aşağıdaki şekilde önerilmiştir.

$$[BH_4]^- + H^+ + 3H_2O \rightarrow H_3BO_3 + 8H\cdot \quad (2.1)$$

Güncel hidrür oluşturma çalışmalarında, optimum analiz koşullarının sağlanabilmesi amacıyla genellikle elektrikle ya da alevle ısıtılan kuvars tüpler kullanılmaktadır. Kuvars tüpün kullanılması, oluşturulan hidrürün doğrudan aleve ulaşmasını engelleyerek analitik sinyalin duyarlılığını artırmakta ve sinyal/gürültü oranını iyileştirmektedir.

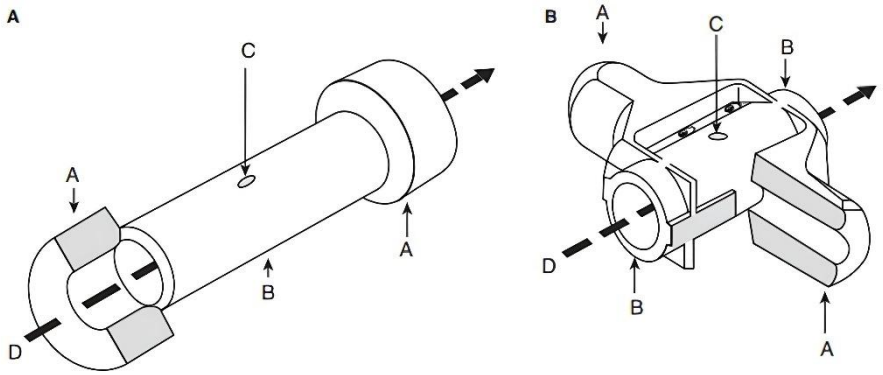
AAAS yöntemi, duyarlılığı artırmak amacıyla kullanılan diğer tekniklerin aksine, pahalı ve toksik kimyasallar ile organik çözücülerin kullanılmaması nedeniyle çevre dostu ve ekonomik bir analiz yöntemi olarak öne çıkmaktadır. Ancak bu

yöntemin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Radikal temelli reaksiyonlar, yarışmalı tepkimeler olduğundan uçucu türevlerin oluşum verimi, klasik hidrür oluşturma reaksiyonlarına kıyasla daha düşüktür. Ayrıca, oluşan uçucu bileşiklerin sıvı fazda çözünürlüklerinin hidrürlere göre daha yüksek olması, bu türlerin matriksten ayrılmasını zorlaştırmakta ve bu durum sistemin genel verimliliğini olumsuz yönde etkilemektedir [91].

2.3.1.2 Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (ETAAS)

Her ne kadar alev sistemi, atomik absorpsiyon spektrometrisinde (AAS) en yaygın kullanılan atomlaştırıcı olarak uzun yıllardır tercih edilse de bazı analiz uygulamalarında yetersiz kalabilmektedir. Özellikle eser düzeyde bulunan elementlerin tayini söz konusu olduğunda, alev sisteminin sınırlı duyarlılığı ve nispeten yüksek tespit limitleri, alternatif atomlaştırma tekniklerinin geliştirilmesini gerekli kılmıştır. Bu ihtiyaca yanıt olarak, 1970'li yılların başlarında geliştirilen ve hızla yaygınlaşan bir teknik olan grafit fırın veya elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (GFAAS veya ETAAS), daha düşük derişimlerdeki elementlerin tayini için önemli bir çözüm sunmuştur [93–95] . GFAAS sisteminde, atomlaştırma işlemi bir alev yerine, elektriksel olarak ısıtılan grafit malzemeden yapılmış bir tüp fırın içinde gerçekleştirilir. Örnek, bu tüp içerisine çok küçük hacimlerde (genellikle mikrolitre düzeyinde) doğrudan enjekte edilir. Grafit fırın sistemi, kontrollü ısıtma programları sayesinde örneğin kurutulması, pirolizi (organik matriksin uzaklaştırılması) ve atomlaştırılması gibi aşamaların her birini ayrı sıcaklıklarda gerçekleştirebilir [93]. GFAAS sistemlerinde her bir analit ve örnek türü için özel olarak optimize edilmiş bir sıcaklık-zaman programı kullanılır. Bu program, elektrotermal atomlaştırıcının dört ana işlevsel aşamayı kontrollü olarak gerçekleştirmesini sağlar. Kurutma esnasında, enjekte edilen sıvı örneğinin kontrollü bir sıcaklık artışıyla buharlaştırılarak tamamen kurutulması sağlanır. Bu aşama hızlı buharlaşmadan kaynaklı sıçramaları önler. Piroliz, örnek matriksindeki organik veya uçucu bileşenler, uygun sıcaklıkta ayrıştırılarak uzaklaştırılır. Bu aşamada analitin kaybı olmadan, matriks etkileri azaltılır. Atomlaştırma, kalan analit bileşenleri çok kısa sürede yüksek sıcaklığa maruz bırakılarak serbest atomlara ayrılır. Bu, maksimum sinyalin elde edildiği en kritik aşamadır. Temizleme sırasında, tüp içindeki tüm artıkların ve kirleticilerin uzaklaştırılması için genellikle maksimum sıcaklık uygulanır [96]. Böylece bir sonraki analize etkisi

olabilecek kalıntılar ortadan kaldırılır. Bu çok aşamalı ısıtma yaklaşımı, matriks etkilerinin azaltılması ve analit atomlarının daha verimli şekilde buharlaştırılması açısından büyük avantaj sağlar. Bu teknik sayesinde, çok daha küçük örnek hacimleri ile daha düşük tayin limitlerine ulaşılmaktadır. Bu nedenle grafit fırın teknikleri, özellikle biyolojik örnekler, çevresel su ve toprak analizleri, gıda ve farmasötik ürünlerin eser element tayinleri gibi duyarlı uygulamalarda tercih edilmektedir [97,98]. GFAAS sistemlerinde kullanılan grafit tüpler, iki temel geometriye sahiptir. Uzunlamasına ısıtılmış tüplerde ısı elektrotlar boyunca tüpün ekseni doğrultusunda iletilir. Enine ısıtılmış tüplerde, elektrik akımı tüpün çevresine eşit olarak yayılır. Bu, izotermal ısı dağılımı sağlar ve daha homojen atomlaştırma koşulları elde edilmesine olanak tanır [99]. GFAAS sistemlerinde kullanılan uzunlamasına ısıtmalı ve enine ısıtmalı grafit tüp tasarımları Şekil 2.7'de verilmiştir.



Şekil 2.6 Uzunlamasına ısıtmalı (A) ve enine ısıtmalı (B) elektrotermal atomlaştırıcı konfigürasyonları. A: Su soğutmalı grafit elektrik bağlantı silindiri, B: Grafit tüp, C: Örnek enjeksiyon deliği, D: Işın yolu [96]

2.4 Kromatografik yöntemler

Kromatografi, maddelerin fiziksel özelliklerine dayanarak birbirinden ayrılmasını sağlayan bir ayırma yöntemidir. Bu yöntem, özellikle karışımların bileşenlerini ayırmak, tanımlamak ve nicel analiz yapmak için kimya, biyokimya ve çevre bilimleri gibi birçok disiplinde yaygın olarak kullanılır. Kromatografi, bir karışımın iki farklı faz arasındaki dengeye göre çalışır. Sabit faz genellikle bir dökme sıvı, gözenekli bir yatak (örneğin silika jel), ince bir tabaka veya film şeklindedir. Hareketli faz, sabit faz boyunca akan bir sıvı veya gazdır. Örneğin sıvı kromatografisinde sıvı, gaz kromatografisinde gaz kullanılır. Analit, sabit faz

boyunca hareketli fazla birlikte ilerlerken, sürekli olarak sabit faz ile de etkileşime girer. Bu süreç, her bileşiğin sabit ve hareketli fazlar arasındaki etkileşim kuvvetlerinin farklı olmasından dolayı farklı hızlarda gerçekleşir. Kromatografik yöntemler genel olarak kâğıt kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, iyon değişim kromatografisi ve jel filtrasyon kromatografisi gibi sınıflandırılır. Bu yöntemler kullanılan sabit ve hareketli faz türlerine, ayırma mekanizmalarına ve uygulama alanlarına göre farklılık gösterir [100].

2.4.1 Sıvı Kromatografisi (LC)

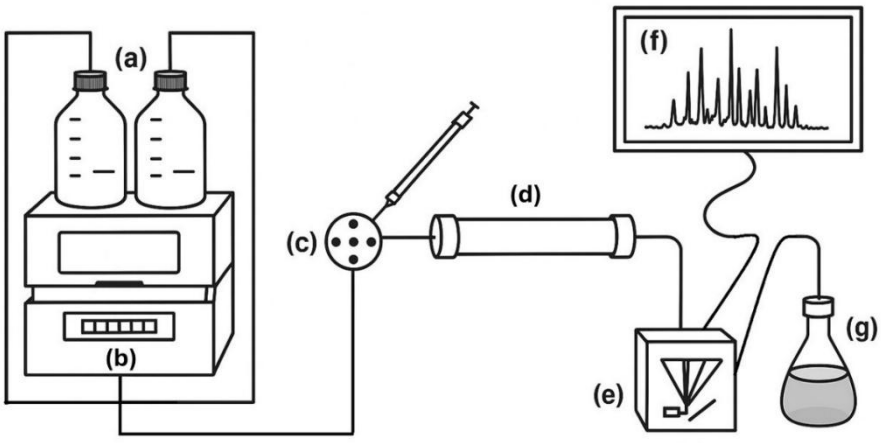
Sıvı kromatografisi (LC), 20. yüzyılın başlarına kadar uzanan en eski ayırma yöntemlerinden biridir. Bir Rus botanikçi, bitki pigmentlerini ayırmak için yeni bir teknik keşfetmiştir [101]. Kalsiyum karbonat içeren kolona petrol eteri eklenmesiyle altı farklı pigment (klorofiller ve ksantofiller) elde edilmiştir. Bu yeni teknik, Yunanca'da "renkli yazı" anlamına gelen kromatografi olarak adlandırılmıştır [102]. 1960'lı yıllarda, kolon dolgu maddesinin tanecik çapının küçültülmesi ve mobil faz hızının artırılmasıyla, daha yüksek basınç altında çalışılarak ayrım çözünürlüğü artırılmış ve analiz süresi kısaltılmıştır [101,103,104].

Sıvı-sıvı kromatografisi ve sıvı-katı kromatografisi, normal faz ve ters faz olmak üzere iki farklı modda uygulanabilmektedir [105]. Normal faz modunda, silika gibi polar bir sabit faz ile birlikte kloroform ve diklorometan gibi apolar bir hareketli faz kullanılır. Ters faz modunda ise, apolar bir sabit faz ile polar bir hareketli faz birlikte kullanılarak hedef analizlerin ayrılması sağlanır. Bu modda, polar analitler, apolar sabit faz ile daha az etkileşime girdikleri için kolondan ilk önce elüe olurlar. Buna karşılık, apolar analitler, apolar sabit fazla daha güçlü etkileşim gösterdiklerinden dolayı, kolonda daha uzun süre tutulurlar ve daha geç elüe olurlar [106].

Enstrümantasyon açısından bakıldığında, LC sistemleri genellikle benzer bir yapısal tasarıma sahiptir. LC sistemlerinin temel bileşenleri; mobil faz rezervuarı, pompa, örnek enjeksiyon ünitesi, analitik kolon, dedektör ve bunları birbirine bağlayan bağlantı tüpleri ile bağlantı parçalarıdır (Şekil 2.8). Mobil faz rezervuarları, kullanılan mobil faz bileşimine karşı kimyasal olarak inert (tepkisiz)

malzemelerden üretilmelidir. Mobil faz olarak kullanılan çözücüler, kullanımdan önce süzülmeli ve gazdan arındırılmalıdır; bu sayede mobil fazın akış hızı tekrarlanabilir şekilde sağlanır ve temel çizgi (baseline) dalgalanmaları en aza indirilmiş olur [101]. İzokratik elüsyon sistemi, yani kromatografik ayırma süresi boyunca çözücü bileşiminin sabit kaldığı sistem, düşük maliyetli, basit ve dayanıklı olması nedeniyle yaygın olarak tercih edilmektedir. Buna karşılık, gradyan elüsyon yöntemi ise mobil fazın polaritesinin analiz süresince değiştirilmesi esasına dayanır ve farklı polaritelere sahip analitlerin ayrılması için oldukça etkilidir [107].

Tüm kromatografik yöntemlerde, analiz edilecek örnek gaz, sıvı ya da süperkritik akışkan formundaki bir hareketli faz içerisinde çözünür. Bu hareketli faz, genellikle bir kolon ya da katı yüzey üzerinde sabitlenmiş, kendisiyle karışmayan bir sabit fazdan geçmeye zorlanır. Örnek içerisindeki bileşikler, sabit faz ile etkileşim derecelerine bağlı olarak hareketli faz içerisinde farklı hızlarda ilerler. Sabit faz ile güçlü etkileşim gösteren bileşikler daha yavaş hareket ederken, zayıf etkileşim gösterenler daha hızlı ilerler. Bileşikler arasındaki bu farklı geçiş hızları, örnek bileşenlerinin birbirinden ayrılmasını sağlar. Kromatografik yöntemler, kullanılan hareketli fazın türüne, sabit fazın özelliklerine ve analitlerin bu iki faz arasındaki etkileşim mekanizmalarına göre sınıflandırılabilir. [108]



Şekil 2.7 Yüksek performanslı sıvı kromatografi sistemi; a) mobil gaz rezervuarı b) pompa; c) örnek girişi d) analitik kolon e) detektör; f) veri toplama ve işleme; g) atık [106]

İyon kromatografisi (IC) 1975 yılında ortaya çıktığında, temel olarak inorganik iyonların tayini için kullanılan bir kromatografik yöntemdi. Bu yöntem, sabit faz olarak düşük iyon değişim kapasiteli bir reçine, dedektör olarak konduktimetre ve

ayırma hızını ve algılama duyarlılığını artırmak için bir bastırıcı kolon içermekteydi. 1979 yılında Gjerde ve arkadaşları [109], düşük iletkenlikli bir elüent kullanarak baskısız IC tekniğini geliştirdiler. Bu IC konsepti daha sonra, organik iyonları, diğer ayırma yöntemlerini (örneğin, iyon etkileşimi ve iyon dışlama), anyon ve katyonların eşzamanlı ayrıştırılmasını ve çok çeşitli dedektörleri de içerecek şekilde genişletildi [110]. IC, yüksek performanslı sıvı kromatografinin bir alt dalı olup, başlıca uygulama alanı çeşitli sıvı numunelerdeki inorganik ve bazı organik iyonların tayinidir. Son yıllarda farklı ayırma mekanizmalarına sahip yeni sabit faz türlerinin, gelişmiş numune hazırlama tekniklerinin ve çeşitli algılama modlarının geliştirilmesi sayesinde, iyon kromatografisinin uygulama alanı pratik olarak tüm iyonik ve iyonojenik bileşikleri kapsayacak şekilde genişlemiştir. Bu gelişmeler, yöntemin yalnızca sıvı değil, aynı zamanda gaz ve katı matrikslerdeki numunelere de uygulanabilirliğini mümkün kılmıştır [111]. IC, bir analitik teknik olarak, sulu numunelerdeki anyon ve katyonların (örneğin NO_3^-, Cl^-, Na^+, Ca^{2+} gibi) eşzamanlı kromatografik ayrışmasını kolaylaştırır [112]. Bu nedenle, engelleyici iyonlar olmadan gerçek iyon türleri tespit edilir. Bu yöntem, iyonların kromatografik kolon içindeki iyon değişim reçinesi ile etkileşimi ve ardından genellikle iletkenlik yoluyla tespit edilmesi temelinde çalışır [113].

İyon kromatografisi üç temel bileşenden oluşur: sabit faz (kolon), mobil faz (eluent) ve dedektör. Sabit faz, genellikle iyon değiştirici gruplar içeren bir reçine materyalinden oluşur. Bu reçine, yüklü fonksiyonel gruplar sayesinde çözeltideki iyonlarla elektrostatik etkileşime girer. Mobil faz ise bu iyonların kolondan taşınmasını sağlar ve aynı zamanda kolonla etkileşen hedef iyonları yerinden koparak ayrılmayı sağlar. Analiz sürecinin sonunda bir iletkenlik dedektörü, kolondan çıkan iyonları tespit eder ve nicel analiz gerçekleştirilir [114].

İyon değiştiriciler, iyon kromatografisinin en kritik bileşenlerinden biridir. Anyon ve katyon değiştiriciler, yüzeylerinde taşıdıkları fonksiyonel gruplara bağlı olarak farklı iyonları tutma kapasitesine sahiptir. Anyon değiştiriciler, pozitif yüklü gruplar (örneğin kuaterner amonyum grupları $-NR_4^+$) içerir ve negatif yüklü anyonları (örneğin Cl^-, NO_3^-, SO_4^{2-}) adsorbe eder. Katyon değiştiriciler, negatif yüklü gruplar (örneğin sülfonik asit $-SO_3^-$) içerir ve pozitif yüklü katyonları (örneğin Na^+, Ca^{2+}, NH_4^+) tutar [115,116]. İyon değiştirici reçineler, iyon kromatografisinde kullanılan sabit faz materyalleridir ve genellikle polimerik

yapıya sahiptir. Reçineler, asidik ya da bazik karakterlerine ve iyon tutma kapasitelerine göre güçlü asidik katyon değiştiriciler, zayıf asidik katyon değiştiriciler, güçlü bazik anyon değiştiriciler ve zayıf bazik anyon değiştiriciler olarak sınıflandırılır [116,117].

2.5 Örnek Hazırlama Yöntemleri

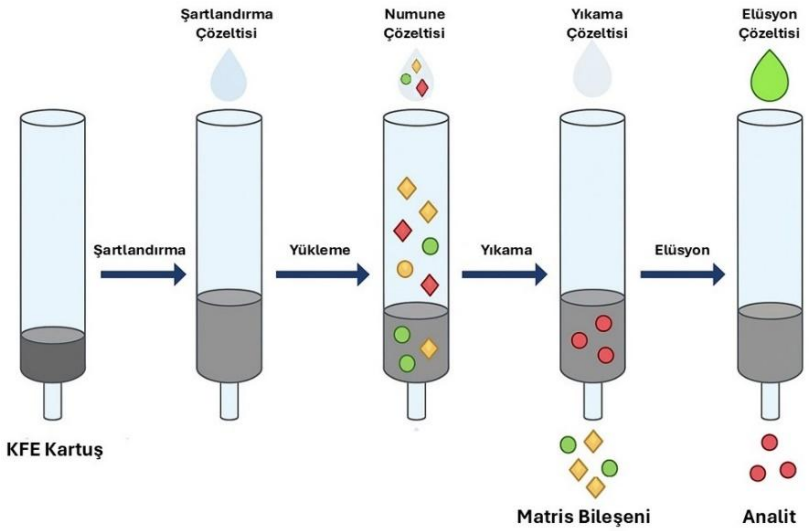
Örnek hazırlama, analitik işlemlerdeki en önemli aşamalardan biridir ve en gelişmiş cihazlar için bile ölçümden önce mutlaka gereklidir. Bu aşama, analitin örnek matrikslerinden ayrılmasını sağlamak amacıyla gerçekleştirilir [118]. Örnek hazırlama, matriks etkilerini azaltmak, örneği temizlemek ve analit(ler)i zenginleştirmek için uygulanır [119]. Literatürde, mekanik, yerçekimi, manyetik alan, boyut eleme, elektrokimya, türevleme veya etiketleme, bozunma, filtrasyon, membran ayırımı, faz geçişi ve adsorpsiyon gibi birçok örnek hazırlama yöntemi bulunmaktadır [120].

2.5.1 Katı faz ekstraksiyon (KFE)

Katı faz ekstraksiyon (KFE), en sık kullanılan yöntemlerden biridir ve bu yöntem; örneğin, katı adsorban içeren kısa bir kolona verilmesi, analit(ler)in adsorban yüzeyine adsorpsiyonu ve uygun bir çözücü ile analitlerin elüe edilmesi aşamalarından oluşur [121]. Kısa kolon içinde sorbent (50–60 μm partikül boyutunda) bulunan ve plastik filtreler ya da gözenekli metal ile sabitlenmiş açık bir enjektör gövdesinden oluşmaktadır [122].

Şekil 2.9'de KFE yöntemine ait deneysel adımlar özetlemektedir [123]. KFE yönteminde kullanılan sorbentlere örnek olarak oktadesil (C18), oktil (C8), sikloheksil, fenil, siyanür (CN), amino (NH_2), silika jel (-SiOH), florisil (Mg_2SiO_3) ve alümina (Al_2O_3) verilebilir [124].

KFE yöntemi, düşük çözücü tüketimi ve az atık üretimi açısından bazı avantajlar sunmaktadır ancak KFE yönteminin bazı önemli sınırlılıkları da bulunmaktadır. Bu sorunlar arasında; sorbent materyallerinin yeterli homojenliğe sahip olmaması, adsorbanın sınırlı seçiciliği ve analit ile örnek matriks bileşenleri arasında adsorpsiyon için rekabet bulunması yer almaktadır [121].



Şekil 2.8 KFE yöntemi uygulama diyagramı [123]

2.5.2 Sıvı-sıvı ektraksiyon (SSE)

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu (SSE), geniş uygulama alanlarına sahip bir diğer önemli ekstraksiyon yöntemidir. Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) tarafından yapılan tanıma göre, SSE; çözünmüş bir maddenin bir fazdan, bu fazla tamamen ya da kısmen karışmayan bir diğer sıvı faza aktarılması esasına dayanan kimyasal bir işlemdir [125]. Analit(ler), her iki fazda farklı çözünürlük özelliklerine sahip olduklarından, iki karışmayan faz arasında eşit olmayan şekilde dağılırlar. Sistem dengede olduğunda, analit büyük oranda çözünürlüğünün daha yüksek olduğu fazda kalır. Bu yöntemde kullanılacak ekstraksiyon çözücüsünün seçiminde bazı kriterler bulunmaktadır: Analit ile tepkimeye girmemeli, analiti iyi çözebilmelidir, su ile karışmamalı, su ile arasında yeterli yoğunluk farkı bulunmalı, düşük maliyetli olmalı ve yüksek saflıkta kolayca temin edilebilmelidir [126].

SSE, klasik analitik kimya uygulamalarında sıklıkla kullanılan bir ön deriştirme ve arındırma yöntemi olarak bilinir [127,128]. Ancak, bu yöntemin, kullanılan organik çözücülerin genellikle toksik, yanıcı ve çevreye zararlı olması, çözücü hacimlerinin büyük olması nedeniyle laboratuvar atıklarının artması, yüksek saflıktaki çözücülerin temin edilmesinin ekonomik yük oluşturması, işlem sürelerinin nispeten uzun olması ve otomasyona uygunluğunun düşük olması gibi birçok önemli sınırlamaları bulunmaktadır. Bu nedenlerle, SSE'nin yerini alabilecek, daha çevre dostu, ekonomik, düşük çözücü tüketimi gerektiren ve yüksek analitik duyarlılık sunan alternatif ekstraksiyon tekniklerine ihtiyaç doğmuştur [129].

Modern örnek hazırlama yöntemleri, deneysel adımların ve çözücü kullanımının azaltılmasını, ayrıca zararlı kimyasalların ortadan kaldırılmasını amaçlamaktadır. Sıvı faz mikroekstraksiyonu (SFME), sıvı-sıvı ekstraksiyonu (SSE) yönteminin miniatürleştirilmiş bir formudur ve bu yöntemde analitler, katı, sıvı veya gaz örneklerden 100 µL veya daha az hacimdeki bir sıvı faza ekstrakte edilir [119]. SFME yöntemleri, SSE yönteminin pahalı, toksik ve tehlikeli organik çözücülerin yüksek miktarda tüketimi, uzun ekstraksiyon süreleri ile yorucu ve çok aşamalı işlemler gibi dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilmiştir [129]. Günümüze kadar literatürde çeşitli SFME yöntemleri tanıtılmış ve uygulanmıştır. Bu teknikler, mikro düzeyde çözücü kullanımıyla hem çevresel sürdürülebilirliği artırmakta hem de işlem verimliliğini yükseltmektedir Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME), su ve çözücü karışımına dağıtıcı bir çözücü ilave edilerek ekstraksiyon fazının sulu faz içinde dağılması sağlanır. Bu teknik, yüksek yüzey alanı sayesinde hızlı denge sağlar ve yüksek önderiştirme faktörleri sunar [130]. Tek damla mikroekstraksiyon (TDME), küçük bir çözücü damlası (genellikle birkaç mikrolitre) sulu örneğe temas ettirilerek hedef analitlerin bu çözücüye geçmesi sağlanır. TDME yöntemi, kolay uygulanabilir ve düşük maliyetlidir [131]. Oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyonu (OF-SFME) yönteminde, hidrofobik polimerik fiber tüpler kullanılarak çözücü içeren mikrorezervuarlar oluşturulur. Örnek bu fiberlerin iç yüzeyiyle temas eder ve analitler çözücüye geçer. Özellikle biyolojik örneklerde kullanımı yaygındır [132]. Sprey destekli damlacık oluşturma esaslı sıvı faz mikroekstraksiyon (SD-DO-SFME) yönteminde, çözücü, sprey formunda sulu örnek üzerine püskürtülerek mikrodamlacıklar oluşturulur. Bu damlacıklar, analitlerle etkileşime girerek yüksek verimli ekstraksiyon/önderiştirme sağlar. Yenilikçi bir teknik olup hızlı bir ekstraksiyon/önderiştirme imkanı sunar [133–135].

2.5.2.1 Supramoleküler Çözücüler

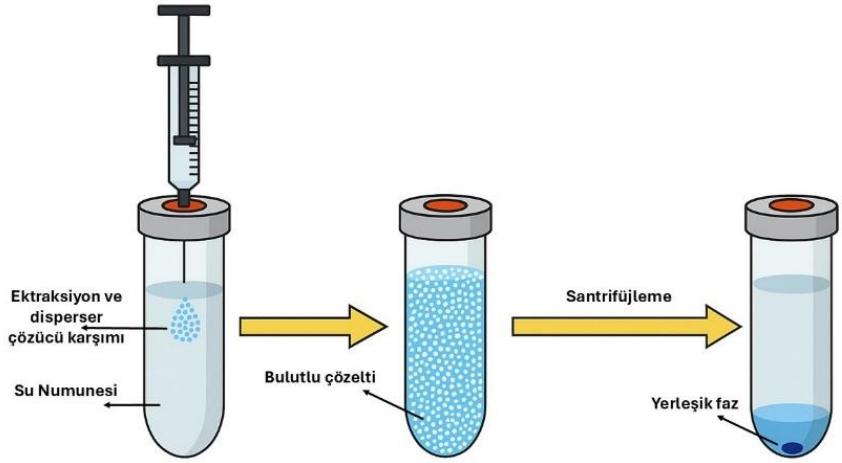
Çözücü içermeyen ve çevre dostu numune hazırlama tekniklerinin tasarımı, modern analitik kimyada önemli bir konudur. Misel sistemler içerisinde, iki farklı kendiliğinden birleşme mekanizmasıyla oluşturulan supramoleküler çözücüler özel bir öneme sahiptir. Bu süreçler, amfifil agregasyonu ve koaservasyon olup, supramoleküler çözücü açısından zengin bir fazın oluşumuna neden olmaktadır [136]. Amfifilik moleküllerin çeşitli nanoyapılarda bir araya gelmesi,

supramoleküler çözücü oluşumunda ilk kendiliğinden birleşme sürecidir. Amfifiller, kritik birleşme konsantrasyonuna ulaşıldığında, olumsuz solvofobik etkileşimleri en aza indirmek için kendiliğinden birleşir. SUPRAS'ların ekstraksiyon özellikleri, esas olarak amfifilik yapıları ve faz ayrımını tetikleyen çevresel koşullarla ilişkilidir. Bu nedenle, belirli bir uygulamaya yönelik en uygun SUPRAS sistemlerinin tasarımı, bileşimin kontrollü bir şekilde ayarlanmasıyla mümkündür. Kritik birleşme konsantrasyonunda, amfifillerin birbirleriyle etkileşime girmesi enerji açısından avantajlı hale gelir. SUPRAS'lar amfifil bakımından zengindir ve köken aldıkları çözücü (genellikle su) ile karışmazlar, ancak çözücü SUPRAS'ların ana bileşeni olup supramoleküler yapıların dağıldığı sürekli fazı oluşturur [137].

