

**ORGANİK VE KONVANSİYONEL TARIM ÜRÜNLERİNDE
ESER DÜZEYDEKİ BAKIR, KADMIYUM VE KURŞUN
İYONLARININ DEĞİŞTİRİLEBİLİR ÇÖZÜCÜ BAZLI SIVI
FAZ MİKROEKSTRAKSİYONU VE ALEVLİ ATOMİK
ABSORPSİYON SPEKTROMETRİSİ İLE TAYİNİ**

**SWITCHABLE SOLVENT BASED LIQUID PHASE
MICROEXTRACTION OF TRACE LEVEL COPPER,
CADMIUM AND LEAD IONS IN ORGANIC AND
CONVENTIONAL AGRICULTURAL PRODUCTS AND
DETERMINATION BY FLAME ATOMIC ABSORPTION
SPECTROMETRY**

HANİFE ELİF PELVAN

DOÇ. DR ÇİĞDEM ARPA ÇALIŞIR

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü

DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2020

*Canım ailem
biricik eşim ve
minik oğluma...*

ÖZET

ORGANİK VE KONVANSİYONEL TARIM ÜRÜNLERİNDE ESER DÜZEYDEKİ BAKIR, KADMIYUM VE KURŞUN İYONLARININ DEĞİŞTİRİLEBİLİR ÇÖZÜCÜ BAZLI SIVI FAZ MİKROEKSTRAKSİYONU VE ALEVLİ ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRİSİ İLE TAYİNİ

HANİFE ELİF PELVAN

Doktora, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Çiğdem ARPA ÇALIŞIR

Kasım 2020, 180 sayfa

Sunulan bu tez kapsamında organik ve endüstriyel yöntemle üretilmiş olan çeşitli gıda numunelerindeki bakır, kadmiyum ve kurşun iyonlarının tayini için, hidrofilikliğı değiştirilebilir çözücü temelli dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu SHS-DLLME tekniğı geliştirilmiş ve mikro-örneklemeli alevli atomik absorpsiyon spektrometresinde (FAAS) tayin yapılmıştır. Teknikte, akıllı çözücü olarak da adlandırılan, pH değişimi ile polaritesi değişebilen çevre dostu bir yağ asiti olan dekanıik asit ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmıştır. Ağır metallerin hidrofobik özellikli komplekslerini oluşturmak amacıyla 8-Hidroksikinolin (8-HQ) kompleksleştirici olarak kullanılmıştır. Metotta efervesan ajanı olarak Na_2CO_3 ve proton donörü olarak da H_2SO_4 kullanılarak CO_2 çıkışı sağlanmıştır. Ekstraksiyonun sonunda oda koşullarında katı halde bulunan dekanıik asit ekstraksiyon fazı, bir spatül yardımıyla sulu fazdan kolaylıkla ayrıldıktan sonra asidik etanol ile seyreltilerek mikro-örnekleme sistemine sahip FAAS' de okutulmuştur. Geliştirilen yöntemde, pH' nın, dekanıik asidin hacminin, Na_2CO_3 ve H_2SO_4 'ün hacim ve konsantrasyon oranının, kompleksleştirici hacminin, ekstraksiyon sıcaklığının ve yabancı iyon varlığının ekstraksiyon verimi ve zenginleştirme faktörü üzerindeki etkisi incelenmiştir. Optimize edilmiş şartlar altında, Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) için, zenginleştirme faktörü (EF) sırasıyla 52, 47,

45; gözlenebilme sınırı (LOD) sırasıyla $0.75 \mu\text{g L}^{-1}$, $0.69 \mu\text{g L}^{-1}$, $2.88 \mu\text{g L}^{-1}$ ve tayin sınırı (LOQ) sırasıyla $2.52 \mu\text{g L}^{-1}$, $2.30 \mu\text{g L}^{-1}$, $9.59 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntem sertifikalı referans malzemeler ve organik tarım ve endüstriyel tarım ile yetiştirilen gıda numuneleri üzerinde başarıyla uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar geliştirilmiş olan SHS-DLLME yönteminin organik ve endüstriyel tarım yoluyla yetiştirilen gıdalardaki, Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının zenginleştirilmesi ve FAAS ile tayini için hassas, tekrarlanabilir, hızlı ve kolay uygulanabilen literatürde yer bulabilecek bir çalışma olduğunu göstermiştir. Ayrıca kullanılan yeni nesil akıllı çözücüler ile ekonomik ve çevre dostu yeşil analitik kimya yaklaşımına uygun bir proses olduğu da görülmektedir. Bu çalışmayı benzer çalışmalardan farklı kılan iki önemli özellik bulunmaktadır. Bunlardan ilki, ekstraksiyon prosedürü sırasında oluşturulan efervesan sayesinde dispersiyonun dışardan hiçbir enerjiye ihtiyaç duyulmaksızın kısa sürede tamamlanabiliyor olmasıdır. Diğeri ise, kullanılan yeni nesil akıllı çözücülerden dekanolik asitin ortam koşullarında hızlı bir şekilde donuyor olması ve bu sayede faz ayırımının çok kolay ve yüksek verimle yapılabilmesi olmasıdır. Bu da ekstraksiyonun oldukça kısa zamanda tamamlanmasını sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Yağ asiti, hidrofiliği değiştirilebilir çözücü, SHS, alevli atomik absorpsiyon spektrofotometri, bakır, kadmiyum, kurşun, 8-hidroksikinolin (8-HQ), dekanolik asit, dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu

ABSTRACT

SWITCHABLE SOLVENT BASED LIQUID PHASE MICROEXTRACTION OF TRACE LEVEL COPPER, CADMIUM AND LEAD IONS IN ORGANIC AND CONVENTIONAL AGRICULTURAL PRODUCTS AND DETERMINATION BY FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY

Hanife Elif PELVAN

Doctor of Philosophy, Department of Chemistry

Supervisor: Doç. Dr. Çiğdem ARPA ÇALIŞIR

November 2020, 180 pages

In this thesis, in order to determine the amount of copper, cadmium and lead in organic and conventional growth food samples switchable solvent based dispersive liquid-liquid microextraction (SHS-DLLME) method is developed. The method uses flame atomic absorption spectrometry (FAAS) with micro-sampling system to determination of the amount of heavy metal ions. In the technique, decanoic acid used as extraction solvent, also called smart solvent, is an environmentally friendly fatty acid whose polarity can be adjusted by changing pH. In order to obtain hydrophobic complexes of heavy metals, 8-Hydroxyquinoline (8-HQ) is used as a complexing agent. Formation of CO₂ is provided by using Na₂CO₃ as an effervescence agent and H₂SO₄ as a proton donor. At the end of the extraction, decanoic acid extraction phase, which is solid at room conditions, is easily removed from the aqueous phase with the help of a spatula and diluted with acidic ethanol then analyzed by FAAS with micro-sampling system. In the developed method, the effects of pH, volume of decanoic acid, volume and concentration ratio of Na₂CO₃ and H₂SO₄, volume of complexing agent, extraction temperature and potentially interfering ions on the extraction efficiency and the enhancement factor are investigated.

Under the optimal conditions, for Cu(II), Cd(II) and Pb(II), the enhancement factor (EF) 52, 47, 45; limit of detection (LOD) $0.75 \mu\text{g L}^{-1}$, $0.69 \mu\text{g L}^{-1}$, $2.88 \mu\text{g L}^{-1}$ and limit of quantification (LOQ) $2.52 \mu\text{g L}^{-1}$, $2.30 \mu\text{g L}^{-1}$, $9.59 \mu\text{g L}^{-1}$ are obtained respectively. The proposed method has been applied to both certified reference material and organic and conventional growth food samples. Obtained results proved that the proposed SHS-DLLME method is a sensitive, repeatable, fast and easy-to-apply to enhancement and determination of Cu(II), Cd(II) and Pb(II) contents of organic and conventional growth food samples. In addition, it is also assumed to be suitable process for the economic and environmentally friendly green analytical chemistry approach with the using of new generation smart solvents. There are two important features that make proposed study different from similar studies. The first is that the dispersion is completed in a short time without the need for any external energy owing to the effervescence formed during the extraction procedure. The other is that decanoic acid, one of the new generation smart solvents, solidifies easily at room conditions, making phase separation very easy and with high efficiency. This allows the extraction to be completed in a very short time.

Keywords: Fatty acid, switchable hydrophilic solvent, flame atomic absorption spectrometry, Cu(II), Cd(II), Pb(II), 8-Hydroxyquinoline (8-HQ), decanoic acid, dispersive liquid-liquid microextraction

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bana yol gösteren, destekleyen, çalışmalarım boyunca hep anlayışla yaklaşan ve öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum tez danışmanım çok değerli hocam **Doç. Dr. Çiğdem ARPA ÇALIŞIR**' a verdiği emeklerinden dolayı en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yorum ve değerlendirmeleri ile çalışmama katkıda bulunan Tez İzleme Komitesi üyelerim, **sayın Prof. Dr. Serdar ABACI**' ya ve **sayın Prof. Dr. Uğur TAMER**' e teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardım ve desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım **Dr. Melek ALPARSLAN GÜÇOĞLU**, **Maha YAHYA** ve **Sare KESEKLER**' e teşekkür ederim.

Beni emekleriyle bugünlere getiren, girdiğim her yolda her zaman benimle birlikte olan, yolumu aydınlatan, biricik aileme, özellikle canım **annem** ve **babama** tüm kalbimle teşekkür ederim.

Desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bu yolda benimle birlikte yürüyen tüm yardımlarıyla her zaman yanımda olan hayat arkadaşım, biricik eşim **Özgün PELVAN**' a ve bu tezi bitirmemde en büyük katkıyı sağlayan **minik oğluma** da tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Organik Tarım ve Geleneksel Tarım	6
2.2. Ağır Metaller ve Tarımsal Faaliyetlere Etkisi	7
2.2.1. Ağır Metallerin Toksikolojisi ve Canlılar Üzerindeki Etkisi	14
2.2.2. Toprak Yapısının Bitkiler Tarafından Metal Alımına Etkisi	15
2.2.3. Bitkilerde Metal Birikimi	16
2.2.4. Ağır Metal Maruziyetleri	20
2.2.5 Ağır Metal Kontaminasyon Seviyelerinin Belirlenmesi	23
2.2.6 Organik Tarımın Ağır Metal Miktarı Üzerine Etkisi	24
2.2.7 Tarım Alanlarındaki Ağır Metal Miktarını Azaltma Yöntemleri	27
2.3. Değiştirilebilir Çözücüler	28
2.4 Yağ Asidi (FA)	34
2.5. Metal İyonlarının Ekstraksiyonu ve Önderiştirilmesi	34
2.5.1. Katı Faz Mikroekstraksiyonu (SPME)	35
2.5.2. Manyetik Karıştırma Çubuğu ile Ekstraksiyon (SBSE)	36
2.5.3. Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu (LPME)	37

2.6. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon Yönteminin Verimini Etkileyen Faktörler	44
2.6.1. Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi	44
2.6.2. Ekstraksiyon Çözücüsünün Hacmi.....	44
2.6.3. Dispersif Çözücünün Seçimi	45
2.6.4. Dispersif Çözücünün Hacmi	45
2.6.5. pH Etkisi.....	45
2.6.6. Sulu Örnek Hacmi	46
2.6.7. Ekstraksiyon Süresi.....	46
2.6.8. İyonik Kuvvetlerin Etkisi	46
2.7. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (AAS)	46
2.7.1. Işın Kaynakları	48
2.7.2. Atomlaştırıcılar	52
2.7.3. Monokromatörler (Dalga Boyu Seçiciler).....	59
2.7.4. Detektörler	59
2.7.5. Spektrofotometreler.....	59
2.7.6. AAS'deki Girişimler	61
2.7.7. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinin Uygulama Alanları	65
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	67
3.1. Reaktifler	67
3.2. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar	68
3.3. Deneyin Yapılışı	69
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	73
4.1. SHS-DLLME için Yağ Asidinin Seçimi	73
4.2. Metal İyonu ve 8- Hidroksikinolin (8-HQ) Kompleksi.....	74
4.3. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) İyonları için SHS-DLLME çalışma koşullarının optimizasyonu.....	75

4.3.1. pH Etkisi	75
4.3.2. Dekanoik Asit Miktarının Etkisi	77
4.3.3. Na ₂ CO ₃ ve H ₂ SO ₄ Miktarının Etkisi	78
4.3.4. Kompleksleştirici Miktarının Etkisi.....	82
4.3.5. Yabancı İyon Etkisi	85
4.4.SHS-DLLME Yönteminin Analitik Performans Özellikleri	87
4.5.Yöntemin Doğruluğu	92
4.6.Yöntemin Gerçek Gıda Numunelerine Uygulanması.....	95
5. YORUM	112
6. KAYNAKLAR	125
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Ağır metal transfer süreci.....	15
Şekil 2.2. Yapraklardan ağır metal geçiş mekanizması (Shahid et al., 2017) ..	18
Şekil 2.3. SHS ile ilgili Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) ağır metallerinin mikroekstraksiyonu hakkında çıkan yayın sayısının (kırmızı) ve Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) ağır metallerinin mikroekstraksiyonu hakkında çıkan yayın sayısının (mavi) yıllara göre dağılımı (Science Direct 26.10.2020).....	28
Şekil 2.4. Hidrofilikliği değiştirilebilir çözücülerin oluşturulması (Bazel et al., 2020).....	30
Şekil 2.5. Değiştirilebilir polariteye sahip çözücüler yüksek polariteli çözeltiye dönüşmek için CO ₂ ile reaksiyona girerler ve CO ₂ nin uzaklaşması ile çözelti eski haline döner (Jessop, 2013)	31
Şekil 2.6. SHS' ler, ilk olarak suyla karışmayan yapıdadırlar, ancak CO ₂ ile reaksiyona girerek suda çözünebilir bikarbonat oluşturur ve CO ₂ nin ortamdaki uzaklaşmasıyla ilk haline döner (Jessop, 2013).....	33
Şekil 2.7. SPME yöntemi şematik gösterimi	36
Şekil 2.8. SBSE yöntemi şematik gösterimi	37
Şekil 2.9. (a) DI-SDME, (b) HS-SDME yöntemi şematik gösterimi	38
Şekil 2.10. HF-LPME yöntemi şematik gösterimi	40
Şekil 2.11. CPE yöntemi şematik gösterimi	41
Şekil 2.12. SFODME yöntemi şematik gösterimi	42
Şekil 2.13. DLLME yöntemi şematik gösterimi.....	43
Şekil 2.14. AAS' nin bileşenleri	48
Şekil 2.15. Oyuk katot lambaları (OKL)	49
Şekil 2.16. Oyuk katot lambaları emisyon mekanizması.....	50
Şekil 2.17. AAS için soğuk buhar atomlaştırma mekanizması (Skoog et al., 2007).....	58

Şekil 2.18. Tek Işın Yollu Spektrofotometre	60
Şekil 2.19. Çift Işın Yollu Spektrofotometre.....	60
Şekil 3.1. Dekanoik asidin kimyasal yapısı.....	67
Şekil 3.2. 8- Hidroksikinolinin kimyasal yapısı.....	67
Şekil 3.3. SHS-DLMME yönteminin şematik gösterimi.....	71
Şekil 4.1. Yağ asidinin zenginleştirme katsayılarının karşılaştırılması	74
Şekil 4.2. a) 8-HQ yapısı b) 1:1 metal:lingant oranında Cu(II) iyonlarının 8-HQ ile oluşturduğu kompleks c) 1:2 metal:lingant oranında Cu(II) iyonlarının 8-HQ ile oluşturduğu kompleks (Dalecki et al., 2017).....	75
Şekil 4.3. Ortam pH' sının Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi.....	76
Şekil 4.4. Dekanoik asit hacminin Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi.....	77
Şekil 4.5. Na ₂ CO ₃ ve H ₂ SO ₄ için hacim oranının Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi	80
Şekil 4.6. Na ₂ CO ₃ ve H ₂ SO ₄ derişiminin Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi.....	81
Şekil 4.7. 8-HQ kompleksleştirici hacminin Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi.....	83
Şekil 4.8. Ekstraksiyon sıcaklığının Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi.....	85

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Ağır metal kaynakları	8
Çizelge 2.2. Sektörel bazlı ağır metal kirlilikleri (Sharma and Agrawa, 2005)....	9
Çizelge 2.3. Farklı tarımsal kaynaklardan açığa çıkan ağır metal miktarları ($\mu\text{g g}^{-1}$) (Nagajyoti et al., 2010)	11
Çizelge 2.4. Farklı ülke standartlarına göre toprak ve bitkilerde kabul edilebilir maksimum toksik metal derişimleri (mg kg^{-1} yaş ağırlık) (Türkiye' de Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı, 2011; Zolfaghari et al., 2018)	12
Çizelge 2.5. Tipik kirlenmemiş toprakların ve tarımsal ürünlerin ağır metal bileşimi (Nagajyoti et al., 2010).....	16
Çizelge 2.6. Farklı kaynaklardan havaya salınan ağır metal emisyon miktarları (ton) (Shahid et al., 2017)	19
Çizelge 2.7. Kullanılan alev çeşitleri ve özellikleri.....	53
Çizelge 4.2. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) analizlerinde yabancı iyon etkisi.....	86
M: Engelleyici İyon	86
Çizelge 4.5. Geliştirilen SHS-DLLME yönteminin analitik performans kriterleri ve hesaplanması.....	89
Çizelge 4.6. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin analitik performans özellikleri.....	91
Çizelge 4.7. Numunelerin parçalanması için mikrodalga sıcaklık programı	92
Çizelge 4.8. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için sertifikalı malzeme NCS ZC 73012 (Lahana) ve NCS ZC 73013 (Ispanak) analiz sonuçları ($n = 4$).....	93
Çizelge 4.9. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için sertifikalı malzeme NCS ZC 73012 (Lahana) ve NCS ZC 73013 (Ispanak) <i>t-testi</i> sonuçları ($n = 4$)	94
Çizelge 4.10. Numunelerin parçalanması için mikrodalga sıcaklık programı ...	95
Çizelge 4.11. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için organik üretim beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak analiz sonuçları ($n = 4$).....	97

Çizelge 4.12. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için endüstriyel üretim beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak analiz sonuçları ($n = 4$)	100
Çizelge 4.13. Cu(II) iyonları için organik ve endüstriyel olarak üretilen beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak için ANOVA sonuçları ($n = 4$).....	103
Çizelge 4.14. Cd(II) iyonları için organik ve endüstriyel olarak üretilen beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak için ANOVA sonuçları ($n = 4$).....	106
Çizelge 4.15. Pb(II) iyonları için organik ve endüstriyel olarak üretilen beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak için ANOVA sonuçları ($n = 4$).....	109
Çizelge 5.1 Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin optimum koşulları	115
Çizelge 5.2 Cu(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin literatürdeki diğer Cu(II) iyonlarının tayin yöntemleriyle karşılaştırılması .	120
Çizelge 5.3 Cd(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin literatürdeki diğer Cd(II) iyonlarının tayin yöntemleriyle karşılaştırılması .	121
Çizelge 5.4 Pb(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin literatürdeki diğer Pb(II) iyonlarının tayin yöntemleriyle karşılaştırılması .	122

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

m	Eğim
n	Yapılan Analiz Sayısı
R ²	Korelasyon Katsayısı
S	Standart Sapma
S _r	Tekraredilebilirlik Standart Sapması
S _R	Tekrarüretilebilirlik Standart Sapması

Kısaltmalar

AAS	Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
CPE	Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (Cloud-Point Extraction)
CPME	Bulutlanma Noktası Mikroekstraksiyonu (Cloud-Point Microextraction)
DA	Dekanoik Asit
D-CPE	Yerdeğiştirme-Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (Displacement-cloud point extraction)
DLLME	Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction)
DLLME-MSPE	Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon ve Mikro-Katı Faz Ekstraksiyonu (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Micro-Solid Phase Extraction)
DLLME-SFO	Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu- Katılaştırılmış Yüzen Organik Damla
EF	Zenginleştirme Faktörü (Enhancement Factor)
EPA	Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (The United States Environmental Protection Agency)

ET-AAS Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry)

FA Yağ Asidi

FAAS Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (Flame Atomic Absorption Spectrometry)

FI-FAAS Akış Enjeksiyonlu Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (Flow Flame Injection Atomic Absorption Spectrometry)

GF-AAS Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry)

HF-LPME Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu (Hollow-Fiber Liquid-Phase Microextraction)

IARC Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency For Research On Cancer)

ICP-MS İndüktif Eşleşmiş Plazma - Kütle Spektrometresi (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry)

ICP-OES İndüktif Eşleşmiş Plazma - Optik Emisyon Spektrometresi (Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry)

IL-VADLLME Vorteks Destekli İyonik faz Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu (Ionicliquid-Based Vortex Assisted Dispersive Liquidliquid Microextraction)

LLE Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu (Liquid-Liquid Extraction)

LL-USAEME Ligandsız Ultrason Destekli Emülsifikasyon Mikroekstraksiyon (Ligandless-Ultrasound-Assisted Emulsification Microextraction)

LOD Gözlenebilme Sınırı (Limit of Detection)

LOQ Tayin Sınırı (Limit of Quantification)

LPME Sıvı-Faz Mikroekstraksiyonu (Liquid-Phase Microextraction)

RP-DLLME Ters Fazlı Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu (Reversed-Phase Dispersive Liquid-Liquid Microextraction)

RSD Bağıl Standart Sapma (Relative Standard Deviation)

- SBSE** Manyetik Karıştırma Çubuğu ile Ekstraksiyon (Stir Bar Sorptive Extraction)
- SDME** Tek Damla Mikroekstraksiyonu (Single Drop Microextraction)
- SFODME** Katılaştırılmış Yüzen Organik Damla Mikroekstraksiyon (Solidified Floating Organic Drop Microextraction)
- SM-DLLME** Supramoleküler Esaslı Dispersif Sıvı - Sıvı Mikroekstraksiyon (Supramolecular-Based Dispersive Liquid-Liquid Microextraction)
- SPS** Değiştirilebilir Polariteli Çözücü
- SHS** Hidrofilikliği Değiştirilebilir Çözücüler
- SHS-LPME** Hidrofilikliği Değiştirilebilir Çözücü Bazlı Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu (Switchable hydrophilicity solvent based liquid phase microextraction)
- SW** Değiştirilebilir Su
- SPE** Katı-Faz Ekstraksiyonu (Solid-Phase Extraction)
- SPME** Katı Faz Mikroekstraksiyon (Solid-Phase Microextraction)
- SsLLME** Supramoleküler Çözücü Bazlı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (Supramolecular Solvent Based Liquid-Liquid Microextraction)
- SUPRAS** Supramoleküler Çözücü bazlı Mikroekstraksiyon (Supramolecular Solvent-Based Microextraction)
- SQT-FAAS** Yarıklı Kuvars Tüp Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (Slotted Quartz Tube-Flame Atomic Absorption Spectrometry)
- TS-FF-AAS** Termosprey Alev Fırını Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry)
- UA-CPE** Ultrason Destekli Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (Ultrasound Assisted-Cloud Point Extraction)
- UA-DLLME** Ultrason Destekli Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu (Ultrasound Assisted-Dispersive Liquid-Liquid Microextraction)

UASEME Ultrason Destekli Yüzey Aktif Madde İle Geliştirilmiş Emülsifikasyon Mikroekstraksiyonu (Ultrasound-Assisted Surfactant-Enhanced Emulsification Microextraction)

UDILBME Ultrasonik Olarak Dağılmış İyonik Sıvı Bazlı Mikroekstraksiyon (Ultrasonically Dispersed Ionic Liquid-Based Microextraction)

Um-CPE Ultrason ile Modifiy Edilmiş Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (Ultrasonically modified cloud point extraction)

UV-Gör Ultraviyole- Görünür Bölge Spektrofotometresi (UV-Visible Spectrophotometer)

VA-DLLME Vorteks Destekli Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu (Vortex-Assisted Dispersive Liquid–Liquid Microextraction)

WHO Dünya Sağlık Örgütü (The World Health Organization)

8-HQ 8-Hidroksikuinolin

1.GİRİŞ

Son yıllarda hızla artan modern endüstrileşme ile ağır metaller günlük hayatımıza girmiş ve bu da toksik elementler açısından çevre kirliliğinde önemli artışlara neden olmuştur (Zhang et al., 2018). Bu toksik elementler, insan faaliyetleri sonucu oluşan, fosil yakıtların yanması ve pek çok endüstriyel uygulama sonucunda bensen zincirine dahil olmaktadır (Miró et al., 2004; Nordberg et al., 2007, 2002). Bu toksik elementlere maruz kalma yalnızca insanlar için ciddi kanserojen etki yaratmakla kalmamakta aynı zamanda bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar için de tolere edilemeyen ekolojik riskler oluşturmaktadır (Miró et al., 2004). Artan çevre kirliliği ve ağır metallerin canlılar üzerinde ortaya çıkardığı bu etkiler sebebiyle ağır metallerin tayini büyük önem kazanmıştır. Kadmiyum ve kurşun bu toksik elementlerin başında gelirken, bakır ise belli bir derişimin üstünde toksik etki yaramaktadır. (Miró et al., 2004).