SUPRAS türleri için alkanoller [138–142] , 1-dodekanol [143], 1-hekzanol [144], dekanoik asit [145–147] gibi uzun zincirli moleküller kullanılır. Bu moleküller hidrofilik ve hidrofobik uçları sayesinde yapılandırılmış sıvılar oluşturur. SUPRAS sentezi amfifilik bileşiklerin suda çözündürülmesi, faz ayrımı oluşturacak şekilde karıştırma (örneğin vorteks veya sonikasyon) ve çözücü fazın santrifüjle ayrılması olmak üzere genellikle üç adımda yüksek verim ve karmaşık laboratuvar ekipmanlarına ihtiyaç duymadan sentezlenebilir [148].

2.5.2.2 Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi (DSSME)

Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) yöntemi, Rezaee ve çalışma arkadaşları tarafından 2006 yılında, yüzey, kuyu ve nehir suyu örneklerinden polisiklik aromatik hidrokarbonların ön deriştirilmesi amacıyla önerilmiştir [149]. Bu yöntem, ekstraksiyon çözücüsünün sulu faz içerisinde, her iki fazla da karışabilir özelliğe sahip ikinci bir organik çözücü yardımıyla dağılması esasına dayanmaktadır. Uygulamada, su ile karışmayan bir çözücü (ekstraksiyon çözücüsü), su ve ekstraksiyon çözücüsü ile karışabilen başka bir çözücü (dağıtıcı çözücü) içinde çözündürülerek, sulu örnek çözeltisine enjekte edilir. Oluşan bulutumsu çözelti, ekstraksiyon çözücüsünün dağılımını durdurmak ve faz ayrımını kolaylaştırmak amacıyla santrifüjlenir. Son olarak, analit açısından zengin faz, bir mikroşırınga ile alınır [130,150]. Bu yöntemin uygulanışı Şekil 2.10'de özetlenmiştir.



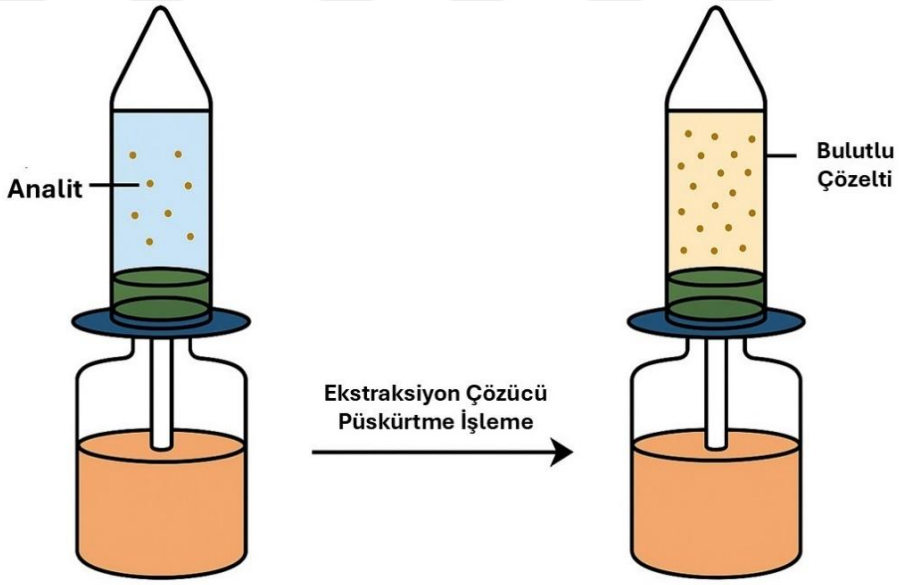
Şekil 2.9 DSSME yöntemi şematik gösterimi [151]

DSSME yöntemi araştırmacılar tarafından sıkça kullanılmış olsa da, bazı önemli dezavantajlara sahiptir. Öncelikle, dağıtıcı çözücü olarak polar çözücülerin kullanılması, analit(ler)in ekstraksiyon çözücüsüne geçişini zorlaştırmaktadır; çünkü analitlerin dağıtıcı çözücülerdeki göreceli olarak yüksek çözünürlüğü bu geçişi engellemektedir. Ayrıca, mililitre düzeyinde dağıtıcı çözücü kullanımı çevresel açıdan sürdürülebilir değildir [152]. Bu nedenlerle, DSSME yöntemine özgü bu dezavantajları gidermek amacıyla çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir. Örneğin; ultrason destekli emülsifikasyon [153,154], ultrason destekli yüzey aktif madde ile artırılmış emülsifikasyon mikroekstraksiyonu [155,156], efervesan destekli DSSME [157] ve hava destekli DSSME [158] gibi yöntemler, DSSME'de dağıtıcı çözücü kullanımının olumsuz etkilerini azaltmaya yönelik geliştirilmiş uygulamalardır.

2.5.2.3 Sprey destekli damlacık oluşturma esaslı sıvı faz mikroekstraksiyon (SD-DO-SFME) yöntemi

Sprey destekli damlacık oluşturma esaslı sıvı faz mikroekstraksiyon (SD-DO-SFME) yöntemi, ekstraksiyon çözücüsünün sulu çözelti içerisinde dağılmasını sağlamak amacıyla dağıtıcı çözücü kullanımına son vermek üzere 2020 yılında literatüre kazandırılmıştır [133]. SD-DO-SFME yönteminde, laboratuvar yapımı bir düzenek olan "püskürtme sistemi" kullanılarak, çözücü tankında bulunan ekstraksiyon çözücüsü, ince damlacıklar şeklinde örnek çözeltisine aktarılır. Bu spreyleme sistemi; bir çözücü tankı, sprey başlığı ve merkezinde bir delik bulunan santrifüj tüpü kapağının, sprey başlığı ile birleştirilmesini sağlayan yapıdan

oluşmaktadır. Örnek çözeltisini içeren santrifüj tüpü, sprey başlığına yerleştirilen santrifüj tüpü kapağına sabitlenir. Ardından, sprey başlığı, püskürtme işleminin gerçekleşeceği yöne doğru hareket ettirilir. Püskürtme işlemi sonunda, ekstraksiyon çözücüsünün küçük damlacıklar halinde oluşması nedeniyle bulutumsu bir çözelti gözlemlenir [133,159]. Şekil 2.11'te SD-DO-SFME yöntemine ait tüm işlemler detaylı biçimde görülmektedir. Ekstraksiyon çözücüsünün standart ya da örnek çözeltisine püskürtülmesi işlemi, analiti içeren sulu ortam ile ekstraksiyon çözücüsü arasında geniş bir ara yüzey alanı oluşturan ince çözücü damlacıklarının meydana gelmesini sağlar [160]. Bu yaklaşım sayesinde, çözücü kullanımı önemli ölçüde azaltılırken, klasik dağıtıcı çözücü destekli mikroekstraksiyon (DSSME) yöntemine kıyasla uygulama protokolü daha basit, hızlı ve çevre dostu bir hale getirilmiştir [133,161].



Şekil 2.10 SD-DO-SFME'nin şematik diyagramı [133]

Bu sistem, dağıtıcı çözücü içermemekte olup, diğer örnek hazırlama teknikleri ve enstrümantal analiz yöntemleriyle uyumludur. Örneğin, uygun bir ekstraksiyon çözücüsü seçildiği takdirde, kompleksleştirici veya türevlendirme ajanları spreyleme sistemi aracılığıyla kolaylıkla örnek çözeltisine aktarılabilir. Böylece, ekstraksiyon ile eşzamanlı kompleksleştirme veya türevlendirme işlemleri gerçekleştirilebilir. Bu sürece ilişkin bazı örnekler şunlardır: kloroformda çözündürülmüş N,N′-Bis(salisiliden)-1,2-fenilendiamin ile bakırın kompleksleştirilmesi [162], diklorometanda çözündürülmüş difenilkarbazon ile kadmiyumun kompleksleştirilmesi [159], kloroformda çözündürülmüş Schiff baz

ligandı ile kobaltın kompleksleştirilmesi [163], 1,2-dikloroetanda çözündürülmüş asetik anhidrit ile metamfetaminin türevlendirilmesi ve kloroformda çözündürülmüş 2-naftoil klorür ile fenuronun türevlendirilmesi [164].

2.6 Literatürde Yapılmış Çalışmalar

L. Kozak ve arkadaşları bu çalışmada inorganik selenyum türlerinin (Se(IV) ve Se(VI)) tayini amacıyla optimize edilmiş bir yüksek performanslı sıvı kromatografi–hidrür üretimi–atomik absorpsiyon spektrometresi (HPLC-HG-AAS) sistemi kullanılmıştır. İyon değişim kromatografisi sayesinde selenit ve selenat türleri 10 ng/mL tayin sınırında başarıyla ayrılmıştır. Çalışma, HPLC-HG-AAS sisteminin, düşük maliyetli, kullanımı kolay ve özellikle inorganik selenyum türlerinin hızlı ve güvenilir tayini için uygun bir alternatif olduğunu göstermektedir. Bu yöntem, daha yaygın kullanılan HPLC-ICP-MS sistemine göre daha erişilebilir bir çözüm sunmaktadır [165].

Bir diğer çalışmada, selenyum (Se) ile zenginleştirilmiş pırasalarda farklı Se türlerinin biyoyararlanabilirlik ve biyoyararlanım düzeylerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Hidroponik sistemlerde, düşük ve yüksek dozlarda Se(IV) (selenit) ve Se(VI) (selenat) ile desteklenen pırasalar, tür dönüşümü ve Se birikimi açısından analiz edilmiştir. Selenyum türlerinin ayrımı ve tayini için HPLC ile ayrım yapılıp, ICP-MS ile tayini gerçekleştirilmiştir. Bu sistem, hem toplam Se miktarını hem de spesifik Se türlerini (örneğin SeMet, MeSeCys, Se(IV), Se(VI)) duyarlı şekilde belirleme imkanı sunmuştur [166].

2015 yılında yapılan bir diğer çalışmada, kırmızı ve beyaz şarap örneklerinde bakır (Cu) ve demir (Fe) elementlerinin belirlenmesi amacıyla, dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) yöntemi ile ön zenginleştirme yapılıp, analizlerin alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir. DSSME yöntemi, düşük çözücü hacmi kullanımı, basitliği ve düşük maliyeti ile şarap örneklerinde Cu ve Fe tayini için uygun ve etkili bir örnek hazırlama tekniği olarak öne çıkmıştır. Ayrıca yüksek zenginleştirme faktörü ve çevre dostu yapısıyla rutin analizlere uygulanabilir bir yöntem olarak önerilmektedir. Uygulanan DSSME yöntemiyle elde edilen geri kazanım oranları Cu için %91–110, Fe için %89–113 arasında bulunmuştur [167].

2018 yılında yapılan diğer bir çalışmada ise, suda çok az miktarda bulunan bakır (Cu^{2+}) iyonlarını analiz edebilmek için yeni, çevre dostu ve pratik bir örnek hazırlama yöntemi geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntem, efervesan destekli dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon ve AAAS ile birleştirilerek uygulanabilirliği değerlendirilmiştir. Yöntem hem sertifikalı referans materyallere hem de doğal su örneklerine başarılı bir şekilde uygulanmış; yüksek geri kazanım (%97–104) değerleri elde edilmiştir. Geliştirilen yöntem düşük maliyetli, enerji gerektirmeyen, çevre dostu ve duyarlı bir analiz tekniği olarak bakırın eser tayininde etkili bir seçenek sunmaktadır [168].

2024 yılındaki bir diğer çalışmada, gül çayı örneklerinde eser düzeyde bulunan bakır (Cu) elementinin tayini için emülsifikasyon esaslı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon ile birleştirilmiş AAAS tabanlı yeni bir analiz yöntemi geliştirilip sunulmuştur. İstanbul'daki yerel pazardan temin edilen iki farklı markaya ait gül çayı örnekleri analiz edilmiş, örneklerde bakır tespit edilmemiş; bunun üzerine standart ekleme yapılarak geri kazanım deneyleri yapılmıştır. Harici kalibrasyon stratejisiyle geri kazanım oranları %66.4–74.4 aralığında bulunurken, matriks eşleştirme kalibrasyon stratejisiyle bu oranlar %95.9–118.4'e yükselmiştir. Bu durum, matriks etkilerinin varlığını ve doğru sonuçlar için matriks eşleştirme kalibrasyonun önemini ortaya koymuştur. Geliştirilen yöntem, düşük tespit sınırı, çevre dostu çözücü kullanımı ve kabuledilebilir geri kazanım oranlarıyla, gıda ve bitki kaynaklı örneklerde eser düzeyde bakır tayini için güvenilir ve uygulanabilir bir yöntem sunmuştur [169].

Qiu ve arkadaşları, literatüre iyon-çifti yüksek performanslı sıvı kromatografi – hidrür üretimi – atomik floresans spektrometresi (IP-HPLC–HG–AFS) sistemini tanıtarak, kültüre edilmiş sarımsak örneklerinde selenosistein, selenometiyonin, selenit ve selenat türlerinin eşzamanlı tayini için uygun bir yöntem sunmuşlardır. Geliştirilen yöntemin selenit ve selenat için belirlenen tayin sınırları (GL) sırasıyla 0.05 µg/L (Se cinsinden) ve 0.04 µg/L (Se cinsinden) olarak rapor edilmiştir [170].

Literatürde yer alan bir başka çalışmada ise, su ve şarap örneklerinde inorganik selenyum türlendirmesi için HPLC – nano TiO_2 destekli ön indirgeme – HG – AFS yöntemi önerilmiştir. Bu çalışmada, Se(VI)'nin Se(IV)'e indirgenmesi için klasik ısıtma işlemi yerine, HCl/tiyoüre karışımı içeren nano TiO_2 destekli fotokimyasal reaktörü kullanılmıştır. Bu yöntemde, Se(IV) ve Se(VI) için bildirilen GL değerleri

sırasıyla 2.38 µg/L (Se cinsinden) ve 3.39 µg/L (Se cinsinden) olarak belirtilmiştir [171]. Her ne kadar literatürdeki bu çalışmalarda bildirilen GL değerleri, geliştirilen HPLC–SAHO–AAAS yöntemine kıyasla daha düşük olsa da geliştirilen yöntem analiz süresi açısından önemli bir üstünlük sağlamaktadır.

Literatürde yer alan bir diğer çalışmada, portakal suyu örneklerinde Se(IV) ve Se(VI) tayini için akış enjeksiyonu–hidrür üretimi–alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi (FI–HG–FAAS) tabanlı ardışık bir tayin yöntemi önerilmiştir. Bu çalışmada, toplam inorganik selenyum miktarının belirlenebilmesi amacıyla, HCl/HBr karışımı ile mikrodalga ışıması destekli bir çevrim dışı (offline) ön indirgeme yöntemi kullanılmıştır. Yönteme ait tayin sınırları (LOD) Se(IV) için 0.25 µg/L (Se cinsinden) ve Se(VI) için 0.30 µg/L (Se cinsinden) olarak bildirilmiştir [172]. Ancak, karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde, geliştirilen mevcut yöntem, literatürde raporlanan bu çalışmaya kıyasla Se(IV) ve Se(VI)'nin eşzamanlı tayinine olanak sağlaması bakımından önemli bir avantaj sunmaktadır.

3
MATERYAL VE METOT

3.1 HPLC-SAHO-AAAS Sistemi ile Su Örneklerindeki Selenit ve Selenatın Belirlenmesi

3.1.1 Selenyum Tayininde Kullanılan Kimyasallar

Tez kapsamında yürütülen tüm deneysel çalışmalarda analitik saflıkta kimyasallar ve reaktifler kullanılmış olup herhangi bir saflaştırma işlemi uygulanmamıştır. Stok çözeltileri (1017,50 mg/kg (Se cinsinden) selenit (Se(IV)) ve 989,15 mg/kg (Se cinsinden) selenat (Se(VI))) hazırlamak için ultra saf suda çözülen uygun miktarda sodyum selenit (Na_2SeO_3, saflık ≥%90,0) ve sodyum selenat (Na_2SeO_4, saflık ≥%98,0) Sigma-Aldrich'ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Bu stok çözeltiler Se(IV) ve Se(VI) içeren karışık standart çözeltiler hazırlamak için kullanılmıştır. Mobil fazın hazırlanmasında kullanılan trisodyum sitrat dihidrat (saflık ≥%99.0) ve Se(VI)'nın Se(IV)'e indirgenmesi sırasında kullanılan tiyoüre (saflık ≥%99.0) Sigma-Aldrich'ten (Darmstadt, Almanya) satın alınmıştır. HCl (%37), sodyum borhidrür ($NaBH_4$, saflık ≥%95,0) ve NaOH (saflık ≥%99,0) sırasıyla Tekkim (Bursa, Türkiye), Carlo Erba (Emmendingen, Almanya) ve ISOLAB Laborgeräte GmbH (Eschau, Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Human Power I sistemi (Seul, Güney Kore) 18,3 MΩ.cm özdirence sahip ultra saf su üretmek için kullanılmıştır.

3.1.2 Selenyum Tayini için Kullanılan HPLC-SAHO-AAAS Sistemi

Selenyum türlerinin elemental tayini ve kromatografik ayrımı için kullanılan, Analytik Jena ZEEnit 700P model AAAS (Jena, Almanya) ve Shimadzu LC-2010A HT model HPLC (Kyoto, Japonya), tasarlanan SAHO sistemi vasıtasıyla birleştirilmiştir. Birleştirilmiş sistem, HPLC sisteminde bir otomatik örnekleyici, kolon fırını, peristaltik pompa ve AAAS sisteminden oluşmaktadır. Tablo 3.1, HPLC-SAHO-AAAS sisteminde kullanılan tüm optimum koşullar özetlenmiştir.

Tablo 3.1 Selenyum türlerinin belirlenmesi için HPLC-SAHO-AAAS koşulları

Parametre	Durum/Değer
Analitik Kolon	Hamilton PRP-X100 güçlü anyon değiştirici kolonu (10 µm partikül boyutu, 25 cm uzunluk ve 4,6 mm iç çap)
Mobil faz Akış Hızı	1,75 mL/dk.
Kolon Sıcaklığı	30 ºC
Enjeksiyon Hacmi	100 µL
HCl içindeki Tiyoüre Derişimi	%10 (k/h)
HCl Derişimi	%30 (h/h)
$NaBH_4$ Derişimi	%5,0 (k/k)
Peristaltik Pompa Akış Hızı	0,8 mL/dk.
Reaksiyon Bobin Sıcaklığı	120 ºC
Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	0,5 mL/dk.
Reaksiyon Bobin Uzunluğu	50 cm

3.1.3 HPLC-SAHO-AAAS koşulları

100 µL örnek veya standart çözeltisi, otomatik örnekleyici aracılığıyla HPLC sistemine enjekte edilmiştir. Se(VI) ve Se(IV) analitik ayrımı, Hamilton PRP-X100 güçlü anyon değiştirici kolonu (10 µm partikül boyutu, 25 cm uzunluk ve 4,6 mm iç çap) ve hareketli faz olarak sitrat tamponu (10 mmol/L, pH 6,0) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. HPLC sisteminde mobil faz akış hızı 1,75 mL/dk. ve kolon sıcaklığı 30 ºC değerlerine sabitlenmiştir. AAAS sisteminde, bir selenyum oyuk katot lambası (196.0 nm çalışma dalgaboyu), bir döteryum lambası ve (SeH_2) için bir kuvars hücre kullanılmıştır. Atomlaştırmayı sağlamak amacıyla asetilen ve kuru

hava karışımı kullanılmıştır.

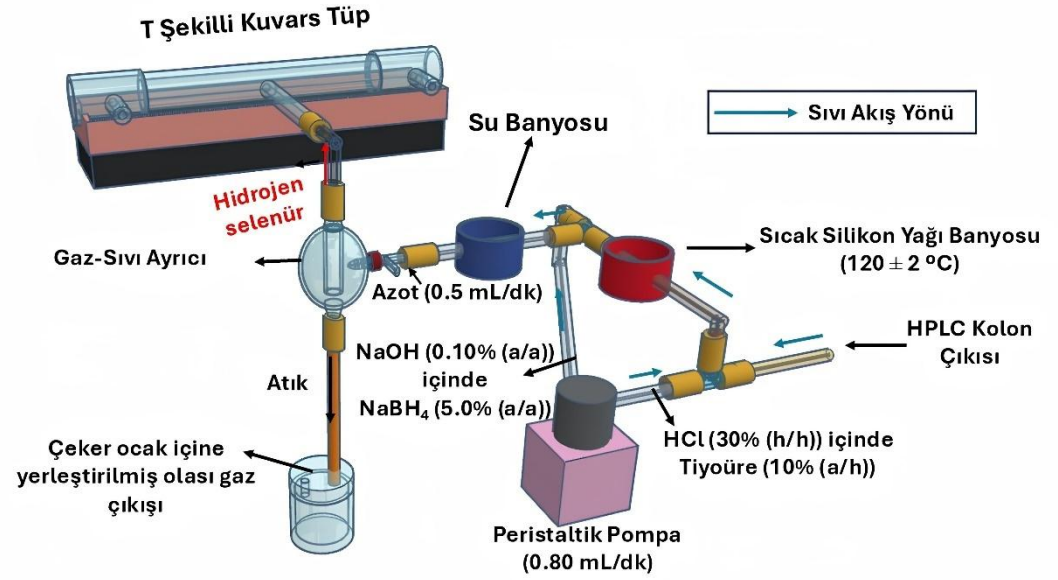
Hazırlanan tüm standart ve örnek çözeltileri, doğrudan geliştirilen HPLC-SAHO-AAAS sistemine enjekte edilmiştir. AAAS sisteminde sinyal izleme işlemi, HPLC sistemi aracılığıyla gerçekleştirilen standart ya da örnek enjeksiyonundan yaklaşık 1,0 dakika sonra başlatılmıştır. Sistem üzerinde yapılan kromatografik analizler sonucunda, Se(IV) ve Se(VI) türlerinin alıkonma süreleri sırasıyla 1,8 dakika ve 3,1 dakika olarak belirlenmiştir. Her bir analizde toplam çalışma süresi yaklaşık 4,3 dakika sürmüştür.

3.1.4 Türlendirme için kullanılan SAHO sistemi ve indirgeme reaksiyon mekanizması

Daha önce inorganik arsenik tür tayini için tasarlanan SAHO sistemi detaylı olarak anlatılmıştır [173]. Bu çalışmada, musluk suyu örneklerindeki inorganik selenyum türlerini belirlemek için benzer bir sistem tasarlanmıştır. Bu sistemin ilk kısmında 0,064 mm iç çapa, 40 cm uzunluğa ve 1,60 mm dış çapa sahip bir kapiler boru T şeklinde üç yollu bir konnektöre bağlanmıştır. Bu konnektörün diğer ucu peristaltik pompa aracılığıyla HCl (%30, h/h) içinde tiyoüre (%10 (k/h)) çözeltisinden gelen 10 cm'lik politetrafloroetilen (PTFE) tüpe bağlanmıştır. Sıcak silikon yağ banyosuna (120 ± 2 ºC) yerleştirilen bir PTFE redüksiyon bobini (50 cm uzunluğunda) bu konektörün diğer ucuna bağlanmıştır. İndirgeme bobininin dış kısmı, %5,0 (k/k) $NaBH_4$ (%0,10 (k/k) NaOH içeren) çözeltisi ile birleştirmek için diğer T-şekilli üç yollu konnektöre bağlanmıştır. Bu konektörün üçüncü ucuna bir PTFE reaksiyon bobini (50 cm uzunluğunda) yerleştirilmiştir. Soğutma bobininin dış kısmı, nebülizör kısmı aracılığıyla daha önceki çalışmamızda [174] ayrıntıları verilen bir gaz-sıvı ayırıcısına (GSA, küresel bir püskürtme odası ve bir sisleştirici içerir) bağlanmıştır. Bir azot akış ölçer kullanılarak sisleştirici yoluyla gönderilen azot gazı sadece sisleştirici gazı olarak değil, aynı zamanda taşıyıcı gaz olarak da kullanılmıştır. Sisleştirici püskürtme odasının merkezine yerleştirilmiş ve olası sıvı kısmın kuvars atomizasyon hücresine hareketini önlemek için püskürtme odasının içine silindirik şekilli bir duvar inşa edilmiştir.

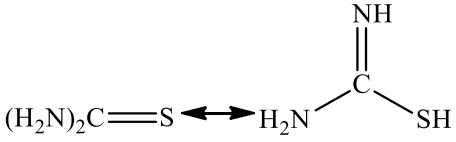
GSA'nın üst kısmı bir PTFE boru (10 cm uzunluğunda) ile kuvars atomizasyon hücresine bağlanırken, GSA'nın alt kısmı atık kabına bağlanmıştır. HPLC-SAHO sisteminin tasarımı sırasında kullanılan tüm PTFE boruların iç ve dış çapları

sırasıyla 0,5 mm ve 1,6 mm'dir. Tasarlanan sistem Şekil 3.1'de ayrıntılı olarak gösterilmektedir.

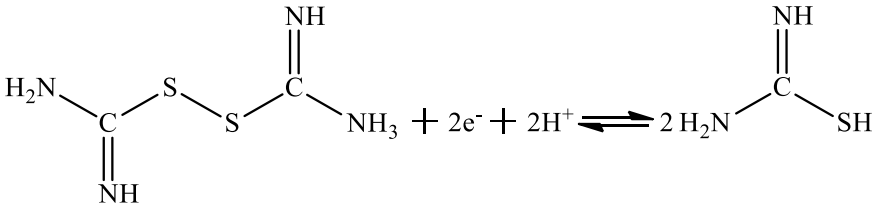


Şekil 3.1 Selenyum türlerinin belirlenmesi için HPLC-SAHO-AAAS sisteminin şematik diagramı[175]

2006 yılında Qiu ve arkadaşları, literatürde tiyoüre kullanılarak Se(VI)'nın Se(IV)'e indirgenmesi için olası bir mekanizma önermiştir [170]. Asidik ortamda, tiyoürenin iki izoformu bulunduğu belirtilmiş (Denklem 3.1) ve ayrıca tiyoüre disülfür, tiyoüredeki tiyol grubunun oksidasyonu yoluyla kolayca oluşabildiği (Denklem 3.2) ifade edilmiştir. Tiyoüre disülfürün tiyoüreye indirgenmesi, SeO_4^{2-}'nin H_2SeO_3'e (Denklem 3.3) ve H_2SeO_3'ün Se^0'a (Denklem 3.4) indirgenmesi reaksiyonlarına ait redoks potansiyelleri sırasıyla 0.42 V [176], 1.151 V ve 0.74 V [177] olarak raporlanmıştır. Bu redoks potansiyelleri dikkate alındığında, Se(VI)'nın Se(IV)'e indirgenmesi (Denklem 3) ve hatta Se(IV)'ün elementel selenyum (Se^0)'a indirgenmesi (Denklem 4), asitli ortamda tiyoüre kullanılarak kendiliğinden (spontane) gerçekleşebilecek reaksiyonlar olarak değerlendirilmektedir [170].



(3.1)



(3.2)

$$SeO_4^{2-} + 2e^- + 4H^+ \rightleftharpoons H_2SeO_3 + H_2O \quad (3.3)$$

$$H_2SeO_3 + 4e^- + 4H^+ \rightleftharpoons Se_{(k)} + 3H_2O \quad (3.4)$$

Tetrahidroborat iyonları (BH_4^-), asidik ortamda hızla hidrolize uğrar ve bu süreçte borik asit (H_3BO_3) ile birlikte hidrojen gazı (H_2) oluşumu gerçekleşir. İlgili reaksiyon Denklem 3.5'te gösterilmiştir. Sodyum borohidrür ($NaBH_4$) varlığında, hidrojen selenür (H_2Se) oluşumunun ise Denklem 3.6'da gösterilen mekanizma doğrultusunda gerçekleştiği düşünülmektedir [178,179].

$$BH4^- + H^+ + 3H_2O \longrightarrow H_3BO_3 + 4H_{2(g)} \quad (3.5)$$

$$4H_2SeO_3 + 3BH4^- + 3H^+ \longrightarrow 4SeH_{2(g)} + 3H_3BO_3 + 3H_2O \quad (3.6)$$

3.1.5 Örneklerin Hazırlanışı

Bu tez çalışmasında kullanılan musluk suyu örnekleri, İstanbul ilinin üç farklı ilçesinden temin edilmiştir. Standart eklemesi yapılmamış (doğal) ve standart eklemesi yapılmış örnek çözeltilerinin hazırlanmasında, her bir matriksten 1,0 g örnek ayrı şişelere tartılmış ve ardından uygun miktarda karışım standart çözelti ilave edilmiştir. Elde edilen çözelti, ultra saf su ile 1,50 g'a tamamlanarak toplamda 1,5 kat seyreltilmiş matriks çözeltileri elde edilmiştir.

3.2 SUPRAS-SD-SFME-AAAS Sistemi ile Çay Örneklerinde Bakır Tayini

3.2.1 Bakır tayininde kullanılan kimyasallar

Benzaldehit (saflık ≥ %98,0), tiyosemikarbazit (saflık ≥ %99,0) ve glasiyal asetik asit Sigma Aldrich'ten (Darmstadt, Almanya) satın alınmıştır. THF (saflık ≥ %99.0), 1-dekanol (saflık ≥ %99.0), metanol (saflık ≥ %99.0) ve etanol (saflık ≥ %99.0) Merck'ten (Darmstadt, Almanya), hidroklorik asit (%37) ise Tekkim'den (Bursa, Türkiye) temin edilmiştir. Örneklerin, standart çözeltilerin ve tüm temizlik

işlemlerinin hazırlanmasında kullanılan ultra saf su (18,3 MΩ.cm özdirenç) Human Power-I ultra saf su arıtma sistemi (Seul, Güney Kore) tarafından sağlanmıştır. Kalibrasyon ve çalışma standart çözeltileri Merck'ten (Darmstadt, Almanya) temin edilen 1000 mg/L (ρ=1,014 g/mL) bakır standart stok çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır.

3.2.2 Bakır tayininde kullanılan cihazlar

Bakır tayini için çok elementli (Ni, Mn, Cr, Cu) oyuk katot lambası, döteryum lambası (D2) ve alev başlığı (100 mm) ile donatılmış bir alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (Analytik Jena ZEEnit 700 P, Almanya) kullanılmıştır. Metot parametreleri cihaz yazılımında; analitik çalışma dalgaboyu 324,8 nm, spektral bant genişliği 1,2 nm ve çalışma lambası akımı 10,0 mA olarak ayarlanmıştır. Analitin atomizasyon işlemi için hava-asetilen gaz karışımı kullanılmıştır. Analitik terazi (A&D Company HR-250AZ, Japonya), vorteks karıştırma cihazı (Velp Scientifica Classic, İtalya) ve santrifüj cihazı (Hitachi CF15RN, Japonya) sırasıyla standart/örnek çözeltilerinin hazırlanması, mikroekstraksiyon prosedürünün uygulanması ve faz ayırma adımında kullanılmıştır. Karakterizasyon çalışmaları sırasında Fourier dönüşülümlü kızıl ötesi spektroskopisi (FT-IR, Jasco, 4600 model), atmosferik basınç iyonizasyon tandem kütle spektrometresi (API MS/MS, AB SCIEX 3200 model) ve Oxford 300 MHZ nükleer manyetik rezonans (NMR) kullanılmıştır.

3.2.3 Bakır tayini için kullanılan SUPRAS-SD-SFME sistemi

Ön konsantrasyon verimini artırmak amacıyla ilk olarak SUPRAS çözüyücü sulu faza dağıtmak için önceki çalışmalarda [133] açıklanan bir püskürtme aparatı kullanılmıştır. Standart/örnek çözeltisi (12,0 mL) temiz bir santrifüj tüpüne (15 mL) pipetlenmiş ve üzerine 0,50 mL tampon çözeltisi (pH 6) eklenmiştir. Ardından, SUPRAS (%1,0 (k/k) kompleksleştirme ajanı içeren) ile doldurulmuş püskürtme aparatı santrifüj tüpüne bağlanmıştır. Ardından, aparat ters çevrilmiş ve ekstraksiyon çözücüsü üç kez püskürtülmüştür. Püskürtme işleminden sonra püskürtme aparatı santrifüj tüpünden çıkarılmış ve santrifüj tüpüne temiz bir kapak yerleştirilmiştir. SUPRAS/kompleksleştirme ajanı ile analit arasındaki etkileşimi artırmak için 15 s boyunca vorteks karıştırma işlemi uygulanmıştır. Vorteks ile karıştırma işleminden sonra, standart/örnek çözeltisi faz ayrımını hızlandırmak için

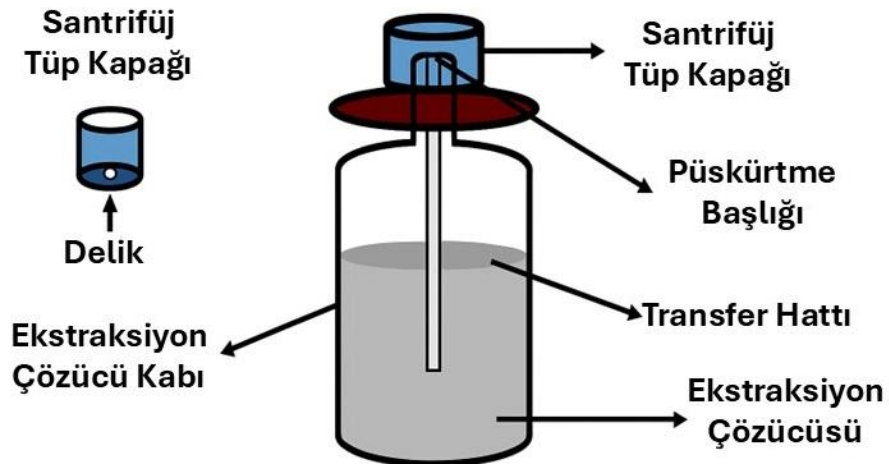
13333 xg'de 2,0 dakika santrifüjlenmiştir. Bu prosedürün son adımında, 100 µL analit bakımından zengin faz (üst faz) temiz bir Eppendorf tüpüne pipetlenmiş ve ardından 200 µL metanol ilavesinden sonra doğrudan AAAS sistemine gönderilmiştir. Tablo 3.2'de SUPRAS-SD-SFME-AAAS sisteminde kullanılan tüm optimum koşullar özetlenmiştir.

Tablo 3.2 Bakır tayininde kullanılan SUPRAS-SD-SFME-AAAS koşulları

Parametre	Durum/Değer
Püskürtme Sayısı	3
Örnek Hacmi	12 mL
Tampon pH Hacmi	6,0/0,50 mL
SUPRAS fazdaki ligand konsantrasyonu	1,0% (k/k)
Karıştırma türü ve süresi	Vorteks, 15 s
Sentrüfüj Koşulları	13333 xg, 2,0 dk.
Analit faz hacmi	100 µL
Faza eklenen methanol hacmi	200 µL

3.2.4 SD-SFME yönteminde kullanılan sprey sistemi

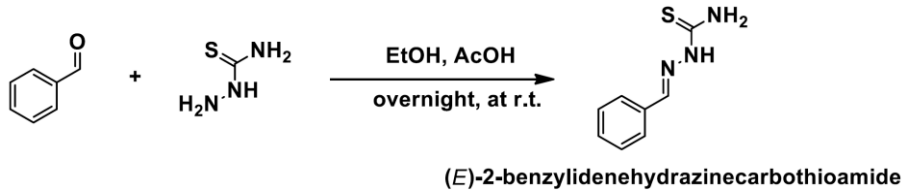
Çalışmada, ekstraksiyon işlemi için bir ekstraksiyon çözücü kabı, bu kaptan püskürtme başlığına uzanan bir transfer hattı, bir püskürtme başlığı ve santrifüj tüp kapağından oluşan entegre bir sprey sistemi kullanılmıştır. Standart veya örnek çözeltisini içeren santrifüj tüpüne ekstraksiyon çözücüsünün etkin bir şekilde uygulanabilmesi amacıyla, santrifüj kapağının merkezine uygun çapta bir delik açılmış ve bu kapak, püskürtme başlığına dikkatlice monte edilmiştir. Bu düzenek sayesinde, ekstraksiyon çözücüsünün kontrollü bir şekilde örnek ortamına püskürtülmesi sağlanmıştır. Tasarlanan sprey sistemi Şekil 3.2'te gösterilmişitr.



Şekil 3.2 SD-SFME yönteminde kullanılan sprey tasarımı [180]

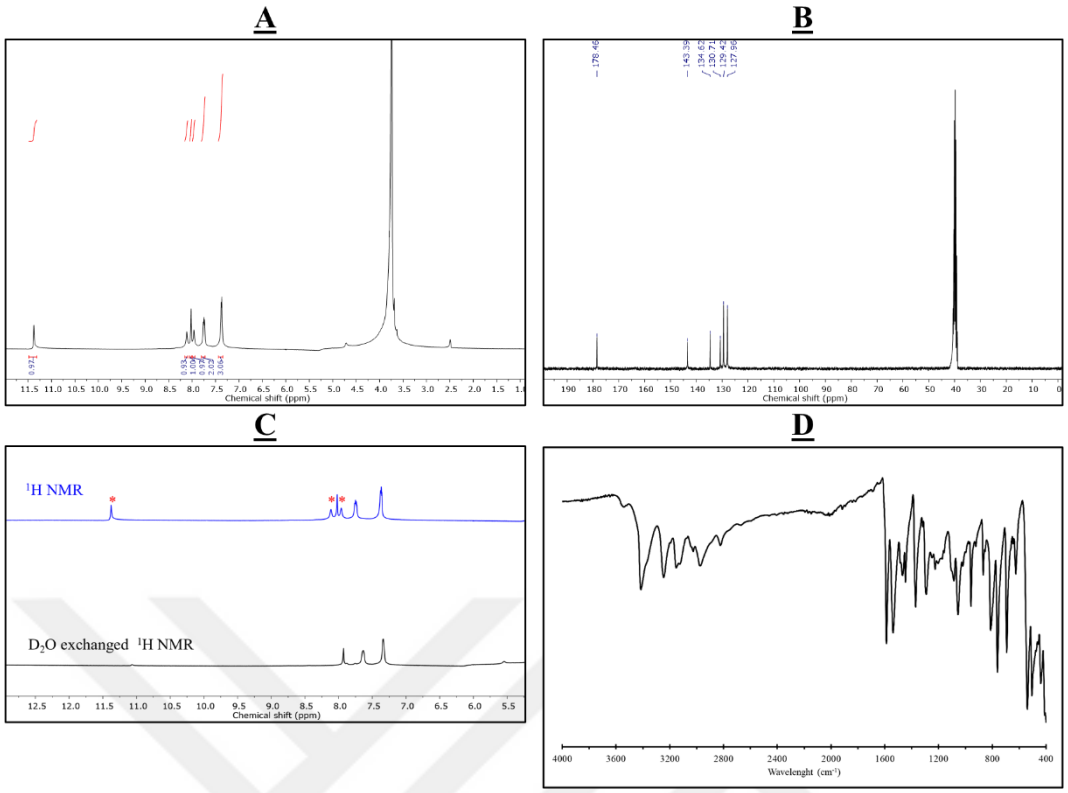
3.2.5 Bakır tayininde kullanılan kompleksleştirme ajanının sentezi ve karakterizasyonu

Benzaldehit (1,0 g, 9,4 mmol) ve tiyosemikarbazid (0,94 g, 10,3 mmol), 40 mL etanol içinde karıştırıldı ve ardından karışıma asetik asit (1,0 mL) eklendi. Oluşan beyaz çökelti oda sıcaklığında bir gece karıştırıldıktan sonra süzüldü. Katı etanol ile yıkandı ve daha sonra 60 ºC'de 24 saat boyunca etüvde kurutuldu. Kurutma işleminden sonra %96 verimle 1,63 g beyaz katı elde edildi. Kompleksleştirme maddesinin sentezi Şekil 3.3'de özetlenmiştir.



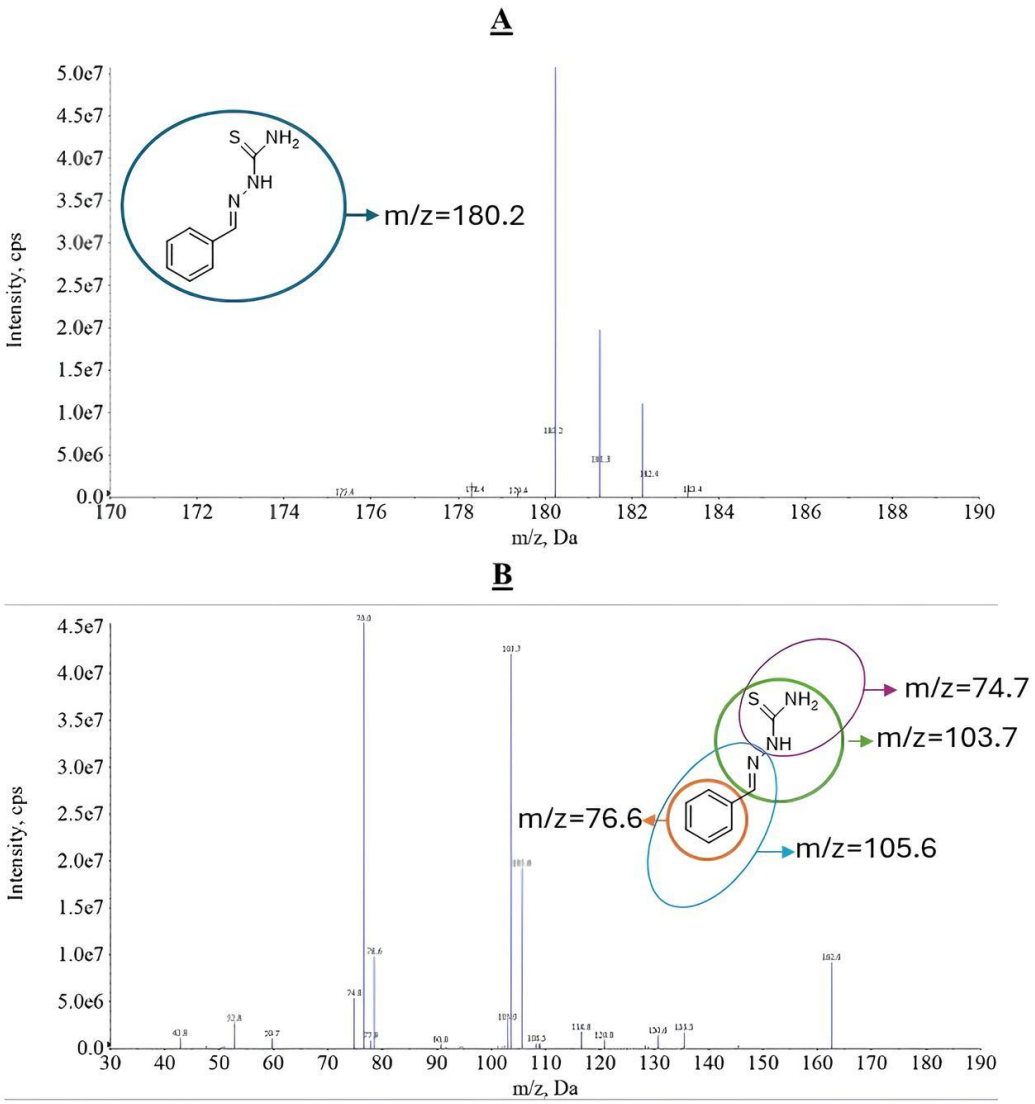
Şekil 3.3 Kompleksleştirme ajanının sentezi [181]

1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.38 (s, 1 H) (D_2O ile değiştirilebilir), 8.11 (s, 1 H) (D_2O ile değiştirilebilir), 8.02 (s, 1 H), 7.96 (s, 1 H) (D_2O ile değiştirilebilir), 7.82 - 7.70 (m, 2 H), 7.47 - 7.30 (m, 3 H). 13C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 178.46, 143.39, 134.62, 130.71, 129.42, 127.96. FT-IR (ATR) 3415.3 (NH_2), 3245.6 (NH), 3152.1 (=CH streç), 1587.1, 1538.0 (C=C aromatik), 1371 (C-N), 1055.8 (C=S streç). Sentezlenen kompleksleştirme ajanına ait analitik veriler önceki raporlarla uyumludur [182,183]. Kompleksleştirme maddesine ait NMR ve FT-IR spektrumları Şekil 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.4 Sentezlenen kompleksleştirme ajanına ait ^{1}H NMR (A), ^{13}C NMR (B), ^{1}H NMR and D_2O değişimli ^{1}H NMR (C) ve FT-IR (D) spektrumları

Şekil 3.5'da görüldüğü üzere sentezlenen kompleksleştirme ajanına ait öncü iyon 180,2 ve çarpışma hücresi sonrası öncü iyona ait ürün iyonları 76,6 , 103,7 ve 162,6 şeklindedir.



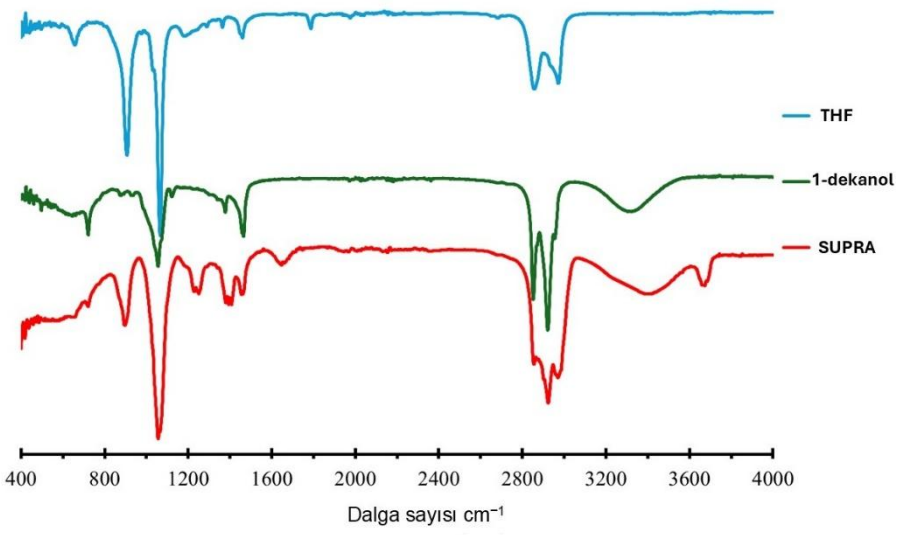
Şekil 3.5 Kompleksleştirme ajanına ait öncü iyon (A) ve ürün iyonları (B).

NMR, FT-IR ve MS/MS analizi verileri ışığında sentezlenen komplekleştirme ajanının başarılı bir şekilde sentezlendiği kanıtlanmıştır.

3.2.6 Bakır tayininde kullanılan SUPRAS'ın sentezi ve karakterizasyonu

SUPRAS sentezi sırasında kullanılan literatür bulgusu modefiye edilerek kullanılmıştır [184] . SUPRAS, 50 mL santrifüj tüpüne sırasıyla 2,0 mL 1-dekanol, 10 mL THF, 38 mL ultra saf su ve 10 µL HCl (%37) eklenerek elde edilmiştir. Karışım 60 s vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra faz ayrımını sağlamak için 13333 xg'de 3,0 dakika santrifüjlenmiştir. Son olarak, sentezlenen SUPRAS'ın yaklaşık 3,5 mL'si temiz bir santrifüj tüpüne aktarılmıştır.

SUPRAS oluşumundaki etkileşimi aydınlatmak için FT-IR spektrometresi kullanılmıştır. SUPRAS'ı oluşturan bileşenlerin fonksiyonel grupları incelenmiştir. 1-dekanol, THF ve sentezlenen SUPRAS'a ait FT-IR spektrumları Şekil 3.6'de verilmiştir. İlk olarak, 1-dekanolün FT-IR spektrumunda 3317 cm^{-1} dalga sayısında O-H gerilme titreşimi görülmektedir. 2830-2920 cm^{-1} arasında gözlenen bantlar -CH_2 ve -CH_3'teki C-H bağları ile ilişkilidir. Ayrıca, 1460 cm^{-1} civarındaki bant -CH_3 ve -CH_2 gruplarının C-H bükülme titreşimlerine karşılık gelmektedir. 1058 cm^{-1}'deki geniş pik C-O gerilmesine aittir. THF'in spektrumuna bakıldığında, asimetrik ve simetrik C-H gerilme titreşimlerine karşılık gelen 2856-2971 cm^{-1}'de geniş pikler ve C-O titreşimi 1086 cm^{-1}'de gözlenmiştir [185,186]. SUPRAS, 1-dekanol ve THF karışımına su eklenerek sentezlenmiştir. Su ilavesi 1-dekanolün kendi kendine birleşmesini teşvik etmiş ve bunun sonucunda spontane yağ damlacıkları oluşmuştur. Bu damlacıklardan oluşan kümelerin toplam yoğunluğu çözeltinin yoğunluğundan biraz daha düşüktü [187]. Bu yoğunluk farkı faz ayrışmasına yol açmıştır. SUPRAS fazı ayrıştırılmış ve FT-IR spektrumu kaydedilmiştir. Elde edilen FT-IR spektrumu 1-dekanol ve THF'nin karakteristik piklerinden oluşmaktadır. Ayrıca, FT-IR spektrumundaki ana gözlem, SUPRAS oluşumunu gösteren pik genişlemesidir [188].



Şekil 3.6 THF, 1-dekanol ve SUPRAS'a ait FT-IR spektrumları

3.2.7 Örneklerinin hazırlanışı

Çay yapımında kullanılan rezene tohumları (üç farklı marka) İstanbul, Türkiye'deki yerel marketlerden temin edilmiştir. Her marka rezene tohumu (1.0 g) ayrı temiz

demleme kaplarına tartılmış ve her bir örneğin toplam miktarı ultra saf su ile 100 g'a tamamlanmıştır. Örnek hazırlama aşamalarından sonra, tüm örnek çözeltileri evde yapıldığı gibi 80 ºC'de 10 dakika demlenmiştir. Daha sonra, tüm rezene çayı örnekleri oda sıcaklığında soğutulmuş ve ardından geliştirilen mikroekstraksiyon işleminin uygulanmasını zorlaştırmamak için olası askıda kalan katı partikülleri uzaklaştırmak amacıyla filtreleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Hazırlık aşamasından sonra, 4.0 g çay örneği temiz bir santrifüj tüpüne tartılmış ve ardından uygun miktarda bakır standart çözeltisi eklendikten sonra ultra saf su ile 40 g'a tamamlanmıştır. Tüm rezene çayı örnekleri ve standart eklemesi yapılmış rezene çayı örnek çözeltileri toplamda 10 kat seyreltilmiştir.

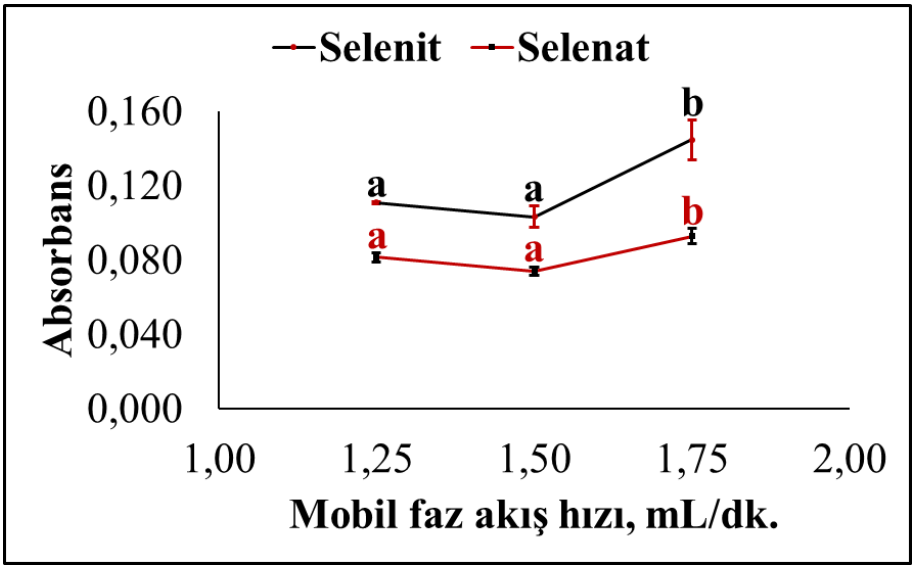
4
DENEYSEL ÇALIŞMALAR

4.1 HPLC-SAHO-AAAS Sistemine Ait Optimizasyon Çalışmaları

Tez çalışmasının birinci kısmındaki bu çalışma 2025 yılında "An analytical approach for inorganic selenium speciation in tap water samples: HPLC–continuous flow hydride generation–FAAS " başlığı ile basılmıştır.[175]

4.1.1 Mobil Faz Akış Hızı Optimizasyonu

Tez kapsamında yapılan ilk çalışma için ilk olarak izokratik bir çözelti ile inorganik selenyum türlerini birbirinden verimli bir şekilde ayırmak için daha önceki çalışmamızda kullanılan sitrat tamponu kullanılmıştır [166]. Mobil faz akış hızının analiz süresini ve pik çözünürlüğünü etkilediği bilinmektedir [189]. Bu nedenle 1,25 mL/dk.-1,75 mL/dk. aralığında mobil faz akış hızları test edilmiştir. Şekil 4.1'de görüldüğü gibi, absorbans değerleri her iki analit için de pik çözünürlüğünde azalma olmaksızın 1,75 mL/dk.'da artmıştır. HPLC sisteminin pompası çok yüksek basınç üreterek pompanın strese girmesine neden olduğundan 1,75 mL/dk.'dan daha yüksek mobil faz akış hızları test edilmemiştir. Bu nedenle, 1,75 mL/dk. mobil faz akış hızı optimum değer olarak belirlenmiştir.