Yapılan çalışmalar, bakırın insan vücudunda sadece 40 ng mL⁻¹ olması gerektiğini ve bu miktarın pek çok biyolojik faaliyetin yerine getirilmesinde yeterli olacağını göstermektedir. Ancak bu seviyeden daha fazlası biyolojik fonksiyonları olumsuz etkilediği için toksik etki yaratmaktadır (Li and Yang, 2015; Yavuz et al., 2016). Bakırın insan vücudunda eksikliği anemiye, fazlalığı ise Alzheimer ve Parkinson hastalıklarına neden olabilmektedir (Zhang et al., 2014). Kağıt, petrol, bakır/pirinç kaplama gibi pek çok endüstri nedeniyle bakır çevreye yayılmakta ve suya karışarak balıklarda, bitkilerde birikerek besin zincirine dahil olmaktadır (Phansi et al., 2014).

Kurşun insan sağlığı üzerinde en fazla toksik etkiye sahip ağır metal olarak kabul edilmektedir (Flora et al., 2012). Kurşun kirlenmesinin temel kaynağı, toz, toprak, su ile yiyeceklere geçmesidir. Kaynak sularında genel olarak kurşun kontaminasyonu bulunmamasına rağmen suyu taşıyan kanallardaki kurşun borulardan veya kurşun lehimle bağlanan parçalardan kaynak sularına karışmaktadır (Bingöl et al., 2010; Izah et al., 2016; Kazantzi et al., 2018).

Kadmiyum, kurşun ve diğer metallerle birlikte cevher ve minerallerde bulunabilir. Bunun yanında diğer kadmiyum kaynağı ise PVC üretimi gibi endüstriyel proseslerdir. Dünya sağlık örgütü (WHO), insan vücuduna haftalık olarak 0.007 mg kg^{-1} vücut ağırlığı Cd(II) ve 0.025 mg kg^{-1} vücut ağırlığı Pb(II) değerlerinin kabul edilebilir olduğunu belirtmiştir (WHO, 2000). Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı ise içme suyu içerisinde maksimum olması gereken Cd(II) ve Pb(II) derişimlerini sırasıyla $5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ve $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ olarak bildirmiştir (EPA, 1991). Bu veriler göstermektedir ki çevre ve insan sağlığı açısından Cd(II) ve Pb(II) ağır metallerinin tayini hayati önem taşımaktadır.

Geliştirilmiş olan pek çok yöntem ile farklı spektrometrik teknikler kullanılarak çok çeşitli numune matriksinde ağır metallerin tayini yapılabilmektedir, bu amaçla alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (Arpa Şahin and Tokgöz, 2010; Li and Yang, 2015; Yavuz et al., 2016), elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (Miró et al., 2004; Naseri et al., 2008; Şatiroğlu and Tokgöz, 2010), UV-Görünür bölge spektrometresi (Chaiyo et al., 2015; Zhang et al., 2014), indüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (Chaiyo et al., 2015; Guedes et al., 2020; Karimi et al., 2013) ve indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (Gao et al., 2010; Guedes et al., 2020; Wang et al., 2015) kullanılabilir. Alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS) ağır metallerin tayininde sık kullanılan, düşük maliyetli, kullanım kolaylığı olan yaygın bir tayin yöntemidir (Wu et al., 2011). Ancak numunelerin içerisindeki miktarların doğrudan belirlenmesi, numune içindeki düşük konsantrasyon ve gerçek numune matriksinin karmaşık yapısından ötürü zordur. Bu sorunların üstesinden gelmek için çoğunlukla ayırma, zenginleştirme veya matriks eliminasyon işlemleri uygulanır (Farahani et al., 2015; Karadaş and Kara, 2017). Bakır, kadmiyum ve kurşun metallerinin ayrılması ve zenginleştirilmesi için tek damla mikroekstraksiyonu (SDME) (Neri et al., 2019), bulutlanma noktası ekstraksiyonu (CPE) (Khan et al., 2017; Naeemullah et al., 2016), dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) (Erarpat et al., 2017; Karadaş and Kara, 2017; Sorouraddin et al., 2020), katı faz ekstraksiyonu (SPE) (Behbahani et al., 2013; Ghaedi et al., 2010), katılaştırılmış yüzen organik damla mikroekstraksiyonu

(SFODME) (Arpa Şahin and Tokgöz, 2010; Durukan et al., 2011) ve sıvı faz mikroekstraksiyonu (LPME) (Es'haghi and Azmoodeh, 2010) gibi pek çok analitik metot geliştirilmiştir. Ancak geliştirilmiş olan bu yöntemlerin bazı uygulamaları, zaman alıcılığı, yüksek kimyasal sarfiyatı, toksik çözücü kullanımı ve düşük zenginleştirme faktörü gibi sebeplerden dolayı yetersiz kalabilmektedir (Khani and Shemirani, 2010).

Bu tez çalışmasında diğer metotlar için bahsedilen dezavantajları ortadan kaldırmak için hidrofilitiği değiştirilebilir çözücülü dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon (switchable-hydrophilicity solvent liquid-liquid microextraction) SHS-DLLME tekniği geliştirilmiştir. Geliştirilen bu mikroekstraksiyon yönteminde akıllı çözücü olarak da adlandırılan çevre dostu ve tersine çevrilebilir fiziksel özelliğe sahip değiştirilebilir polariteli çözücü kullanılmıştır (Jessop et al., 2005). Ekstraksiyonun farklı aşamalarında farklı polariteye ihtiyaç duyulduğu için kullanılan değiştirilebilir polariteli çözücüler, dispersiyon sayesinde daha düşük bir polariteden daha yüksek bir polariteye geçiş yapar (Phan et al., 2008; Yılmaz and Soylak, 2015; Zaman et al., 2020).

DLLME yöntemi farklı ekosistemlerdeki çevresel örneklerde veya farklı matrisler içerisindeki farklı metallerin tayini için literatürde yaygın olarak kullanılan zenginleştirme yöntemlerindedir (Rezaee et al., 2010; Xiao-Huan et al., 2009). DLLME yöntemini diğer yöntemlerden ayıran en önemli özellikleri, yüksek hacimlerde ekstraksiyon çözücüsüne gerek duyulmaması, yüksek geri kazanım sağlaması, kısa sürede tamamlanması ve düşük maliyetinin olmasıdır (Yousefi and Shemirani, 2010). DLLME yönteminde sulu numunelere ekstraksiyon ve dispersif çözücünün hızlı bir şekilde enjekte edilmesiyle bulanık bir çözelti oluşur. Bu bulanık çözelti oluştuktan sonra, ekstraksiyon çözücüsü ile sulu numune arasındaki yüzey alanı çok geniştir ve bu sayede denge durumuna çok hızlı bir şekilde ulaşır. Bu DLLME yönteminin en önemli avantajıdır. Santrifüjleme sonrası çökelmiş fazdaki zenginleştirilmiş analit uygun bir analitik cihaz ile tayin edilir (Yousefi and Shemirani, 2010).

Yeşil teknolojilerin kullanımı, modern analitik kimyanın (Armenta et al., 2008; Gałuszka et al., 2013; Spietelun et al., 2014; Tobiszewski et al., 2010) ana gelişim alanlarından biridir. Bu bağlamda önemli olan, çözücüler de dahil olmak üzere "yeşil" (çevre dostu) kimyasalların kullanılmasıdır. Bu nedenle, aromatik ve alifatik hidrokarbonlar (benzen, toluen, heksan) veya bunların klor ikameleri (kloroform, dikloroetan, klorobenzen) gibi 1960-1980' lerde yaygın olarak kullanılan organik çözücüler, modern analitik kimyada kullanım için pratik olarak önerilmemektedir. Bu çözücülerin yerini yüzey aktif maddeler, iyonik sıvılar, derin ötektik çözücüler, süper kritik sıvılar ve biyolojik olarak türetilmiş çözücüler dahil olmak üzere daha yeşil çözücü alternatifleri almıştır (Płotka-Wasyłka et al., 2017). Hidrofilikliği değiştirilebilir çözücülerden olan yağ asitleri şu anda analitik kimyada sınırlı kullanıma sahiptir ve birçok araştırmacı, özellikle çevre dostu olmaları ile ilgili olarak benzersizliklerini vurgulamaktadır. Bu sebeplerden ötürü bu çalışma boyunca yeşil teknoloji yaklaşımını destekleyen yağ asidi olarak dekanolik asit kullanılmıştır.

Bu çalışmada Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının zenginleştirilerek tayini için yeni bir hidrofilikliği değiştirilebilir çözücü kullanılarak dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon (SHS-DLLME) yöntemi geliştirilmiş ve mikro örnekleme FAAS ile tayin edilmiştir. Bu amaçla sentetik bir yüzey aktif madde ve iyonik bir sıvı yerine, çevre dostu bir yağ asidi olan dekanolik asit hem pH' a bağlı yüzey aktif madde hem de ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmış olup, ağır metallerin hidrofobik özellikli komplekslerini oluşturmak amacıyla 8-hidroksi kinolin (8-HQ) kompleksleştirici olarak kullanılmıştır. Dekanolik asidin oda koşullarında katı halde olması örnek hazırlamada kolaylık ve analiz süresini kısaltmaya olanak sağlamıştır. Hazırlanan numuneler ekstraksiyonun ardından donana kadar buzdolabında bekletilmiş ve donan dekanolik asit ekstraksiyon fazı, bir spatül yardımıyla sulu fazdan ayrıldıktan sonra asidik etanol ile seyreltilerek mikro örnekleme sistemine sahip FAAS ile ölçülmüştür.

Geliştirilen metot için pH, dekanolik asit miktarı, 8HQ kompleksleştiricisi miktarı, kullanılan Na₂CO₃ ve H₂SO₄ hacim ve derişimleri, ekstraksiyon sıcaklığı gibi

bütün parametreler optimize edildikten sonra yöntem, organik ve endüstriyel tarım ürünlerine uygulanarak sonuçları karşılaştırılmıştır. Ayrıca yöntemin doğruluğunu ispatlamak için iki farklı sertifikalı referans malzeme (NCS ZC 73012 lahana ve NCS ZC 73013 ıspanak) ile çalışılmıştır.

Bu çalışmayı benzerlerinden ayıran pek çok özellik bulunmaktadır. Bunlardan ilki, ekstraksiyon çözücüsünün mikrolitre düzeyinde kullanılıyor olması yöntemin çevre dostu ve ekonomik olmasını sağlamıştır. Ayrıca diğer benzer çalışmalarla kıyaslandığında bu çalışmayı öne çıkaran diğer bir özellik, deney sırasında ortama eklenen Na_2CO_3 sayesinde oluşan efervesan, dispersiyonun dışardan herhangi bir enerjiye ihtiyaç duyulmadan kısa sürede gerçekleşmesini sağlamıştır. Ayrıca çalışmada kullanılan yeni nesil akıllı yeşil çözücülerden olan dekanolik asit oda koşullarında kolayca donabildiği için faz ayrımı çok kolay ve yüksek verimle yapılabilmektedir. Bu özellik sayesinde ekstraksiyon süresi de oldukça kısalmıştır. Son olarak geliştirilen yöntemde metal iyonlarının yüksüz komplekslerini oluşturmak amacıyla kullanılan 8-HQ ve hidrofiliği değiştirilebilir çözücü olarak kullanılan dekanolik asit ile ilgili literatürde yeterince çalışma bulunmayışı da bu çalışmayı diğer çalışmalara göre ön plana çıkarmaktadır.

Bütün bu avantajlar göz önüne alındığında geliştirilen bu yöntemin kullanılan yeni nesil akıllı çözücüler ile ekonomik ve çevre dostu yeşil analitik kimya yaklaşımına uygun bir proses olduğu görülmüştür.

Literatürde bu konuda fazla sayıda çalışma olmamasından dolayı geliştirilen yöntem, organik ve endüstriyel tarım ile yetiştirilen gıda numuneleri üzerine uygulanmıştır. Organik pazardan ve yerel marketten alınan beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak numuneleri kurutulma sonrası mikrodalga parçalama sistemi ile parçalandıktan sonra, numunelere geliştirilen SHS-DLLME yöntemi uygulanmış ve bakır, kadmiyum ve kurşun elementleri tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kullanılarak organik tarım ve endüstriyel tarım arasında yetiştirme kaynaklı herhangi bir farklılık olup olmadığının kıyaslaması yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Organik Tarım ve Geleneksel Tarım

Gıda güvenliği son zamanlarda artan sağlık problemleri sebebiyle dünya çapında tüm tüketicilerin en önemli endişesi haline gelmiştir. Organik tarım, güvenilirliği ve çevreye duyarlı yapısı nedeniyle güvenilir bir sistem olarak görülmekte ve bu nedenle de tüketicileri cezbetmektedir. Organik tarım sürecinde sentetik kimyasalların kullanımından kaçınılmakta ve üretilen gıdaların geleneksel olanlara göre daha sağlıklı olması beklenmektedir (Abeywickrama and Wansapala, 2019). Organik tarım, büyük ölçüde yenilenebilir kaynakların ve atıkların geri dönüştürülerek kullanılması temeline dayanmakta ve böcek ilaçları, gübre, zirai ilaçlar gibi insan ve çevre sağlığı için zararlı kimyasalların kullanımına kısıtlamalar getirmektedir (European Council, 1999).

Organik tarım, biyosfer üzerinde çok sayıda olumlu etkiye sahip sürdürülebilir bir sistemdir. Organik tarımın temel ilkesi ve uygulaması sistem içerisindeki biyolojik döngüyü bozmamak ve geliştirmektir. Organik tarım sisteminde toprak verimliliği, bitki ve hayvan kaynaklarının biyodegradasyonu ve tarımsal sanayi atıklarının kullanılmasıyla sağlanmaktadır (Terzano et al., 2008).

Her geçen gün organik gıdalara olan talep artmakla birlikte, yetiştiriciler daha düşük verim ve daha yüksek üretim maliyetleri nedeniyle bu sistemi uygulamada isteksizdirler. Ancak, ürünlerin yüksek fiyatlar üzerinden tüketicilere satışı ve yerel ya da uluslararası pazarlarda çeşitli kuruluşlar ve hükümet tarafından destekleniyor olması üreticiler için avantaj oluşturmaktadır (Abeywickrama and Wansapala, 2019; Chavas et al., 2009; Smith et al., 2004).

Organik tarımın bütün bu avantajlarının yanında bir takım dezavantajlar da bulunmaktadır. Tüketicilerin organik tarımla yetiştirilmiş olan gıdaları tercih etmemelerinin temel nedenleri arasında çok pahalı oluşu, yerel marketler gibi

her türlü satış noktasında kolay bulunamayışı gelmektedir (Hack, 1993; Jolly and Norris, 1991; Tregear et al., 1997).

2.2. Ağır Metaller ve Tarımsal Faaliyetlere Etkisi

Ağır metallerin tam olarak net bir tanımı olmamakla birlikte, metallerin ya da metaloitlerin yoğunlukları, kimyasal özellikleri, atom ağırlıkları, atom numaraları ve toksik özellikleri dikkate alınarak gruplandırılmaktadırlar (Duffus, 2002). Ağır metaller çeşitli etkilerle çevreye yayılan, solumun ya da besin yolu ile insan vücuduna girerek kalıcı etkilere sebep olabilen zararlı, toksik maddelerdir. Pek çok ağır metalin düşük derişimleri dahi insanlar ve hayvanlar için toksiktir (Shahid et al., 2015). Ağır metalleri iki temel gruba ayırabiliriz; bunlardan ilki nikel (Ni), bor (B), bakır (Cu), çinko (Zn), molibden (Mo) ve demir (Fe) gibi gerekli olan temel elementlerdir. Bu elementler düşük derişimlerde bitkilerin büyümesi için gereklidir ancak eşik sınırı aşarsa toksik hale gelirler. İkinci grup ise kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), civa (Hg) ve arsenik (As) gibi çok düşük seviyelerde bile mutajenik, kanserojen etkilere sebep olan gerekli olmayan zararlı elementlerdir (Abeywickrama and Wansapala, 2019). (Abdul et al., 2015; Järup, 2003). Ağır metaller Çizelge 2.1. ve Çizelge 2.2. de sunulduğu gibi antropojenik ve litojenik kaynaklıdır. (Qishlaqi and Moore, 2007; Zhang et al., 2008). Pekçok ağır metal bozunmaz ve doğada kalarak besin zincirine dahil olur (Dong et al., 2013; Liu et al., 2007).

Çizelge 2.1. Ağır metal kaynakları

Litojenik Kaynaklar	Antropojenik Kaynaklar
Volkanik faaliyetler sonucu saçılan parçacıklar	Endüstriyel faaliyetler ve bunların sonucunda açığa çıkan atıklar
Rüzgarla savrulan toz	Tuğla fırını
Orman yangınları	Madencilik
Bitki örtüsü	Zirai ilaçlar
Deniz tuzu	Arıtma çamurları
Ayrışan toprak mineralleri	Trafik emisyonu
	Kömür yakan enerji santralleri

Çizelge 2.2. Sektörel bazlı ağır metal kirlilikleri (Sharma and Agrawa, 2005)

Ağır Metal Kaynağı	<u>Cd</u>	Cu	Pb	<u>Zn</u>	<u>Ni</u>	Mn	Fe	Hg	Se	As	Cr	<u>Co</u>	<u>Sn</u>	Al	Ag	Ba	Bi	Be
Jeolojik Olarak Kayaların Parçalanması	+	+	+	+	+	+		+			+	+	+					
Volkanlar		+	+		+	+		+	+					+				
<u>Çöl Rüzgarları</u>		+			+	+	+				+							
Metal Eritme Tesisleri	+	+	+	+	+													
<u>Metallurji ve Galvaniz Tesisleri</u>	+		+		+	+		+		+	+				+	+	+	
Yüksek Sıcaklık Fırınları				+		+	+											
Elektroliz								+										
Kurşunlu Benzinler			+	+														
Lastiklerden Kaynaklı Metal Emisyonu				+	+													
Evsel Atıklar	+	+	+	+	+													
Arıtma Çamuru	+	+	+	+	+						+							
Kömür Yakan Termik Santraller	+								+									
Petrol Rafineri Tesisleri	+		+	+			+	+		+	+			+				
Petrol Yanması					+													
Yüksek Gerilim Hatları		+			+													
Besin Katkı Maddeleri		+		+														
<u>Fosfatlı Gübreler</u>	+		+		+						+							

Gübreler	+		+	+	+	+	+	+		+				+				
Tarım İlaçları		+	+					+		+								
Atık Su	+	+	+	+	+			+		+	+							
Kanalizasyon Suyu		+		+														
Madencilik	+		+			+		+		+				+				
Kimya Endüstrisi	+		+	+			+	+		+	+		+	+		+		
Boya ve Pigmentler	+		+				+	+		+								
Mürekkep Üretimi					+		+					+						
Alaşımlar			+															+
Yazıcı Kartuşları			+	+							+						+	
<u>Fotografçılık</u>	+		+		+						+				+			
Cam Sanayisi										+		+					+	
<u>Kağıt Fabrikaları</u>								+		+	+			+				
Deri Sanayisi				+			+	+		+				+				
İlaçlar							+	+		+				+				
Tekstil	+				+		+	+		+				+		+		
Nükleer Teknoloji	+															+		

Çizelge 2.3. Farklı tarımsal kaynaklardan açığa çıkan ağır metal miktarları ($\mu\text{g g}^{-1}$) (Nagajyoti et al., 2010)

Metal	Tarımsal Faaliyetler						
	Arıtma Çamuru	Organik Atık (Bitki Atıkları)	Çiftlik Gübresi	Fosfatlı Gübreler	Nitratlı Gübreler	Kireç Kullanımı	Tarım İlacı
Cr	8.40-600	1.8-410	1.1-55	66-245	32-19	10-15	-
Ni	6-5300	0.9-279	2.1-30	7-38	7-34	10-20	-
Cu	50-8000	13-3580	2-172	1-300	-	2-125	-
Zn	91-49000	82-5894	15-556	50-1450	1-42	10-450	-
Cd	<1-3140	0.01-100	0.1-0.8	0.1-190	0.05-8.5	0.04-1	-
Pb	2-7000	1.3-2240	0.4-27	4-1000	2-120	20-1250	11-26

Atık suların pek çok ülkede uygulaması olan atık bertarafına alternatif olarak tarımsal arazilerin sulamasında kullanılması Cr, Ni, Zn gibi ağır metallerin tarım alanlarına dolayısıyla besinlere girmesine sebep olmaktadır (Yadav et al., 2002; Yang et al., 2017). 2008 yılında Khan ve arkadaşları tarafından Çin’ de yapılan çalışma, sürekli olarak atık su kullanımının toprağı Cr, Cu, Ni, Pb ve Zn yönünden orta derecede ve Cd yönünden ise çok zenginleştirdiğini göstermiştir (Khan et al., 2008a). Ayrıca atık su kullanılarak yetiştirilen bitkilerin bu metallerle kirlendiğı ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirtilen limitleri aştığı açığa çıkmıştır (Çizelge 2.4.).