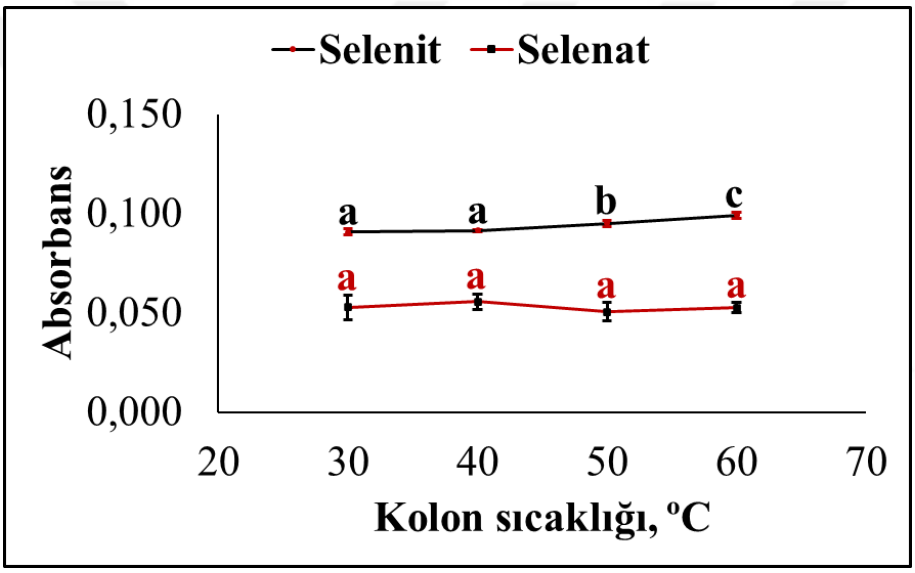


Şekil 4.1 Mobil faz akış optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak

anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.2 Kolon Sıcaklığı Optimizasyonu

Pik şekli ve çözünürlüğün yanı sıra sıcaklığın hidrür oluşum verimi üzerindeki etkisini gözlemlemek için kolon sıcaklığı da optimize edilmiştir. Se(IV) için 50 ºC ve 60 ºC'de, 30 ºC ve 40 ºC'ye göre istatistiksel olarak daha yüksek absorbans değerleri kaydedilmesine rağmen, Se(VI) için test edilen tüm sıcaklıklar arasında önemli bir fark yoktu. Sıcaklık arttıkça pik çözünürlüğünde bir azalma olmuştur. Ayrıca, Şekil 4.2'ye göre kolon sıcaklığının Se(VI)'nın Se(IV)'e indirgenmesi üzerinde etkisi gözlemlenmemiştir. Bu nedenle, optimum kolon sıcaklığı olarak 30 ºC seçilmiştir.

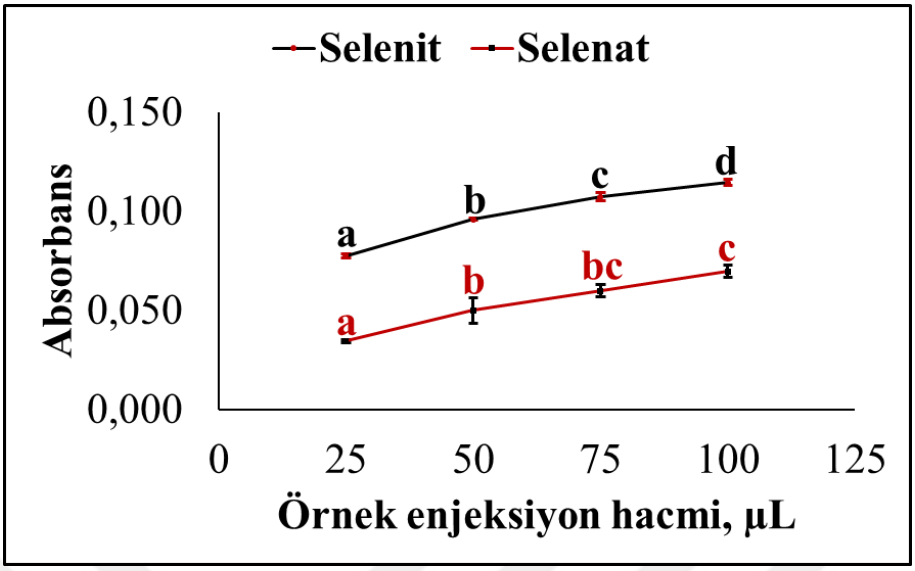


Şekil 4.2 Kolon sıcaklığı optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.3 Örnek Enjeksiyon Hacmi Optimizasyonu

LC sistemlerinde, örnek enjeksiyon hacmi yüksek sinyal/gürültü oranı elde etmek için bir diğer önemli parametredir ve aynı zamanda pik genişlemesi açısından pik şeklini de etkilemektedir [190]. Se(IV) ve Se(VI) için daha düşük gözlenebilme/tayin limitlerine ulaşmak amacıyla dört farklı örnek enjeksiyon hacmi (25, 50, 75 ve 100 µL) test edilmiştir. Örnek enjeksiyon hacmi optimizasyon çalışması sonucunda, 25 µL'den 100 µL'ye kadar neredeyse doğrusal bir artış gözlemlenmiş (Şekil 4.3) ve sonraki çalışmalarda 100 µL örnek enjeksiyon hacmi

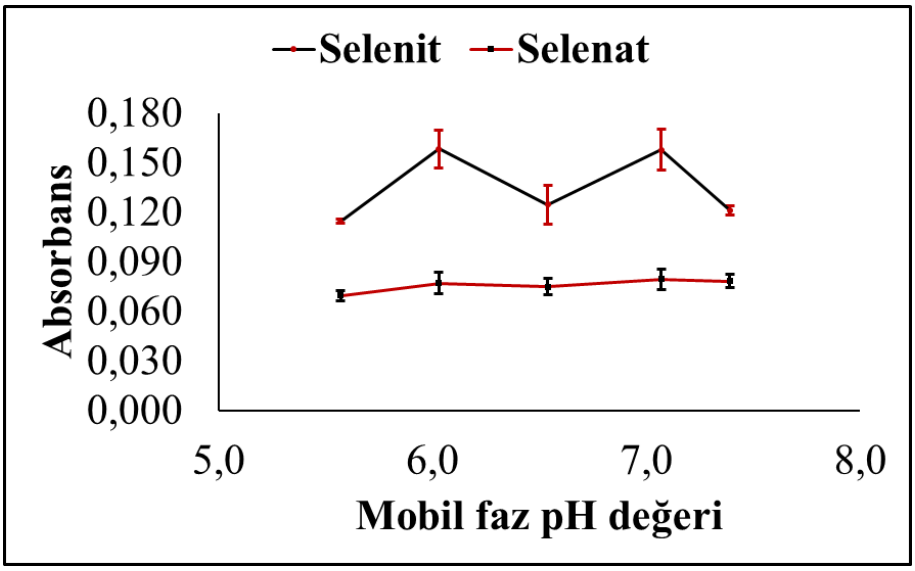
kullanılmıştır.



Şekil 4.3 Örnek enjeksiyon hacmi optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.4 Mobil Faz pH Optimizasyonu

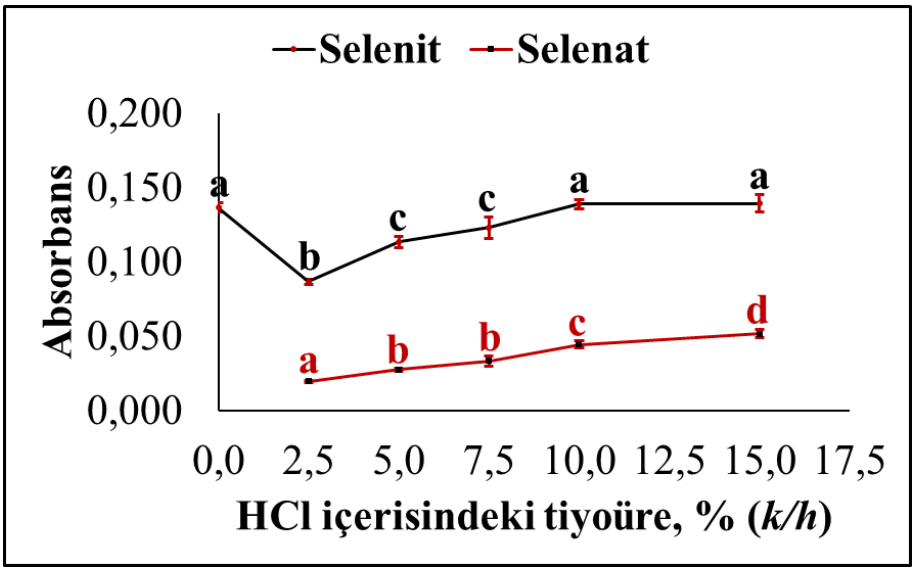
Mobil faz pH'ının analitlere ait pik çözünürlüğü ve sinyal/gürültü oranı üzerindeki etkilerini değerlendirmek için mobil faz pH'ı beş farklı pH değerine ayarlanmıştır. Se(IV) için 6,0 ve 7,1 mobil faz pH değerleri, 5,6, 6,5 ve 7,4 pH değerlerinden daha yüksek analitik sonuçlar verirken, post hoc testine göre denenen tüm pH değerleri Se(VI) için neredeyse aynı absorbans değerlerini sağlamıştır (Şekil 4.4). Sonraki çalışmalarda mobil faz pH değeri 6,0'a ayarlanmıştır.



Şekil 4.4 Mobil faz pH optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.5 HCl içindeki Tiyoüre Optimizasyonu

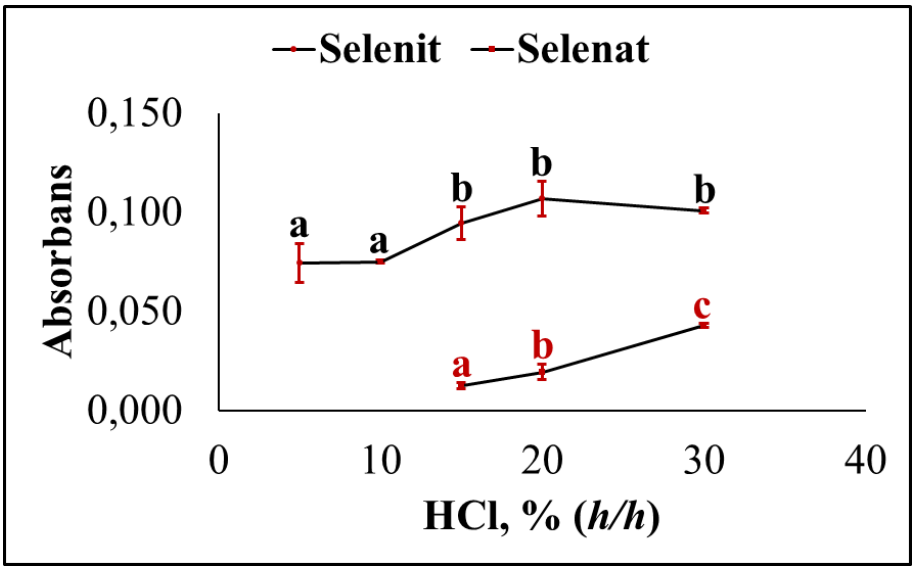
Bu çalışmada, her iki analite ait yüksek analitik sinyaller elde etmek için çalışma boyunca ön indirgeme ajanı olarak tiyoüre kullanılmıştır. Tiyoüre optimizasyonunda, %30 (h/h) HCl içinde altı farklı tiyoüre çözeltisi hazırlanmış ve bu çözeltiler %30 (h/h) HCl çözeltisiyle karşılaştırılmıştır. Şekil 4.5'te görüldüğü üzere, sadece HCl (%30 (h/h)) çözeltisi kullanıldığında Se(VI) için analitik sinyal gözlenmezken, HCl (%30 (h/h)) çözeltisi kullanıldığında Se(IV) için analitik sinyal elde edilmiştir. Bu optimizasyon sonucunda, HCl (%30 (h/h)) çözeltisinde tiyoüre varlığının Se(VI)'yı Se(IV)'e etkili bir şekilde indirgediği gözlemlenmiştir. Se(VI) için absorbans değerlerinde HCl (%30 (h/h)) içindeki tiyoüre konsantrasyonunun %2,5'den (k/h) %15'e (k/h) kadar neredeyse doğrusal bir artış kaydedilmiştir. Ayrıca, tiyoürenin çözünürlüğü nedeniyle %15 (k/h) tiyoürenin HCl (%30 (h/h)) içinde hazırlanması çok zordu. Bu nedenle, %10 (k/h) tiyoüre optimum konsantrasyon olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5 HCl içindeki tiyoüre optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.6 HCl Konsantrasyon Optimizasyonu

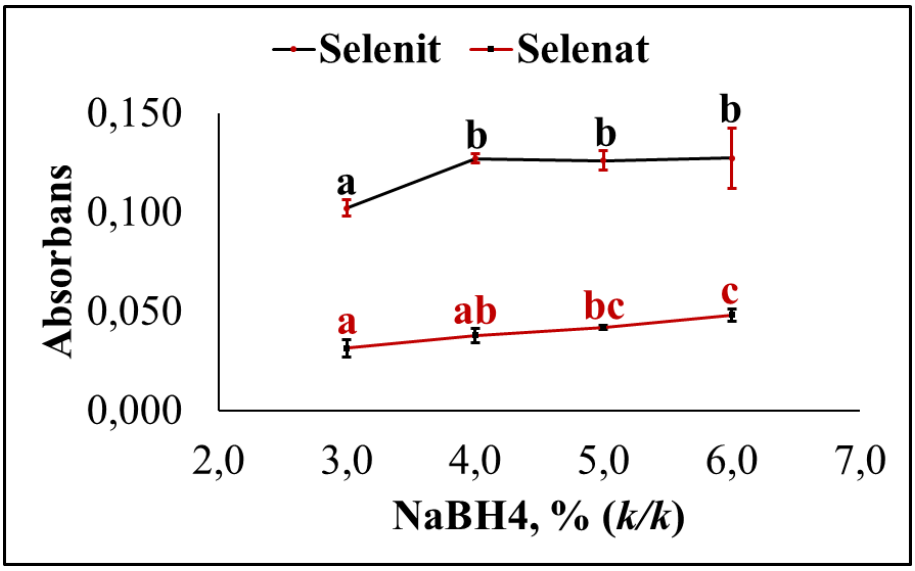
Bir diğer optimizasyon analitlere ait yüksek sinyal/gürültü oranı elde etmek için HCl konsantrasyonunun ön indirgeme işlemi üzerindeki etkisidir. Bu amaçla, %5,0 (h/h) ile %30 (h/h) arasında değişen ve %10 (k/h) tiyoüre içeren HCl çözeltileri hazırlanmıştır. Se(IV) için analitik sinyaller test edilen tüm HCl konsantrasyonlarında (%10 (k/h) tiyoüre içeren) mevcuttu ancak Se(VI) için %5.0 (h/h) ve %10 (h/h) HCl konsantrasyonlarından (%10 (k/h) tiyoüre içeren) herhangi bir analitik sinyal elde edilmemiştir. Se(VI) için en yüksek analitik sinyaller %30 (h/h) HCl'den (%10 (k/h) tiyoüre içeren) elde edilmiştir. Ayrıca, %20 (k/h) ve %30 (k/h) HCl çözeltileri (%10 (k/h) tiyoüre içeren) post hoc testine göre Se(IV) için neredeyse aynı analitik sonuçları sağlamıştır (Şekil 4.6). Bu optimizasyon sonucunda, %30 (h/h) HCl (%10 (k/h) tiyoüre içeren) sonraki çalışmalarda optimum ön indirgeme çözeltisi olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.6 HCl optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.7 $NaBH_4$ Konsantrasyon Optimizasyonu

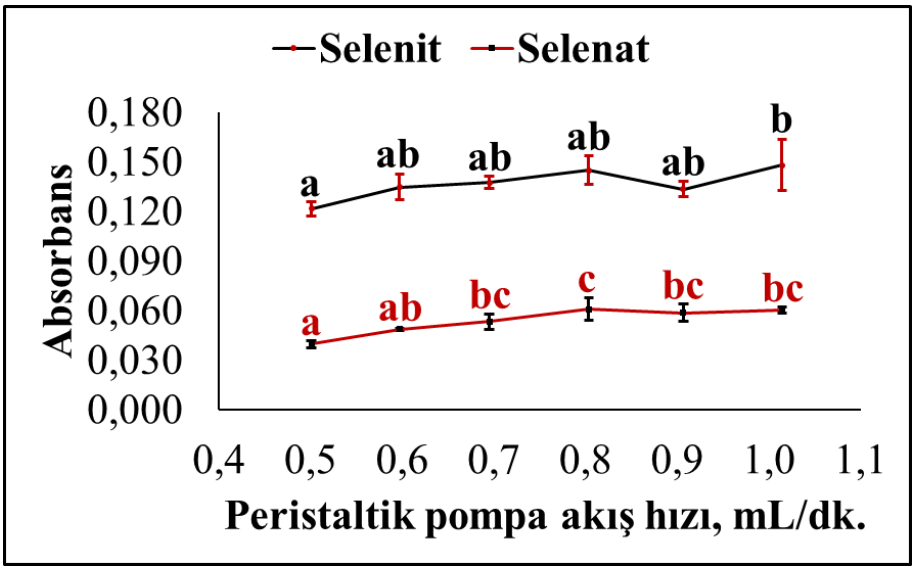
$NaBH_4$ derişiminin Se(IV) ve Se(VI)'nın hidrür oluşumu üzerindeki etkisini gözlemlemek için %1,0 (k/k) aralıklarla %3,0 (k/k) ila %6,0 (k/k) arasında değişen $NaBH_4$ çözeltileri test edilmiştir. Tüm $NaBH_4$ çözeltileri, çözeltinin stabilitesini ve depolanması için uygun koşulu sağlamak amacıyla %0,10 (k/k) NaOH çözeltisi içinde hazırlanmıştır [191]. Se(VI)'ya ait absorbans değerlerinde $NaBH_4$ çözeltilerinin %3,0 (k/k)'ünden %6,0 (k/k)'sına kadar hafif bir artış gözlemlenirken (Şekil 4.7), Se(IV) için neredeyse aynı analitik sinyaller $NaBH_4$ çözeltilerinin %4,0, %5,0 ve %6,0 (k/k)'ından elde edilmiştir. Post hoc testine göre Se(IV) ve Se(VI) için %5,0 (k/k) ve %6,0 (k/k) $NaBH_4$ çözeltileri arasında anlamlı bir istatistiksel fark yoktu. Ancak, %6,0 (k/k) $NaBH_4$ çözeltisi Se(IV) için yüksek standart sapma değeri vermiştir. Bu nedenle, %5,0 (k/k) $NaBH_4$ çözeltisi (%0,10 (k/k) NaOH içeren) optimum çözelti olarak seçilmiştir.



Şekil 4.7 $NaBH_4$ optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.8 Peristaltik Pompa Akış Hızı Optimizasyonu

Çalışma boyunca optimum $NaBH_4$ ve ön indirgeme çözeltilerini reaksiyon bobinlerine taşımak için bir peristaltik pompa kullanılmıştır. Çalışma sırasında, peristaltik pompa akış hızı, ön indirgeme verimini ve SeH_2 oluşum verimliliğini artırmak için bir diğer önemli parametreydi. Bu nedenle, optimum peristaltik pompa akış hızını bulmak için 0,10 mL/dk. aralıklarla 0,50 mL/dk. ile 1,0 mL/dk. arasında altı farklı peristaltik pompa akış hızı denenmiştir. Bu optimizasyon çalışması sonucunda optimum değer olarak belirlenen 0,80 mL/dk. peristaltik pompa akış hızı her iki analit için de kararlı absorbans değerleri elde etmek için yeterli olmuştur (Şekil 4.8).

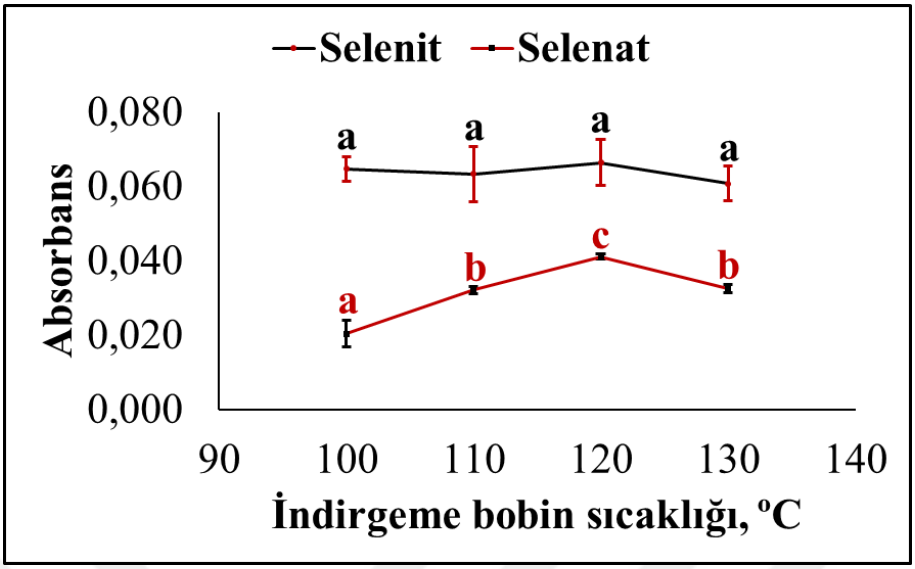


Şekil 4.8 Peristaltik pompa akış hızı optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.9 İndirgenme Bobin Sıcaklığı Optimizasyonu

İndirgeme bobini sıcaklığı, Se(VI)'ya ait absorbans değerlerini artırmak amacıyla Se(VI)'nın Se(IV)'e indirgenme verimliliği için önemli bir faktördür [170]. Burada, indirgeme verimliliğini artırarak Se(VI)'ya ait sinyal/gürültü oranını geliştirmek için dört farklı indirgeme bobini sıcaklığı (100 ºC, 110 ºC, 120 ºC ve 130 ºC) test edilmiştir. Şekil 4.9'da gösterildiği gibi, Se(IV) için test edilen tüm değişkenler arasında önemli bir istatistiksel farklılık yoktu. Ayrıca, Se(VI)'nın absorbans değerleri 100 ºC'den 120 ºC'ye kadar doğrusal olarak artarken Şekil 4.9'da görüldüğü gibi, 130 ºC'de Se(VI)'nın absorbans değerleri önemli ölçüde azalmıştır. Ayrıca, indirgeme bobini sıcaklığı 130 ºC'ye sabitlendiğinde döteryum sinyali artmıştır. Bu gözlem, soğutma işleminin yeterli olmayabileceğini ve su buharının uçucu analit türleriyle birlikte atomizasyon hücresine ulaşabileceğini gösterebilir. Bu nedenlerle, Se(VI) sinyali, oluşan SeH_2'nin su buharı ile birlikte kuvars hücreye ulaşmasından kaynaklanan seyrelme nedeniyle önemli ölçüde azalmış olabilir. Bu optimizasyon çalışması sonucunda, 120 ºC'lik indirgeme bobini sıcaklığı, döteryum sinyalinde herhangi bir artış olmaksızın her iki analit için de yüksek sinyal/gürültü oranı için yeterli olmuştur. Ayrıca, 130 ºC'de elde edilen absorbans değerleri 120 ºC ile karşılaştırıldığında Se(IV) ve Se(VI)'ya ait absorbans değerlerindeki azalmalar, absorbansların ortalama değerlerine göre hesaplandığında sırasıyla %8,5

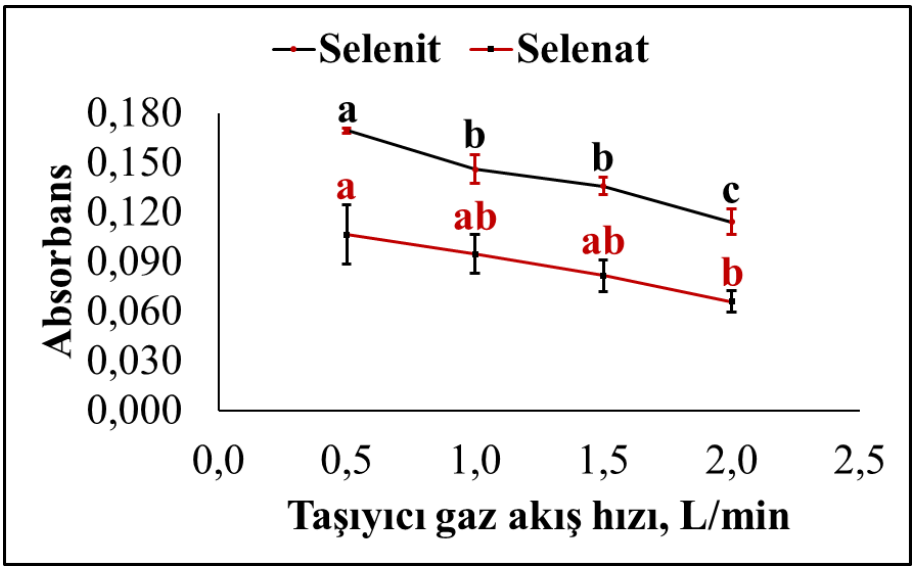
ve %21,1 olmuştur.



Şekil 4.9 İndirgenme bobin sıcaklığı optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.10 Taşıyıcı Gaz Akış Hızı Optimizasyonu

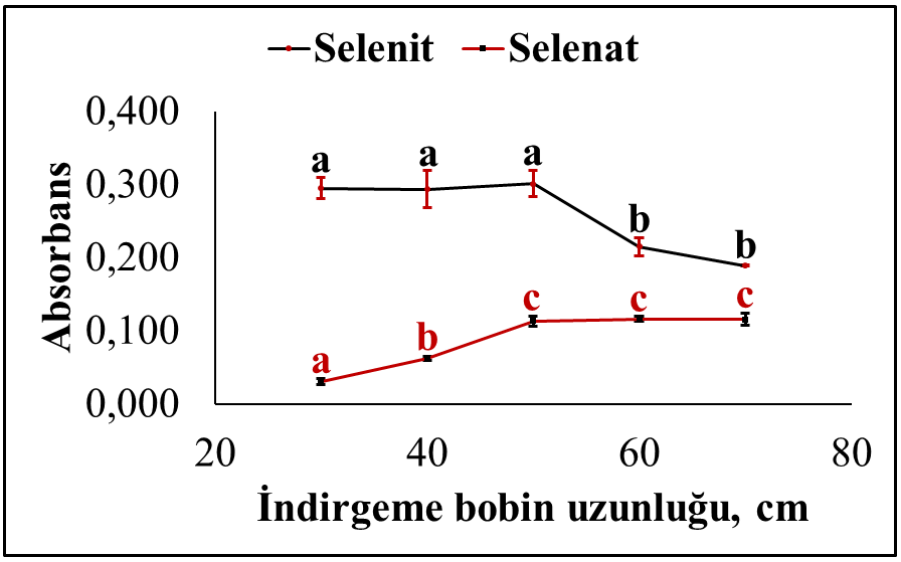
SAHO sisteminde, analitlere ait sinyal şiddeti ve ölçüm kalitesi üzerinde taşıyıcı gaz akış hızının etkisi vardır [192]. Bu nedenle, azot gazı akış hızları 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 L/dk. olarak ayarlanmış ve bu akış hızları sinyal şiddeti açısından birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Kullanılan akış ölçerin ayarlanabilir minimum akış hızı 0,5 L/dk. olduğu için 0,5 L/dk.'dan daha düşük akış hızları test edilememiştir. Her iki analit için de 0,5 L/dk.'dan 2,0 L/dk.'ya kadar doğrusal bir azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.10). Bu nedenle, 0,5 L/dk. akış hızı en yüksek analitik sinyalleri sağladığı için optimum taşıyıcı gaz akış hızı olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.10 Taşıyıcı gaz akış hızı optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.11 İndirgeme Bobin Uzunluğu optimizasyonu

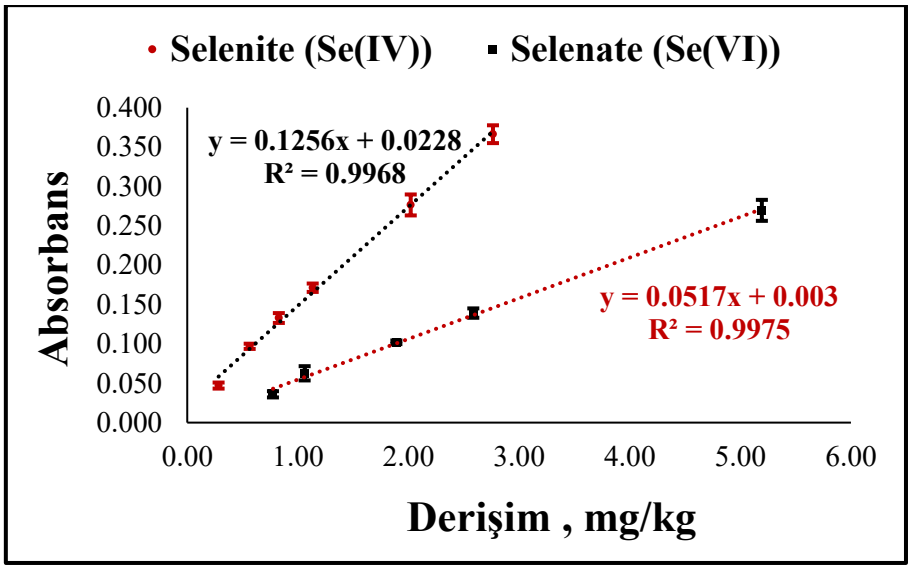
Son optimizasyon çalışmasında, 10 cm aralıklarla 30 cm–70 cm aralığındaki indirgeme bobini uzunluklarının analitlerin sinyal/gürültü oranı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Şekil 4.11'de görülebileceği gibi, Se(VI)'ya ait analitik sinyaller 30 cm'den 50 cm'ye yükselirken, Se(IV)'e ait absorbans değerleri 50 cm'den 70 cm'ye düşmüştür. Ayrıca, Se(IV) sinyallerinin pik genişliği 50 cm'ye kıyasla 60 cm ve 70 cm'de artmış, dolayısıyla absorbans değerleri 60 cm ve 70 cm'de azalmıştır. Ayrıca, Se(VI) için 50 cm'den elde edilen analitik sinyallerin 30 cm ve 40 cm'den daha yüksek olması, 30 cm ve 40 cm indirgeme bobini uzunluklarının verimli indirgeme süreci açısından yetersiz olduğunu göstermiştir. Bu optimizasyon sonucunda 50 cm indirgeme bobini uzunluğu optimum uzunluk olarak seçilmiştir.



Şekil 4.11 İndirgenme bobini uzunluğu optimizasyonu (Küçük harfler %95 güven seviyesinde post hoc testine göre (p_{Tukey}<0.05, n=3 için) değişkenler arası istatiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir)

4.1.12 HPLC-SAHO-AAAS Sistem Analitik Performansı

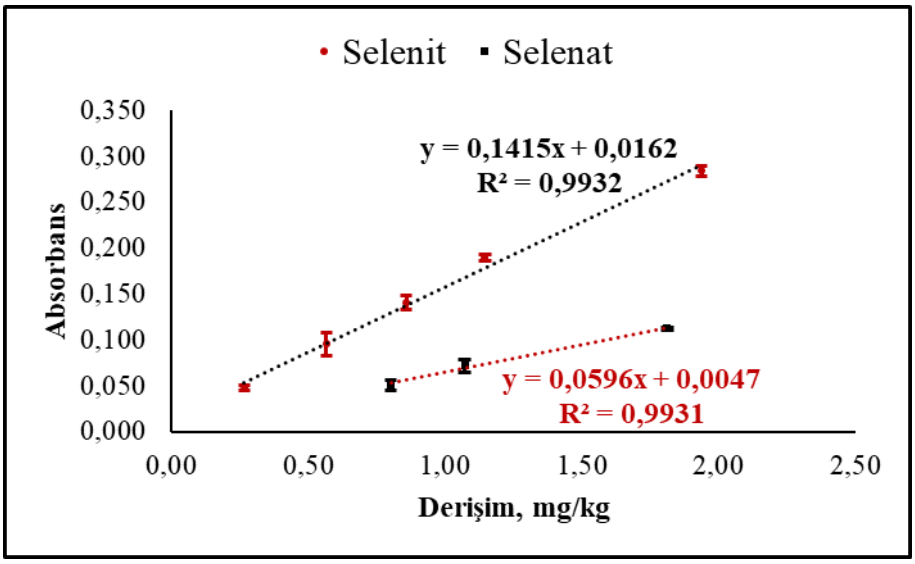
Önerilen analitik protokolün performansını değerlendirmek için ultra saf su içinde bir dizi karışım standart çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım çözeltiler (Se(IV) için 0,28 - 2,76 mg/kg (Se cinsinden) ve Se(VI) için 0,77 - 5,19 mg/kg (Se cinsinden) aralığında) HPLC-SAHO-AAAS sistemine doğrudan gönderilmiştir. Se(IV) ve Se(VI) için GL / TL değerleri sırasıyla 0,09/0,31 mg/kg (Se cinsinden) ve 0,23/0,77 mg/kg (Se cinsinden) olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, Se(IV) ve Se(VI) için kalibrasyon doğrusında bulunan en düşük derişime ait yüzde bağıl standart sapma değerleri sırasıyla %8,2 ve %11,0 olarak bulunmuştur. GL ve TL değerleri sırasıyla "GL = 3 x (SD/m)" ve "TL = 10 x (SD/m)" (SD: n=5 için analitlerin kalibrasyon doğrusundaki en düşük derişime ait standart sapma ve m: Kalibrasyon doğrusunun eğimi) kullanılarak hesaplanmıştır. Se(IV) ve Se(VI)'ya ait harici standart kalibrasyon grafikleri Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.12 HPLC-SAHO-AAAS ile karışım standart çözeltilerden elde edilen Se(IV) ve Se(VI)'ya ait dış standart kalibrasyon doğruları

4.1.13 Geri kazanım çalışmaları

Yöntemin gerçek örneklere uygulanabilirliğini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen geri kazanım çalışmaları, musluk suyu örneklerine belirli derişimlerde standart eklemesi yapılarak yürütülmüştür. Örnek hazırlama adımları, bölüm 3.1.5'te ayrıntılı şekilde açıklanmıştır. İlk aşamada, hazırlanan tüm örnek çözeltileri standart eklemesi yapılmadan analiz edilmiş ve analitler bu örneklerde tespit edilmemiştir. Analizlerin ardından, tüm örneklere beş farklı karışım standart çözeltisi eklenerek geri kazanım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Geri kazanım çalışmalarında, Türkiye'nin İstanbul ilinde yer alan A ilçesinden temin edilen musluk suyu örnekleri kullanılarak, analitlere ait matriks eşleştirme kalibrasyon doğruları elde edilmiştir (Şekil 4.13). Oluşturulan bu matriks eşleştirme kalibrasyon doğruları, B ve C ilçelerinden toplanan musluk suyu örneklerinde geri kazanım yüzdelerinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Her iki kalibrasyon yaklaşımıyla elde edilen geri kazanım sonuçları sırasıyla dış standart kalibrasyon yöntemi için %61,7–135,4, matriks eşleştirme kalibrasyon (MMC) yöntemi için ise %72,0–115,9 aralığında bulunmuştur.



Şekil 4.13 Musluk suyu örneklerinden (A bölgesinden toplanan) HPLC-SAHO-AAAS ile elde edilen Se(IV) ve Se(VI)'ya ait matriks eşleştirme kalibrasyon doğruları

Öte yandan, matriks eşleştirme kalibrasyon stratejisi, musluk suyu matriksinden kaynaklanan pozitif matriks etkilerini (Se(IV) için +%12,7 ve Se(VI) için +%15,3) ortadan kaldırarak daha güvenilir analitik sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır. Matriks etkisi, aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır:

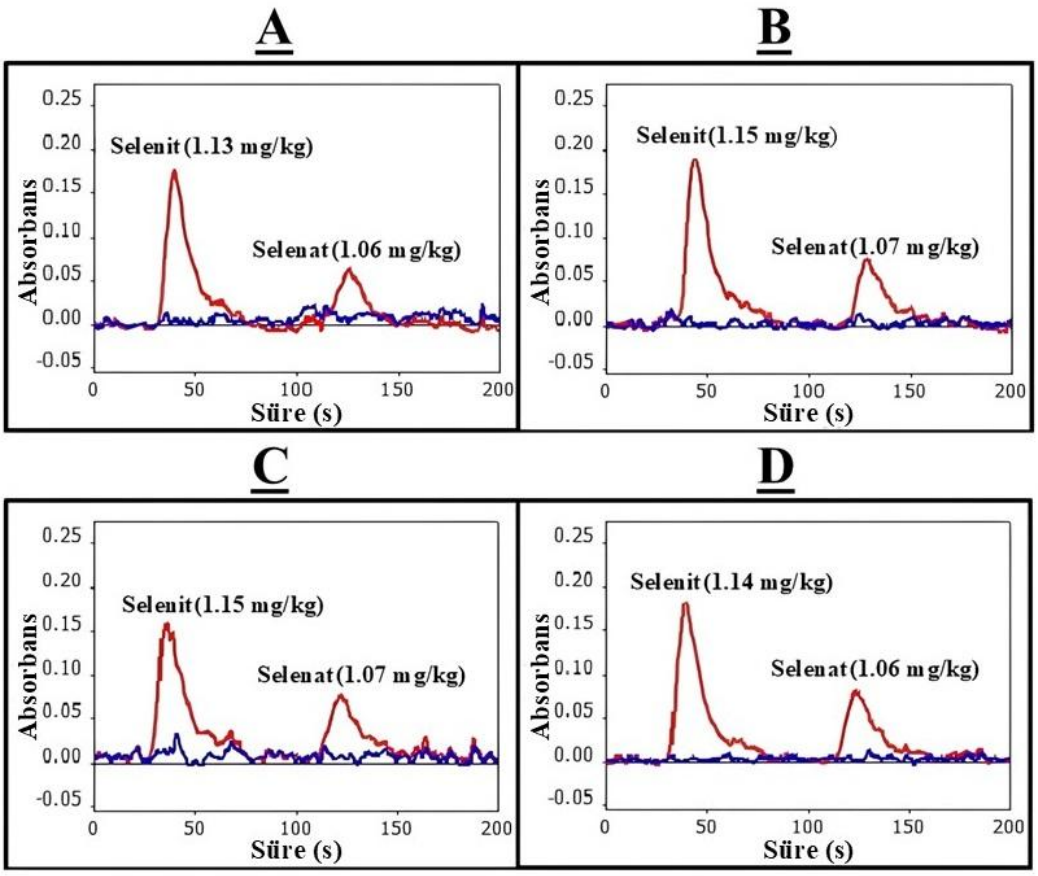
$$\%Matriks\ etkisi = \frac{(Matriks\ eşleştirme\ kalibrasyon\ doğrusunun\ eğimi}{Dış\ stanadart\ kalibrasyon\ doğrusunun\ eğimi} - 1) \cdot 100) \qquad (4.1)$$

Dış standart kalibrasyon ve matriks eşleştirme kalibrasyon stratejilerine göre elde edilen geri kazanım sonuçları Tablo 4.1'de özetlenmiştir. Ayrıca, standart ve örnek çözeltilerine ait HPLC–SAHO–AAAS sisteminden elde edilen analitik sinyaller Şekil 4.14'te sunulmuştur.

Table 4.1 HPLC-SAHO-AAAS sistemi aracılığıyla standart madde eklenmiş musluk suyu örneklerinden elde edilen geri kazanım sonuçları.

		Dış Kalibrasyon Metodu		**Matriks Eşleştirme Metodu**	
Analit-Örnek	**Eklenen standart, mg/kg**	**%GK**	**±SD**	**%GK**	**±SD**

	0,28	68,4	1,5	77,4	1,4
	0,56	93,6	2,4	91,4	2,2
	0,86	102,2	3,2	96,2	2,8
Se(IV)-B	1,15	102,4	6,9	94,9	6,1
	1,95	102,6	5,4	93,4	4,8
	0,80	128,6	11,4	108,0	9,9
	1,07	123,0	10,6	104,0	9,2
Se(VI)-B	1,82	135,4	3,8	115,9	3,3
	0,27	61,7	1,8	72,0	1,6
	0,55	90,4	4,9	88,8	4,4
	0,87	104,9	5,4	98,4	4,8
Se(IV)-C	1,14	109,7	2,5	101,5	2,2
	1,94	108,6	4,7	98,8	4,1
	0,82	130,7	16,8	109,9	14,6
Se(VI)-C	1,06	133,4	7,6	113,1	6,6
	1,81	134,9	6,3	115,5	5,4



Şekil 4.14 HPLC-SAHO-AAAS sisteminden standart çözelti (A) ve standart eklemesi yapılmış örnekler (B: A bölgesinden toplanan musluk suyu, C: B bölgesinden toplanan musluk suyu ve D: C bölgesinden toplanan musluk suyu) için elde edilen analitik sinyaller

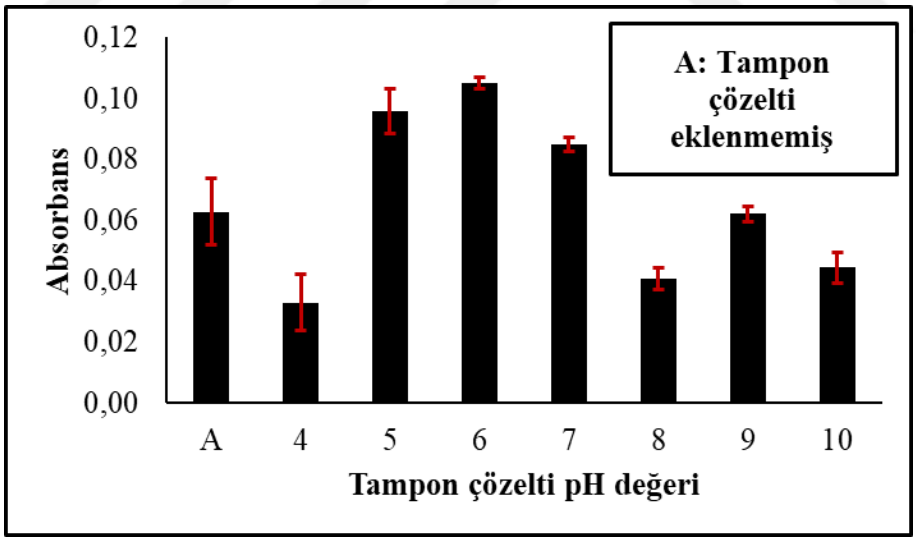
4.2 SUPRAS-SD-SFME-AAAS Sistemine Ait Optimizasyon Çalışmaları

Tez çalışmasının ikinci kısmındaki bu çalışma 2025 yılında "Determination of copper at trace levels in fennel tea samples by flame atomic absorption spectrometry after the implementation of simultaneous complexation and supramolecular solvent based spraying assisted liquid phase microextraction" başlığı ile basılmıştır. [181]

4.2.1 Tampon Çözelti pH Değeri ve Hacmi Optimizasyonu

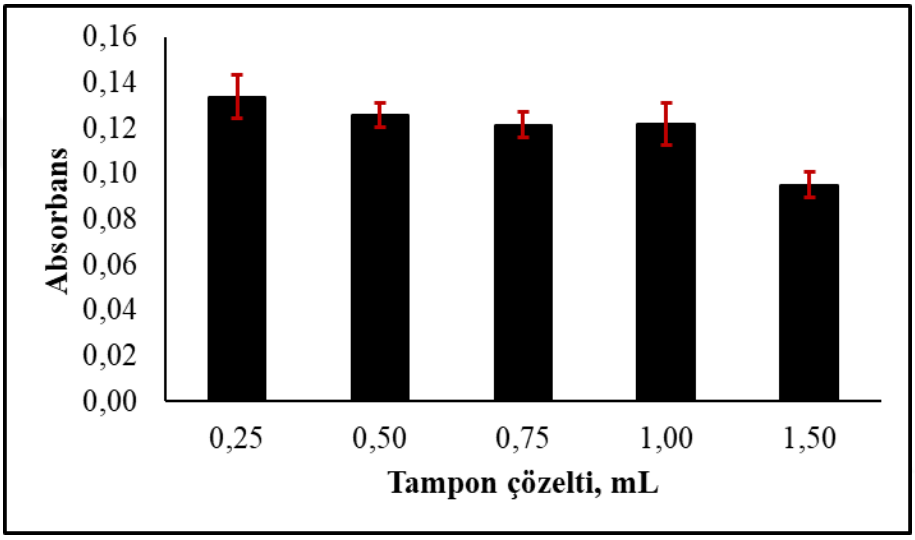
Bir diğer çalışma için, örnek çözeltisinin pH değeri önemli bir parametredir çünkü reaksiyon kinetiği ve oluşan kompleks stabilitesi pH değerine bağlı olarak değişir [193]. Bu nedenle, pH değerinin kompleksleştirme verimi üzerindeki etkisini

değerlendirmek için bakır standart çözeltileri farklı pH değerlerine sahip tampon çözeltilerle tamponlanmıştır. Bu optimizasyon çalışmasında, kloroform (%0,10 (k/k) kompleksleştirme ajanı içeren), 49,1 µg/kg (kütle bazında hazırlanmış) bakır standart çözeltilerine (7 farklı pH değerine sahip 1,0 mL tampon çözeltisi içeren) 2 kez püskürtülmüştür. Ek olarak, herhangi bir tampon çözelti olmadan bir deneme gerçekleştirilmiştir (standart çözeltilerin üzerine tampon çözeltiler yerine 1,0 mL ultra saf su eklenmiştir). Püskürtme işleminden sonra tüm çözeltilere vorteks karıştırma işlemi (15 s) uygulanmış ve ardından 13,333 xg'de 2,0 dk santrifüjlenmiştir. Analit bakımından zengin organik faz (alt faz) temiz bir Eppendorf tüpüne aktarılmış ve organik faz su banyosunda tamamen buharlaştırılmıştır. Daha sonra Eppendorf tüpüne 200 µL derişik HNO_3 eklenmiş ve 15 s vorteks karıştırma uygulanmıştır. Bu prosedürün son adımında çözelti doğrudan AAAS sistemine gönderilmiştir. Bu optimizasyon çalışması sonucunda tüm değişkenlerden farklı sonuçlar elde edilmiş ve optimum koşul olarak seçilen pH 6 tampon çözeltisi en yüksek sonuçları sağlamıştır (Şekil 15). Ayrıca, sentezlenen SUPRAS (kompleksleştirme ajanı içeren) daha sonraki çalışmalarda geleneksel organik çözücüler yerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.15 Tampon çözeltisi pH optimizasyonu (Tampon çözelti pH değeri optimizasyonunda, 49,1 µg/kg bakır standart çözeltisi, iki kez püskürtme, 8 mL örnek hacmi, 1 mL tampon çözeltisi, kloroform içinde %0,10 (k/k) kompleksleştiri madde, 15 saniye vorteks karıştırma süresi, 200 µL nitrik asit parametreleri sabit tutulmuştur)

Tampon çözelti pH'ının belirlenmesinin ardından analite ait sinyal/gürültü oranını artırmak için 0,25 ile 1,5 mL aralığında 5 farklı tampon çözelti hacmi test edilmiştir. Şekil 4.16'da görülebileceği gibi, 0,25, 0,50, 0,75 ve 1,0 mL tampon çözeltileri için neredeyse aynı analitik sonuçlar elde edilmiştir. Yüksek hacim (yaklaşık 14,5 mL) nedeniyle, 1,5 mL tampon çözeltisi (pH 6) ile tamponlanmış çözeltiler için yeterli bir püskürtme işlemi gerçekleştirilememiş ve ayrıca bu çözeltiler için vorteks işlemi verimli bir şekilde gerçekleştirilememiştir. Bu nedenlerden dolayı, analitik sinyaller 1,5 mL tampon çözeltisinde önemli ölçüde azalmış olabilir. Optimum tampon çözelti hacmi 0,50 mL olarak belirlenmiştir (Şekil 4.16).

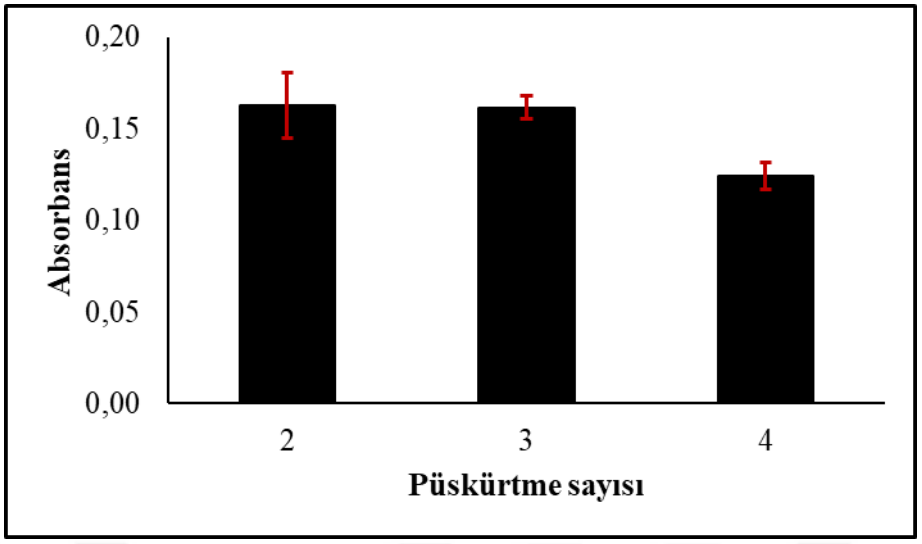


Şekil 4.16 Tampon çözeltisi hacmi optimizasyonu (Tampon çözelti hacmi optimizasyonunda, 52,70 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) kompleksleştiri madde, 15 saniye vorteks karıştırma süresi, 100 µL analitçe zengin faz ve 100 µL methanol parametreleri sabit tutulmuştur)

4.2.2 Püskürtme Sayısı Optimizasyonu

SD-SFME yönteminde, ekstraksiyon çözücüsünün hacmi püskürtme sayısı ile doğru orantılıdır. Bu nedenle, püskürtme sayısı optimizasyonu, önderiştirme faktörünü artırmak için en önemli parametrelerden biridir [173]. Bundan dolayı, püskürtme sayılarının analitik sinyaller üzerindeki etkisini değerlendirmek için dört farklı püskürtme sayısı test edilmiştir. İki püskürtme döngüsünde düşük faz ayrımı nedeniyle faz çekilmesi zor olurken, bir püskürtme döngüsünde faz ayrımı elde edilememiştir. Ayrıca, optimum koşul olarak seçilen üç püskürtme döngüsü, dört

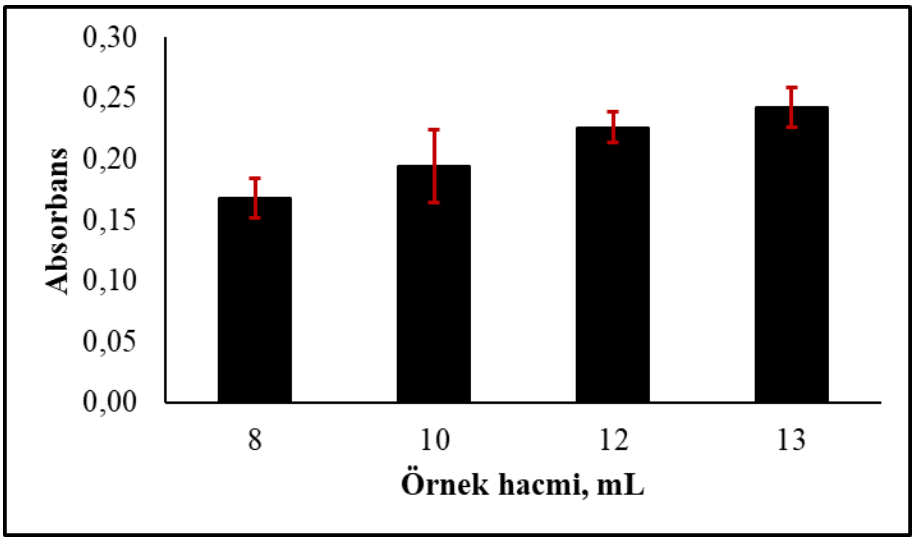
püskürtme döngüsünden daha yüksek absorbans değerleri sağlamıştır (Şekil 4.17).