Çizelge 2.4. Farklı ülke standartlarına göre toprak ve bitkilerde kabul edilebilir maksimum toksik metal derişimleri (mg kg⁻¹ yaş ağırlık) (Türkiye' de Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı, 2011; Zolfaghari et al., 2018)

Referans	Numune	Ağır Metaller (mg/kg yaş ağırlık)						
		Cd	Pd	As	Cu	Cr	Ni	Zn
Birleşik Krallık	Toprak	3.00	300	20.0				
Brleşmiş Milletler	Toprak	1.00-3.00	50-300	-	140	150	75	50-300
	Bitki	0.20	-	-				
ABD	Toprak		150					1400
EPA	Toprak	-	40.0	-				
WHO	Toprak	0.20	100	-	100	100	50	300
	Bitki	0.20	0.30	0.70	40.0	2.3	4.0	100
İran Çevre Bakanlığı	Toprak	5.00	75.0	40.0				
Kanada	Toprak	-	-	25.0				
Japonya	Toprak	-	-	15.0				
Iran	Bitki	0.10	0.20					
Polonya Çevre Koruma Bakanlığı	Toprak	4.00	100	30.0				
Polonya Tarım ve Kırsal Kalkınma Bakanlığı	Toprak	0.75-1.5	50-100	-				
Polonya Sağlık Bakanlığı	Bitki	0.1	0.2	-				
Hindistan	Toprak	3-6	250-500		135-270	-	75-150	300-600
	Bitki	1.5	2.5	1.5	30	20	1.5	50

Sri Lanka	Toprak	4.00	20	2				
Türkiye	Bitki	0.20	0.30					

Avrupa Birliği'nde ağır metallerin besin zincirine girmesinin esas nedeni olarak mineral gübreler, tarım ilaçları ve hayvan gübreleri gösterilmektedir (T et al., 2018). Piyasada herkesin kolaylıkla ulaşabildiği kimyasal gübreler eser miktarda ağır metal içerirlerken fosfatlı gübrelerde fazla miktarda As ve Cd olduğu bildirilmiştir (Chandrajith and Dissanayake, 2009; Jayasumana et al., 2015). Katı atıkların toplanması ve bertaraf edilmesi özellikle son on yılda çoğu Asya ülkesi için büyük sorun teşkil etmektedir. Buralarda atıkların toplanması ve toplama alanlarında yakılması en yaygın bertaraf yöntemi olarak görülmektedir. Ancak yığınlar içerisindeki atıkların organik, inorganik ya da metal olarak sınıflandırılarak ayrıştırılması iyi uygulanmadığı için açık alanlarda depolanan atıklarda heterojen yığınlar görünmektedir. Bu sahaların yakınlarında bulunan yüzey ve yeraltı suları sızma yoluyla ağır metaller ile kirlenebilmektedir (Abeywickrama and Wansapala, 2019). Dharmarathne ve Gunatilake tarafından 2013 yılında Sri Lanka'daki bir atık sahasında yapılan çalışma, içme suyundaki Pb, Zn, Ni, Cr, Co, Fe, Mn ve Cu miktarlarının WHO'nun belirlenmiş olduğu standart limitlerin üzerinde olduğunu göstermiştir (Dharmarathne and Gunatilake, 2013).

Yukarıda anlatılan sebeplere ek olarak, hızlı sanayileşme ve artan nüfus yoğunluğu nedeniyle ağır metal kirliliği dünya çapında büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Sanayi devrimi ve ekonomik gelişmelerden bu yana insan kaynaklı çevre kirliliği katlanarak artmakta ve bu nedenle gıda güvenliği Dünya çapında bir endişe haline gelmektedir (Duffus, 2002; Rai et al., 2019; Vareda et al., 2019). Bütün bu nedenlerden dolayı bazı durumlarda hızlı ve doğru bir şekilde metal analizinin yapılması gerekmektedir. Örneğin akut bir zehirlenme durumunda hızlı ve doğru şekilde metal miktarının tespit edilmesi çok önemlidir. Günümüzde tek bir elementin veya aynı anda birden fazla elementin tayini için kullanılan birçok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler ile çevresel veya biyolojik örneklerdeki eser elementlerin tayini Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (AAS), Atomik Floresans Spektrometrisi (AFS), Atomik Emisyon Spektrometrisi (AES),

İndüktik Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometrisi (ICP-MS), Elektrokimyasal yöntemler, X-RAY Floresans Spektrometrisi (XRF), Kromatografik yöntemler sayesinde çok rahat bir şekilde yapılabilir. (M. Stoepler, 1992)

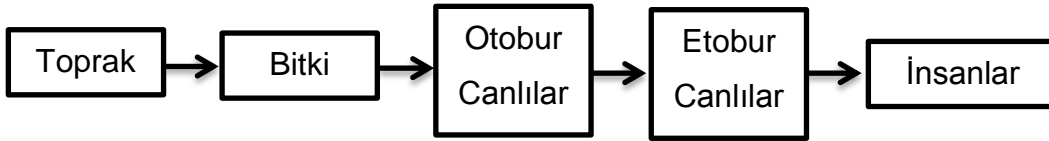
2.2.1. Ağır Metallerin Toksikolojisi ve Canlılar Üzerindeki Etkisi

Ağır metallerin hepsi doğada farklı şekillerde bulunur ve bu metallerin her biri insan vücudu için farklı işlevleri yerine getirdiği ve biyolojik, kimyasal ve moleküler düzeylerde hücre fonksiyonları için ayrı bir öneme sahiptir (Chitturi et al., 2015). Ağır metallerin belli bir miktarı insan sağlığı için gerekli olmakla birlikte, çeşitli yollarla çevreye yayılan fazla miktardaki metaller toksik ve kalıcı olumsuz etkilere neden olmaktadır. Endüstriyel veya tarımsal işlemlerle yer altı sularına, atmosfere veya gıda ürünlerine bulaşan ağır metaller bozunmaya uğramamakta ve biyolojik birikimlerle insan sağlığında kalıcı hasarlara neden olmaktadır. Bu nedenle gıdalar ağır metal içerikleri bakımından sürekli kontrol altında tutulmalıdırlar (Massoud et al., 2019) . Aşırı düzeyde ağır metal alımı insanlarda karaciğer ve böbreklerde birikmesi sonucu sinir, kardiyovasküler, böbrek ve kemik hastalıklarına neden olabilir (Li et al., 2015). Yapılan çalışmalar Cd, Pb, Cu ve Cr gibi ağır metallerle aşırı maruziyetin mide kanserine sebep olduğunu göstermiştir (Türkdoğan et al., 2003). Tarımsal faaliyetler, endüstriyel faaliyetlere göre insan sağlığı üzerinde daha büyük etkilere sahiptir (Wang et al., 2018). Yakın zamanda Sri Lanka bölgesinde yapılan çalışmalarda fosfat gübresinin yaygın olarak kullanıldığı bölgelerde çok sayıda böbrek hasarının olduğu vaka rapor edilmiştir (Jayasumana et al., 2013; Sirisena and Suriyagoda, 2018; Wimalawansa, 2014).

Yapılan bu tez çalışmasının amacı organik tarım ile üretilmiş olan gıda ürünleri ile endüstriyel tarım alanlarında üretilen gıda ürünlerindeki ağır metallerin tespit edilerek karşılaştırılmasıdır. Bu çalışmada Bakır (Cu), Kadmiyum (Cd) ve Kurşun (Pb) elementlerinin tayini için yeni bir metot geliştirilmiştir.

2.2.2. Toprak Yapısının Bitkiler Tarafından Metal Alımına Etkisi

Bitkiler büyüme ortamı olan toprak, hava ve sulama yoluyla ağır metaller maruz kalırlar. Ağır metaller toprak ve su içerisinde havada bulunduğundan daha yüksek oranda bulunur (Nagajyoti et al., 2010). Ağır metaller ekolojik gıda zincirine üretim aşamasında dahil olur ve en sondaki tüketiciye ulaşma aşamasına kadar birikmeye devam eder (Şekil 2.1.) (Abeywickrama and Wansapala, 2019).



Şekil 2.1. Ağır metal transfer süreci

Toprak içerisinde çözünebilen ve değişebilen formda olan ağır metaller bitkilere kolaylıkla girebilir. Toprakta bulunan metallerin çoğu organik maddelerle (humus), veya inorganik (kil) maddelerle bağlanmış, çözünmez formdadır. Bu metallerin bitkilere girmesi için toprak içerisinde çözünebilir forma gelmesi gerekir (Abeywickrama and Wansapala, 2019). Organik madde miktarı, pH, katyon değişim kapasitesi, yükseltgenme-indirgenme durumu, kil miktarı, CaCO₃, Fe oksit ve Mn oksit miktarı gibi toprağın çeşitli özellikleri ağır metallerin hareketliliğini ve bitkiye geçişini belirler (Antoniadis et al., 2008; Kashem and Singh, 2001; Usman et al., 2008). Pek çok çalışma toprak pH' sının ağır metallerin hareketliliği ve bulunabilirliği üzerinde büyük etkisi olduğunu vurgulamıştır. Toprak pH' sı ile Cd, Zn, ve Pb gibi ağır metallerin biyoyararlanımı arasında negatif bir ilişki vardır (Sukreeyapongse et al., 2002). Bitkiye ağır metal geçişinde ikinci büyük katkısı olan faktör topraktaki organik madde içeriğidir. Organik madde, toprağın ağır metali değiştirebilir formda tutulmasını kolaylaştırır ve ağır metallerin bitkiye geçişini sağlar (McCauley et al., 2017). Hettiarachchi ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları çalışma ile düşük organik madde varlığında topraktaki ağır metal adsorpsiyonunun azaldığını göstermişlerdir (Hettiarachchi et al., 2003). Buna karşın, Almas ve ekibinin 2001 yılında çimler üzerinde yaptıkları çalışmaya göre de organik madde içeriği ile Cd alımı arasında pozitif bir korelasyon gözlemlemişlerdir (Almàs and Singh, 2001).

Benzer bir pozitif etkileşim de Dai ve arkadaşları tarafından 2004 yılında yapılan çalışmada Cd, Pb, Zn için gözlemlenmiştir (Dai et al., 2004)

2.2.3. Bitkilerde Metal Birikimi

Bazı ağır metaller, bitkilerde büyüme verimini düşürmeden ya da herhangi bir görünür olumsuz belirtiyeye sebep olmadan, biyolojik olarak yüksek oranda birikebilirken, bazı ağır metaller fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerde büyüme geriliği ve biyokütle üretimi gibi olumsuz etkilere neden olabilmektedir (Nagajyoti et al., 2010). Bitkilerde metal birikimi; bitki türlerine, büyüme aşamalarına, toprak ve metal türlerine (Çizelge 2.5.), toprak koşullarına, hava ve çevre koşullarına bağlıdır.

Çizelge 2.5. Tipik kirlenmemiş toprakların ve tarımsal ürünlerin ağır metal bileşimi (Nagajyoti et al., 2010).

Ağır Metal	Toprak içerisindeki miktar (ppm)	Tarımsal Ürünler İçerisindeki Miktar (ppm)
Cd	0.01-0.7	0.2-0.8
Co	1-40	0.05-0.5
Cr	5-3000	0.2-1.0
Cu	2-100	4-15
Fe	7000-55000	-
Mn	100-4000	15-100
Mo	0.2-5	1-100
Ni	10-100	1.0
Pb	2-200	0.1-10
Zn	10-300	15-200

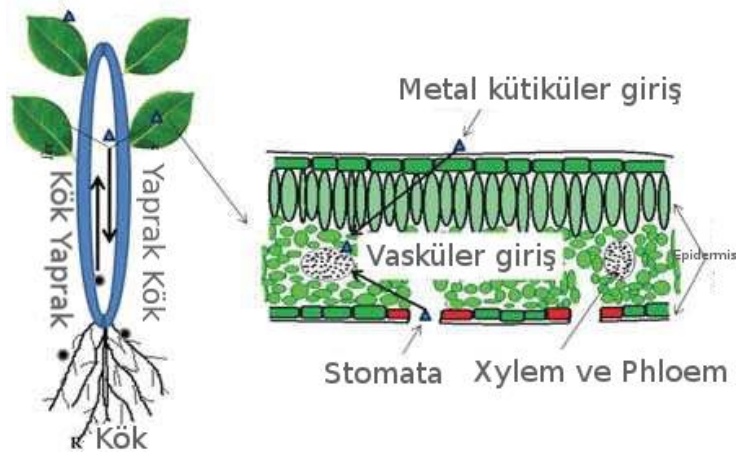
2.2.3.1 Köklerin Ağır Metal Alımı

Bitkiler ağır metalleri aktif ya da pasif taşıma yoluyla alırlar. Genel olarak metaller kök yüzeyine absorbe edilir ve rizodermal hücre yüzeyinin polisakkaritlerine veya müsilaj üronik asidin karboksil gruplarına bağlanır (Ivanov, 2000). Absorplanan metaller pasif olarak köklere nüfuz eder ve köklerdeki su hareketi ile yayılırlar. Apoplastik (hücre dışı) ve semplastik (hücre içi) yollar, metallerin bitkilere girmesi için mevcut ana yollardır. Metal iyonlarının çoğu suda çözünmez ve karbonat, sülfat veya fosfat çökeltileri oluşturduktan sonra apoplastik ve semplastik bölmelerde hareketsiz hale getirilir (Garbisu and Alkorta, 2001; Raskin et al., 1997).

2.2.3.2 Yapraklardan Ağır Metal Alımı

Atmosferik kirleticiler çeşitli kaynaklardan partikül madde (PM) veya aerosol olarak yayılırlar (Çizelge 2.6.). Ağır metallerin çoğu uçucu bileşikler veya çok ince partiküller olarak salınır ve bitki yüzeylerine ulaştıktan sonra stomalar, çatlaklar, sulu gözenekler ile penetrasyon yoluyla bitkiye girer ve alt dokulara kadar inip orada birikir (Fernández et al., 2013). Genel olarak, ağır metallerin yapraktan alımı şu yollarla gerçekleşir: (1) kütikül yoluyla adsorpsiyon ve içselleştirme; (2) metallerin stoma gözeneklerinden penetrasyonu (Schreck et al., 2013) (Şekil 2.2.). Bu süreci yöneten çeşitli faktörler arasında stoma boyutu ve yoğunluğu ile yaprak yüzey alanı önemli bir rol oynar.

Schreck ve arkadaşları 2013 yılında (Schreck et al., 2013) Fransa'daki pil geri dönüşüm fabrikasının yakınında yetiştirilen sebzelerin yapraklarından aldıkları örneklerde yüksek düzeyde Zn, As, Sn, Pb, Cu ve Cd gibi ağır metaller gözlemlenmiştir.



Şekil 2.2. Yapraklardan ağır metal geçiş mekanizması (Shahid et al., 2017)

Çizelge 2.6. Farklı kaynaklardan havaya salınan ağır metal emisyon miktarları (ton) (Shahid et al., 2017)

Endüstriyel Aktivite	Cd	Hg	Pb	As
Enerji Sektörü	5.72	19.8	80.9	2.06
Mineral Yağ ve Rafineri	1.09	1.04	2.14	1.63
Termik Santraller ve Diğer Yakma Tesisleri	3.72	18.50	61.1	205
Kömür Fırınları	1.01	0.28	17.4	-
Metal Üretim ve İşlemesi	9.66	4.77	398.3	-
Mineral Sanayi	1.79	4.00	60.9	1
Kimya Sanayisi	0.72	6.14	2.34	-
Atık ve Atık Su Arıtma Tesisleri	0.24	1.22	5.41	0.3
Kağıt ve Odun Üretim ve İşleme	0.56	0.22	3.17	9
Yiyecek ve İçecek Sektöründeki Hayvansal ve Bitkisel Ürünler	0.05	-	-	-
Diğer Aktiviteler	0.03	0.01	-	-
Toplam	25	56	632	219

2.2.4. Ağır Metal Maruziyetleri

2.2.4.1. Bakır (Cu)

Bakır, periyodik tablo 1B geçiş grubu elementi olup atom numarası 29' dur. Bakır doğada doğal olarak bulunabildiği gibi çoğunlukla $CuFeS_2$ veya Cu_2S gibi mineral formunda da bulunabilir (Welz and Sperling, 1999).

Endüstriyel faaliyetler ya da volkanik patlamalar, çöl rüzgârları gibi pek çok doğa olayının sonucunda havada, toprakta ya da suda bakır kirliliği ile karşılaşılabilir. Atmosfere bakır çoğunlukla insan faaliyetleri sonucunda salınmaktadır. Atmosfere salınan bakır miktarı yıllık olarak 22 000 ton olup çoğunlukla madencilik sektörü tarafından salınmaktadır. Atmosferde asılı kalan bakır, yerçekimi veya yağmurların etkisiyle geri döner (Latorre et al., 2019; Schroeder et al., 1987).

Bakır, demir ve alüminyumdan sonra dünyada en çok tüketilen üçüncü metaldir. Bakır, madencilik, çiftçilik ve atık suların nehirlere ve göllere karışmasıyla çevreye salınır. Bakır genellikle organik madde, kil, toprak veya kum parçacıklarına yapışarak hareket eder (Abeywickrama and Wansapala, 2019). Bakır, bitkilerde ATP sentezi ve fotosentez için önemli bir rol oynar. Bitkilerde, aşırı bakır seviyesi hücre içerisinde toksik etki (sitotoksik etki) yaratarak hücrenin ölmesine neden olur (Khan et al., 2008b).

Bakır, insan metabolizmasında birçok kritik enzimin düzgün çalışması için etkili bir rol oynar (Chitturi et al., 2015) ve insan vücuduna $Cu(I)$ ve $Cu(II)$ halinde girerek, nörolojik sistemde, bağ dokusunda ve kemik gelişiminde rol oynar (Fraga, 2005) . Dünya sağlık örgütü (WHO) bakırın yetişkin bir insan vücudunda kilogram başına 1.2-2.2 mg olması gerektiğini belirtmiştir. Bakır belli bir seviyeye kadar insan vücudu için gereklidir ancak bu seviyenin üstüne çıkıldığında ya da altına düşüldüğünden çeşitli hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Özellikle hamilelik döneminde yaşanan bakır eksikliği bebeklerde kalıcı olarak bağışıklık sisteminde ve nörolojik sistemde rahatsızlıklara neden olabilir. Bakırın insan vücudunda fazla olması nörolojik sistemde ve karaciğer fonksiyonlarında hasara neden olabilir (Uriu-Adams and Keen, 2005). Ayrıca, yüksek bakır

derişimleri insanlarda, saç ve cilt renginin bozulmasına ve dermatite neden olabilir (Khan et al., 2008b)

2.2.4.2. Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum, periyodik tablo 2B geçiş grubu elementi olup atom numarası 48' dir. Cd doğada saf olarak bulunan nadir metallere dendir (Khanam et al., 2020). Yer kabuğunun %5 x 10⁻⁵ lik kısmını oluşturmaktadır (Welz and Sperling, 1999).

Cd oldukça zehirli bir metaldir ve esas olarak yeniden şarj edilebilir nikel-kadmiyum piller ve fosfatlı gübrelerin üretiminde kullanılır. Yakın geçmişte, bu ürünlerin geri dönüşümü olmadığından ve genellikle evsel atıklarla birlikte atıldığından Cd emisyonu artmıştır (Abeywickrama and Wansapala, 2019). Plastik, çelik endüstrisinde, pil ve akü üretiminde çok yaygın olarak Cd kullanılmaktadır (Hersch, 2012). Volkanik aktiviteler ile Cd doğal yollardan çevreye yayılmaktadır. Bunun yanında fosfat içerikli gübreler, arıtma çamurları, madencilik ve çeşitli endüstriyel fabrikaların emisyonları ve fosil yakıtların yanması ile de çevreye Cd yayılmaktadır (Khanam et al., 2020; Welz and Sperling, 1999). Sigara kullanımı insanlarda Cd maruziyetinin en önemli kaynağıdır (Abeywickrama and Wansapala, 2019; Hersch, 2012). Bitkiler, Cd²⁺ yı metal taşıyıcılar aracılığıyla köklerden hızla alırlar (Abeywickrama and Wansapala, 2019).

Kadmiyum oldukça hareketli bir metaldir ve bitkilerde fitotoksik semptomlar yani bitkinin gelişiminde toksik etki göstermeden, yüksek miktarlarda bitkilerin içerisinde biriktiği bulunmuştur. Cd organik maddeye bağlanma eğilimindedir ve bu sayede bitki tarafından alınarak besin zincirine girer. John ve arkadaşları 1972 yılında yaptıkları çalışmada (Jayasumana et al., 2013) kadmiyumun köklerde sabit kalmadığını, bitkilerin toprak üstü kısımlarında da birikimin olduğunu gözlemlemişlerdir.

İnsan vücudu için Cd' un gerekliliği henüz kanıtlanmamış olmasına rağmen, yetişkin bir insanda yaklaşık 30 mg Cd olduğu bilinmektedir (Welz and Sperling, 1999). Cd, insanlarda temel olarak böbreklerde olumsuz etkiye yol açmaktadır.

Bunun yanında iskelet ve solunum sistemlerinde de olumsuz etkileri bulunmaktadır (WHO, 2020).

2.2.4.3. Kurşun (Pb)

Kurşun, periyodik tablonun 4A grubu metali olup atom numarası 82' dir. Yer kabuğunun yaklaşık %0.0018' lik kısmı kurşundan oluşmaktadır (Welz and Sperling, 1999). Toksikite potansiyeli ve yerkürede bulunuşu nedeniyle, Pb en tehlikeli ağır metaller listesinde arsenikten sonra ikinci sıradadır (Khanam et al., 2020).

Çevreye salınan kurşunun ana kaynağı, son on yılda petrolün yanması olarak belirlenmiştir. Gelişmiş ülkelerin yakın geçmişte kurşunsuz benzin kullanmaya başlamasıyla petrol kaynaklı kurşun yayılımı önemli ölçüde düşürülmüştür (Järup, 2003). Bunun yanında Pb en çok akü üretiminde kullanılmaktadır. Bunu organometalik bileşiklerin üretimi ve kablo, alaşım ve boya sanayisi izlemektedir (Welz and Sperling, 1999). Metalik Pb ve bileşikleri oldukça toksiktir. İnsan vücuduna solunma, yutma veya deri yolu ile girebilir (Welz and Sperling, 1999).

Bitki yetiştirme ortamında bulunan kurşun normalde kök yüzeyine ve hücre duvarlarına bağlanır, bu da dallara ve yapraklara transferi sınırlandırır (Cobb et al., 2000). Bu nedenle, Pb içeriğinin bitkilerin kök kısmında daha yüksek düzeyde olması beklenir. Çeşitli çalışmalar, Pb' nin birçok toprak çeşidinde güçlü bir şekilde tutulabildiğini ve dolayısıyla bitki dokularına Pb geçişinin engellediğini göstermiştir (Nolan et al., 2003)

Uluslararası kanser araştırma ajansı (IARC), hayvan verilerine dayanarak kurşunu insanlar üzerinde "olası kanserojen metal" olarak sınıflandırmıştır. Ancak kurşun sadece kanserojen etki yaratmamakta bunun yanında daha birçok olumsuz etkileri bulunmaktadır. (Steenland and Boffetta, 2000). Pb maruziyeti, çeşitli nörolojik gelişim bozukluğu, böbrek fonksiyonlarında düzensizliği, hipertansiyon, doğurganlıkta bozulma ve gebelikte olumsuz

sonuçlar gibi çok çeşitli olumsuz etkilerle sahiptir. Esas olarak kardiyovasküler hastalıklara sebep olarak da ölüme neden olmaktadır (Hersch, 2012) .

2.2.5 Ağır Metal Kontaminasyon Seviyelerinin Belirlenmesi

2.2.5.1. Translokasyon Faktörü (*TF*)

Translokasyon faktörü, bitkinin metalleri köklerden bitkinin toprak üstü kısımlarına taşıma yeteneğinin ölçüsüdür (Eşitlik 2.1).

$$TF = \frac{C_{(Dallar\ ve\ Yapraklar)}}{C_{(Kökler)}} \quad (2.1)$$

Formüldeki $C_{(Dallar\ ve\ Yapraklar)}$ ve $C_{(Kökler)}$ ağır metal derişimlerini ifade eder. *TF* değerinin birden küçük olması ağır metallerin çoğunlukla köklerde depolandığını gösterir. *TF* değerinin birden büyük olması ise ağır metallerin daha çok hava yoluyla bitkiye geçtiğini gösterir (Marchiol et al., 2004).

2.2.5.2. Biyo-Konsantrasyon Faktörü (*BCF*)

Bitki ve topraktaki metal konsantrasyonları kuru ağırlığa göre hesaplanır (Khan et al., 2008a). Transfer faktörü olarak da bilinen biyo-konsantrasyon faktörü, mahsulün ağır metal içeriğinin ($C_{(Bitki)}$), aynı bölgedeki toprağın ağır metal içeriğine ($C_{(Toprak)}$) kuru bazdaki oranı olarak tanımlanır. Bu değer, topraklardaki ağır metal birikiminin derecesini verir (Abeywickrama and Wansapala, 2019) (Eşitlik 2.2).

$$BCF = \frac{C_{(Bitki)}}{C_{(Toprak)}} \quad (2.2)$$

2.2.6 Organik Tarımın Ağır Metal Miktarı Üzerine Etkisi

Sentetik gübrenin tehlikeli ağır metaller içerebileceğini gösteren bilimsel kanıtlar nedeniyle, sentetik gübre ve arıtma çamuru kullanımı organik tarım için kısıtlanmıştır. Bunların tersine, organik tarım, organik gübrelere, hayvan gübrelerine ve bakır bazlı fungusitlere büyük ölçüde dayanır ve bu da organik tarımda belli bir düzeyde ağır metale neden olabilir (Zaccone et al., 2010). Kullanılan gübre çeşitlerine bakılarak, organik alanlarda endüstriyel tarım alanlarına göre daha düşük bir ağır metal seviyesi beklenebilir.