Şekil 4.17 Püskürtme sayısı optimizasyonu (Püskürtme sayısı optimizasyonunda, 127,67 µg/kg bakır standart çözeltisi, 8,0 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) oranında kompleksleştirici madde, 15 saniye vorteks süresi, 100 µL analitçe zengin faz ve 100 µL methanol parametreleri sabit tutulmuştur)

4.2.3 Örnek Hacmi Optimizasyonu

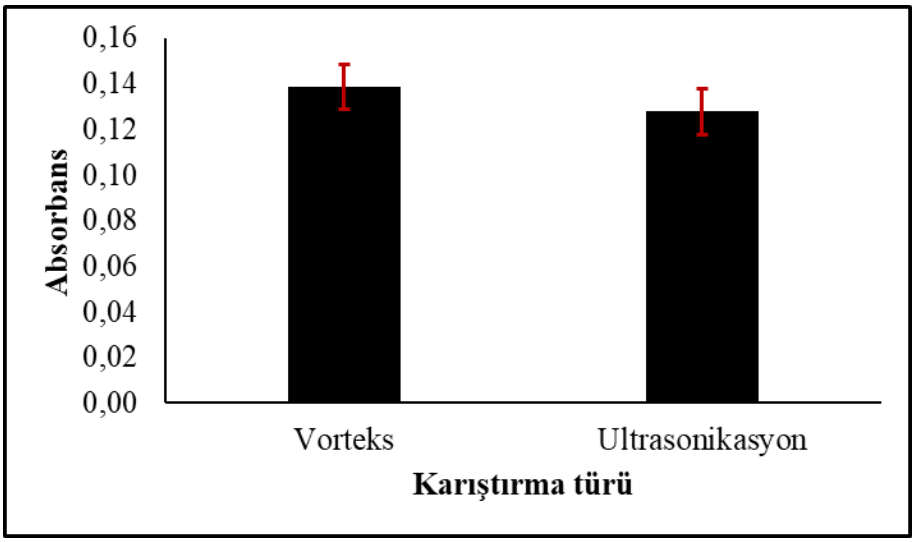
Örnek hacmi ile önderiştirme faktörü arasında doğru orantılı bir ilişki olduğu bilinmektedir [194]. Bu nedenle, 8, 10, 12 ve 13 mL bakır standart çözeltileri SUPRAS esaslı SD-SFME yöntemi ile önderiştirilmiştir. Şekil 4.18'de görülebileceği gibi, 8,0 mL'den 13 mL'ye doğrusal bir artış gözlenmiştir ancak SUPRAS püskürtme işleminden sonra 13 mL standart çözeltiler içinde verimli bir şekilde dağılmamıştır ve ayrıca yüksek hacimli örnek çözeltisi nedeniyle vorteks karıştırma işlemi yeterince gerçekleştirilmemiştir. Bu nedenle başlangıç örnek hacmi için 12 mL optimum olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.18 Örnek hacmi optimizasyonu (Örnek hacmi optimizasyonunda, 127,67 µg/kg, üç kez püskürtme, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) kompleksleştirici madde, 15 saniye vorteks karıştırma süresi, 100 µL analitçe zengin faz ve 100 µL methanol parametreleri sabit tutulmuştır)

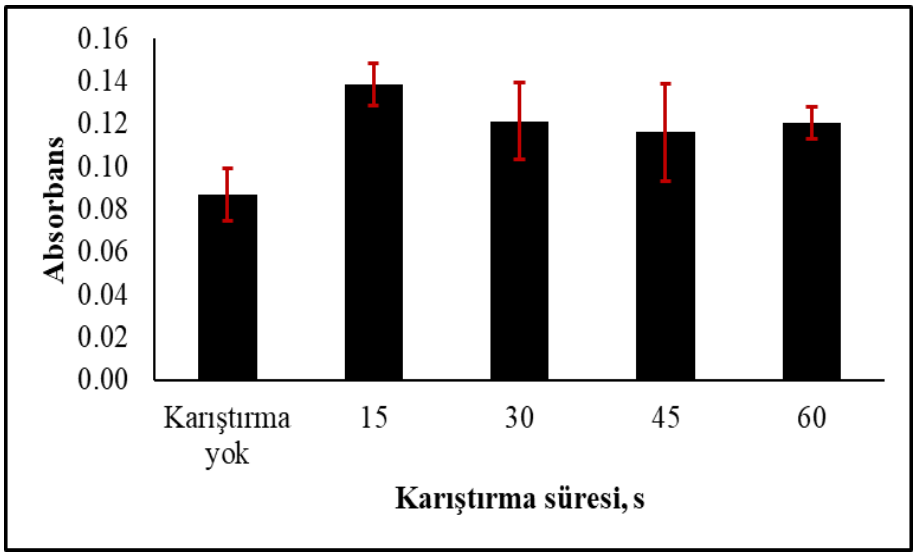
4.2.4 Karıştırma Türü

Karıştırma işlemi, ekstraksiyon çözücüsü ile analit arasındaki etkileşimi artırarak önderiştirme verimliliğini destekleyebilir [195]. Bu nedenle, önderiştirme faktörünü artırmak için vorteks ve ultrasonikasyon karıştırma işlemleri denenmiştir. Vorteks, ultrasonikten daha yüksek sonuçlar sağladığı için optimum karıştırma işlemi olarak seçilmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 Karıştırma türü optimizasyonu (Karıştırma türü optimizasyonunda, 74,05 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) kompleks oluşturucu madde, 15 saniyelik karıştırma işlemi, 100 µL analitçe zengin faz ve 100 µL methanol parametreleri sabit tutulmuştur)

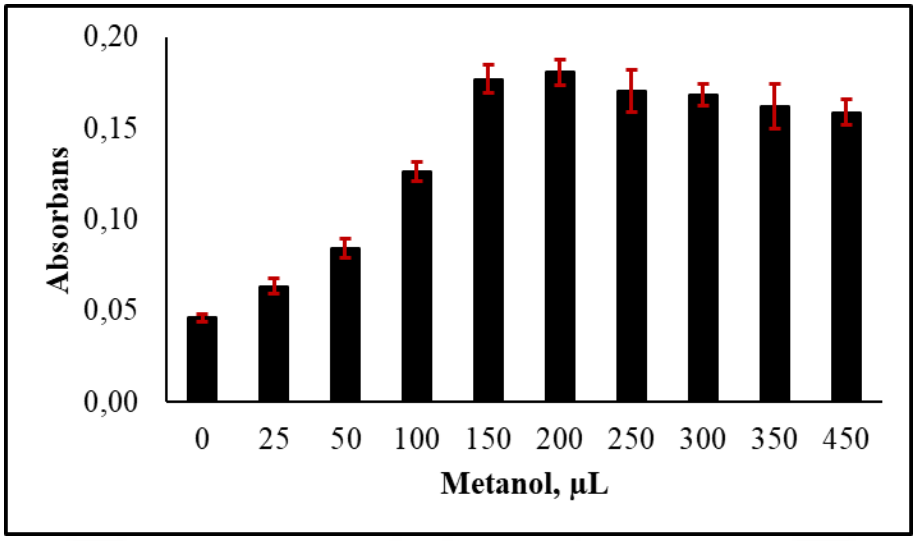
Karıştırma türünün belirlenmesinin ardından, dört farklı vorteks süresi ile karıştırılan standart çözeltiler, karıştırma işlemi uygulanmayan çözeltilerle karşılaştırılmıştır. Vorteks ile karıştırılan standart çözeltiler, karıştırılmayan standart çözeltilerden daha yüksek sonuçlar vermiş ve 15 s vorteks periyodu Şekil 4.20'de görüldüğü gibi diğer test edilmiş vorteks sürelerinden daha yüksek sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır. Bu nedenle, sonraki çalışmalarda 15 s vorteks süresi kullanılmıştır.



Şekil 4.20 Karıştırma süresi optimizasyonu (Karıştırma süresi optimizasyonunda, 73,02 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) kompleks oluşturucu madde, vorteks karıştırma işlemi, 100 µL analitçe zengin faz ve 100 µL methanol parametreleri sabit tutulmuştur)

4.2.5 Metanol Hacmi Optimizasyonu

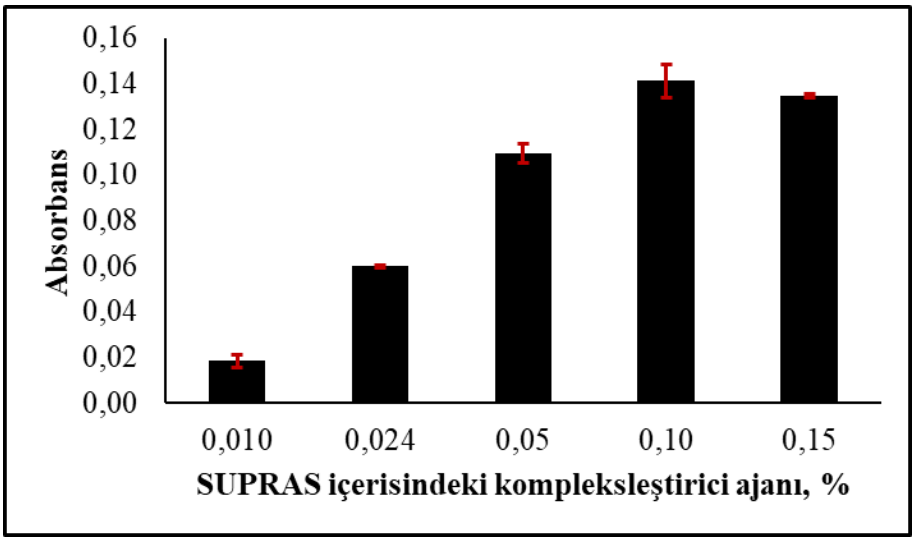
SUPRAS esaslı bir mikroekstraksiyon prosedüründe, SUPRAS'lar yüksek viskoziteye sahip olduğundan, sisleştirme verimini artırmak için analit bakımından zengin faza uygun bir çözücü ile seyreltme işlemi uygulanmalıdır [148]. Bu optimizasyon adımında, metanol hacminin analitik sinyaller üzerindeki etkisini değerlendirmek için analit bakımından zengin faz (100 µL) üzerine 25 ila 450 µL arasında 9 farklı metanol hacmi eklenmiştir. Ayrıca, bir deney hiç metanol kullanılmadan gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, 0 µL'den 200 µL metanol ilavesine kadar doğrusal bir artış gözlenmiştir. Aslında, aşırı seyreltme nedeniyle 200 µL'den sonra analitik sinyallerde hızlı bir azalma bekleniyordu ancak analitik sinyaller 200 µL'den sonra hafifçe azalmıştır (Şekil 4.21). Bu sonuçlar viskozitenin sisleştirici verimliliği üzerindeki en önemli parametrelerden biri olduğunu göstermiştir. Ayrıca, alev sıcaklığı da farklı metanol miktarlarında analit sinyalini etkileyen bir başka faktör olabilir. Bu durumlar, 200 µL'den sonra analitik sinyaller açısından aşırı seyreltmeyi bastırmış olabilir. Bu optimizasyon sonucunda optimum koşul olarak belirlenen 200 µL metanol, analite ait yüksek sinyal/gürültü oranı elde etmek için yeterli olmuştur.



Şekil 4.21 Metanol hacmi optimizasyonu (Metanol hacmi optimizasyonunda, 54,55 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, SUPRAS içinde %0,10 (k/k) kompleks oluşturucu madde,15 saniye vorteks karıştırma işlemi ve 100 µL analitçe zengin faz parametreleri sabit tutulmuştur)

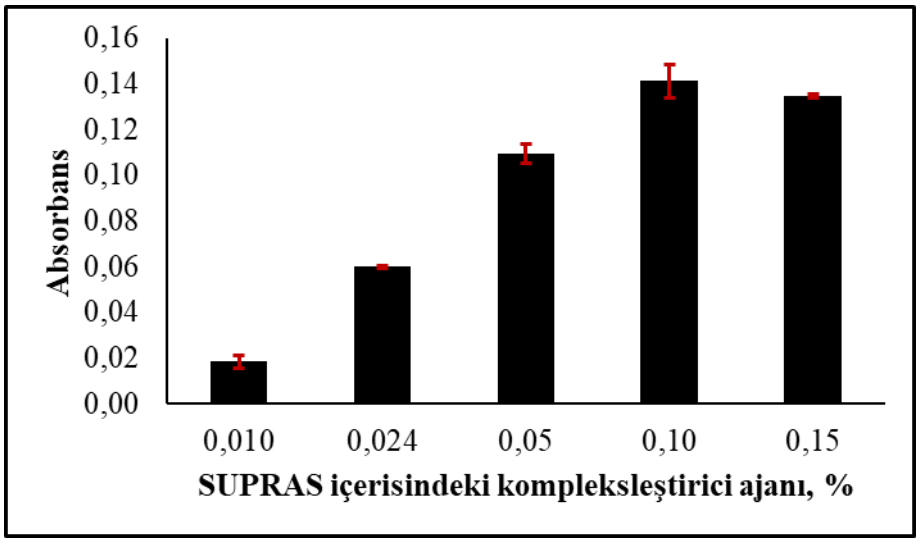
4.2.6 Kompleksleştirme Ajanının Derişim Optimizasyonu

Kompleksleştirme ajanlarının derişimi, kompleksleştirme verimini artırarak analite ait sinyal/gürültü oranını artırmak için bir diğer önemli parametredir. İlk adımda, sentezlenen SUPRAS'da hazırlanan ve beş farklı derişime (%0,010 ile %0,15 (k/k) arasında) sahip kompleksleştirme ajanları standart çözeltilere püskürtülmüş ve analitik sinyaller kompleksleştirme ajanlarının %0,010'undan %0,10'una kadar artmıştır (Şekil 4.22).



Şekil 4.22 Sulu standart çözeltiler için SUPRAS içerisindeki kompleksleştirme ajanının derişimi optimizasyonu (Sulu standart çözeltiler için SUPRAS'da kompleksleştirme ajanının derişim optimizasyonunda, 40,92 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, 15 saniyelik vorteks karıştırma işlemi, 100 µL analitçe zengin faz ve 200 µL metanol parametreleri sabit tutulmuştur)

Bu sonuçlara göre, %0,10 (k/k) analit için düşük tespit limiti elde etmek için yeterli olmuştur. Bu optimizasyonun ikinci adımında, SUPRAS (%0,10 kompleksleştirici ajanı içeren), standart eklemesi yapılmış rezene çayı örneklerine püskürtülmüş ve matriks bileşenlerinden kaynaklanan negatif matriks etkilerini gösteren %73,8 daha düşük analitik sinyaller elde edilmiştir. Bu nedenle, bu optimizasyon rezene çayı örnekleri ile tekrarlanmıştır. Sentezlenen SUPRAS'da hazırlanan dört farklı konsantrasyona sahip kompleksleştirme ajanları (%0.10 - %2.0 (k/k) aralığında), standart eklemesi yapılmış rezene çayı örneklerine üç kez püskürtülmüştür. Şekil 4.23'de görülebileceği gibi, analitik sinyallerde %0,10'dan %1,0'a kadar doğrusal bir artış gözlenmiş ve %1,0 ve %2,0 için benzer analitik sinyaller elde edilmiştir. Bu optimizasyon çalışması sonucunda %1,0 (k/k) optimum kompleksleştirme ajanı derişimi olarak seçilmiştir.



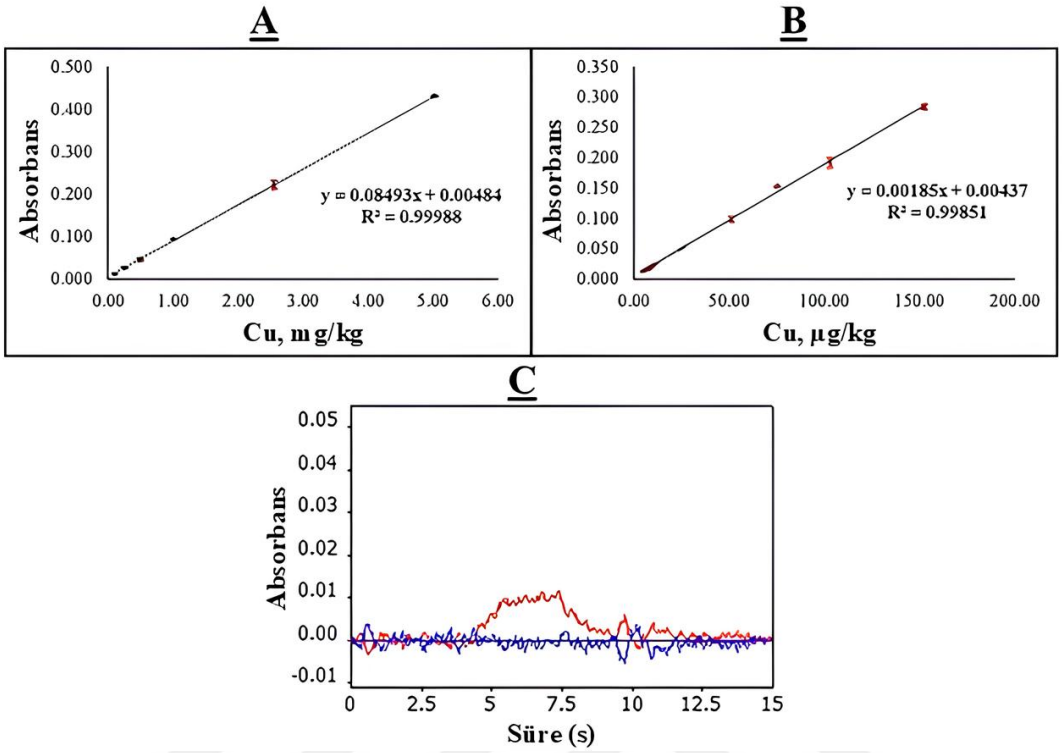
Şekil 4.23 Rezene çayı örnekleri için SUPRAS içerisindeki kompleksleştirme ajanının derişim optimizasyonu (Sulu standart çözeltiler için SUPRAS'da kompleksleştirme ajanının derişim optimizasyonunda, 47,33 µg/kg bakır standart çözeltisi, üç kez püskürtme, 12 mL örnek hacmi, 0,50 mL pH 6 tampon çözeltisi, 15 saniyelik vorteks karıştırma işlemi, 100 µL analitçe zengin faz ve 200 µL metanol parametreleri sabit tutulmuştur)

4.2.7 SUPRAS-SD-SFME-AAAS Sistem Analitik Performansı

AAAS sisteminin analitik performansının değerlendirilmesi amacıyla, 0,10 – 9,99 mg/kg aralığındaki sulu standart çözeltiler doğrudan AAAS sistemine gönderilmiştir. 0,10 – 5,03 mg/kg aralığında bir doğrusallık gözlemlenmiş olup, GL ve TL değerleri sırasıyla 40,75 ve 135,83 µg/kg olarak hesaplanmıştır. AAAS sistemi için analite ait kalibrasyon doğrusu Şekil 4.24 (A)'te verilmiştir.

Beş farklı derişim aralığında (5,07 – 200,92 µg/kg) hazırlanmış sulu standart çözeltiler, Bölüm 2.5'te ayrıntılı olarak açıklanan geliştirilmiş SUPRAS esaslı SD-SFME yöntemi kullanılarak önderiştirmeye tabi tutulmuş ve ardından analitik performans parametrelerinin belirlenmesi amacıyla AAAS sistemine gönderilmiştir. 5,07 – 152,61 µg/kg aralığında nispeten geniş bir doğrusal çalışma aralığı elde edilmiş olup, GL ve TL değerleri sırasıyla 1,91 ve 6,37 µg/kg olarak kaydedilmiştir. Analite ait kalibrasyon doğrusu ile TL sinyalleri SUPRAS-SD-SFME-AAAS sistemi için Şekil 4.24 (B ve C)'de gösterilmiştir. GL ve TL değerleri, kalibrasyon eğrisinde yer alan en düşük derişimin standart sapmasının

(n=5) sırasıyla 3 ve 10 katının, kalibrasyon doğrusu eğimine bölünmesiyle hesaplanmıştır [196].



Şekil 4.24 AAAS sisteminden elde edilen kalibrasyon doğrusu (A), SUPRAS-SD-SFME-AAAS sisteminden elde edilen kalibrasyon doğrusu (B) ve SUPRAS-SD-SFME-AAAS sistemi için analite ait TL sinyali (5,07 µg/kg) (C).

AAAS ve SUPRAS-SD-SFME-AAAS sistemlerine ait GL değerleri karşılaştırıldığında, AAAS sisteminin tespit gücünün 21,3 kat arttığı belirlenmiştir. Ayrıca, AAAS sisteminin kalibrasyon duyarlılığı, geliştirilmiş SUPRAS-SD-SFME yöntemiyle birleştirilmesi sonucunda 21,8 kat artırılmıştır. Tayin gücü ve kalibrasyon duyarlılığındaki bu artışlar sırasıyla denklem 4.2 ve 4.3'te verilen formüllerle hesaplanmıştır.

$$Tayin\ gücündeki\ artış = \frac{\text{FAAS sisteminden elde dilen GL değeri}}{\text{SUPRAS}-\text{SD}-\text{SFME}-\text{AAAS}'\text{den elde edilen GL değeri}} \quad (4.2)$$

$$Kalibrasyon\ duyarlılığındaki\ artış = \frac{\text{SUPRAS}-\text{SD}-\text{SFME}-\text{AAAS yönteminden elde edilen kalibrasyon doğrusunun eğimi}}{AAAS\ sisteminden\ elde\ edilen\ kalibrasyon\ doğrusunun\ eğimi} \quad (4.3)$$

4.2.8 Geri Kazanım Çalışmaları

Bu çalışmanın ilk aşamasında, tüm rezene çayı örnekleri bölüm 3.2.7'de ayrıntılı olarak verilen prosedüre göre hazırlanmış ve ardından geliştirilmiş mikroekstraksiyon yöntemi (Bölüm 3.2.3) ile önderiştirilmiştir. Önderiştirilmiş tüm örnek çözeltileri AAAS sistemine gönderilmiş ve tüm rezene çayı örneklerinde analite ait sinyaller tespit edilememiştir. Bu nedenle, geliştirilen yöntemin gerçek örneklere uygulanabilirliğini ve doğruluğunu değerlendirmek amacıyla standart ekleme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, tüm rezene çayı örneklerine altı farklı derişimde standart eklemesi yapılmış ve geliştirilen SUPRAS-SD-SFME yöntemi standart eklenmiş tüm rezene çayı örneklerine uygulanmıştır.

Standart eklenmiş Marka A rezene çayı örnekleri kullanılarak matriks eşleştirme kalibrasyon doğrusu oluşturulmuş ve bu kalibrasyon doğrusu, standart eklenmiş Marka B ve C rezene çayı örnekleri için geri kazanım sonuçlarının hesaplanmasında kullanılmıştır. Geri kazanım sonuçları, sırasıyla denklem 4.4 ve denklem 4.5 kullanılarak dış standart kalibrasyonu ve matriks eşleştirme kalibrasyon stratejileri ile hesaplanmıştır. Dış standart kalibrasyon stratejisiyle hesaplanan geri kazanım sonuçlarına göre, düşük seviyelerde standart eklemesi yapılmış Marka B ve C rezene çayı örneklerinde negatif matriks etkileri gözlemlenmiştir (Tablo 4.2). Ayrıca, eklenen standart derişimi arttıkça analit üzerindeki negatif matriks etkilerinin azaldığı belirlenmiştir. Bu nedenle, düşük derişim seviyelerinde geri kazanım sonuçlarını iyileştirmek amacıyla matriks eşleştirme kalibrasyon stratejisi kullanılmıştır. Matriks eşleştirme kalibrasyon stratejisi ile %80,2 – %111,8 aralığında kabul edilebilir geri kazanım sonuçları elde edilmiştir (Tablo 4.2). Elde edilen sonuçlara göre, dış standart kalibrasyon stratejisiyle kalibrasyon doğrusunda yer alan yüksek derişim seviyelerinde gerçek örneklere uygulanabilir olduğunu göstermektedir. Ayrıca, matriks eşleştirme kalibrasyon stratejisi, rezene çayı örneklerinde bakır derişiminin belirlenmesinde düşük, orta ve yüksek derişim seviyelerinde güvenle kullanılabilir. Standart eklemesi yapılmış Marka A rezene çayı örneklerinden elde edilen matriks eşleştirme kalibrasyon doğrusu ile Marka A, B ve C'ye ait analitik sinyaller sırasıyla Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'da gösterilmektedir. Geri kazanım sonuçları hesaplaması sırasında aşağıda bulunan Denklem 4.4 ve Denklem 4.5 kullanılmıştır.

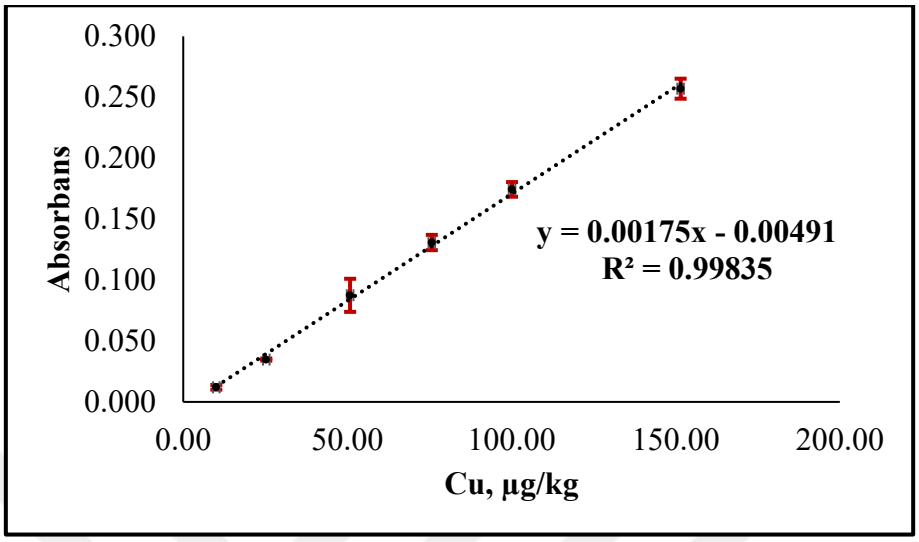
$$Dış\ standart\ kalibrasyon\ stratejisi\ ile\ hesaplanan\ \%\ geri\ kazanım = \frac{\text{Dış standart kalibrasyon doğrusu aracılığıyla bulunan deneysel derişim}}{Eklenen\ teorik\ derişim} X\ 100 \quad (4.4)$$

$$Matris\ eşleştirme\ kalibrasyon\ stratejisi\ ile\ hesaplanan\ \%geri\ kazanım = \frac{\text{Matriks eşleştirme kalibrasyon doğrusu aracılığıyla bulunan deneysel derişim}}{Eklenen\ teorik\ derişim} X\ 100 \quad (4.5)$$

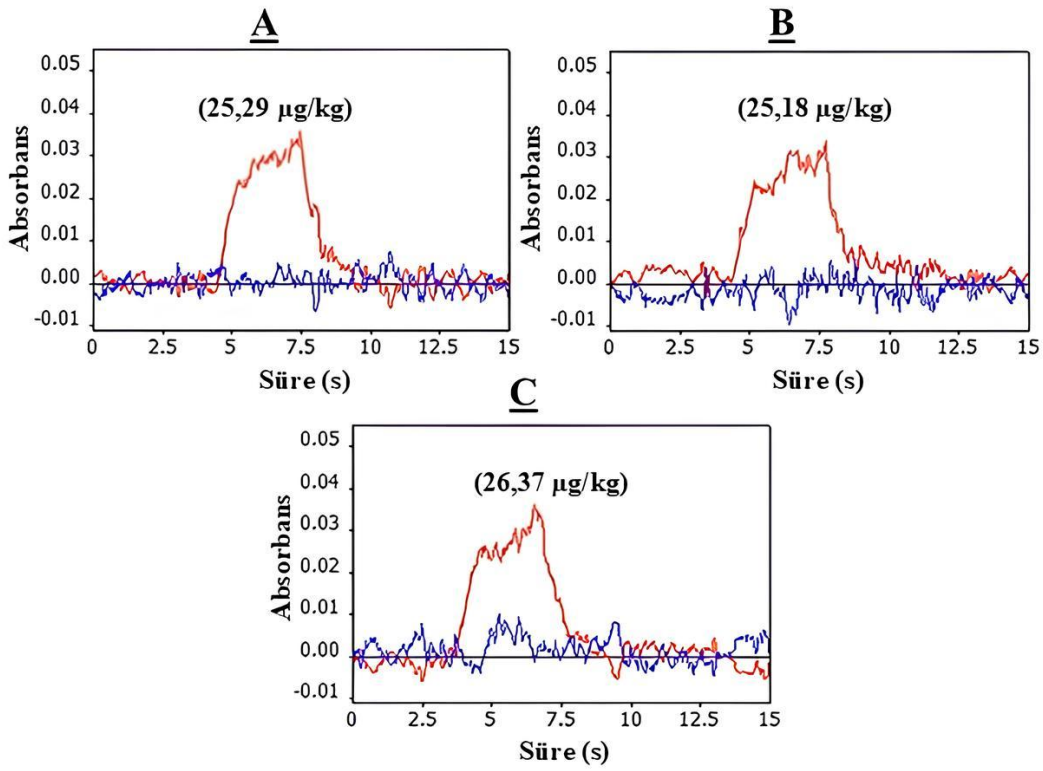
Tablo 4.2 Standart eklenmiş rezene çayı örnekleri için dış standart kalibrasyonu ve matriks eşleştirme kalibrasyon stratejileri ile elde edilen %geri kazanım sonuçları

		Dış standard kalibrasyon yöntemi		**Matriks eşleştirme kalibrasyon yöntemi**	
Örnek	**Eklenen derişim, µg/kg**	**Geri kazanım, %**	**±Standart sapma**	**Geri kazanım, %**	**±Standart sapma**
Marka B	10,09	26,9	2,0	80,9	2,1
	25,18	57,8	5,1	82,2	5,4
	50,37	78,6	1,5	93,6	1,5
	75,39	90,5	4,2	102,7	4,5
	99,50	89,0	2,3	99,4	2,4
	150,16	91,4	4,2	100,2	4,4
Marka C	10,49	28,1	3,4	80,2	3,6
	26,37	66,3	2,5	90,2	2,7
	52,81	77,2	3,6	91,6	3,8
	77,07	99,2	1,9	111,8	2,0
	100,99	92,1	1,9	102,6	2,0

	151,02	90,7	16,3	99,4	17,3



Şekil 4.25 Optimum SUPRAS-SD-SFME-AAAS koşulları altında, standart eklemesi yapılmış Marka A rezene çayı örneklerinden elde edilen kalibrasyon doğrusu



Şekil 4.26 Optimum SUPRAS-SD-SFME-AAAS koşulları altında elde edilen, standart eklemesi yapılmış Marka A, B ve C rezene çayı örneklerine ait analitik sinyaller.