Sentetik kimyasalların olumsuz etkisini azaltmak ve organik gıdalar üzerindeki tüketici talebindeki artışın bir sonucu olarak kompost temelli yani biyokimyasal olarak ayrışabilir çok çeşitli organik maddelerin organizmalar tarafından stabilize edildiği, mineralize olmuş ürünlerin kullanıldığı tarım sistemleri son yıllarda tüm dünyada büyük ilgi görmektedir. Kompost genellikle daha yüksek Karbon/Azot oranına sahiptir ve bu da bu sistem altında yetişen bitkiler için ekstra basınca neden olmaktadır. Bunun yanında, kompostla ilgili temel sorunlardan biri, yüksek ağır metal derişimi, bir diğeri ise ince cam ve plastik gibi istenmeyen bazı maddelerin toprağa eklenmesi sebebiyle toprağın kirlenmesine neden olabilmesidir (Abeywickrama and Wansapala, 2019).

Ağır metaller topraktaki organik madde (hümik ve fulvik asitler) ile kompleksler oluşturma eğilimindedir ve her metalin organik maddeye olan ilgisi farklıdır. Buna ek olarak, organik madde ağır metalleri iyon değişimi yoluyla kolayca tutabilir (Abeywickrama and Wansapala, 2019). Jardo ve arkadaşlarının 1989 yılında yaptıkları çalışmaya göre (Jardo and Nickless, 1989) ağır metallerin organik maddeye bağlanma derecesinin $Cu > Zn > Pb > Cd$ şeklinde olduğu görülmüştür.

Bazı çalışmalar ise belirtilenin aksine, kompost biçiminde nemlendirilmiş organik madde eklenmesinin, hümik asit etkisiyle karalı, çözünmez komplekslerin oluşumuna neden olacağını ve bunun metal hareketliliğini azaltarak bitkinin ağır metal alımını düşüreceğini göstermiştir. (DC et al., 1991). Ancak geleneksel

tarımla mukayese edildiğinde, organik üretimin özellikle Ni, Pb, Zn gibi ağır metallerin bitkilere alımını her zaman azalttığına rastlanmamıştır (Zaccone et al., 2010).

Organik ve geleneksel ürünlerdeki ağır metal içeriğinin karşılaştırıldığı çalışmalar sınırlı sayıdadır. Organik ve endüstriyel ürünlerdeki mineral ve eser elementler (Ca, Fe, P, Mn, Zn, Cu ve K gibi) araştırmacıların büyük ilgisini çekmesine rağmen, çok az çalışmada organik sebzelerdeki mineral ve eser element yüzeyinin biraz daha yüksek düzeyde olduğunu bildirirken (Auclair et al., 1995; Schuphan, 1974), yapılan çalışmaların çoğunda önemli bir farklılık olmadığı bildirilmiştir (Clarke and Merrow, 1979; Fjelkner-Modig et al., 2000; Lairon et al., 1984; Peavy and Greig, 1972; Perez-Llamas et al., 1996; Tan et al., 1998; Termine et al., 1987; Warman and Havard, 1996).

Cabrera ve arkadaşları 1989 yılında yaptıkları çalışmada (Cabrera et al., 1989), kentsel kompostun toprak ve bitkilerdeki ağır metal seviyesi üzerindeki etkisini incelemiş ve topraktaki toplam Cu ve Zn içeriğinde gözle görülür bir artış olduğunu ancak diğer metallerin ihmal edilebilir düzeyde olduğunu gözlemlemişlerdir. Bunun sebebi olarak da kentsel kompostun yüksek dozlarda kullanılmasını savunmuşlardır. Pinamonti ve arkadaşlarının 1997 (Pinamonti et al., 1997) yılında kompostun toprak ve bitkilerdeki ağır metal seviyesi üzerindeki etkisini incelemek için yapmış oldukları çalışmada ise, hayvan gübresi, arıtma çamuru ve ağaç kabuğu gibi farklı kaynaklardan hazırlanan kompost ve belediye toprak atıkları kullanılmıştır. 6 yıldan daha uzun bir süre, arıtma çamuru ile hazırlanan kompost kullanımının topraktaki Zn, Cu, Ni, Pb, Cd ve Cr derişimini önemli ölçüde artırdığı görülmüştür.

Gallardo-Lara ve diğerleri, tarafından 1987 (Gallardo-Lara and Nogales, 1987) yılında yapılan çalışma, organik madde uygulamasının bitkilerde Cu ve Zn seviyesini artırdığını göstermiştir. Ancak, inek gübresi, toprak pH' ını hafifçe artırma özelliğinden dolayı bitkinin ağır metal alımını azaltır. Organik ve geleneksel hammaddelerde ağır metallerin (Pb, Cd, As ve Hg) kontaminasyon

seviyesini izlemek için 2002 yılında Fransa'da (Malmauret et al., 2002) yapılan bir çalışma sonucu, iki farklı üretim için kayda değer farklılık olmadığı görülmüştür. Ancak organik olarak yetiştirilen havuç ve karabuğdayda ve endüstriyel olarak yetiştirilen buğdayda Pb için önerilen seviyelerin aşıldığı; Cd için her iki yöntemde de bütün ürünler için önerilen seviyelerin aşıldığı tespit edilmiştir.

Vrček ve arkadaşları tarafından 2014 yılında Hırvatistan' da yapılan çalışmada (Vrček et al., 2014) buğday unu için, organik olarak üretilen numunelerde Al, As, Cd ve Pb derişimlerinin önemli ölçüde daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. 1999 yılında Polonya' da Wieteska ve Drzewińska (Wieteska and Drzewinska, 1999). 2004 yılında Slovenya' da Ščančar ve arkadaşları (Ščančar et al., 2004), ve 1998 yılında Almanya' da Müller ve arkadaşları (Müller et al., 1998) tarafından yapılan benzer çalışmalarda yine organik tarımla yetiştirilen numunelerde daha düşük ağır metal derişimlerine rastlanmıştır.

Hajšlová ve diğerlerinin, 2005 yılında yaptıkları çalışmada (Hajšlová et al., 2005), organik ve geleneksel tarımla yetiştirilen patates yumrularında toksik mineraller açısından kayda değer bir farkın olmadığını göstermişlerdir. Jorhem ve Slanina (2000) (Jorhem and Slanina, 2000), organik ve geleneksel olarak yetiştirilen buğday, çavdar, havuç ve patateste iki ardışık hasat için ağır metal (Cd, Pd, Cr ve Zn) birikimini incelemiş ve sonuçlara göre, gıda maddelerinin Cd içeriği ile yetiştirme sistemi arasında net bir ilişki olmadığını göstermişlerdir.

Pandey ve diğerleri (Pandey and Pandey, 2009) 2009 yılında Hindistan' da yaptıkları çalışmada, organik olarak yetiştirilen sebzelerdeki eser metallerin atmosferik birikiminin etkisini incelemişler ve atmosferik birikimin bitkinin yenilebilir kısımlarında, özellikle meyvelerde ve yapraklarda ağır metal düzeyini yükseltmede ana katkı olduğunu öne sürmüşlerdir. Organik tarım günümüzde tehlikesiz tarımsal ürünler elde etmek için sürdürülebilir bir tarım olarak kabul edildiğinden, bu durum ciddi sonuçlara neden olabilir.

Bütün bu çalışmalar sonucunda gözlemlenen çelişkili sonuçlar nedeniyle, daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği görülmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında organik ve geleneksel yolla üretilen tarım ürünlerinin ağır metal içeriklerinin karşılaştırılması amacıyla akıllı çözümlerin kullanıldığı yeni bir SHS-DLMME metodu geliştirilmiş ve Cu, Cd, Pb metalleri açısından değerlendirmeler yapılmıştır.

2.2.7 Tarım Alanlarındaki Ağır Metal Miktarını Azaltma Yöntemleri

Ekosistemin ağır metaller tarafından kirlenmesini engellemek amacıyla kullanılabilir yöntemler üzerine literatürde çok az sayıda araştırma bulunmaktadır (Abeywickrama and Wansapala, 2019). Bu kapsamda bitki ıslah teknolojileri az kirlenmiş alanlar için ekonomik ve geçerli bir seçenek olarak düşünülebilir (Kumar et al., 1995). Biyosorbant kullanımı, endüstriyel ve evsel atık suların arıtılması için çevre dostu bir teknolojidir (Kuppusamy et al., 2015). Düzenli depolama sızıntı suyundaki ağır metallerin giderilmesi için bitki ıslahı önerilmiş olsa da, düşük performans nedeniyle bu yöntemde sorunlar vardır.

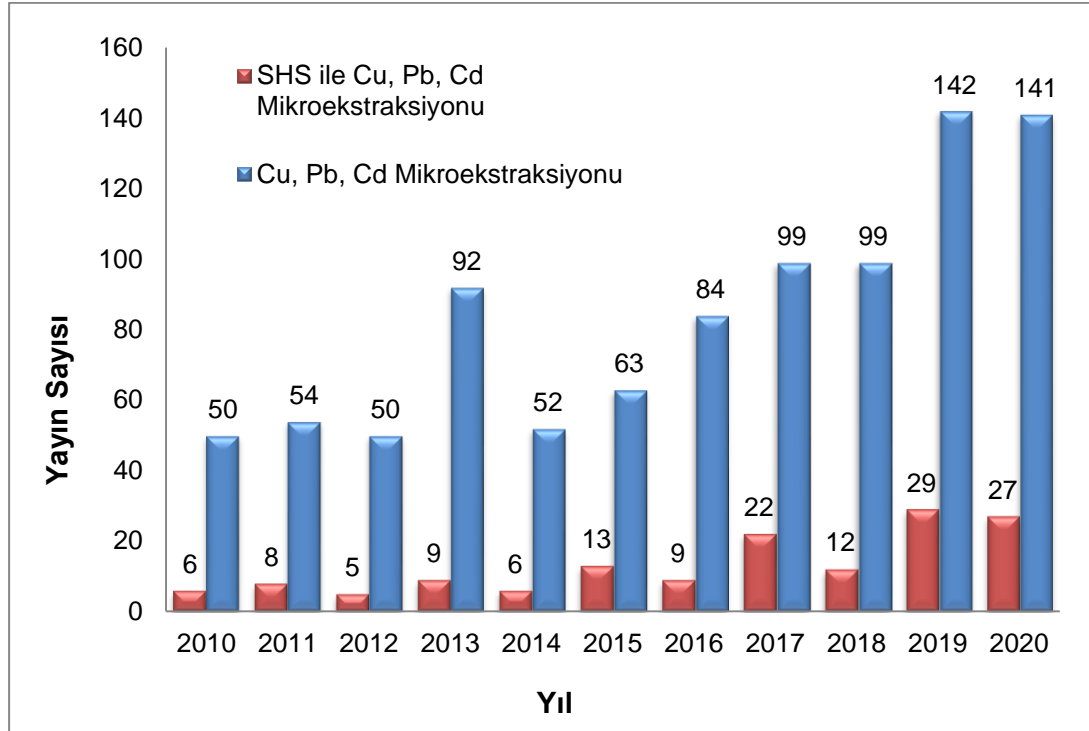
Arıtma çamuru organik ve inorganik bitki besin maddeleri bakımından zengindir ve tarımsal alanlarda kullanılması birçok ülke tarafından, bu atıklar için en uygun bertaraf yöntemi olduğu için uygulanmaktadır. Ancak arıtma çamuru kullanılan alanlarda, atık su ile sulama yapıldığında, yüksek ağır metal seviyelerine neden olabilir. Bu sebepten ötürü insan sağlığı üzerinde ciddi tehditler oluşturması nedeniyle bu bölgelerde atık su kullanımına düzenleyici kurumlar tarafından sınırlandırmalar getirilmiştir (Singh and Agrawal, 2008).

Turan ve arkadaşları 2018 (Turan et al., 2018) yılında yaptıkları çalışmada, kitosan ve odun kömürünün patlıcan bitkisinin büyüme ve beslenme kalitesi üzerindeki etkisini ağır metallerin yerinde hareketsizleştirilmesiyle birlikte değerlendirmek için bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada, kirli bir toprak kullandılar. Kirli suyla daha fazla sulanarak, yüksek oranlarda su uygulamasının, odun kömürü veya kitosan ile birlikte bitkideki ağır metal

değişimlerini önemli ölçüde azalttığını ve böylece büyümede de iyileşme olduğunu gözlemlemiştir.

2.3. Değişirilebilir Çözücüler

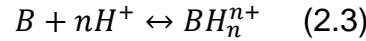
"Hidrofilikliğı Değişirilebilir Çözücü (SHS)" terimi ilk olarak 2002 yılında yapılan bir araştırmada kullanılmıştır (Jessop et al., 2002) ve bu çözücüler 2005 yılından bu yana, modern kimya ve teknolojiye, Jessop liderliğindeki bir yazar ekibi tarafından yapılan çalışmalar ile geliştirilmiştir. Son on yıl içerisinde değıştirilebilir çözücülerin kullanıldığı ağır metal mikroekstraksiyon ile ilgili yapılan yayın sayısının, ağır metal mikroekstraksiyonu konulu toplam yayın sayısı ile kıyaslanması Şekil 2.3. de sunulmuştur. Yapılan taramalar Science Direct' e "switchable solvent", "Cu", "Cd", "Pb" ve "microextraction" anahtar kelimeleri uygun şekilde girilerek yapılmıştır.



Şekil 2.3. SHS ile ilgili Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) ağır metallerinin mikroekstraksiyonu hakkında çıkan yayın sayısının (kırmızı) ve Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) ağır metallerinin mikroekstraksiyonu hakkında çıkan yayın sayısının (mavi) yıllara göre dağılımı (Science Direct 26.10.2020)

Grafik (Şekil 2.3.) üstünde sunulan literatür taraması sonuçlarından da görüldüğü üzere, taraması yapılan metallerle (Cu, Cd ve Pb) ilgili son 10 yıl içinde yapılan tüm mikroekstraksiyon çalışmalarının %16 sı SHS kullanılarak yapılmıştır.

Çözücülerin karışabilirlik, iyonik güç, polarite, yüzey aktivitesi, hidrofilitiklik, yük gibi çeşitli özelliklerinin değiştirilebilir olduğu bilinmektedir (Yang et al., 2019). Değiştirilebilir çözücüler, fiziksel özelliklerini aniden tersinir şekilde değiştiren çözücüler olarak tanımlanmaktadır. Bu özellik, sıcaklık değişimi ya da bir gaz eklenmesi veya çıkarılması gibi dış uyarılara cevap olarak tersinir bir reaksiyonun sonucunda gerçekleşir ve bu sayede değişen çözücü orijinal durumuna dönebilir (Pollet et al., 2011). Çoğu durumda, değiştirilebilir çözücü terimi kullanılırken, farklı pH değerlerine sahip çözeltilerdeki yapısal değişiklikler nedeniyle hidrofilitikliklerini (ve dolayısıyla çözünürlüklerini) değiştirebilen üçüncül veya ikincil aminler ifade edilir;



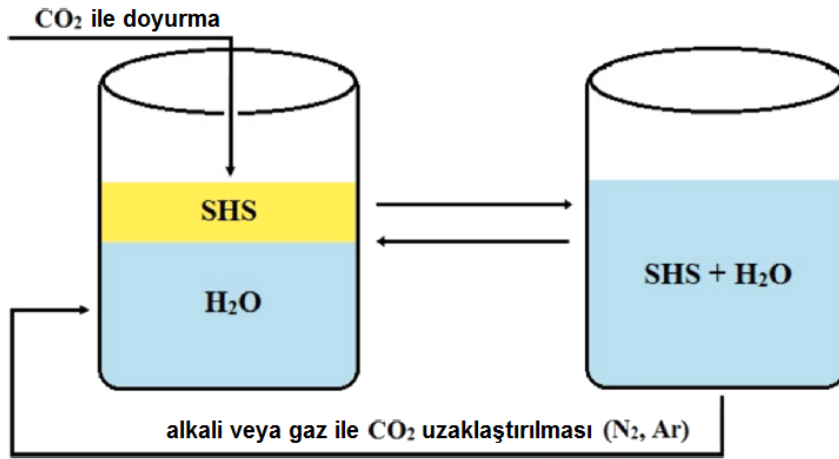
Asidik ortamlarda denge (Eşitlik 2.3) sulu çözeltilerle homojen karışımlar oluşturabilen iyonik formların baskın olduğu tarafa doğru kayar. Artan pH değeri ile denge sola doğru kayar ve sulu ortamda sınırlı çözünürlük oluşarak iki fazlı sistem oluşur (Bazel et al., 2020).

Bu tür dönüşümler CO₂ kullanılarak yapılabilir (Jessop et al., 2012; Vanderveen et al., 2014).



Eşitlik 2.4 ile ifade edildiği gibi aşırı CO_2 ile oluşturulan asidik ortamda denge suyla karışabilen kuaterner amonyum katyonunun olduğu yöne doğru kayar. Çoğu zaman bu dönüşümü sağlamak için kuru buz kullanılır (Bazel et al., 2020).

Prosedür, Şekil 2.4.' de gösterildiği gibi homojen bir çözelti oluşana kadar sürekli karıştırılarak gerçekleştirilir. CO_2 'nin sulu faza eklenmesinden önce reaktif derişimi, pH, iyonik kuvvet gibi gerekli koşulların oluşması sağlanır. Çözücülerin polaritesini değiştirmek için karbonat tuzları ve sülfürik asit, perklorik asit, kullanımı gibi diğer yaklaşımlar daha az yaygındır (Bazel et al., 2020).



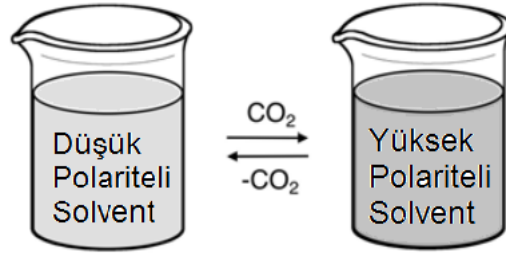
Şekil 2.4. Hidrofilikliğı değiştirilebilir çözücülerin oluşturulması (Bazel et al., 2020).

İki fazlı bir sistem oluşturmak ve analiti bir mikro ekstraktta belirli bir formda konsantre etmek için, bunun tersine, CO_2 'yi uzaklaştırmak veya amini protosuzlaştırmak gerekir. Bu da azot, argon veya hava kullanımıyla ya da homojen karışımın ısıtılmasıyla gerçekleştirilebilir (Li et al., 2018). Bu tür yöntemlerin kolay uygulanabilir olması, maddelerin ayrılması ve derişimlerinin tayini için SHS kullanımına ve ardından kromatografik veya spektroskopik tekniklerle tayinine olanak verir (Bazel et al., 2020).

Değiştirilebilir çözücüler, çevre dostu olarak kabul edilebilir, geleneksel organik çözücülere göre çok kolay olan ayırma özellikleri sayesinde araştırmacılara çevreci ve yenilikçi fikirler sunar (Memon et al., 2017).

Değiştirilebilir çözücüler 3 temel sınıfa ayrılmaktadır (Jessop, 2013);

Değiştirilebilir Polariteli Çözücü (SPS); Kullanılan değiştirilebilir çözeltilerin, değişen özelliği çözeltilinin polaritesi ise buna değiştirilebilir polariteli çözücü (SPS) denir. Sekonder aminler veya amidin/alkol karışımları gibi değiştirilebilir polariteli çözücüler, orijinallerinden daha yüksek polariteye sahip bir çözücü oluşturmak için CO₂ ile reaksiyona girer ve CO₂'nin uzaklaştırılması işlemi tersine çevirir (Jessop, 2013). SPS' lerin kullanılmasının temel avantajları, analitlerin, homojen faz içerisinde herhangi bir dağıtıcı çözücü olmadan kolayca ekstrakte edilmesi ve ek herhangi bir aparata ihtiyaç olmadan kolayca faz ayrımının yapılabilmesidir (Yılmaz and Soylak, 2015) .



Şekil 2.5. Değiştirilebilir polariteye sahip çözücüler yüksek polariteli çözeltiliye dönüşmek için CO₂ ile reaksiyona girerler ve CO₂ nin uzaklaşması ile çözeltili eski haline döner (Jessop, 2013)

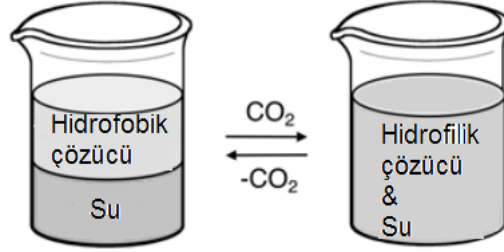
Tetikleyici olarak CO₂ gerektirmeyen iyonik sıvıların (IL) kullanıldığı değiştirilebilir polariteli çözücüler de mevcuttur. IL'nin çözünürlüğü önemli ölçüde karşı iyon tipine bağlıdır, örneğin hidrofilikten hidrofobiğe geçebilir, basitçe karşı iyonu asetattan hekzaflorofosfata değiştirebilirler. CO₂ ilavesi, bir alkil karbonat anyonu ile iyonik bir sıvının oluşumuna, yani polaritede bir artışa

yol açar. CO₂ uygun şekilde uzaklaştırılırsa reaksiyon kolaylıkla tersine çevrilebilir (Pollet et al., 2011). İki bileşenli SPS' ler ayrıca amidin ile alifatik birincil aminler (Yamada et al., 2007) veya amino alkollerin (Yu et al., 2008) karışımlarından oluşabilir. Bu tür SPS'ler, birincil aminin CO₂ ile reaksiyonu, bikarbonat ve alkil karbonat tuzlarından daha yüksek termodinamik stabiliteye sahip olan bir karbonat tuzu oluşumuna yol açtığından, suyun varlığına daha az duyarlıdır. Daha ucuz SPS' ler, bir organik bileşenden, örneğin bir nükleofil, yani bir proton donörü rolünü oynayabilen ikincil aminlerden elde edilebilir (Phan et al., 2008).

SPS' ler çok farklı polaritelere dönüşüm sağlayabilir. Örneğin amidin ve guanidin alkil karbonatlara dayalı SPS' ler, nispeten yüksek bir polariteye (kloroform ile eşdeğer veya daha yüksek) sahiptir, ancak hem birincil hem de ikincil aminler genellikle alkollerden daha az polar olduğundan daha küçük bir polarite değişikliği sergiler (Jessop et al., 2012).