5
SONUÇ

Musluk suyu örneklerinde inorganik selenyum türlendirmesi için HPLC-SAHO-AAAS yöntemi önerilmiştir. Bu çalışma, musluk suyu örneklerinde inorganik selenyum tayini için çevrimiçi bir ön indirgeme işlemi içeren bir SAHO sistemi kullanarak HPLC ve AAAS sistemlerinin kombinasyonu açısından ilk kez gerçekleştirilmiştir. Hem HPLC hem de SAHO sistemlerine ait önemli parametreler, her iki analit için de düşük tespit limitlerine ulaşılabilmesi amacıyla optimize edilmiştir. Optimum parametrelerin belirlenmesinin ardından, geliştirilen HPLC-SAHO-AAAS sisteminin analitik performans çalışması Se(IV) ve Se(VI) için gerçekleştirilmiştir. Se(IV) ve Se(VI) için sırasıyla 0,09/0,31 mg/kg (Se cinsinden) ve 0,23/0,77 mg/kg (Se cinsinden) GL/TL değerleri elde edilmiştir. Ayrıca, metodun doğruluğunu ve gerçek örneklere uygulanabilirliğini değerlendirmek amacıyla, standart eklemesi yapılmış musluk suyu örneklerinde geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda, dış standart kalibrasyon yöntemi her iki analit için de %61,7–%135,4 aralığında geri kazanım sonuçları sağlamıştır. Geri kazanım sonuçlarını iyileştirmek amacıyla matriks eşleştirme kalibrasyon stratejisi uygulanmış ve %72,0 ile %115,9 arasında daha iyi geri kazanım sonuçları elde edilmiştir. Dış standart kalibrasyon ve matriks eşleştirme kalibrasyon stratejileriyle elde edilen analitik sonuçlar karşılaştırıldığında, musluk suyu örneklerinde inorganik selenyum türlerinin tayini için matriks eşleştirme kalibrasyon yönteminin daha doğru analitik sonuçlar verdiği görülmektedir. Ayrıca, geliştirilen HPLC-SAHO sistemi, analitlerin daha düşük GL/TL değerleriyle tespit edilmesi için AFS gibi daha duyarlı analitik sistemlerle kolayca birleştirilebilir. Dahası, geliştirilen yöntem ilerleyen çalışmalarda GL/TL değerlerini daha da düşürmek amacıyla önderiştirme teknikleriyle de entegre edilebilir.

Bu çalışmada, rezene çayı örneklerinde bakırın AAAS ile kantitatif tayini öncesinde önderiştirilmesi amacıyla, basit ve etkili bir SUPRAS esaslı SD-SFME yöntemi geliştirilmiştir. Analit için düşük GL ve TL değerleri elde etmek amacıyla SUPRAS-SD-SFME yönteminin tüm önemli parametreleri tek değişkenli optimizasyon yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir. Sentezlenen

kompleksleştirme ajanı olan (E)-2-benzylidenehydrazinecarbothioamide, FT-IR, NMR ve API MS/MS analitik cihazları kullanılarak karakterize edilmiştir. SUPRAS yapısının karakterizasyonu ise FT-IR ile gerçekleştirilmiş ve elde edilen spektrumda gözlemlenen pik genişlemesi, supramoleküler yapı oluşumunun karakteristik göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Optimum koşullar altında gerçekleştirilen analizler sonucunda, geliştirilen SUPRAS-SD-SFME-AAAS sistemine ait analitik performans parametreleri belirlenmiştir. Doğrusal çalışma aralığı, GL ve TL değerleri sırasıyla 5,07–152,61 µg/kg, 1,91 µg/kg ve 6,37 µg/kg olarak hesaplanmıştır. Yöntemin uygulanabilirliğini test etmek amacıyla standart eklemesi yapılmış rezene çayı örnekleri üzerinde geri kazanım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Matriks eşleştirme kalibrasyon yöntemi ile elde edilen geri kazanım oranları %80,2–%111,8 aralığında gözlemlenirken, dış standart kalibrasyon yöntemi ile %26,9–%99,2 arasında değişen sonuçlar elde edilmiştir. Bu bulgular, matriks etkilerinin düşük derişim düzeylerinde analitik sonuçları önemli ölçüde etkileyebileceğini ve matriks eşleştirme yönteminin daha güvenilir sonuçlar sağladığını göstermektedir.

KAYNAKÇA

[1] Pedrero Z, Madrid Y. Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review. Anal Chim Acta 2009;634:135–52. https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.12.026.

[2] Strand T, Lillegaard I, Frøyland L, Haugen M, Henjum S, Løvik M, et al. Assessment of Selenium Intake in Relation to Tolerable Upper Intake Levels. Eur J Nutr Food Saf 2018;8:155–6. https://doi.org/10.9734/EJNFS/2018/42536.

[3] Xiong Y, Li F, Wang J, Huang A, Wu M, Zhang Z, et al. Simple multimodal detection of selenium in water and vegetable samples by a catalytic chromogenic method. Anal Methods 2018;10:2102–7. https://doi.org/10.1039/C8AY00265G.

[4] Burriss D, Zou W, Cremer D, Walrod J, Atwood D. Removal of Selenite from Water Using a Synthetic Dithiolate: An Experimental and Quantum Chemical Investigation. Inorg Chem 2014;53:4010–21. https://doi.org/10.1021/ic402909t.

[5] Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ, Lucia MS, Thompson IM, Ford LG, et al. Effect of Selenium and Vitamin E on Risk of Prostate Cancer and Other Cancers. JAMA 2009;301:39. https://doi.org/10.1001/jama.2008.864.

[6] Jeong D. Bimodal actions of selenium essential for antioxidant and toxic pro-oxidant activities: The selenium paradox (Review). Mol Med Rep 2011. https://doi.org/10.3892/mmr.2011.651.

[7] Ma Y, Zeng K, Duan T. Fast and clean determination of total selenium in biological materials by an improved oxygen flask combustion method combined with hydride generation atomic fluorescence spectrometry. Microchem J 2019;148:743–7. https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.064.

[8] Herrero Latorre C, Barciela García J, García Martín S, Peña Crecente RM. Solid phase extraction for the speciation and preconcentration of inorganic selenium in water samples: A review. Anal Chim Acta 2013;804:37–49. https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.09.054.

[9] Fordyce FM. Selenium Deficiency and Toxicity in the Environment. Essentials Med. Geol., Dordrecht: Springer Netherlands; 2013, p. 375–416. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4375-5_16.

[10] Panhwar AH, Tuzen M, Kazi TG. Ultrasonic assisted dispersive liquid-liquid microextraction method based on deep eutectic solvent for speciation, preconcentration and determination of selenium species (IV) and (VI) in water and food samples. Talanta 2017;175:352–8. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.07.063.

[11] Wei XS, Wu YW, Han LJ, Guo J, Sun HL. Speciation of inorganic selenium in environmental water samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after preconcentration by using a mesoporous zirconia coating on coal cinder. J Sep Sci 2014;37:2260–7. https://doi.org/10.1002/jssc.201301387.

[12] Tang X, Xu Z, Wang J. A hydride generation atomic fluorescence spectrometric procedure for selenium determination after flow injection on-line co-precipitate preconcentration. Spectrochim Acta Part B At Spectrosc 2005;60:1580–5.

https://doi.org/10.1016/j.sab.2005.10.005.

[13] Agrawal K, Patel KS, Shrivas K. Development of surfactant assisted spectrophotometric method for determination of selenium in waste water samples. J Hazard Mater 2009;161:1245–9. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.04.082.

[14] Raessler M, Michalke B, Schulte-Hostede S, Kettrup A. Long-term monitoring of arsenic and selenium species in contaminated groundwaters by HPLC and HG-AAS. Sci Total Environ 2000;258:171–81. https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00535-0.

[15] Pyrzynska K. Nanomaterials in speciation analysis of metals and metalloids. Talanta 2020;212:120784. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120784.

[16] García-Bellido J, Freije-Carrelo L, Moldovan M, Encinar JR. Recent advances in GC-ICP-MS: Focus on the current and future impact of MS/MS technology. TrAC Trends Anal Chem 2020;130:115963. https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115963.

[17] Stroud JL, McGrath SP, Zhao F-J. Selenium speciation in soil extracts using LC-ICP-MS. Int J Environ Anal Chem 2012;92:222–36. https://doi.org/10.1080/03067310903111661.

[18] Moreno-Andrade I, Regidor-Alfageme E, Durazo A, Field JA, Umlauf K, Sierra-Alvarez R. LC-ICP-OES method for antimony speciation analysis in liquid samples. J Environ Sci Heal Part A 2020;55:457–63. https://doi.org/10.1080/10934529.2019.1707565.

[19] Kölbl G, Kalcher K, Irgolic KJ. Ion chromatographic determination of selenite and selenate with selenium-specific detection by flame and graphite furnace atomic absorption spectrometry. Anal Chim Acta 1993;284:301–10. https://doi.org/10.1016/0003-2670(93)85314-A.

[20] Ritsema R, de Smaele T, Moens L, de Jong AS, Donard OFX. Determination of butyltins in harbour sediment and water by aqueous phase ethylation GC-ICP-MS and hydride generation GC-AAS. Environ Pollut 1998;99:271–7. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(97)00128-0.

[21] Bergmann K, Neidhart B. Speciation of organolead compounds in water samples by GC-AAS after in situ butylation with tetrabutylammonium tetrabutylborate. Fresenius J Anal Chem 1996;356:57–61. https://doi.org/10.1007/s0021663560057.

[22] Dirkx WMR, Van Cleuvenbergen RJA, Adams FC. Speciation of alkyllead compounds by GC-AAS: A state of affairs. Microchim Acta 1992;109:133–5. https://doi.org/10.1007/BF01243225.

[23] Ohki A, Nakajima T, Hirakawa S, Hayashi K, Takanashi H. A simple method of the recovery of selenium from food samples for the determination by ICP-MS. Microchem J 2016;124:693–8. https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.10.012.

[24] Khan N, Jeong IS, Hwang IM, Kim JS, Choi SH, Nho EY, et al. Method validation for simultaneous determination of chromium, molybdenum and selenium in infant formulas by ICP-OES and ICP-MS. Food Chem 2013;141:3566–70. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.034.

[25] Ulusoy HI, Yilmaz Ö, Gürkan R. A micellar improved method for trace levels selenium quantification in food samples, alcoholic and nonalcoholic beverages through CPE/FAAS. Food Chem 2013;139:1008–14.

https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.087.

[26] Cacho F, Jankuv L, Lauko L, Kroliak M, Manova A, Beinrohr E. Determination of ultra trace concentrations of selenium using the GFAAS technique following on-line electrochemical pre-concentration on a gold-coated porous carbon electrode. Talanta 2013;116:195–8. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.05.018.

[27] Zhang K, Guo X, Zhao Q, Han Y, Zhan T, Li Y, et al. Development and application of a HPLC-ICP-MS method to determine selenium speciation in muscle of pigs treated with different selenium supplements. Food Chem 2020;302:125371. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125371.

[28] Xie X, Feng C, Ye M, Wang C. Speciation Determination of Selenium in Seafood by High-Performance Ion-Exchange Chromatography-Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry. Food Anal Methods 2015;8:1739–45. https://doi.org/10.1007/s12161-014-0055-9.

[29] Bodur S, Öner M, Erarpat S, Bakırdere S. Determination of selenite and selenomethionine in kefir grains by reversed-phase high-performance liquid chromatography–inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. J Sep Sci 2021;44:3031–40. https://doi.org/10.1002/jssc.202100359.

[30] Gaetke LM, Chow CK. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. Toxicology 2003;189:147–63. https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00159-8.

[31] Shabbir Z, Sardar A, Shabbir A, Abbas G, Shamshad S, Khalid S, et al. Copper uptake, essentiality, toxicity, detoxification and risk assessment in soil-plant environment. Chemosphere 2020;259:127436. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127436.

[32] Public consultation on the draft scientific opinion on the re-evaluation of the existing health-based guidance values for copper and exposure assessment from all sources. EFSA Support Publ 2023;20. https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2023.en-7743.

[33] Krstić V, Urošević T, Pešovski B. A review on adsorbents for treatment of water and wastewaters containing copper ions. Chem Eng Sci 2018;192:273–87. https://doi.org/10.1016/j.ces.2018.07.022.

[34] Poswal FS, Russell G, Mackonochie M, MacLennan E, Adukwu EC, Rolfe V. Herbal Teas and their Health Benefits: A Scoping Review. Plant Foods Hum Nutr 2019;74:266–76. https://doi.org/10.1007/s11130-019-00750-w.

[35] Javed R, Hanif MA, Ayub MA, Rehman R. Fennel. Med. Plants South Asia, Elsevier; 2020, p. 241–56. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102659-5.00019-7.

[36] Qin F, Chen W. Lead and Copper Levels in Tea Samples Marketed in Beijing, China. Bull Environ Contam Toxicol 2007;79:247–50. https://doi.org/10.1007/s00128-007-9008-y.

[37] Khani R, Shemirani F, Majidi B. Combination of dispersive liquid–liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry for preconcentration and determination of copper in water samples. Desalination 2011;266:238–43. https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.08.032.

[38] Massadeh A, Gharibeh A, Omari K, Al-Momani I, Alomari A, Tumah H, et al. Simultaneous Determination of Cd, Pb, Cu, Zn, and Se in Human Blood of Jordanian Smokers by ICP-OES. Biol Trace Elem Res 2010;133:1–11.

https://doi.org/10.1007/s12011-009-8405-y.

[39] Milne A, Landing W, Bizimis M, Morton P. Determination of Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in seawater using high resolution magnetic sector inductively coupled mass spectrometry (HR-ICP-MS). Anal Chim Acta 2010;665:200–7. https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.03.027.

[40] Roman M. Selenium: Properties and Determination. Encycl. Food Heal., Elsevier; 2016, p. 734–43. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00615-2.

[41] Perrone D, Monteiro M, Nunes JC. CHAPTER 1. The Chemistry of Selenium, 2015, p. 3–15. https://doi.org/10.1039/9781782622215-00003.

[42] Ullah H, Lun L, Rashid A, Zada N, Chen B, Shahab A, et al. A critical analysis of sources, pollution, and remediation of selenium, an emerging contaminant. Environ Geochem Health 2023;45:1359–89. https://doi.org/10.1007/s10653-022-01354-1.

[43] Ullah H, Liu G, Yousaf B, Ali MU, Irshad S, Abbas Q, et al. A comprehensive review on environmental transformation of selenium: recent advances and research perspectives. Environ Geochem Health 2019;41:1003–35. https://doi.org/10.1007/s10653-018-0195-8.

[44] Sharma VK, Sohn M, McDonald TJ. Remediation of Selenium in Water: A Review. Adv. Water Purif. Tech., Elsevier; 2019, p. 203–18. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814790-0.00008-9.

[45] Devi P, Jain R, Thakur A, Kumar M, Labhsetwar NK, Nayak M, et al. A systematic review and meta-analysis of voltammetric and optical techniques for inorganic selenium determination in water. TrAC Trends Anal Chem 2017;95:69–85. https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.07.012.

[46] Hatfield DL, Tsuji PA, Carlson BA, Gladyshev VN. Selenium and selenocysteine: roles in cancer, health, and development. Trends Biochem Sci 2014;39:112–20. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2013.12.007.

[47] Tapiero H, Townsend D., Tew K. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. Biomed Pharmacother 2003;57:134–44. https://doi.org/10.1016/S0753-3322(03)00035-0.

[48] Köhrle J, Gärtner R. Selenium and thyroid. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2009;23:815–27. https://doi.org/10.1016/j.beem.2009.08.002.

[49] Ramoutar RR, Brumaghim JL. Antioxidant and Anticancer Properties and Mechanisms of Inorganic Selenium, Oxo-Sulfur, and Oxo-Selenium Compounds. Cell Biochem Biophys 2010;58:1–23. https://doi.org/10.1007/s12013-010-9088-x.

[50] Hadrup N, Ravn-Haren G. Toxicity of repeated oral intake of organic selenium, inorganic selenium, and selenium nanoparticles: A review. J Trace Elem Med Biol 2023;79:127235. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127235.

[51] Pereira ME, Souza JV, Galiciolli MEA, Sare F, Vieira GS, Kruk IL, et al. Effects of Selenium Supplementation in Patients with Mild Cognitive Impairment or Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. Nutrients 2022;14:3205. https://doi.org/10.3390/nu14153205.

[52] Shahbaz M, Akram A, Raja NI, Mukhtar T, Mehak A, Fatima N, et al. Antifungal activity of green synthesized selenium nanoparticles and their effect on

physiological, biochemical, and antioxidant defense system of mango under mango malformation disease. PLoS One 2023;18:e0274679. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274679.

[53] Public Health Statement for Copper, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), U.S. Department of Health and Human Services. 2024.

[54] Uriu-Adams JY, Keen CL. Copper, oxidative stress, and human health. Mol Aspects Med 2005;26:268–98. https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.015.

[55] Ayres RU, Ayres LW, Råde I. Copper: Sources and Supply, 2003, p. 21–58. https://doi.org/10.1007/978-94-017-3379-3_2.

[56] Brillo J, Egry I. Density Determination of Liquid Copper, Nickel, and Their Alloys. Int J Thermophys 2003;24:1155–70. https://doi.org/10.1023/A:1025021521945.

[57] Luyt AS, Molefi JA, Krump H. Thermal, mechanical and electrical properties of copper powder filled low-density and linear low-density polyethylene composites. Polym Degrad Stab 2006;91:1629–36. https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2005.09.014.

[58] Turnlund J. Human whole-body copper metabolism. Am J Clin Nutr 1998;67:960S-964S. https://doi.org/10.1093/ajcn/67.5.960S.

[59] Linder MC, Hazegh-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. Am J Clin Nutr 1996;63:797S-811S. https://doi.org/10.1093/ajcn/63.5.797.

[60] Winge D. Normal Physiology of Copper Metabolism. Semin Liver Dis 1984;4:239–51. https://doi.org/10.1055/s-2008-1041774.

[61] REIS B. A multicommuted flow system for the determination of copper, chromium, iron and lead in lubricating oils with detection by flame AAS*1. Talanta 2004;64:1220–5. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.03.070.

[62] Sanz-Medel A, Costa JM, Pereiro R. Atomic Spectrometry. Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2013. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.05348-8.

[63] Potts PJ. Principles of Atomic Spectroscopy. Treatise Geochemistry Second Ed., vol. 15, Elsevier Inc.; 2013, p. 171–80. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-095975-7.01411-X.

[64] Broekaert JAC. Atomic Fluorescence Spectrometry. Anal. At. Spectrom. with Flames Plasmas, Wiley; 2005, p. 332–8. https://doi.org/10.1002/3527606653.ch7.

[65] Matusiewicz H, Ślachciński M. Ultrasonic Nebulization/UV Photolysis Vapor Generation Sample Introduction System for the Determination of Conventional Hydride (As, Bi, Sb, Se, Sn) and Cold Vapor (Hg, Cd) Generation Elements in Reference Materials in the Presence of Acetic Acid by Micro. Spectrosc Lett 2013;46:315–26. https://doi.org/10.1080/00387010.2012.725702.

[66] Welna M, Szymczycha-Madeja A, Pohl P. Improvement in the single and simultaneous generation of As, Bi, Sb and Se hydrides using a vapor generation accessory (VGA) coupled to axially viewed inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). Anal Methods 2017;9:871–80. https://doi.org/10.1039/C6AY02932A.

[67] Matusiewicz H, Ślachciński M. Trace determination of Hg together with As, Sb,

Se by miniaturized optical emission spectrometry integrated with chemical vapor generation and capacitively coupled argon microwave miniplasma discharge. Spectrochim Acta Part B At Spectrosc 2017;133:52–9. https://doi.org/10.1016/j.sab.2017.04.010.

[68] Silva-Gigante M, Hinojosa-Reyes L, Bazzan-Dessuy M, Rosas-Castor JM, Torres-Gaytán DE, Quero-Jiménez PC, et al. Traces of the past: assessing the impact of potentially toxic elements from an abandoned mine on groundwater and agricultural soil in San Luis Potosí, México. Environ Monit Assess 2024;196:1015. https://doi.org/10.1007/s10661-024-13081-4.

[69] Gilmutdinov AK. Atomic Absorption, Theory. Encycl. Spectrosc. Spectrom., Elsevier; 2017, p. 44–51. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803224-4.00100-X.

[70] Wu P, Zhang Y, Liu R, Lv Y, Hou X. Comparison of tungsten coil electrothermal vaporization and thermospray sample introduction methods for flame furnace atomic absorption spectrometry. Talanta 2009;77:1778–82. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.10.017.

[71] Baralkiewicz D, Kózka M, Gramowska H, Tomaszewska B, Wasinkiewicz K. Determination of lead in plants in controlling phytoremediation processes using slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. Int J Environ Anal Chem 2004;84:901–8. https://doi.org/10.1080/03067310410001729051.

[72] L.H.J. Lajunen and P.Peramaki. Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission. 2nd ed. The Royal Society of Chemistry; 2004.

[73] Amos MD. Flame and Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry. Encycl. Anal. Chem., Wiley; 2000. https://doi.org/10.1002/9780470027318.a5105.

[74] Hieftje GM. Atomic absorption spectrometry—has it gone or where is it going? J Anal At Spectrom 1989;4:117–22. https://doi.org/10.1039/JA9890400117.

[75] Worden RH. ANALYTICAL METHODS | Geochemical Analysis (Including X-ray). Encycl. Geol., Elsevier; 2005, p. 54–76. https://doi.org/10.1016/B0-12-369396-9/00096-4.

[76] Fernández B, Lobo L, Pereiro R. Atomic Absorption Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation and Capabilities. Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2018. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14116-2.

[77] Moses Kayanda Kiteto, Cleophas Achisa Mecha. Insight into the Bouguer-Beer-Lambert Law: A review. Sustain Chem Eng 2024:567–87. https://doi.org/10.37256/sce.5220245325.

[78] Yazıcı E, Büyükpınar Ç, Bodur S, San N, Komesli OT, Bakırdere S. Ultrasonic assisted glass bead loaded gas liquid separator-photochemical vapor generation-T-shaped slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrophotometry system for antimony determination in tap water and wastewater samples. Chem Pap 2021;75:1377–86. https://doi.org/10.1007/s11696-020-01392-y.

[79] Matusiewicz H. Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry. Spectrochim Acta - Part B At Spectrosc 1997;52:1711–36. https://doi.org/10.1016/S0584-8547(97)00089-X.

[80] Hu P, Wang X, Wang Z, Dai R, Deng W, Yu H, et al. Recent developments of hydride generation in non-atomic spectrometric methods. TrAC Trends Anal

Chem 2019;119:115617. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.028.

[81] CHEN M, ZOU A, YU Y, HE R. Hyphenation of flow injection/sequential injection with chemical hydride/vapor generation atomic fluorescence spectrometry. Talanta 2007;73:599–605. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.04.037.

[82] Szeredai BD, Frentiu T, Muntean N, Dudu A-I, Covaci E. High-resolution continuum source quartz tube atomic absorption spectrometry for the determination of As, Sb, Bi, Hg, Se and Te in food and environmental matrices after chemical vapor generation. J Anal At Spectrom 2025;40:942–53. https://doi.org/10.1039/D4JA00468J.

[83] Kumar AR, Riyazuddin P. Chemical interferences in hydride-generation atomic spectrometry. TrAC Trends Anal Chem 2010;29:166–76. https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.12.002.

[84] Palatnik J, Londonio A, Morzán E, Wuilloud R, Smichowski P. Sensitive method for total selenium determination in garlic and nuts by UV–photochemical vapor generation coupled to atomic absorption spectrometry using mild conditions. J Food Compos Anal 2024;125:105765. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105765.

[85] Atasoy M, Yildiz D, Kula İ, Vaizoğullar Aİ. Determination and speciation of methyl mercury and total mercury in fish tissue samples by gold-coated W-coil atom trap cold vapor atomic absorption spectrometry. Food Chem 2023;401:134152. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134152.

[86] Shi M, Bergquist BA, Zhou A, Zhao Y, Sun R, Chen J, et al. The efficiency of Hg cold vapor generation and its influence on Hg isotope analysis by MC-ICP-MS. J Anal At Spectrom 2023;38:1076–87. https://doi.org/10.1039/D3JA00056G.

[87] Perelonia KBS, Benitez KCD, Banicod RJS, Tadifa GC, Cambia FD, Montojo UM. Validation of an analytical method for the determination of cadmium, lead and mercury in fish and fishery resources by graphite furnace and Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. Food Control 2021;130:108363. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108363.