Hidrofilikliği Değiştirilebilir Çözücüler (SHS); Hidrofilikliği değiştirilebilir çözücüler, normal koşullar altında o kadar hidrofobik olan sıvılardır ki pratikte suyla karışmaz ve suyla iki fazlı bir karışım oluştururlar. Bununla birlikte, iki fazlı çözücü veya su karışımına CO₂ eklenmesi çözücü hidrofobikliğini önemli ölçüde değiştirir (hidrofilik hale gelir ve su ile homojen bir karışım oluşturacak şekilde bir araya gelir). CO₂ uzaklaştırıldıktan sonra tekrar hidrofobik özellik kazanarak iki fazlı sistemi oluşturur (Bazel et al., 2020). ilk olarak Jessop ve ekibi tarafından çalışılan, SHS' ler aynı zamanda yeşil çözücüler olarak da adlandırılmaktadır. SHS 'ler pH değişimi sayesinde, sulu numunelerde su ile karışabilirliklerini kolayca ve tersinir olarak değiştirebilirler. Yağ asitleri de SHS olarak sınıflandırılmakta ve çeşitli analitlerin sıvı ve katı numunelerden ekstraksiyonu için kullanılmaktadır. SHS bazlı mikroekstraksiyon, ekstraksiyon çözücüsü ve sulu faz arasında geniş bir yüzey alanı oluşumu nedeniyle hızlı faz dengesi ve verimli ekstraksiyon avantajlarına sahiptir. Ayrıca faz ayırımının hızlı olması nedeniyle çoğu zaman santrifüjleme basamağına ihtiyaç ortadan

kalkmakta ve böylece mikroekstraksiyon işlemi daha basit hale gelmektedir (Pochivalov et al., 2020).



Şekil 2.6. SHS' ler, ilk olarak suyla karışmayan yapıdadırlar, ancak CO₂ ile reaksiyona girerek suda çözünebilir bikarbonat oluşturur ve CO₂ nin ortamdaki uzaklaşmasıyla ilk haline döner (Jessop, 2013)

SHS' ler özellikle ayırma işlemlerinde oldukça avantajlı çözücülerdir. Tayin edilmek istenen ürünü çözültiden ayırmanın en geleneksel yöntemi damıtmak ya da uygun reaktiflerle çöktürmektir. SHS kullanımı, damıtmada kullanılan uçucu ve yanıcı özellikteki çözücülerin kullanılmasını engellemektedir. SHS kullanımı ayrıca, damıtmanın başka bir olumsuz yönü olan güç tüketimini de engeller. Bu özellikler SHS' lere gelişen teknolojik kimyada büyük avantajlar sağlamaktadır (Bazel et al., 2020).

Değiştirilebilir Su (SW); değiştirilebilir su, iyonik kuvvetin değiştirilebildiği sulu bir çözültidir. Sudaki bir aminin ya da poliaminin çözültisi çok düşük iyonik kuvvete sahiptir, ancak CO₂ katılırsa, poliamin bir bikarbonat tuzuna (polielektrolit) dönüşür ve bu da çözültinin iyonik kuvvetinin belirgin biçimde artmasına neden olur. CO₂' nin uzaklaştırılması işlemi tersine çevirir (Jessop, 2013).

2.4 Yağ Asidi (FA)

FA' lar bir alkil ve bir karboksil grubundan oluşmuş monobazik organik asitlerdir. Bileşikler yapılarındaki karboksil grubu sayesinde asidik özelliğe sahip olurlar. Doğada kendiliğinden oluşan binin üzerinde yağ asidi bulunmaktadır. Bunlar yağların, triasilgliserollerin, vaksların ve diğer lipit içeren materyallerin ana bileşenlerini oluştururlar (Kenar et al., 2017).

FA' lar, yapısal çeşitlikleri nedeniyle gıda, ilaç, sabun, deterjan, kozmetik, kaplama endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan bileşiklerdir (Cistola et al., 1988; Kenar et al., 2017). Yapılarındaki karboksil grubunun iyonlaşması nedeniyle yağ asidinin sudaki fiziksel özellikleri değişebilmektedir (Cistola et al., 1988). FA' lar, pH' larındaki değişim sayesinde hidrofilik grup oluşturarak iyonize olabilirler ve bunun sonucunda da yüzey aktif özelliğe sahip amfifilik bileşik oluştururlar (Bravo et al., 2008).

Birçok yağ asidinden sadece 20-25' i doğada yaygın olarak bulunmaktadır ve ticari öneme sahiptir. 10 ila 22 karbon uzunluğunda olan bu yağ asitlerinin büyük çoğunluğu, bitkilerden ve hayvansal yağlardan elde edilir.

2.5. Metal İyonlarının Ekstraksiyonu ve Önderiştirilmesi

Gün geçtikçe gelişen ve genişleyen endüstri uygulamaları ve artan nüfus yoğunluğu nedeniyle, metal kalıntılarının çevreye salınımında büyük artış gözlenmektedir. Bu salınımın özellikle sanayi bölgelerinin yakınında bulunan nüfus yoğunluğuna sahip yerleşim alanları civarlarında olması, insan ve hayvanların besinler yoluyla toksik atıklarla temas ihtimalini arttırmaktadır. En ufak metal zehirlenmelerinin bile sağlık üzerindeki etkisi düşünüldüğünde, çevresel örneklerde rutin metal analizinin yaşamsal önemi daha iyi anlaşılmaktadır. Ancak söz konusu ortamlarda metal derişimlerinin genellikle mg/L, µg/L düzeylerinde olması ve bu ortamların karmaşık yapısı nicel tayini zorlaştırmaktadır. Numune hazırlama aşaması tayin edilmek istenen bileşenin örnek içerisinde ayrılmasıdır (Aydin et al., 2015). Bu işlemin amacı çoğu örnek matrisinin çok karmaşık olmasından ötürü analitik cihazların tayin edilmek

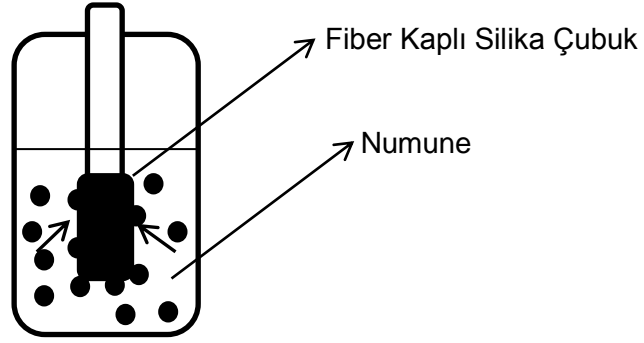
istenen bileşigi görememesidir (Pawliszyn, 2012a) Numune hazırlama yöntemleri, yüksek derecede uzmanlık ve gelişmiş analitik teknikler gerektiren, ekstraksiyon prosedürlerini içeren zorlu bir süreçtir. Hatta bazı karmaşık örneklerde ekstra temizleme işlemlerinin de yapılması gerekebilir. Bu nedenle, numune hazırlama aşamasında basit, sağlam, ucuz ve hızlı sonuç görmeyi sağlayan yeni yöntemler geliştirmek, analitik kimyada önemli bir amaçtır (Aydin et al., 2015; Pawliszyn, 2012a). Numune hazırlama basamağı sonucunda numunede tayin edilebilecek derişimde analitin olması istenmektedir. Bu nedenle numune hazırlama aşmasında çoğunlukla zenginleştirme yapılmaktadır. Numune hazırlamada kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinin temel amacı, analitin tamamen örnek matrisinden ayrılarak ekstraksiyon fazına geçmesini sağlamaktır. Bu yöntemin en büyük avantajı analitin büyük çoğunluğunun ekstraksiyon fazına geçirilebilmesidir (Pawliszyn, 2012a).

Eser düzeydeki metal iyonlarının önzenginleştirilmesi ve ayırımı için kullanılan sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) veya sıvı-katı ekstraksiyonu (LSE) yöntemleri çok miktarda organik veya toksik çözücü kullanımı gerektirdiğinden büyük bir dezavantaj yaratmaktadır. Son yıllarda, klasik tekniklerin bu dezavantajlarına karşılık geliştirilen basit, minyatür ve daha az kimyasal kullanımını sağlayan mikroekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir. Tek damla mikroekstraksiyonu (SDME), katı-faz mikroekstraksiyonu (SPME), dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu (DLLME), katılaşımiş yüzen organik damla mikro ekstraksiyonu (SFODME) ve supramoleküler çözücü bazlı mikro ekstraksiyon (SM-SBM) geliştirilen bazı mikroekstraksiyon tekniklerine örnek olarak verilebilir (Aydin et al., 2015).

2.5.1. Katı Faz Mikroekstraksiyonu (SPME)

Katı Faz Mikroekstraksiyonu (SPME) yöntemi, Arthur and Pawliszyn tarafından 1990 yılında çözücü kullanılmayan bir numune hazırlama yöntemi olarak ortaya çıkmıştır (Baltussen et al., 2002; Pawliszyn, 2000). Bu yöntemin temel yaklaşımı numune matrisine kıyasla çok düşük miktarda (genellikle 1 μL ' den daha az) ekstraksiyon fazı oluşturmasıdır (Pawliszyn, 2000).

Bu yöntemde, silika üzerine kaplı fiber bir malzeme ile analiz edilecek bileşenler ekstrakte edilir. Uygulaması kolay, hızlı ve seçiciliği yüksek bir yöntemdir (Dadalı and Elmacı, 2017). SPME yönteminde, analit derişimi örnek matrisinde ve fiber kaplamada dengeye ulaştığında mikroekstraksiyon işleminin tamamlandığı kabul edilir (Şekil 2.7.) (Pawliszyn, 2012b).

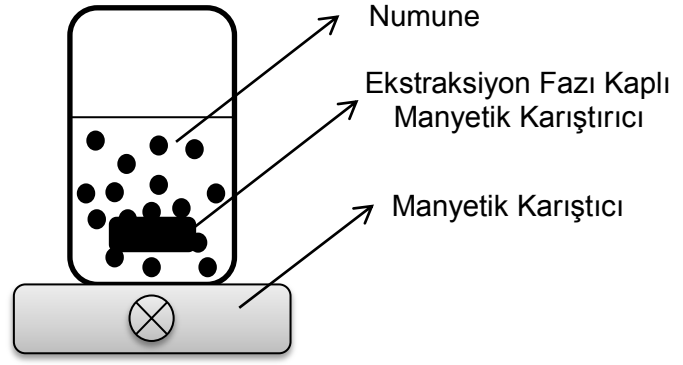


Şekil 2.7. SPME yöntemi şematik gösterimi

2.5.2. Manyetik Karıştırma Çubuğu ile Ekstraksiyon (SBSE)

Çevre dostu bir teknik olan manyetik karıştırma çubuğu ile ekstraksiyon (SBSE), düşük tayin limiti ve yüksek tekrarlanabilirlik elde edilebilmesi nedeniyle uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin tayini için etkili bir yöntemdir (Wang et al., 2020).

Bu yöntemde sulu numune, apolar bir malzemeyle kaplı olan manyetik karıştırma çubuğu ile daha önceden tespit edilmiş bir süre boyunca, karıştırılarak ekstrakte edilir. Ekstraksiyon fazı ile kaplı olan karıştırma çubuğu çözelti içerisinde çıkarılıp, adsorplanan analitler termal yöntemlerle desorbe edilerek tayin için analitik cihazlara iletilir (Baltussen et al., 2002). Şekil 2.8. de yöntem şematik olarak gösterilmiştir;



Şekil 2.8. SBSE yöntemi şematik gösterimi

2.5.3. Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu (LPME)

sıvı faz mikroekstraksiyonu (LPME), sıvı-sıvı ekstraksiyonunun (LLE) minyatürleştirilmesiyle ortaya çıkmış ve ekstraksiyon sonucunda birkaç mikrolitre çözücü hacmi elde edilen bir yöntemdir (De Carvalho Oliveira and Santelli, 2010). Çözücü mikroekstraksiyonu (SME) olarak da bilinen sıvı faz mikroekstraksiyon (LPME) yöntemi, çevresel, ilaç, gıda, klinik ve endüstriyel laboratuvar analizlerinde en önemli numune hazırlama yöntemi olmaya başlamıştır (Kokosa, 2019). Organik çözücülerin tüketiminin az olması ve yüksek zenginleştirme faktörünün (EF) olması LPME yönteminin en önemli avantajları arasındadır (Campillo et al., 2018). Yöntemde çok çeşitli sıvı ekstraksiyon çözücüleri kullanılabilir. Bunların başında özellikle organik çözücüler, sulu çözeltiler ve iyonik sıvılar gelmektedir (Campillo et al., 2018). LPME yönteminin bazı uygulamaları aşağıda sunulmuştur:

- Tek Damla Mikroekstraksiyonu (SDME)
- Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME)
- Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (HF-LPME)
- Bulutlanma Noktası Mikroekstraksiyon (CPME)
- Yüzen Katılaştırılmış Organik Damla Mikroekstraksiyon (SFODME)

2.5.3.1. Tek Damla Mikroekstraksiyonu (SDME)

Tek damla mikroekstraksiyon yöntemi (SDME) gaz ve sıvı fazdaki analitlerin zenginleştirilmesi için uygulanan hızlı, basit ve etkili bir yöntemdir (Kiszkiel-Taudul and Starczewska, 2019; Tang et al., 2018). Bu yöntemde, sıvı veya gaz fazında olan numune içerisinde karışmayan ekstraksiyon çözücü damlası (1–10 μL), enjektör ucunda asılı durur. Ekstraksiyonun tamamlanmasının ardından tayin edilecek analit pasif difüzyon ile asılı olan damla içerisinden alınarak analitik cihazda tayin edilir (Alver et al., 2012).

Genel olarak bu yöntem ile tayinde iki farklı yaklaşım bulunmaktadır;

Doğrudan Daldırma-Tek Damla Mikroekstraksiyonu (DI-SDME); Bu yöntemde suyla karışmayan çözücünün bir damlası analit çözeltisinin içine daldırılan enjektörün ucunda asılı tutulur (Şekil 2.9.). Bu yöntem için kullanılan çözücüler su ile karışmaz ve yöntem, orta polaritede ve polar olmayan analitler için uygundur (Sarafraz-Yazdi and Amiri, 2010).

Tepede Asılı-Tek Damla Mikroekstraksiyonu (HS-SDME); Bu yöntemde enjektör ucundaki damla numuneden bağımsız olarak havada asılı kalır (Şekil 2.9.). Numune çözeltisi ısıtılarak analitin buharlaşarak havada asılı kalan damla ile etkileşmesi sağlanır (Sarafraz-Yazdi and Amiri, 2010; Theis et al., 2001).

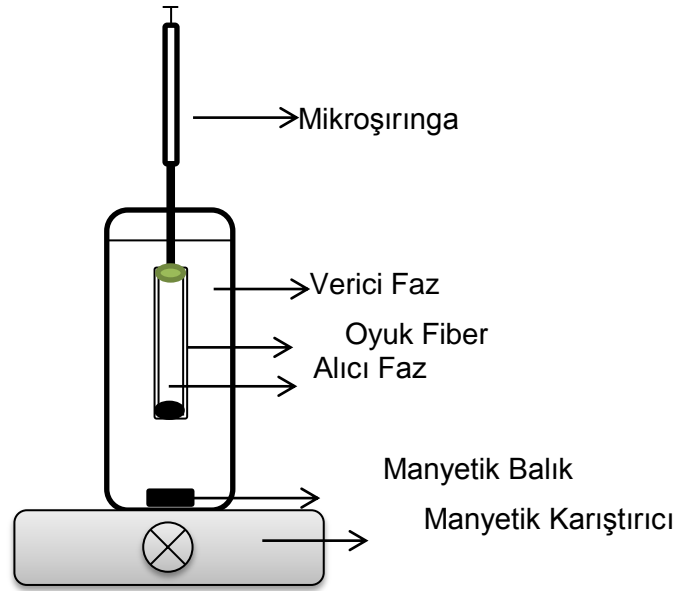


Şekil 2.9. (a) DI-SDME, (b) HS-SDME yöntemi şematik gösterimi

HS-SDME yönteminin genel olarak ekstraksiyon hızı ve hassasiyeti DI-SDME ile aynıdır. Ancak HS-SDME yönteminde çalışılabilecek çözücü sayısı daha fazladır. Ayrıca HS-SDME metodu karmaşık matrisli numunelere uygulaması daha uygun bir yöntemdir (Sarafraz-Yazdi and Amiri, 2010; Theis et al., 2001).

2.5.3.2. Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (HF-LPME)

Pedersen-Bjergaard ve Rasmussen 1999 yılında yaptıkları çalışma ile oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyonunun temellerini atmışlardır (Pedersen-Bjergaard and Rasmussen, 1999). Bu yöntemde ekstraksiyon fazı tek kullanımlık bir oyuk fiber tüpünün duvarlarına emdirilmiş organik çözücü sayesinde fiberin içerisindeki alıcı faza ekstrakte edilir. Ekstraksiyon iki veya üç fazlı numune örnekleme modunda yapılır. İki fazlı örnekleme modunda, analit sulu numune içinden, oyuk fiberin yüzeyinde bulunan hem organik çözücüye hem de fiberin gözeneklerine ekstrakte edilir. Üç fazlı örnekleme modunda ise, analitler sulu numune içerisinden sıvı bir membran ile desteklenen organik çözücü içerisine sabitlenir ve daha sonra oyuk fiberin yüzeyinde bulunan alıcı faza hapsedilerek ekstrakte edilir. Üçlü faz örnekleme sistemi daha çok asidik ve bazik bileşiklerin ekstraksiyonu için uygundur. Alıcı faza hapsedilen analitler doğrudan analitik cihazda tayin edilir (Dadfarnia and Haji Shabani, 2010; Prosen, 2019; Sarafraz-Yazdi and Amiri, 2010). Şekil 2.10.'de yöntem şematik olarak gösterilmiştir;



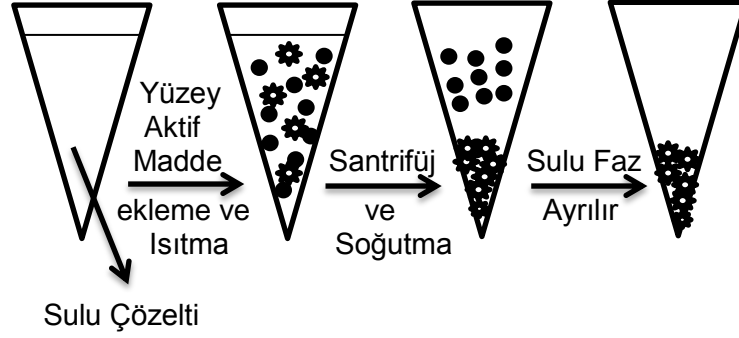
Şekil 2.10. HF-LPME yöntemi şematik gösterimi

HF-LPME yönteminin en önemli avantajları, basit, hızlı, seçiciliği yüksek olmasıdır. Ayrıca kullanılan oyuk fiberin tek kullanımlık olmasından ötürü safsızlığı engellediği için yüksek zenginleştirme faktörü elde edilir. Bunlara karşılık fiber üzerinde oluşan hava kabarcıkları ekstraksiyon verimini ve tekraredilebilirliği olumsuz etkilemektedir (Sarafraz-Yazdi and Amiri, 2010; Shen and Hian, 2002).

2.5.3.3. Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (CPE)

Zenginleştirme yöntemi olarak bulutlanma noktası ekstraksiyonu (CPE), hızlı uygulaması kolay, birbirinden farklı analitleri yüksek geri kazanım ve yüksek zenginleştirme faktörleri ile tayin eden düşük maliyetli bir yöntemdir (Ojeda and Rojas, 2009). CPE işleminin temeli, uygun reaktifler kullanarak hidrofobik bir kompleks oluşumunun sağlanmasının ardından analitin zenginleştirilmesine ve sulu fazdan ekstraksiyonuna dayanır (Şatiroğlu and Tokgöz, 2010). CPE üç temel basamaktan oluşmaktadır; (1) analitlerin misel içinde çözünmesi; (2) bulanıklaştırma; (3) analiz için faz ayrılması. Bir yüzey aktif madde kritik sıcaklığın üstüne kadar ısıtıldığında kolayca iki faza ayrılabilir; birinci faz kritik misel konsantrasyonuna eşit veya altında yüzey aktif madde içerir, ikinci faz ise yüzey aktif madde yönünden zengin fazdır. Çözelti içerisinde bulunan misellere bağlı hidrofobik bileşikler yüzey aktif madde yönünden zengin faz içerisine

hapsolarak burada ekstrakte edilir (Ojeda and Rojas, 2009). Şekil 2.11.' de yöntem şematik olarak gösterilmiştir;

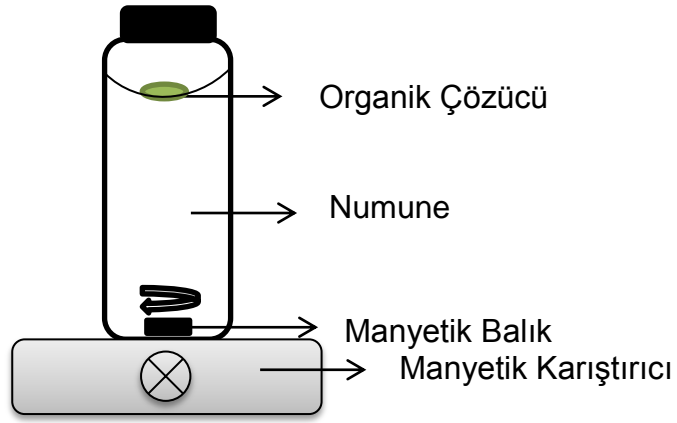


Şekil 2.11. CPE yöntemi şematik gösterimi

2.5.3.4. Yüzen Katılaştırılmış Organik Damla Mikroekstraksiyonu (SFODME)

yüzen katılaştırılmış organik damla mikroekstraksiyonu (SFODME) yöntemi, mikrolitre düzeyinde bir ekstraksiyon çözücüsünün kullanıldığı sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) çeşididir. LLE yöntemi ile karşılaştırıldığında en büyük fark, SFODME yönteminde tek damla olarak kullanılan organik ekstraksiyon çözücüsünün, erime noktası oda koşullarına yakın (10-30°C) ve yoğunluğunun da sudan daha düşük olmasıdır. Bu sayede damla kolayca donabilmekte ve sulu numuneden ayrılabilir. Denge elde edilene kadar sulu çözelti hızlıca karıştırılmakta, bu sayede maksimum doğruluk ve hassasiyet edilmektedir. (Wang et al., 2010).

Yöntemde analitin bulunduğu sulu çözelti içerisinde bir miktar organik çözücü eklenir ve numune hızlıca karıştırılır. Karıştırma sonrası numune kabı soğutulmuş donan ekstraksiyon çözücüsü ayrılarak oda koşullarında erimesi sağlanır ve analitik cihazda tayin edilir (Wang et al., 2010). Şekil 2.12.'da yöntem şematik olarak gösterilmiştir;



Şekil 2.12. SFODME yöntemi şematik gösterimi

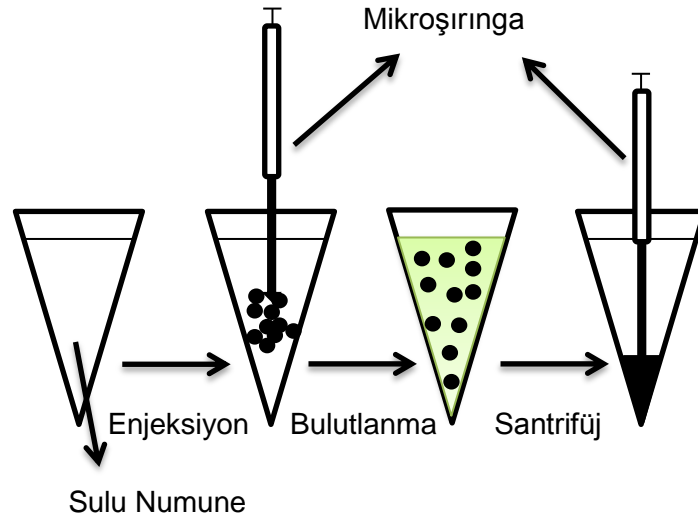
2.5.3.5. Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME)

Dağıtıcı sıvı- sıvı mikroekstraksiyon yöntemi ilk olarak Rezaee ve ekibi (Rezaee et al., 2006) ve Berijani ve ekibi (Berijani et al., 2006) tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemin en büyük avantajları, uygulaması kolay, hızlı, ucuz, yüksek geri kazanım ve zenginleştirme faktörünün olmasıdır (Zang et al., 2009).

DLLME yöntemi mikrolitre düzeyinde ekstraksiyon çözücüsü kullanılarak yapılan bir sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemidir ve analitlerin numune çözeltisi ve ekstraksiyon çözücüsü arasında dağılım dengesine ulaşması temeline dayanmaktadır (Zang et al., 2009). Bu yöntem lipofilik özelliği yüksek olan analitler için uygun bir yöntem olup hidrofilik özelliği olan nötr analitler için uygun değildir. Asidik ve alkali analitler içinse, numune çözeltisinin pH değeri kontrol edilerek analit iyonik olmayan formuna dönüştürülerek dispersiyon katsayısının yükseltilmesi sağlanır ve DLLME metodu uygulanabilir hale getirilir (Zang et al., 2009).

Yöntemde bir santrifüj tüpünün içerisine uygun miktarda numune çözeltisi koyulur. İçerisine bir şırınga yardımıyla ekstraksiyon çözücüsü eklenerek çalkalanır ve bulanık bir çözelti görüntüsü oluşur. Bu aşamada, numune ve ekstraksiyon çözücüsü arasındaki yüzey alanı sonsuz büyüklüktedir. Bu da, analitin numune içerisinden ekstraksiyon fazına geçişinin hızlı bir şekilde

olmasını sağlar. Bu sebeple ekstraksiyonda hızlı bir şekilde dengeye ulaşılır ve bu DLLME yönteminin en önemli avantajlarından biridir. Son olarak ekstraksiyon fazının dağılmış parçacıklarının santrifüjlenerek dibe çökmesi sağlanır ve çöken analit mikro bir şırınga yardımıyla alınarak, analitik cihazda tayin edilir (Zang et al., 2009). Şekil 2.13.' te yöntem şematik olarak gösterilmiştir;



Şekil 2.13. DLLME yöntemi şematik gösterimi

Yöntemin avantajları:

- Basit uygulanabilirlik
- Düşük Maliyet
- Hız
- Düşük örnek hacmi
- Yüksek gerikazanım oranı ve
- yüksek zenginleştirme faktörü (Alver et al., 2012; Sarafraz-Yazdi and Amiri, 2010; Zang et al., 2009)

Yöntemin Dezavantajları:

- Seçiciliğin kötü olması karmaşık örnekler için dezavantaj sağlar
- Kullanılan çözücülerin sınırlı olması (ekstraksiyon çözücüsünün yoğunluğunun sudan ağır olması gereksiniminden ötürü)
- Santrifüj gereksinimi (Alver et al., 2012; Sarafraz-Yazdi and Amiri, 2010; Zang et al., 2009)

2.6. Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon Yönteminin Verimini Etkileyen Faktörler

DLLME yönteminin verimini etkileyen pek çok parametre bulunmaktadır. Bunların başında; ekstraksiyon çözücüsü ve hacmi, pH, örnek hacmi, ekstraksiyon süresi gibi parametreler gelmektedir (Zang et al., 2009).

2.6.1. Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi

Uygun bir ekstraksiyon çözücüsünün seçimi DLLME yöntemi için en önemli parametredir. Ekstraksiyon çözücüsünde olması gereken iki temel özellik vardır. Bunlardan ilki, çözücünün yoğunluğudur. Yoğunluk suyunkinden daha yüksek olmalıdır ki bu sayede, çözücü ile sulu faz birbirinden ayrılıp, santrifüjleme sırasında faz ayrımını gerçekleştirebilsin. Ekstraksiyon çözücüsünde olması gereken ikinci özellik ise, tayin elementine özgü ekstraksiyon kabiliyetidir. Bu özellik de ekstraksiyon çözücüsünün sudaki düşük çözünürlüğü ile sağlanmaktadır. Bu özellikler dikkate alındığında halojenli hidrokarbonlar yüksek yoğunluklarından ötürü genellikle ekstraksiyon çözücüsü olarak seçilir (Zang et al., 2009).

2.6.2. Ekstraksiyon Çözücüsünün Hacmi

Kullanılan ekstraksiyon çözücüsünün hacmi zenginleştirme faktörü üzerinde önemli rol oynamaktadır. Ekstraksiyon çözücüsünün fazla kullanılması, santrifüjleme işlemi sonrasında elde edilen son organik faz hacminin fazla olmasına, dolayısıyla organik faz içerisinde bulunan analit derişiminin azalmasına neden olur. Bunun sonucunda da ekstraksiyonun geri kazanımı neredeyse aynı olmasına rağmen, zenginleştirme faktörü azalacak ve hedef

bileşikler için tayin duyarlılığı düşecektir. Bu nedenlerden dolayı optimum ekstraksiyon hacmi seçilirken hem santrifüj sonrası analize yetecek, hem de yüksek zenginleştirme faktörü elde edilecek miktarda olmalıdır. Genel olarak ekstraksiyon çözücüsünün hacmi 5-100 µL aralığında seçilmektedir (Zang et al., 2009).

2.6.3. Dağıtıcı Çözücünün Seçimi

Dağıtıcı çözücü, hem ekstraksiyon çözücüsünün içerisinde çözünmeli hem de su ile karışabilir olmalıdır. Bu sayede ekstraksiyon çözücüsünün sulu faz içerisinde zerrecikler şeklinde dağılmasına neden olarak bulutlu bir çözelti oluşmasını sağlar. Bu durumun gerçekleşmesi için, ekstraksiyon çözücüsü ile sulu faz arasındaki yüzey alanının olabildiğince geniş olması gerekmektedir. Bu sayede de yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmiş olur. Genel olarak kullanılan dispersif çözücüler metanol, etanol, asetonitril, aseton ve tetrahidrofurandır (Zang et al., 2009).

2.6.4. Dağıtıcı Çözücünün Hacmi

Kullanılan dağıtıcı çözücünün hacmi doğrudan bulutlu bir çözelti oluşmasını ve ekstraksiyon çözücüsünün sulu fazdaki dispersiyon derecesini ve dolayısıyla da ekstraksiyon verimliliği etkilemektedir. Genel olarak dağıtıcı çözücünün hacmi 0.5-1.5 mL aralığındadır (Zang et al., 2009).

2.6.5. pH Etkisi

DLLME işleminde analitin uygun kompleksleştirici madde ile hidrofobik metal kompleksi oluşturması ve kompleksin su fazından ekstraksiyon fazına geçişi için optimum pH çok önemlidir. Bu da ekstraksiyon verimliliğini doğrudan etkilemektedir (Aydin et al., 2015; Yılmaz and Soylak, 2015).

2.6.6. Sulu Örnek Hacmi

DLLME işleminin verimini etkileyen bir diğer parametre de sulu örneğin hacmidir. Sulu numunede belli bir hacme kadar zenginleştirme faktörü artarken, artan numune hacmi belli bir değerden sonra ekstraksiyon veriminde azalmaya neden olabilir (Soylak and Aydın, 2011).

2.6.7. Ekstraksiyon Süresi

DLLME yönteminde ekstraksiyon süresi, dağıtıcı çözücü ve ekstraksiyon çözücüsü karışması ile santrifüjleme arasında geçen zaman olarak tanımlanır. DLLME yönteminde ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimliliği üzerinde çok az etkisi olduğu bilinmektedir. Bunun nedeni, ekstraksiyon çözücüsünün bulutlu çözeltinin oluşumundan sonra eşit olarak dağılması, analitin sulu fazdan ekstraksiyon fazına geçişinin çok hızlı olması ve daha sonra denge durumuna çok hızlı bir şekilde ulaşılabilmesidir. Bu şekilde dengeye gelene kadar çok kısa bir ekstraksiyon süresi geçmiş olur. Kısa ekstraksiyon süresi DLLME yöntemi için büyük bir avantaj sağlar (Zang et al., 2009).

2.6.8. İyonik Kuvvetlerin Etkisi

Organik ekstraksiyon çözücüsünün ve hedef analitin sudaki çözünürlüğü yüksek geri kazanım elde etmek için oluşan iyonik kuvvetlerin artması ile düşer. Buna bağlı olarak oluşan organik faz hacmi artar ve bu da hem analit derişiminin hem de zenginleştirme faktörünün azalmasına neden olur (Zang et al., 2009).

2.7. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (AAS)

Atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAS), hem eser düzeydeki hem de majör derişimlerdeki metalik elementlerin ve metaloidlerin derişimlerinin tayini için kullanılan bir yöntemdir (Cantle, 1982). Atomik absorpsiyon spektroskopisi, çevresel, gıda, biyolojik, endüstriyel gibi hemen hemen her türlü numunede 65'den fazla eser elementin tayininde ve en çok analitik kimya alanında kullanılan bir yöntemdir (Albert Kh Gilmutdinov, 1999).

AAS adından da anlaşılacağı üzere serbest düzeydeki atomlar tarafından, tayin elementine özgü dalga boyunda uyarılmış düzeye geçerken absorplanan ışımının ölçümüdür (Cantle, 1982; Lobinski and Marczenko, 1996). Toplam absorpsiyon miktarı serbest düzeydeki atomların miktarına ve bu atomların absorplama derecesine bağlıdır (Cantle, 1982). AAS ile tayin edilecek olan maddelerin çoğunluğu yoğunlaştırılmış fazdadır. Atomik absorpsiyon yönteminde diğer absorpsiyon yöntemlerinde olduğu gibi sadece gaz fazında bulunan serbest atomların tayini yapılabilir. Bu nedenle çözelti içerisinde tayin edilmesi istenen maddelerin gaz fazına geçirilmesi gerekir. Gaz fazına geçen atomların nicel analizi tayin elementine has karakteristik dalga boyunda, ışın kaynağından çıkan ışımının ile absorpsiyonu sayesinde yapılır (Albert Kh Gilmutdinov, 1999).

Serbest atomlar tarafından absorplanan ışım miktarı ile numune derişimi arasında doğrusal bir ilişki vardır. Bu eşitlik Beer-Lambert yasası tarafından formüle edilmiştir (Cantle, 1982; Skoog et al., 2007)(Eşitlik 2.5);

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon bc \quad (2.5)$$

A: Absorbans

T: Geçirgenlik, %

I_0 : Gelen Işının Şiddeti

I : Çıkan Işının Şiddeti

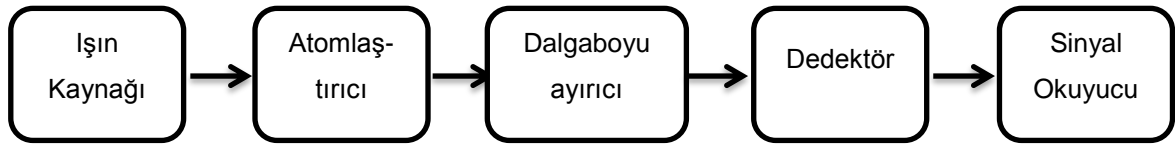
ϵ : Molar Absorbite, L/mol.cm

c: Absorpsiyon yapan maddenin derişimi, mol/L

b: Işın Yolu, cm

Atomik absorpsiyon spektrometresinin beş temel bileşeni bulunmaktadır (Elmer, 1996);

- Işın kaynağı
- Numune atomlaştırıcı
- Analiz elementine has dalga boyunun diğerlerinden ayrımı için dalgaboyu ayırıcı
- Işın yoğunluğunu ölçen ve sinyali güçlendiren bir dedektör
- İşlem sonrası okumayı gösteren ekran



Şekil 2.14. AAS' nin bileşenleri

2.7.1. Işın Kaynakları

Atomik absorpsiyon yöntemlerini diğer yöntemlerden ayıran özellik, absorpsiyon çizgilerinin dar olması ve her elemente has geçiş enerjisi olmasıdır. AAS' de kullanılacak ışın kaynakları bu dar çizgilerin örtüşmesinden kaynaklanacak olan girişimleri engelleyecek incelikte hatlar üretmelidir. AAS içerisinde kullanılan ışın kaynakları UV-Görünür bölge içerisinde ışın yaymaktadır. (Skoog et al., 2007). Ayrıca kullanılan ışın kaynağın elemente has dalga boyunda ışın üretmesi gerekir (Lobinski and Marczenko, 1996; Skoog et al., 2007). Beer-Lambert yasasında belirtildiği gibi absorpsiyon sinyali ve derişim arasındaki doğrusal ilişkinin sağlanması için ışın kaynağından çıkan ışının dalga boyu absorpsiyon pikinden daha dar olmalıdır ve bu durum analit derişimiyle doğrusal olarak ilişkilendirilir (Skoog et al., 2007).

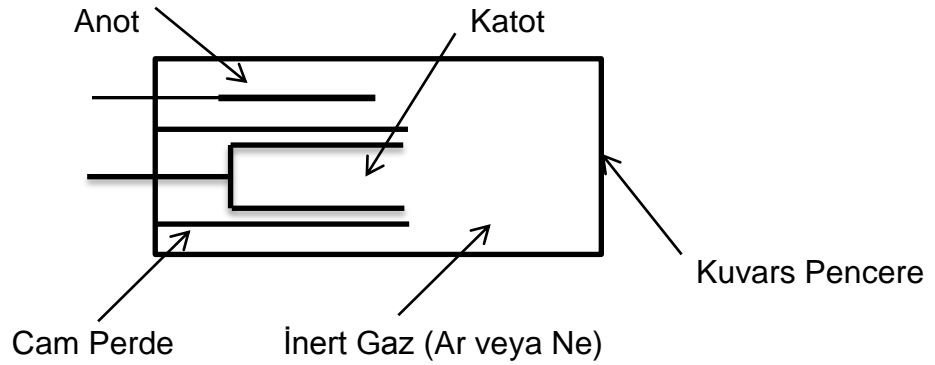
AAS' de başlıca kullanılan ışın kaynakları

- Oyuk Katot Lambaları (OKL) ve
- Elektrotsuz Boşalım Lambalarıdır (EDL) (Lobinski and Marczenko, 1996).

AAS yöntemin en büyük dezavantajı, her bir analiz elementi için ayrı bir ışın kaynağının kullanılmasının gerekliliğidir (Skoog et al., 2007). Bazı element kombinasyonları için çoklu ışın kaynakları bulunmaktadır. Ancak bunlar tek elementli lambalardan daha pahalıdır ve rutin analizler yerine nadiren veya yedek kaynaklar olarak kullanılırlar (Lobinski and Marczenko, 1996).

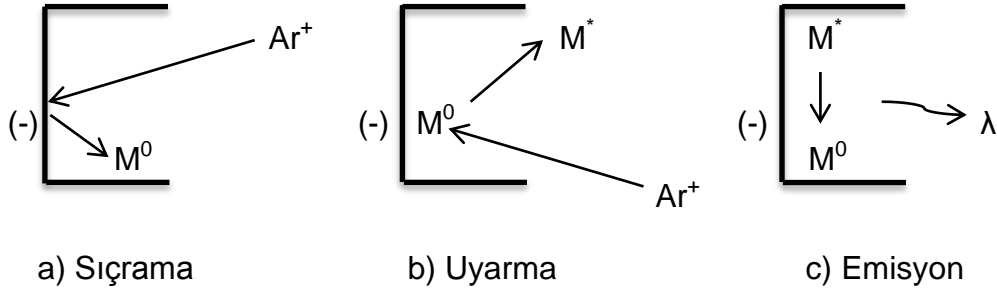
2.7.1.1. Oyuk Katot Lambası

Oyuk katot lambaları (OKL) AAS' de en çok kullanılan ışın kaynağıdır (Skoog et al., 2007). Bu lambalar Şekil 2.15.'de de görüldüğü gibi içi 1-5 torr basınçta argon veya neon ile doldurulmuş kapalı bir cam tüptür. OKL ışın kaynakları cam tüp içerisine oturan silindirik katot ve tungsten bir anottan oluşur. Katot tayin edilmesi istenen metalden veya bu metal ile kaplı başka bir metalden yapılır (Skoog et al., 2007).



Şekil 2.15. Oyuk katot lambaları (OKL)

Anot ve katot elektrotları arasına uygulanan 300-400 V' luk bir gerilim ile lamba içerisinde bulunan inert gaz atomlarını iyonlaştırır. Pozitif yüklü olan asal gaz iyonları negatif yüklü katoda çarparlar. Eğer yeterince yüksek bir voltaj uygulanırsa bu çarpışma sonucunda metal iyonları koparak gaz fazına geçerler. Bu duruma sıçrama adı verilir. Sıçramaya uğramış atomlar uyarılmış haldedirler ve söz konusu metalin karakteristik ışınmasını yayarlar (Cantle, 1982; Skoog et al., 2007).



Şekil 2.16. Oyuk katot lambaları emisyon mekanizması

Numune içerisindeki atomlar sadece kendi karakteristik dalga boylarında absorpsiyon yaparlar. Bu nedenle ışın kaynağının söz konusu element ile aynı dalga boyunda ışın yayması gerekir. Bu da, tayin edilmek istenen element ile aynı elementten yapılmış OKL ile sağlanır. AAS yöntemi için bu önemli bir avantaj sağlamıştır çünkü farklı elementlerin absorpsiyonundan kaynaklanan girişimler engellenmektedir. Yöntemin dezavantajı ise her elementin tayininde o elemente özgü farklı ışın kaynağı kullanılmasının gerekmesidir. Bunun da önüne geçilebilmek için katodu birkaç metalin karışımını içeren multi-elementli OKL' ler üretilmiştir (Cantle, 1982; Skoog et al., 2007).

Oyuk katot lambalarının en önemli avantajları (Cantle, 1982);

- Çok dar çizgi oluştururlar, bu sayede emisyon çizgilerinin genişliği absorpsiyon çizgilerinin genişliğinin onda biri kadar olur (Cantle, 1982).
- Emisyon çizgileri ile absorpsiyon çizgileri aynı dalga boyuna sahiptirler bu da ışın kaynağının optimum absorpsiyon için doğru dalga boyunda emisyon sinyali verdiği anlamına gelir (Cantle, 1982).
- OKL AAS' de tayin edilebilecek bütün elementler için üretilebilir. Bu elementlerin hepsi katot malzemesi olarak rahatlıkla eklenebilir (Cantle, 1982).
- Kullanımı oldukça kolaydır. Tek gerekli olan şey elektrotları uygun bir güç kaynağına bağlayarak akımı doğru olarak ayarlamaktır. Karmaşık ayarlamalar ve çevre koşullarından etkilenme söz konusu değildir (Cantle, 1982).
- Kararlı ve şiddetli ışın yayarlar (Cantle, 1982).

- Maliyetleri daha ucuzdur. Çoğu satıcı OKL için iki yıllık ömrü yani ortalama 1000 saatlik çalışma süresini garanti eder (Cantle, 1982).
- OKL ucuz ve kararlı ışın üreten kaynaklardır. Ancak UV görünür bölgesinde zayıf ışın şiddetine ve uçucu bileşikler için kısa ömre sahiptirler (Elmer, 1996; Lobinski and Marczenko, 1996).

2.7.1.2. Elektrotsuz Boşalım Lambası (EDL)

Çoğu elementin tayini için ışın kaynağı olarak oyuk katot lambaları iyi bir kaynaktır. Ancak bazı durumlarda analiz kalitesi oyuk katot lambalarındaki sınırlandırmalar nedeniyle düşmektedir. Özellikle uçucu maddeler için zayıf ışın şiddeti ve lamba ömrünün kısa olması bu nedenlerin başında gelmektedir. Bu tarz uçucu elementlerin AAS' de tayini için elektrotsuz boşalım lambaları gibi daha şiddetli ve kararlı ışın yayan kaynaklar geliştirilmiştir (Elmer, 1996).

Elektrotsuz boşalım lambaları tayin edilmek istenen metalin kendisini veya tuzunu ve birkaç tor basınçta inert bir gaz içeren kapalı kuvars bir tüpten yapılmıştır (Elmer, 1996; Skoog et al., 2007). Bu lambalar içinde elektrot bulunmaz (Skoog et al., 2007). Bunun yerine atomlar şiddetli radyo frekansı veya mikrodalga ışınları ile uyarılır. Öncelikle inert gaz atomları iyonlaşır, hızlanan iyonlar tayin edilmek istenen metal atomlarına çarparak bunların uyarılmasını sağlar (Skoog et al., 2007).

EDL, OKL ışın kaynaklarına göre özellikle uçucu bileşikler için güçlü ışın yayarlar (Lobinski and Marczenko, 1996). Oyuk katot lambalarının onlarca hatta yüzlerce katı güçte ışın yayarlar (Skoog et al., 2007). Bu da sinyal gürültü oranında önemli bir iyileşmeye neden olur ve bu sayede de analiz sonuçlarında yüksek hassasiyet ve doğruluk sağlanır (Elmer, 1996; Lobinski and Marczenko, 1996). EDL ışın kaynaklarının ömürleri OKL ışın kaynaklarına göre daha uzundur ancak daha az kararlıdır. EDL ışın kaynakları için yaklaşık 30 dakikalık ısınma süresi gereklidir ve sınırlı sayıda element için kullanılabilir (Lobinski and Marczenko, 1996).

2.7.2. Atomlaştırıcılar

Bir atomik absorpsiyon tayininin ilk basamağı tayin edilmek istenen elementin temel düzeydeki gaz fazında atomlarının ya da iyonlarının olduğu atomlaşma basamağıdır (Albert Kh Gilmutdinov, 1999; Skoog et al., 2007). Analizin kesinliği ve doğruluğu atomlaştırma basamağıyla doğrudan ilgili olduğu için yontemin en önemli basamağı atomlaştırma basamağıdır (Skoog et al., 2007). AAS de en çok kullanılan atomlaştırma yontemleri alevli atomlaştırma ve elektrotermal atomlaştırıcılarıdır. Bunların haricinde soğuk buhar, hidrür oluşumu tekniği gibi farklı özel atomlaştırma teknikleri de geliştirilmiştir (Albert Kh Gilmutdinov, 1999).

2.7.2.1. Alevli Atomlaştırıcılar

Yaklaşık olarak 0.5-2.0 mL numune çözeltilisinin kapiler bir boru ile çekilerek yanan aleve bir nebulizer (sisleştirici) yardımıyla püskürtülmesi ile gerçekteşen atomlaşma işlemidir (Albert Kh Gilmutdinov, 1999; Cantle, 1982; Skoog et al., 2007). Böylece, farklı damlacık boyutlarına sahip bir aerosol oluşmuş olur (Cantle, 1982). Alevli atomlaştırıcıların performansı, nebulizasyon verimliliğine, aleve giren numune aerosolün damla boyutuna ve sinyalin dalgalanma seviyesine bağlıdır (Lobinski and Marczenko, 1996).

Numune aleve püskürtüldükten sonra ilk olarak çözücü uçar ve ardından molekül aerosoller oluşur. Ardından aerosoller uçararak gaz moleküllerinin oluşması sağlanır. Oluşan bu gaz moleküllerinin ayrışması ile de atomik gaz oluşur. Gaz içerisindeki atomların bir kısmı proton ve elektronları oluşturarak iyonize olur. Yakıtın yükseltgen ve numune içerisindeki çeşitli türler ile etkileşimi sonucu alevin içinde diğer atom ve moleküller oluşur (Skoog et al., 2007).

Bu sisteminde alevde gaz fazında kimyasal reaksiyon gerçekteşir. Atomik absorpsiyon için ideal alev, atomların arasındaki kimyasal bağları koparmak için yeterli miktarda termal enerjiye sahip olmalıdır (Cantle, 1982). AAS de en yaygın kullanılan alevler yaklaşık 2500 K (~2300 °C) sıcaklık sağlayan hava-asetilen (C₂H₂) alevi ve 3000 K'nin (~2800 °C) üzerinde sıcaklık sağlayan nitröz

oksit (N_2O) - asetilen (C_2H_2) alevidir (Albert Kh Gilmutdinov, 1999; Cantle, 1982). Yanıcı (yakıt) ve yakıcı (oksidant/yükseltgeyici) gaz karışımı, analiz edilecek elemente uygun alev koşulları sağlayacak şekilde seçilir (Cantle, 1982). Yakıcı gazın seçimi gereken alev sıcaklığına ve serbest atomların üretimi için gerekli bileşime bağlıdır. Bu sıcaklıklar elementin moleküler veya kimyasal formunu değiştirir (Cantle, 1982).