[88] Jia H, Lan G, Li X, Chen L, Feng L, Mao X. Rapid and simultaneous detection of cadmium and mercury in foods based on solid sampling integrated electrothermal vaporization technique. Food Chem 2024;457:140087. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140087.

[89] Bodur S, Tutar BK, Bodur SE, Tutar ÖF, Bakırdere S. A new analytical protocol for the determination of cadmium in sunflower oil samples: Micro–sampling cold vapor generation–atomic absorption spectrometry after spraying based microextraction method. Food Chem 2025;487:144738. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.144738.

[90] He Y, Hou X, Zheng C, Sturgeon RE. Critical evaluation of the application of photochemical vapor generation in analytical atomic spectrometry. Anal Bioanal Chem 2007;388:769–74. https://doi.org/10.1007/s00216-006-1044-7.

[91] Yin Y, Liu J, Jiang G. Photo-induced chemical-vapor generation for sample introduction in atomic spectrometry. TrAC Trends Anal Chem 2011;30:1672–84. https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.04.021.

[92] Tsalev DL, D'Ulivo A, Lampugnani L, di Marco M, Zamboni R. Thermally

stabilized iridium on an integrated, carbide-coated platform as a permanent modifier for hydride-forming elements in electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 2. Hydride generation and collection, and behaviour of some organoelement sp. J Anal At Spectrom 1996;11:979. https://doi.org/10.1039/ja9961100979.

[93] Butcher DJ. Recent advances in graphite furnace atomic absorption spectrometry: a review of fundamentals and applications. Appl Spectrosc Rev 2024;59:247–75. https://doi.org/10.1080/05704928.2023.2192268.

[94] L'vov BV. Electrothermal atomization—the way toward absolute methods of atomic absorption analysis. Spectrochim Acta Part B At Spectrosc 1978;33:153–93. https://doi.org/10.1016/0584-8547(78)80039-1.

[95] Sperling M. Flame and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry in Environmental Analysis. Encycl. Anal. Chem., Wiley; 2022, p. 1–69. https://doi.org/10.1002/9780470027318.a0805.pub2.

[96] Burylin M, Pupyshev A. Electrothermal. Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2018. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14520-2.

[97] Acar O. Determination of cadmium and lead in biological samples by Zeeman ETAAS using various chemical modifiers. Talanta 2001;55:613–22. https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00468-4.

[98] Welz B, Schlemmer G. Determination of arsenic, selenium and cadmium in marine biological tissue samples using a stabilised temperature platform furnace and comparing deuterium arc with Zeeman-effect background correction atomic absorption spectrometry. J Anal At Spectrom 1986;1:119. https://doi.org/10.1039/ja9860100119.

[99] López-García I, Hernández-Córdoba M. Atomic absorption spectrometry. Handb. Miner. Elem. Food, Wiley; 2015, p. 189–217. https://doi.org/10.1002/9781118654316.ch10.

[100] Poole CF. Chromatography. Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2018. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.04396-1.

[101] Campíns-Falcó P, Herráez-Hernández R, Serra-Mora P. Liquid Chromatography—Instrumentation. Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2018. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14218-0.

[102] Nesterenko PN, Palamareva MD. Liquid Chromatography: Overview. Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2018. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14214-3.

[103] Halász I, Sebestian I. New Stationary Phase for Chromatography. Angew Chemie Int Ed English 1969;8:453–4. https://doi.org/10.1002/anie.196904531.

[104] Horvath CG, Lipsky SR. Peak capacity in chromatography. Anal Chem 1967;39:1893–1893. https://doi.org/10.1021/ac50157a075.

[105] Nesterenko PN, Palamareva MD. Liquid Chromatography: Principles. Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2018. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14215-5.

[106] Gika H, Kaklamanos G, Manesiotis P, Theodoridis G. Chromatography: High-Performance Liquid Chromatography. Encycl. Food Heal., Elsevier; 2016, p. 93–

9. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00159-8.

[107] Torres-Lapasió JR, García-Alvarez-Coque MC. Liquid Chromatography: Strategies for Optimization. Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2018. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14499-3.

[108] Durak BY, Chormey DS, Firat M, Bakirdere S. Validation of ultrasonic-assisted switchable solvent liquid phase microextraction for trace determination of hormones and organochlorine pesticides by GC–MS and combination with QuEChERS. Food Chem 2020;305:125487. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125487.

[109] Gjerde DT, Fritz JS, Schmuckler G. Anion chromatography with low-conductivity eluents. J Chromatogr A 1979;186:509–19. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)95271-3.

[110] López-Ruiz B. Advances in the determination of inorganic anions by ion chromatography. J Chromatogr A 2000;881:607–27. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00244-2.

[111] Michalski R, Pecyna-Utylska P, Kernert J. Ion Chromatography and Related Techniques in Carboxylic Acids Analysis. Crit Rev Anal Chem 2020:1–16. https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1750340.

[112] Nesterenko PN. Ion chromatography. Liq. Chromatogr., Elsevier; 2023, p. 465–507. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99968-7.00021-7.

[113] Stangl FK, Huth KC, Högg C. Ion release from bioactive dental liner materials by ion chromatography. Dent Mater 2025. https://doi.org/10.1016/j.dental.2025.07.008.

[114] Manali C. Asare, Jitendra A. Kubde, Ravindra L. Bakal, Pooja R. Hatwar, Vaishnavi S. Kalamb, Pratik K. Tambakhe. Ion exchange chromatography: A comprehensive review. GSC Biol Pharm Sci 2025;31:026–37. https://doi.org/10.30574/gscbps.2025.31.1.0127.

[115] Yang X, Merenda A, AL-Attabi R, Dumée LF, Zhang X, Thang SH, et al. Towards next generation high throughput ion exchange membranes for downstream bioprocessing: A review. J Memb Sci 2022;647:120325. https://doi.org/10.1016/j.memsci.2022.120325.

[116] Wallace RG, Rochfort KD. Ion-Exchange Chromatography: Basic Principles and Application, 2023, p. 161–77. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3362-5_9.

[117] Fekete S, Beck A, Veuthey J-L, Guillarme D. Ion-exchange chromatography for the characterization of biopharmaceuticals. J Pharm Biomed Anal 2015;113:43–55. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.02.037.

[118] Atapattu SN, Rosenfeld JM. Solid phase analytical derivatization as a sample preparation method. J Chromatogr A 2013;1296:204–13. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.03.020.

[119] Przyjazny A. Liquid-Phase Microextraction. Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2017. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12678-2.

[120] Chen Y, Guo Z, Wang X, Qiu C. Sample preparation. J Chromatogr A 2008;1184:191–219. https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2007.10.026.

[121] Aly A, Górecki T. Green Approaches to Sample Preparation Based on Extraction

Techniques. Molecules 2020;25:1719. https://doi.org/10.3390/molecules25071719.

[122] Poole CF. EXTRACTION | Solid-Phase Extraction. Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2016. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12175-4.

[123] Salve S, Bahiram Y, Jadhav A, Rathod R, Tekade RK. Nanoplatform-Integrated Miniaturized Solid-Phase Extraction Techniques: A Critical Review. Crit Rev Anal Chem 2023;53:46–68. https://doi.org/10.1080/10408347.2021.1934651.

[124] Buszewski B, Szultka M. Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review. Crit Rev Anal Chem 2012;42:198–213. https://doi.org/10.1080/07373937.2011.645413.

[125] Rice NM, Irving HMNH, Leonard MA. Nomenclature for liquid-liquid distribution (solvent extraction) (IUPAC Recommendations 1993). Pure Appl Chem 1993;65:2373–96. https://doi.org/10.1351/pac199365112373.

[126] Clement RE, Hao C. Liquid–Liquid Extraction. Compr. Sampl. Sample Prep., Elsevier; 2012, p. 51–63. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00063-6.

[127] Pena-Pereira F, Lavilla I, Bendicho C. Miniaturized preconcentration methods based on liquid–liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review. Spectrochim Acta Part B At Spectrosc 2009;64:1–15. https://doi.org/10.1016/j.sab.2008.10.042.

[128] Anthemidis AN, Ioannou KIG. Recent developments in homogeneous and dispersive liquid-liquid extraction for inorganic elements determination. A review. Talanta 2009;80:413–21. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.09.005.

[129] Rutkowska M, Płotka-Wasylka J, Sajid M, Andruch V. Liquid–phase microextraction: A review of reviews. Microchem J 2019;149:103989. https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.103989.

[130] Zgoła-Grześkowiak A, Grześkowiak T. Dispersive liquid-liquid microextraction. TrAC Trends Anal Chem 2011;30:1382–99. https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.04.014.

[131] Tang S, Qi T, Ansah PD, Nalouzebi Fouemina JC, Shen W, Basheer C, et al. Single-drop microextraction. TrAC Trends Anal Chem 2018;108:306–13. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.09.016.

[132] Ramos Payán M, Bello López MÁ, Fernández-Torres R, González JAO, Callejón Mochón M. Hollow fiber-based liquid phase microextraction (HF-LPME) as a new approach for the HPLC determination of fluoroquinolones in biological and environmental matrices. J Pharm Biomed Anal 2011;55:332–41. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.01.037.

[133] Dikmen Y, Güleryüz A, Metin B, Bodur S, Öner M, Bakırdere S. A novel and rapid extraction protocol for sensitive and accurate determination of prochloraz in orange juice samples: Vortex-assisted spraying-based fine droplet formation liquid-phase microextraction before gas chromatography–mass spectrometry. J Mass Spectrom 2020;55. https://doi.org/10.1002/jms.4622.

[134] Bodur S, Erarpat S, Günkara ÖT, Bakırdere S. Accurate and sensitive determination of hydroxychloroquine sulfate used on COVID-19 patients in human urine, serum and saliva samples by GC-MS. J Pharm Anal 2021;11:278–

83. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.01.006.

[135] Kutlu R, Bodur S, Tahir Günkara Ö, Bakırdere S. Combination of spraying based liquid phase microextraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of colchicine at ultra–trace levels in artificial urine and serum samples. Microchem J 2024;207:112071. https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.112071.

[136] Vakh C, Kasper S, Kovalchuk Y, Safonova E, Bulatov A. Alkyl polyglucoside-based supramolecular solvent formation in liquid-phase microextraction. Anal Chim Acta 2022;1228:340304. https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340304.

[137] Ballesteros-Gómez A, Sicilia MD, Rubio S. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review. Anal Chim Acta 2010;677:108–30. https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.07.027.

[138] Scheel GL, Tarley CRT. Feasibility of supramolecular solvent-based microextraction for simultaneous preconcentration of herbicides from natural waters with posterior determination by HPLC-DAD. Microchem J 2017;133:650–7. https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.007.

[139] ALOthman ZA, Yilmaz E, Habila MA, Alhenaki B, Soylak M, Ahmed AYBH, et al. Development of combined-supramolecular microextraction with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry procedures for ultra-trace analysis of carbaryl in water, fruits and vegetables. Int J Environ Anal Chem 2022;102:1491–501. https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1738419.

[140] Deng H, Wang H, Liang M, Su X. A novel approach based on supramolecular solvent microextraction and UPLC-Q-Orbitrap HRMS for simultaneous analysis of perfluorinated compounds and fluorine-containing pesticides in drinking and environmental water. Microchem J 2019;151:104250. https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104250.

[141] Peyrovi M, Hadjmohammadi M. Alkanol-based supramolecular solvent microextraction of organophosphorus pesticides and their determination using high-performance liquid chromatography. J Iran Chem Soc 2017;14:995–1004. https://doi.org/10.1007/s13738-017-1049-5.

[142] Salamat Q, Yamini Y, Moradi M, Farahani A, Feizi N. Extraction of antidepressant drugs in biological samples using alkanol-based nano structured supramolecular solvent microextraction followed by gas chromatography with mass spectrometric analysis. J Sep Sci 2019;42:1620–8. https://doi.org/10.1002/jssc.201801152.

[143] Demir Ö, Tuzen M, Altunay N, Mogaddam MRA. Air-Assisted Alkanol-Based Nanostructured Supramolecular Liquid–Liquid Microextraction for Extraction and Spectrophotometric Determination of Morin in Fruit and Beverage Samples. Food Anal Methods 2022;15:243–51. https://doi.org/10.1007/s12161-021-02111-3.

[144] Dueñas-Mas MJ, Ballesteros-Gómez A, Rubio S. Supramolecular solvent-based microextraction of emerging bisphenol A replacements (colour developers) in indoor dust from public environments. Chemosphere 2019;222:22–8. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.095.

[145] Caballo C, Sicilia MD, Rubio S. Supramolecular Solvents for Green Chemistry. Appl. Green Solvents Sep. Process., Elsevier; 2017, p. 111–37. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805297-6.00005-X.

[146] Gorji S, Biparva P, Bahram M, Nematzadeh G. Rapid and Direct Microextraction of Pesticide Residues from Rice and Vegetable Samples by Supramolecular Solvent in Combination with Chemometrical Data Processing. Food Anal Methods 2019;12:394–408. https://doi.org/10.1007/s12161-018-1371-2.

[147] Amir S, Shah J, Jan MR. Supramolecular solvent microextraction of phenylurea herbicides from environmental samples. Desalin Water Treat 2019;148:202–12. https://doi.org/10.5004/dwt.2019.23789.

[148] Supramolecular solvents: a review of a modern innovation in liquid-phase microextraction technique. TURKISH J Chem 2021;45. https://doi.org/10.3906/kim-2110-15.

[149] Ahmadi F, Aghaee E, Assadi Y, Berijani S, Milani Hosseini M-R, Rezaee M. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. J Chromatogr A 2006;1116:1–9. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.007.

[150] Hashemi B, Zohrabi P, Kim K-H, Shamsipur M, Deep A, Hong J. Recent advances in liquid-phase microextraction techniques for the analysis of environmental pollutants. TrAC Trends Anal Chem 2017;97:83–95. https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.08.014.

[151] Pérez Pavón JL, Herrero Martín S, García Pinto C, Moreno Cordero B. Determination of trihalomethanes in water samples: A review. Anal Chim Acta 2008;629:6–23. https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.09.042.

[152] Saraji M, Boroujeni MK. Recent developments in dispersive liquid–liquid microextraction. Anal Bioanal Chem 2014;406:2027–66. https://doi.org/10.1007/s00216-013-7467-z.

[153] Ozcan S, Tor A, Aydin ME. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waters by ultrasound-assisted emulsification-microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. Anal Chim Acta 2010;665:193–9. https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.03.047.

[154] Wei S-Y, Leong M-I, Li Y, Huang S-D. Development of liquid phase microextraction based on manual shaking and ultrasound-assisted emulsification method for analysis of organochlorine pesticides in aqueous samples. J Chromatogr A 2011;1218:9142–8. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.10.084.

[155] Cheng J, Matsadiq G, Liu L, Zhou Y-W, Chen G. Development of a novel ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction method and its application to the analysis of eleven polycyclic aromatic hydrocarbons at trace levels in water. J Chromatogr A 2011;1218:2476–82. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.049.

[156] You X, Wang S, Liu F, Shi K. Ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction based on the solidification of a floating organic droplet used for the simultaneous determination of six fungicide residues in juices and red wine. J Chromatogr A 2013;1300:64–9. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.02.038.

[157] Lasarte-Aragonés G, Lucena R, Cárdenas S, Valcárcel M. Effervescence assisted dispersive liquid–liquid microextraction with extractant removal by magnetic nanoparticles. Anal Chim Acta 2014;807:61–6.

https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.11.029.

[158] Farajzadeh MA, Mogaddam MRA. Air-assisted liquid–liquid microextraction method as a novel microextraction technique; Application in extraction and preconcentration of phthalate esters in aqueous sample followed by gas chromatography–flame ionization detection. Anal Chim Acta 2012;728:31–8. https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.03.031.

[159] Topal S, Şaylan M, Zaman BT, Bakırdere S. Determination of trace cadmium in saliva samples using spray assisted droplet formation-liquid phase microextraction prior to the measurement by slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrophotometry. J Trace Elem Med Biol 2021;68:126859. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126859.

[160] Bakaraki Turan N, Zaman BT, Arvas B, Yolaçan Ç, Bakirdere S. Implementation of a spraying-assisted fine droplet formation-based simultaneous liquid-phase microextraction method for the determination of copper in clove extract samples. Chem Pap 2021;75:2929–35. https://doi.org/10.1007/s11696-021-01538-6.

[161] Oflu S, Erarpat S, Zaman BT, Günkara ÖT, Bakırdere S, Turak F. Combination of quadrupole isotope dilution mass spectrometry with simultaneous derivatization and spray assisted droplet formation-liquid phase microextraction for the determination of methamphetamine in human urine and serum samples by gas chromatography. J Pharmacol Toxicol Methods 2023;119:107207. https://doi.org/10.1016/j.vascn.2022.107207.

[162] Diridiri PN, Bodur SE, Bayraktar A, Günkara ÖT, Bakırdere S. Determination of copper ion at trace levels in apple tea samples by simultaneous complexation and spray assisted microextraction method prior to detection by flame atomic absorption spectrophotometry. Food Chem 2024;441:138243. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138243.

[163] Sağsöz O, Arvas B, Zaman BT, Yolaçan Ç, Bakırdere S. Determination of trace cobalt ions in bottled drinking water samples from Fiji Island by spray-assisted fine droplet formation-liquid phase microextraction based on simultaneous complexation and extraction before flame atomic absorption spectrometer measu. Environ Monit Assess 2023;195:313. https://doi.org/10.1007/s10661-023-10943-1.

[164] Oflu S, Erarpat S, Zaman BT, Eroğlu K, Günkara ÖT, Bakırdere S, et al. Quantification of trace fenuron in waste water samples by matrix matching calibration strategy and gas chromatography–mass spectrometry after simultaneous derivatization and preconcentration. Environ Monit Assess 2023;195:1063. https://doi.org/10.1007/s10661-023-11575-1.

[165] Kozak L, Rudnicka M, Niedzielski P. Determination of Inorganic Selenium Species in Dietary Supplements by Hyphenated Analytical System HPLC-HG-AAS. Food Anal Methods 2012;5:1237–43. https://doi.org/10.1007/s12161-012-9365-y.

[166] Arı B, Öz E, Can SZ, Bakırdere S. Bioaccessibility and bioavailability of selenium species in Se-enriched leeks (Allium Porrum) cultivated by hydroponically. Food Chem 2022;372:131314. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131314.

[167] Seeger TS, Rosa FC, Bizzi CA, Dressler VL, Flores EMM, Duarte FA. Feasibility of dispersive liquid–liquid microextraction for extraction and preconcentration of

Cu and Fe in red and white wine and determination by flame atomic absorption spectrometry. Spectrochim Acta Part B At Spectrosc 2015;105:136–40. https://doi.org/10.1016/j.sab.2014.11.002.

[168] Arpa Ç, Albayati S, Yahya M. Effervescence-assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvent for preconcentration and FAAS determination of copper in aqueous samples. Int J Environ Anal Chem 2018;98:938–53. https://doi.org/10.1080/03067319.2018.1517872.

[169] Kartoğlu B, Bodur S, Zeydanlı D, Göver T, Özaydın E, Gülhan Bakırdere E, et al. Determination of copper in rose tea samples using flame atomic absorption spectrometry after emulsification liquid–liquid microextraction. Food Chem 2024;439:138140. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138140.

[170] Qiu J, Wang Q, Ma Y, Yang L, Huang B. On-line pre-reduction of Se(VI) by thiourea for selenium speciation by hydride generation. Spectrochim Acta Part B At Spectrosc 2006;61:803–9. https://doi.org/10.1016/j.sab.2006.03.015.

[171] Liu Q. On line pre-reduction of Se(VI) by nano-TiO2 controlled volatilization for speciation analysis of inorganic selenium using HPLC-AFS. Microchim Acta 2009;167:141–5. https://doi.org/10.1007/s00604-009-0227-2.

[172] Gallignani M, Valero M, Brunetto MR, Burguera JL, Burguera M, Petit De Peña Y. Sequential determination of Se(IV) and Se(VI) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry with HCl/HBr microwave aided pre-reduction of Se(VI) to Se(IV). Talanta 2000;52:1015–24. https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00438-0.

[173] Bodur S, Erarpat S, Tutar ÖF, Bakırdere S. Spray assisted preconcentration method combined with HPLC – Continuous flow hydride generation – FAAS for inorganic arsenic speciation in olive oil samples. J Food Compos Anal 2023;123:105531. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105531.

[174] Büyükpınar Ç, Bodur S, San N, Komesli OT, Bakırdere S. Photochemical Vapor Generation Based Accurate Determination of Cadmium in Wastewater Using Novel Photoreactor and Gas-Liquid Separators Using Flame Atomic Absorption Spectrometry with Matrix Matching Calibration. Anal Lett 2021;54:2315–26. https://doi.org/10.1080/00032719.2020.1858308.

[175] Tutar BK, Tutar ÖF, Bodur S, Bakırdere S. An analytical approach for inorganic selenium speciation in tap water samples: HPLC – continuous flow hydride generation – FAAS. J Food Compos Anal 2025;147:108079. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2025.108079.

[176] Uggerud H, Lund W. Use of thiourea in the determination of arsenic, antimony, bismuth, selenium and tellurium by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. J Anal At Spectrom 1995;10:405. https://doi.org/10.1039/ja9951000405.

[177] Haynes WM, Lide DR, Bruno TJ, editors. CRC Handbook of Chemistry and Physics. CRC Press; 2016. https://doi.org/10.1201/9781315380476.

[178] Bax D, Peters FF, Van Noort JPM, Agterdenbos J. The determination of selenium with hydride generation AAS—II. Spectrochim Acta Part B At Spectrosc 1986;41:275–82. https://doi.org/10.1016/0584-8547(86)80168-9.

[179] Ramesh Kumar A, Riyazuddin P. Studies on the Efficiency of Hydrogen Selenide

Generation with Different Acid Media by Continuous Flow Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. Microchim Acta 2006;155:387–96. https://doi.org/10.1007/s00604-006-0583-0.

[180] Bodur S. Seçili pestisitlerin, ilaç etken maddelerinin ve inorganik analitlerin spektroskopik ve kromatografik tayinlerine yönelik yenilikçi analitik yöntemlerin geliştirilmesi. Yıldız Teknik Üniversitesi, 2022.

[181] Tutar BK, Tutar ÖF, Bodur S, Derin Y, Tutar A, Bakırdere S. Determination of copper at trace levels in fennel tea samples by flame atomic absorption spectrometry after the implementation of simultaneous complexation and supramolecular solvent based spraying assisted liquid phase microextraction. J Food Compos Anal 2025;137:106993. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106993.

[182] Hosseinpoor H, Iraji A, Edraki N, Pirhadi S, Attarroshan M, Khoshneviszadeh M, et al. A Series of Benzylidenes Linked to Hydrazine-1-carbothioamide as Tyrosinase Inhibitors: Synthesis, Biological Evaluation and Structure−Activity Relationship. Chem Biodivers 2020;17. https://doi.org/10.1002/cbdv.202000285.

[183] Özbek O, Isildak Ö, Gürdere MB, Berkel C. Cadmium(II)-selective potentiometric sensor based on synthesised (E)-2-benzylidenehydrazinecarbothioamide for the determination of Cd 2+ in different environmental samples. Int J Environ Anal Chem 2022;102:6819–34. https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1817427.

[184] Yang D, Li X, Meng D, Wang M, Yang Y. Supramolecular solvents combined with layered double hydroxide-coated magnetic nanoparticles for extraction of bisphenols and 4-tert-octylphenol from fruit juices. Food Chem 2017;237:870–6. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.063.

[185] Kachangoon R, Vichapong J, Santaladchaiyakit Y, Burakham R, Srijaranai S. Sample Preparation Approach by In Situ Formation of Supramolecular Solvent Microextraction for Enrichment of Neonicotinoid Insecticide Residues. Food Anal Methods 2023;16:330–9. https://doi.org/10.1007/s12161-022-02417-w.

[186] Pocheć M, Orzechowski K, Rutkowski K. Indicators of premelting in 1-decanol and 1-nonanol studied by FTIR spectroscopy. Surfaces and Interfaces 2022;28:101676. https://doi.org/10.1016/j.surfin.2021.101676.

[187] Ballesteros-Gómez A, Rubio S. Environment-Responsive Alkanol-Based Supramolecular Solvents: Characterization and Potential as Restricted Access Property and Mixed-Mode Extractants. Anal Chem 2012;84:342–9. https://doi.org/10.1021/ac2026207.

[188] Cai ZH, Wang JD, Liu L, Ruan LD, Gu Q, Yan XY, et al. A green and designable natural deep eutectic solvent-based supramolecular solvents system: Efficient extraction and enrichment for phytochemicals. Chem Eng J 2023;457:141333. https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.141333.

[189] Zhang DL, Ke JJ, Lu LZ. Action of Flow Rate of Mobile Phase in Chromatography. Adv Mater Res 2013;641–642:35–8. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.641-642.35.

[190] Karger BL, Martin M, Guiochon G. Role of column parameters and injection volume on detection limits in liquid chromatography. Anal Chem 1974;46:1640–7. https://doi.org/10.1021/ac60348a053.

[191] D'Ulivo A. Atomic Absorption Spectrometry | Vapor Generation ☆. Ref. Modul.

Chem. Mol. Sci. Chem. Eng., Elsevier; 2018. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.00025-1.

[192] Pohl P. Hydride generation – recent advances in atomic emission spectrometry. TrAC Trends Anal Chem 2004;23:87–101. https://doi.org/10.1016/S0165-9936(04)00306-1.

[193] Duda LL. Kinetics of the dissolution of copper in aqueous alkaline 2,2′-dipyridyl solutions. Corros Sci 2002;44:989–95. https://doi.org/10.1016/S0010-938X(01)00128-7.

[194] Yin J, Jiang Z, Chang G, Hu B. Simultaneous on-line preconcentration and determination of trace metals in environmental samples by flow injection combined with inductively coupled plasma mass spectrometry using a nanometer-sized alumina packed micro-column. Anal Chim Acta 2005;540:333–9. https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.03.045.

[195] Erarpat S, Cağlak A, Bodur S, Chormey SD, Engin ÖG, Bakırdere S. Simultaneous Determination of Fluoxetine, Estrone, Pesticides, and Endocrine Disruptors in Wastewater by Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS) Following Switchable Solvent–Liquid Phase Microextraction (SS–LPME). Anal Lett 2019;52:869–78. https://doi.org/10.1080/00032719.2018.1505897.

[196] Sanagi MM, Ling SL, Nasir Z, Hermawan D, Wan Ibrahim WA, Naim AA. Comparison of Signal-to-Noise, Blank Determination, and Linear Regression Methods for the Estimation of Detection and Quantification Limits for Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography. J AOAC Int 2009;92:1833–8. https://doi.org/10.1093/jaoac/92.6.1833.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Makaleler

1. Tutar, B. K., Tutar, Ö. F., Bodur, S., Derin, Y., Tutar, A., & Bakırdere, S. (2025). Determination of copper at trace levels in fennel tea samples by flame atomic absorption spectrometry after the implementation of simultaneous complexation and supramolecular solvent based spraying assisted liquid phase microextraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, *137*, 106993.
2. Tutar, B. K., Tutar, Ö. F., Bodur, S., & Bakırdere, S. (2025). An analytical approach for inorganic selenium speciation in tap water samples: HPLC–continuous flow hydride generation–FAAS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 108079.