Alevin yüksek sıcaklık ve entalpisi ile kimyasal etkileşimlerle atomlaşma gerçekleşir (Albert Kh Gilmutdinov, 1999). Hava- C_2H_2 alevi genellikle daha kolay atomlaşabilen elementler için kullanılırken, alternatif olarak kullanılan $N_2O-C_2H_2$ alevinin gürültü oranı yüksek olduğu için kullanımı daha zordur. Hava- H_2 alevi daha düşük sıcaklık sağladığı için matriks girişimlerinin önüne geçmeye yeterli olmaz ve aleve sadece gaz halindeki numunelerin verileceği durumlarda kullanılabilir (Lobinski and Marczenko, 1996). Kullanılan alev çeşitleri ve özellikleri Çizelge 2.7. de belirtilmiştir (Cantle, 1982; Skoog et al., 2007).

Çizelge 2.7. Kullanılan alev çeşitleri ve özellikleri

Yakıcı (Yükseltgeyici) Gaz	Yanıcı (Yakıt) Gaz	Sıcaklık (°C)	Yanma Hızı (cm sn ⁻¹)
Hava	Doğal Gaz	1700-1900	39-43
Hava	Hidrojen	2000-2100	300-400
Hava	Asetilen	2100-2400	158-266
Hava	Propan	1930	45
Nitröz oksit	Hidrojen	2650	390
Nitröz oksit	Asetilen	2600-2800	285
Oksijen	Doğal Gaz	2700-2800	370-390
Oksijen	Hidrojen	2550-2700	900-1400
Oksijen	Asetilen	3050-3150	1100-2480

Yanma hızı alevli atomlaştırıcılar için önemlidir. Çünkü alev sadece belirli bir gaz akış hızında kararlıdır. Eğer gaz akış hızı yanma hızını aşmazsa alev brülöre geri döner, akış hızı arttıkça alev brülörün üzerindeki bir noktaya ulaşınca kadar yükselir ve yanma hızı ile akış hızı eşit olan kadar bu yükselme devam eder. Bu bölge alevin kararlı olduğu bölge olarak tanımlanır (Skoog et al., 2007). Bu nedenle sıkı kontrol gerektiren parametrelerden biri hem yanıcı hem de yakıcı gazın akış hızıdır.

Alevli atomlaştırıcılar, AAS ile analizde bir numune çözeltisinden serbest nötral atomlar üretebilmek için etkili bir yöntemdir. Bu atomlaştırma tekniğinin AAS de kullanımındaki avantajları aşağıda sıralanmıştır (Cantle, 1982).

- Kullanımı kolay ve güvenilirdir. Ayrıca, kullanılan alevlerin çoğu gürültüsüzdür.
- Yakma sistemleri küçük, dayanıklı ve ucuzdur. Örnek çözeltiler bir nebülizör yardımıyla kolay ve hızlı şekilde atomlaştırılıp analiz edilir.
- Birçok farklı analitik tayin için farklı alev kombinasyonları bulunmaktadır (Çizelge 2.7.). Yapılmak istenen analizin optimum koşullarına göre istenen uygun alev kombinasyonu seçilebilir.
- Elde edilen sinyal/gürültü oranı, 190-900 nm aralığındaki farklı dalga boylarında yapılan analizlerde gerekli hassasiyeti ve kesinliği elde etmek için yeterince yüksektir.

Alevli atomlaştırıcıların avantajlarının yanında kullanımı zorlaştıran bir takım dezavantajlar da bulunmaktadır. Bunları şöyle sıralayabiliriz (Cantle, 1982; Skoog et al., 2007);

- Analiz esnasında birkaç mL numuneye ihtiyaç duyulduğundan mevcut numune hacmi analiz için yeterli olmayabilir. Numune derişimi yüksekse seyreltme işlemi yapılarak hacim artırılabilir ancak hassasiyet sebebiyle düşük derişimler için bu mümkün değildir.
- Alev, katı parçacıkları veya viskoz sıvıları atomlaştırmada başarılı değildir.
- Bir kullanıcı olmadan analizin yapılması mümkün değildir.

- Analiz dalga boyunda alevdeki absorpsiyon ve emisyon veya bu dalga boyunda analit ve matristen gelen termal emisyon, yüksek gürültüye ve dolayısıyla hassasiyet kaybına neden olabilir.
- Örnekleme verimi düşüktür. Çünkü çekilen numunenin büyük bir kısmı atığa gitmektedir ve oluşan atomların alev içindeki optik yolda kalma süreleri kısadır.

2.7.2.2. Elektrotermal Atomlaştırıcılar

1969 yılında, AAS'nin kullanım alanını genişletmek, tayin limitini daha düşük seviyelere indirmek amacıyla grafit fırın olarak da bilinen elektrotermal atomlaştırıcı içeren AAS cihazları (GF-AAS) piyasaya çıkmıştır (M. Stoeppler, 1992).

Elektrotermal atomlaştırmada sistem bir grafit tüp içerisine enjekte edilen mikrolitre düzeyinde numunenin elektrik akımı kullanılarak buhar aerosolünün oluşturulmasına dayanır (Lobinski and Marczenko, 1996). Genellikle 10-50 μL numune, ilk olarak çözücünün uzaklaştırılması için kademeli olarak ısıtılır (Skoog et al., 2007; Welz and Sperling, 1999). Eklenen numune önce düşük sıcaklıkta buharlaştırılır ve ardından elektrik ile ısıtılan bir grafit tüpte daha yüksek bir sıcaklıkta numunenin kül olması sağlanır. Küllenmenin ardından akım birkaç yük ampere hızlıca yükselir ve bu sayede sıcaklık 2000-3000 $^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar çıkar. Bütün bu numunedeki atomlaşma süreci birkaç mili saniye ile saniyeler arasında gerçekleşir. Buhar daha sonra sıcak yüzeyin hemen üzerindeki bölgede ölçülür (Skoog et al., 2007).

Atomlaştırma sisteminde, sıcaklık ve zaman programının seçimi hem analitin hem de matrisin uçuculuğuna bağlıdır ve her bir uygulama için optimize edilmesi gerekir (Lobinski and Marczenko, 1996).

Elektrotermal atomlaştırıcılar alışılmışın aksine çok az miktardaki numune hacimleri (0.5-10 μL) için yüksek hassasiyet sunmaktadır bu sayede de 60' dan

fazla elementin ultra eser miktardaki tayinine olanak sağlamaktadır. (Elmer, 1996; Skoog et al., 2007). Elektrotermal atomlaştırıcılar, geleneksel alev tayinine göre 1000 kat daha düşük tayin limiti sağlamaktadır (Elmer, 1996). Kütle spektrometreleri (MS) hariç GF-AAS rutin analizler için en hassas sonuç veren yöntemdir ve bunun en büyük sebebi atomlaşma sırasında, atomik türlerin optik ışın yolu içinde 0.5 saniyelik bir süre boyunca yoğunlaşmasıdır. (Lobinski and Marczenko, 1996).

Elektrotermal atomlaştırıcılarda kullanılan grafit tüpler genellikle spektral olarak saf, yüksek yoğunluklu grafitten yapılırlar (Lobinski and Marczenko, 1996).

Elektrotermal atomlaştırıcıların avantaj ve dezavantajları;

- Düşük hacimdeki numune ile analiz yapılarak yüksek hassasiyetli sonuçlar elde edilmektedir. 0.5-10 μL numune hacminde analiz yapıldığında analiz sonuçlarındaki sapma limitleri 10^{-10} ile 10^{-13} g analit aralığında değişmektedir (Lobinski and Marczenko, 1996; Skoog et al., 2007).
- Analiz sonuçlarındaki tekraredilebilirlik alevli atomlaştırma yöntemine göre çok daha iyidir (Skoog et al., 2007).
- Ancak fırının ısınma ve soğuma basmakları olduğu için analiz süresi alevli atomlaştırıcılara göre daha uzundur (Skoog et al., 2007).
- Diğer bir dezavantaj ise analitik tayin aralığının dar olmasıdır (Skoog et al., 2007).

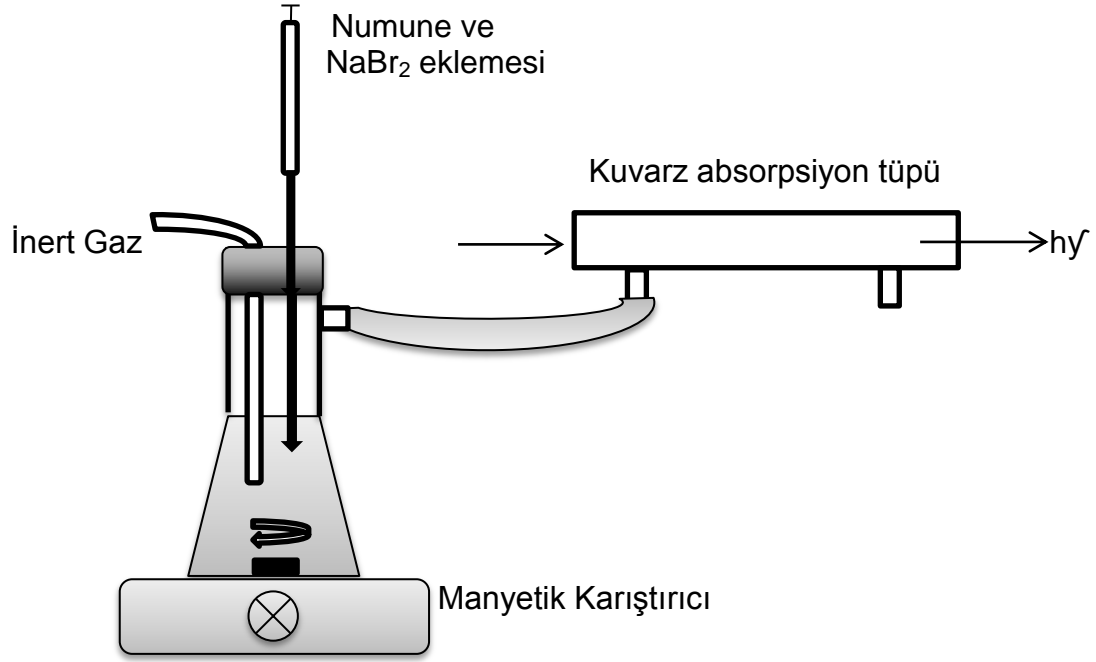
Sonuç olarak alevli atomlaştırmanın tayin limitinin yetersiz olduğu durumlarda elektrotermal atomlaştırma yöntemi kullanılmaktadır (Skoog et al., 2007).

2.7.2.3. Özel Atomlaştırma Teknikleri

AAS' de en çok kullanılan atomlaştırma yöntemleri elektrotermal ve alevli atomlaştırma olmasına rağmen bu iki sistem haricinde kullanılan başka yöntemler de bulunmaktadır (Skoog et al., 2007).

Soğuk Buhar Atomlaştırma: Atomik absorpsiyon yönteminde, çoğu elementin atomları oda koşullarında temel durumda bulunduğu için numuneye ısı uygulayarak moleküler haldeki bağları kırılır. Ancak civa atomları oda sıcaklığında dahi serbest halde bulunabilir ve herhangi bir ısıtma işlemine gerek kalmadan atomik absorpsiyonda ölçülebilir (Beaty and Kerber, 1993). Ayrıca civa oda koşullarında buhar basıncına sahip olan tek metalik element olduğu için bu yöntem ile ölçülebilen tek elementtir (Skoog et al., 2007).

Soğuk buhar yönteminde, civanın kapalı bir kap içerisinde kalay klorür ya da sodyum bor hidrür gibi güçlü bir indirgeyici ile reaksiyona sokularak indirgenmesi sağlanır (Beaty and Kerber, 1993; Skoog et al., 2007). Uçucu içermeyen elementel civa içerisinden daha sonra inert bir gaz geçirilir ve civa atomlarının atomik absorpsiyonun ışın yoluna yerleştirilmiş olan bir boru içerisine akışı sağlanır (Beaty and Kerber, 1993; Skoog et al., 2007). Bazen hücre suyun yoğunlaşmasını engellemek amacıyla az miktarda ısıtılabilir bunun dışında herhangi bir ısıtma işlemi uygulanmaz (Beaty and Kerber, 1993). Şekil 2.17. de sistemin çalışması şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.17. AAS için soğuk buhar atomlaştırma mekanizması (Skoog et al., 2007)

Hidrür Atomlaştırma: Hidrür sistemi yüksek seçicilik gerektiren metalik hidrür formundaki As, Se, Sb, Te, Bi ve Sn gibi elementlerin tayininde kullanılan yöntemdir (Elmer, 1996). Hidrür sistemi soğuk buhar atomlaştırma sistemiyle benzer özellikler taşır (Beaty and Kerber, 1993). Numuneler soğuk buhar sisteminde olduğu gibi genellikle sodyum bor hidrür gibi bir indirgeyici ile reaksiyona sokularak atomik absorpsiyon spektrometresinin ışın yolundaki örnekleme hücre sine inert bir gaz yardımıyla taşınır (Beaty and Kerber, 1993; Skoog et al., 2007). Soğuk buhar tekniğinden farklı olarak bu yöntemde, reaksiyon ürünleri serbest analit atomları yerine uçucu hidrürlerdir ve bu türler atomik absorpsiyona neden olmadığı için metal hidrürlerini serbest atomlar haline getirmek amacıyla numune hücresinin ısıtılması gerekir (Beaty and Kerber, 1993).

2.7.3. Monokromatörler (Dalga Boyu Seçiciler)

Pek çok analitik cihazda ışının dalga boyunu analize göre değiştirmek gerekir. Spektrum taraması adı verilen bu işlem monokromatörler tarafından yapılmaktadır (Skoog et al., 2007). Monokromatör, ışının enerjisini, intensitesini ışın detektöre ulaşmadan kontrol eder (Cantle, 1982). Tasarımları genel olarak birbirine benzer olan monokromatörlerde siliter, mercekler, pencereler, optik ağı ya da plazma bulunur ve ultraviyole, görünür ve infrared ışınlar için kullanılmaktadır (Skoog et al., 2007). Monokromatörlerde ışının ayırma gücü kullanılan spektroskopik yöntemdeki aletin üstünlüğü ile doğru orantılıdır (Skoog et al., 2007).

2.7.4. Detektörler

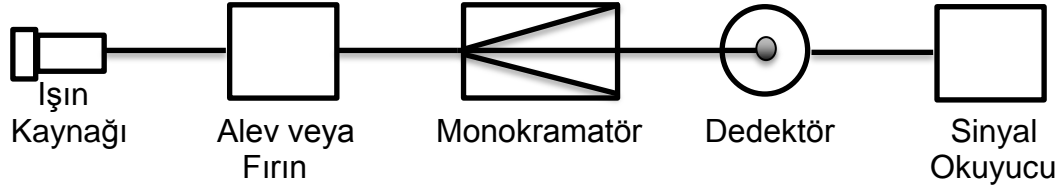
Detektör çevresinde meydana gelen elektriksel yük, elektromanyetik ışın, tanecik veya moleküller gibi parametrelerden herhangi birinde meydana gelen değişimleri algılayan, kaydeden düzenedir (Skoog et al., 2007). Detektör, ışın yoğunluğunu ölçüp, sinyali yükseltmeye yarar (Elmer, 1996). AAS'de dalgaboyu ayırıcı sayesinde ayrılmış olan ışın, detektör olarak kullanılan fotoçoğaltıcı tüp ile tayin edilir (Elmer, 1996).

2.7.5. Spektrofotometreler

Bir atomik absorpsiyon spektrometresinin optik sisteminin ışığı kaynaktan monokromatöre taşıyan kısmı fotometre olarak adlandırılır (Beaty and Kerber, 1993). Atomik absorpsiyon cihazlarında tipik olarak iki tip fotometre kullanılır; tek ışın yollu spektrometreler ve çift ışın yollu spektrometreler (Beaty and Kerber, 1993; Skoog et al., 2007).

2.7.5.1 Tek Işın Yollu Spektrometreler

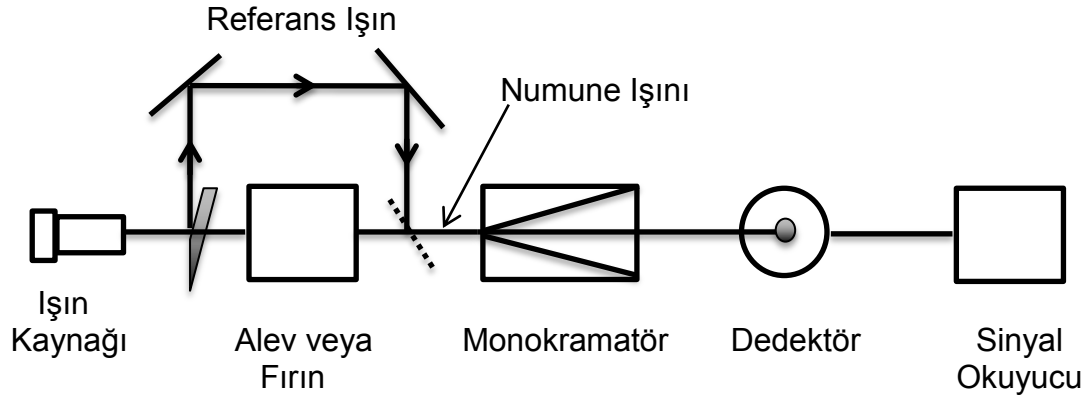
Şekil 2.18. tek ışın yollu spektrofotometreyi göstermektedir. Tüm ölçümler, tek bir optik yoldaki tek bir ışın huzmesinin değişen yoğunluğuna dayandığından "tek ışın" olarak adlandırılır (Beaty and Kerber, 1993). Bu cihazların en büyük avantajı az bileşene sahip olması ve dolayısıyla karmaşıklığının az olmasıdır. Bu nedenle yapımı kolay ve ucuzdur (Beaty and Kerber, 1993).



Şekil 2.18. Tek Işın Yollu Spektrofotometre

2.7.5.2 Çift Işın Yollu Spektrometreler

Çift ışın yollu spektrofotometrelerde, kaynaktan çıkan ışığın yarısı atomlaştırıcıdan diğer yarısı ise dışarıdan geçecek şekilde bir kesici ile ayrıştırılır. İki ışın daha sonra tekrar birleştirilerek monokromatöre iletilir (Beaty and Kerber, 1993; Skoog et al., 2007). Çift ışın yollu bir sistemde okuma, numune ve referans ışının oranını temsil eder. Bu nedenle, kaynak yoğunluğundaki dalgalanmalar cihaz okumasında dalgalanmalara dönüşmez ve kararlılık artar. Genel olarak, analizler lamba ısınması gerekmeden hemen yapılabilir (Beaty and Kerber, 1993; Elmer, 1996). Şekil 2.19. de çift ışın yollu spektrofotometre şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.19. Çift Işın Yollu Spektrofotometre

2.7.6. AAS'deki Girişimler

Atomik absorpsiyon az girişimin var olduğu özel bir tekniktir. Var olan girişimleri spektral ve spektral olmayan girişimler olarak iki temel kategoride toplayabiliriz (Beaty and Kerber, 1993; Elmer, 1996) Spektral olmayan girişimler, matriks girişimleri, kimyasal girişimler ve iyonlaşma girişimleridir. Spektral girişimler ise, emisyon girişimleri ve zemin absorpsiyonundan oluşur. Eğer var olan girişim çok iyi tanımlanabilirse engellemek mümkündür (Beaty and Kerber, 1993; Elmer, 1996; Skoog et al., 2007)

2.7.6.1. Spektral Girişimler

Spektral girişim, atomik absorpsiyon spektrometresinde nadiren görülür. Tayin edilmek istenen A elementi, B elementinin varlığında tespit edilmeye çalışılıyorsa; kaynak her iki elementi de içeriyorsa ve bunların absorpsiyon çizgileri monokromatör tarafından ayırlamadığında, B elementi girişime neden olmaktadır. Bazı eski oyuk katot lambalarında bu duruma çok sık rastlanırdı (Cantle, 1982). Bu girişim, tayin edilmek istenen elementin girişim yapan elementten farklı bir absorpsiyon hattında tayinini yapmakla engellenebilir (Cantle, 1982; Lobinski and Marczenko, 1996; Skoog et al., 2007). Ayrıca günümüzde katotların saflaştırma tekniklerindeki gelişmeler nedeniyle girişimlerin çoğu ortadan kalkmıştır (Cantle, 1982).

2.7.6.2. Zemin Engellemeleri/Absorpsiyonu

Bu engellemeler bir numunedeki tüm matriks türlerinin %100 atomlaşmamasından ve ortamdaki moleküler türlerin ışığa absorpsiyonu ya da emisyonundan kaynaklanır (Beaty and Kerber, 1993). Bu girişimi önlemek için, zemin absorpsiyonu ölçülmeli ve ölçülen toplam absorpsiyondan çıkarılmalıdır. İki absorpsiyonu birbirinden ayırmak kolaydır; element, yalnızca lambanın yaydığı dar çizgiyi absorplayabilir; zemin absorpsiyonu ise daha az spesifiktir ve geniş bir dalga boyu aralığında gerçekleşir (Beaty and Kerber, 1993; Elmer, 1996). Matriks ürünlerinin sebep olduğu bu girişimleri önlemek amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Skoog et al., 2007).

Çift Çizgi ile Düzeltme Yöntemi; Bu düzeltme yönteminde kayaktan gelen ve analit çizgisine yakın olan fakat analit tarafından absorplanmayan referans çizgi kullanılır. Analiz esnasında bu referans çizginin gücünde meydana gelen herhangi bir değişimin matriks ürünleri tarafından meydana geldiği düşünülür ve bu değişim miktarı daha sonra analit çizgisinin düzeltilmesinde kullanılır. Referans çizgisi oyuk katot lambasındaki herhangi bir safsızlıktan, lamba içindeki neon veya argon gazından gelebilir. Bu yöntemin dezavantajı her zaman bir referans çizgisinin bulunamamasıdır (Skoog et al., 2007).

Sürekli Işın Kaynağı ile Düzeltme Yöntemi; Zemin engellemelerini düzeltmenin bir diğer yolu olan bu yöntemde, ultraviyole bölge için sürekli bir ışın kaynağı olan döteryum ark lambası veya görünür bölge dalga boyu için tungsten iyodür lamba kullanılmaktadır (Elmer, 1996; Skoog et al., 2007). Sürekli ışın kaynağı belirli çizgiler yerine geniş bir dalga boyu aralığında sürekli ışın yaydığı için oyuk katot lambalarından ayrılır (Beatty and Kerber, 1993). Oyuk katot lambası ve sürekli ışın kaynağından gelen ışınlar yol üzerinde bulunan kesici sayesinde atomlaştırıcıdan sırayla geçerler, bu sayede ikisi arasındaki absorbans farkı hesaplanabilir (Elmer, 1996; Skoog et al., 2007). Ancak uygulanan bu yöntemin aşağıda verilen bazı sınırlayıcı yönleri bulunmaktadır;

- Cihazda ek olarak sürekli ışın kaynağına ihtiyaç vardır (Beatty and Kerber, 1993)
- Birincil ve sürekli ışın kaynaklarının şiddetlerinin yakın olması gerekir (Beatty and Kerber, 1993)
- Doğru düzeltme yapabilmek için birincil ve sürekli ışın kaynaklarının konumlarının çok iyi ayarlanması gerekir (Beatty and Kerber, 1993)
- Kesicinin eklenmesi sebebiyle sinyal/gürültü oranı çok küçülmektedir (Skoog et al., 2007)

Zeeman Zemin Düzeltme Yöntemi; Güçlü bir manyetik alana yerleştirilmiş bir atomun elektronik enerji seviyelerinde yarımalar gözlemlenir bu olaya Zeeman olayı denilmektedir (Beatty and Kerber, 1993; Skoog et al., 2007). Yarımalarla oluşan farklı seviyeler gelen ışığın dik konumdaki modlarını farklı şekillerde

absorplamaktadır ve bu şekilde analit ve zemin arasındaki absorpsiyon farkı elde edilmektedir. Bu yöntem, elektrotermal atomlaştırma için en faydalı zemin düzeltme yöntemidir (Skoog et al., 2007).

Zeeman zemin düzeltme yönteminin avantajları;

- Yüksek seviyelerde zemin absorpsiyonu yaparak düzeltme sağlar (Beatty and Kerber, 1993)
- Yalnızca tek bir standart ışın kaynağı gerektirir (Beatty and Kerber, 1993)
- Şiddet eşleştirmesi veya birden fazla kaynağın çakışarak hizalanmasını gerektirmez (Beatty and Kerber, 1993)

Belirtilen diğer yöntemlere göre daha doğru bir zemin düzeltme sağlar (Beatty and Kerber, 1993; Skoog et al., 2007).

2.7.6.3. Kimyasal Girişimler

Kimyasal girişimler AAS 'de diğer girişimlere göre daha yaygın olarak görülür ve çoğunlukla uygun çalışma koşullarının seçimiyle minimuma indirilebilir (Cantle, 1982; Skoog et al., 2007). Kimyasal girişimlerde, numune, alev sıcaklığında tamamen ayrılmayan analit tarafından termal olarak kararlı bileşikler (örneğin, refrakter fosfatlar, oksitler, silikatlar veya karbürler) oluşturur ve dolayısıyla temel düzeydeki atomların oluşması engellenmiş olur (Beatty and Kerber, 1993; Cantle, 1982; Lobinski and Marczenko, 1996). Bu girişimin en yaygın örneği, magnezyum, kalsiyum, stronsiyum, baryum ve diğer birçok metalin tayininde alüminyum, silisyum ve fosforun sebep olduğu girişimdir (Cantle, 1982).

Bu girişimin üstesinden gelmek için uygulanan iki yöntem bulunmaktadır;

Birincisi; girişim yapan tür ile termal olarak kararlı bir bileşik oluşturacak başka bir element veya bileşiğin ortama ekleyerek girişimi ortadan kaldırmaktır (Beatty and Kerber, 1993; Cantle, 1982).

İkinci yöntem ise; girişim, termal olarak kararlı analit bileşimini atomlaştırmak için yetersiz enerji nedeniyle ortaya çıktığı için, enerji miktarı artırılarak ortadan kaldırılabılır; yani, daha sıcak bir alev kullanarak kimyasal girişimin üstesinden gelinebilir. Bunun için de diazot oksit-asetilen alevinin kullanılması en uygundur (Beaty and Kerber, 1993; Cantle, 1982).

2.7.6.4. İyonlaşma Girişimleri

İyonlaşma girişimlerini anlamak için, bir numunenin alevde püskürtüldüğü sırada alevde meydana gelen olayları anlamak gerekir. Alev, elementleri temel düzeydeki atomlarına dönüştürmek için bir enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Cantle, 1982). Pek çok analizde nitroz oksit-asetilen alevinin kullanılması gerekir ve bunun gibi yüksek alev sıcaklığı kullanıldığında iyonlaşma girişimi meydana gelir (Beaty and Kerber, 1993; Cantle, 1982). Yüksek enerji uygulandığında, temel halde bulunan atom termal olarak uyarılmış duruma yükseltilebilirken aynı zamanda atomdan elektron koparak bir iyon oluşturulur. Bu durum absorpsiyon için mevcut olan temel haldeki atomlarının sayısını azalttığı için, rezonans dalga boyundaki atomik absorpsiyon azalır. Aşırı enerji, temel durum atomlarının popülasyonunu azalttığına, bir iyonlaşma girişimi oluşur (Beaty and Kerber, 1993). Diğer bir deyişle, iyonlaşma girişimleri, hava-asetilen alevinde, başlıca alkali ve bazı toprak alkali metaller için veya nitroz oksit-asetilen alevinde meydana gelen iyonlaşma nedeniyle serbest atom miktarındaki azalmadan kaynaklanır ve ölçülen absorpsiyonun azalmasıyla sonuçlanır (Beaty and Kerber, 1993; Lobinski and Marczenko, 1996).

İyonlaşma girişimi, daha kolay iyonize olan bir elementin fazlasının ortama eklenmesiyle alevde çok sayıda serbest elektron oluşturarak ve analitin iyonlaşmasını baskılayarak ortadan kaldırılabılır (Beaty and Kerber, 1993; Lobinski and Marczenko, 1996). Potasyum, rubidyum ve sezyum tuzları, iyonlaşma girişimini engellemek amacıyla yaygın olarak kullanılır (Beaty and Kerber, 1993; Cantle, 1982).

2.7.6.5. Fiziksel Girişimler

Fiziksel girişimler, numunenin viskozitesine, toplam tuz içeriğine, asitliğine, numuneyi çeken kılcal borunun uzunluğuna ve daldırma derinliğine bağlı olarak numune ve standartlar arasındaki nebulizör çekiş hızı ve nebulizasyondaki farklılıklar ile ilişkilidir. Numunenin matriks eşleşmesi veya seyreltilmesi ile kontrol edilirler (Lobinski and Marczenko, 1996).

2.7.6.6. Emisyon Girişimleri

Emisyon girişimleri, absorpsiyonun meydana geldiği dalga boyunda başka bir elementin emisyon yapması sonucu oluşur (Cantle, 1982). Bu girişim sonucunda düşük hassasiyet oluşur (Lobinski and Marczenko, 1996). Emisyon girişimi, kaynak akımını artırarak, silit genişliğini azaltarak ya da numuneyi seyrelterek giderilebilir (Cantle, 1982; Lobinski and Marczenko, 1996). Kaynak akımını arttırmak ya da yarı genişliğini azaltmak sinyal/gürültü oranında artışa neden olur (Cantle, 1982).

2.7.7. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinin Uygulama Alanları

Atomik absorpsiyon uygulama alanı geniş eski yerleşik kontrol edilmesi kolay bir tekniktir (Beatty and Kerber, 1993). Çeşitli atomlaştırma alternatifleri ile geniş derişim aralığındaki tayin limitleri ile 60' dan fazla sayıda metal veya metaloid elementin nicel analizi için hassas bir araçtır. (Beatty and Kerber, 1993; Skoog et al., 2007). Metalik olmayan elementler için rezonans çizgileri genellikle 200 nm' den daha kısa dalga boylarında bulunur ve yaygın olarak kullanılan spektrofotometrelerde vakum olmadığı için bu elementlerin ölçümü yapılamaz (Skoog et al., 2007).

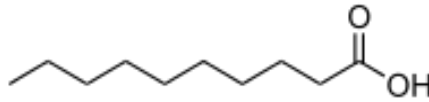
Alevli atomik absorpsiyon spektroskopisinde pek çok element için, tayin limitleri 1-20 ng/mL veya 0.001-0.020 ppm aralığındadır; elektrotermal atomlaştırma için karşılık gelen değerler ise 0.002-0.01 ng/mL veya 2×10^{-6} - 1×10^{-5} ppm' dir (Skoog et al., 2007).

Uygulama yapılan normal koşullar altında bir atomik absorpsiyon analizinde, bağıl analiz hatası %1 ile %2 arasındadır. Analiz esnasında alınacak özel tedbirler veya geliştirilen yöntemler ile bu hata oranı 10 kat daha düşürülebilir (Skoog et al., 2007).

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

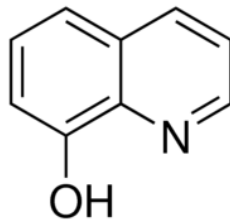
3.1. Reaktifler

Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) stok standart çözeltileri (1000 mg L^{-1}) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ tuzlarının (Merck, Darmstadt, Almanya) deiyonize suda çözünmesi ile hazırlanmıştır. Yöntemde hidrofiliği değiştirilebilir çözücü olarak bir yağ asidi olan dekanoik asit (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) kullanılmıştır. Dekanoik asidin ($\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_2$) erime noktası $31.6 \text{ }^\circ\text{C}$, yoğunluğu 0.8930 g cm^{-3} ve pK_a değeri 4.90 olup, oda koşullarında beyaz renkli kristal yapıdadır. Kimyasal formülü Şekil 3.1.' de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Dekanoik asidin kimyasal yapısı

Kompleksleştirici madde olarak, $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$ kimyasal formülüne sahip 8-Hidroksikinolin (8-HQ) (BDH, Poole, İngiltere) kullanılmıştır. 8-HQ, $145,16 \text{ g mol}^{-1}$ molekül kütlesine, $76 \text{ }^\circ\text{C}$ ' nin üzerinde erime noktasına sahiptir ve alkolde çözülebilen, beyaz renkli bir maddedir. Şekil 3.2.' de kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 3.2. 8- Hidroksikinolinin kimyasal yapısı

Bakır, kadmiyum ve kurşun mikroekstraksiyonu için örnek pH'sını ayarlamak amacıyla $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{HCl}$ ve $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ tampon sistemleri kullanılmış olup CH_3COONa Sigma Aldrich St. Louis, MO, ABD' den diğer tüm reaktifler ise Merck, Darmstadt, Almanya'

dan sağlanmıştır. Deneylerde öncelikle uygun ekstraksiyon çözücüsünü seçmek için n-oktanoik asit (OA) (BDH, Poole, İngiltere), nonanoik asit (NA) (BDH, Poole, İngiltere) ve dekanoik asitin (DA) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) ile çalışmalar yapılmıştır. Çalışmalarda hidrofiliği değiştirilebilir çözücünün, hidrofobik özelliğini değiştirmek ve aynı zamanda efervesan oluşturmak için Na_2CO_3 (Merck, Darmstadt, Almanya) ve tekrar hidrofobik özellik sağlamak için proton vericisi olarak H_2SO_4 (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Ekstraksiyon fazını çözmek ve seyreltmek amacıyla kullanılan asidik etanolü hazırlamak için etanol (Merck, Darmstadt, Almanya) ve HCl (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Bütün çözeltilerin hazırlanmasında ve seyreltilmesinde ultra saf su kullanılmış olup iletkenliği $18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ dir. Gerçek numunelerin mikrodalga parçalamasında HNO_3 (Merck, Darmstadt, Almanya) ve H_2O_2 (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Gerçek numunelerin pH ayarlamasında NH_3 (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Aksi belirtilmedikçe kullanılan bütün kimyasallar analitik reaktif sınıfındadır.

3.2. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

Zenginleştirilmiş çözelti içerisindeki Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) tayininde, Perkin-Elmer AAnalyst 800 alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Perkin Elmer, ABD) kullanılmıştır. Ölçümlerde akış hızı $17.0/2.0 \text{ L dk}^{-1}$ olan hava/asetilen alevi ve döteryum zemin düzeltmesi yöntemi kullanılmıştır. Analizlerde ışın kaynağı olarak elementlere has oyuk katot lambası (OKL) kullanılmıştır. Cu(II) için lamba akımı 15 mA ' e, dalgaboyu 324.8 nm ' ye ve slit genişliği ise 0.7 nm ' ye, Cd(II) için lamba akımı 4 mA ' e, dalgaboyu 228.8 nm ' ye ve slit genişliği ise 0.7 nm ' ye, Pb(II) içinse lamba akımı 10 mA ' e, dalgaboyu 283.3 nm ' ye ve slit genişliği ise 0.7 nm ' ye ayarlanmıştır. Bütün çözeltilerin hazırlanmasında ve seyreltilmesinde, Merck Millipore Simplicity (Darmstadt, Almanya) ultra safsu cihazı kullanılmıştır. Tüm pH ölçümleri, pH elektrodu bulunan dijital pH metre ile gerçekleştirilmiştir (IsoLab, Laborgeräte GmbH, Almanya). Dekanoik asit oda koşullarında katı halde bulunduğu için ekstraksiyon işlemi boyunca örnekler su banyosu (Kudos, SK3310LHC, Şangay) içinde tutulmuştur. Ekstraksiyon sonunda numunelerde meydana gelen faz ayrımını kolaylaştırmak için santrifüj cihazı kullanılmıştır (Hettich-Eba 21, Almanya). Santrifüj sonrası ekstraksiyon

fazını sulu fazdan kolaylıkla ayırabilmek için, dekanoik asitin hızlıca katılaştırmasını sağlamak amacıyla numuneler buzdolabına koyulmuştur. Gerçek gıda numunelerinin kurutulmasında Memmert UN110 model (Schwabach, Almanya) etüv, öğütülmesinde Retsch RM 200 model (Düsseldorf, Almanya) havanlı değirmen kullanılmıştır. Öğütülen numunelerin çözünmesinde Milestone Ethos One (Soriso, İtalya) model mikrodalga numune parçalama sistemi kullanılmıştır.

3.3. Deneyin Yapılışı

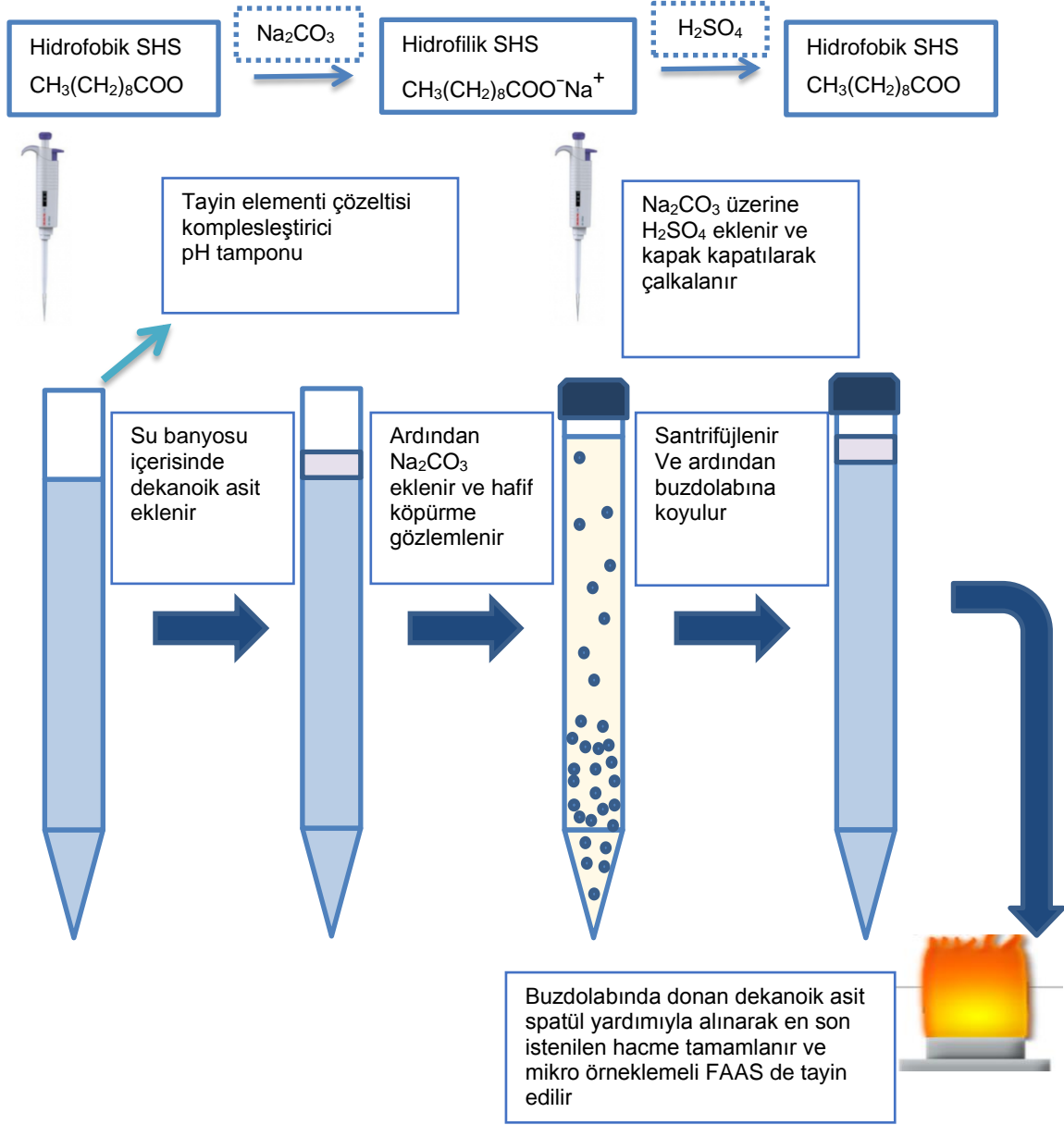
Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonu için hidrofilikliği değiştirilebilir çözücü temelli dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon (SHS-DLLME) yönteminin uygulanmasının ardından mikro-örneklemeli FAAS ile tayini hedeflenmiş ve işlem basamakları detayları aşağıda verildiği şekilde uygulanmıştır:

Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonu için 15 mL' lik konik santrifüj tüpünde, 10 mL örnek veya standart çözelti (Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) içeren) içerisine CH₃COOH/CH₃COONa pH tamponu, tayin edilmek istenen metal iyonlarının hidrofobik komplekslerini (metal-8-HQ) oluşturmak için %0.1 (w/v) 8-HQ kompleksleştirici eklenerek 40°C' lik su banyosu içerisine yerleştirilmiştir. Ekstraksiyon çözücüsü olarak değiştirilebilir çözücü olan dekanoik asit kullanılmıştır. Oda koşullarında katı halde bulunan dekanoik asidin de yine 40°C' lik su banyosu içerisinde sıvı hale geçmesi sağlanmış ve bu şekilde deney ortamına transfer edilmiştir. Çözelti içine 75 µL suyla karışmayan hidrofobik karakterli dekanoik asit (CH₃(CH₂)₈COOH) eklenmiş ve ardından dekanoik asidin hidrofilik karakter kazanması (dağılıbilir/karışabilir olması) için 0.1 M Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiştir. Sulu ortamda sodyum karbonat ile verdiği tepkime sonucu dekanoik asit sodyum dekanoata (CH₃(CH₂)₈COO⁻Na⁺) dönüştürülmüş aynı zamanda efervesan oluşumu sayesinde dispersiyonun miktarı da artırılmıştır. Bu aşamada temel amaç metal-8-HQ komplekslerinin sulu ortamdaki değiştirilebilir çözücüye ekstraksiyon kapasitesini arttırmaktır. Ekstraksiyonun ardından faz ayrımı, ortama 0.1 M

H₂SO₄ eklenerek sodyum dekanonatın tekrar dekanolik aside dönüştürülmesi ve tekrar hidrofobik (dağılmaz/karışmaz) karakter kazandırılması ile sağlanmıştır.

Bu uygulamaların ardından numuneler 6000 rpm de 7 dk santrifüjlenerek metal kompleksiyle zenginleştirilmiş fazın (metal-8 HQ-SHS), sulu fazdan ayrılması sağlanmıştır. Santrifüjleme sonrası yoğunluğu sudan daha düşük olan ekstraksiyon fazı tüpün üst kısmında toplanmıştır. Faz ayrımı tamamlanan numuneler buzdolabına konulmuş ve dekanolik asitin kısa sürede donması sağlanmıştır. Altta kalan sıvı faz dekante edildikten sonra üstteki katı faz bir spatül yardımıyla alınıp asidik etanol ile 300 µL' ye tamamlanmıştır. Seyreltilen numunelerin tayini mikro-örneklemeli FAAS ile sağlanmıştır (Barfi et al., 2015). Bu sistem için özel olarak yapılan kapiler boru yardımıyla numunelerin aleve enjeksiyonu sağlanmış ve gözlenen absorpsiyon pikinin tepe yüksekliği okunarak Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) tayini yapılmıştır. Metal iyonu içermeyen tanık çözeltilere de tüm prosedür anlatıldığı şekilde aynen uygulanmıştır.

Yöntemin şematik gösterimi Şekil 3.3. te sunulmuştur.



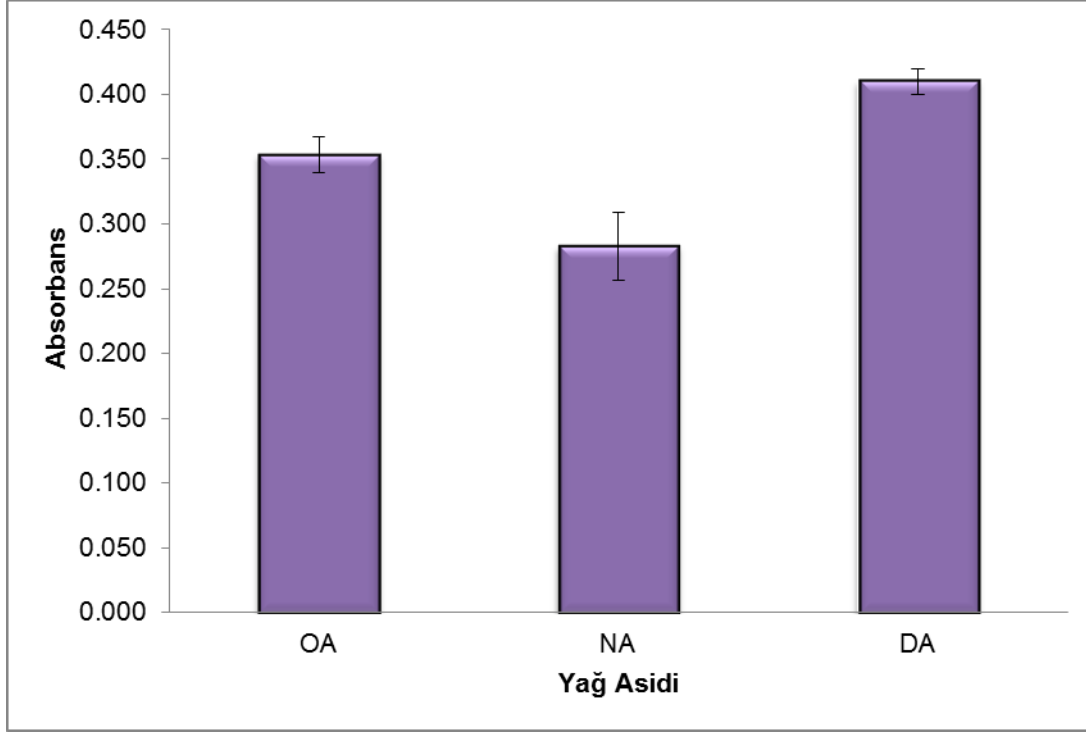
Şekil 3.3. SHS-DLMME yönteminin şematik gösterimi

Geliştirilen SHS-DLLME metodunda en yüksek ekstraksiyon verimini elde etmek amacıyla yöntem verimini etkileyen pH, ekstraksiyon çözücüsünün çeşidi, dekanolik asit hacmi, Na_2CO_3 ve H_2SO_4 'ün derişimi ve hacmi, 8-HQ miktarı gibi parametreler optimize edilmiş ve tüm deneyler 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Bir parametrenin optimizasyonu sırasında diğer tüm parametreler sabit tutularak optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Optimum değerler standart çözeltiler için maksimum absorbansın elde edildiği değer olarak seçilmiştir. Optimizasyon çalışmalarının ardından belirlenen optimum koşullar uygulanarak organik ve endüstriyel tarım yöntemleriyle yetiştirilmiş gıda ürünlerinin Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) içerikleri tayin edilmiştir. Ayrıca elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi yapılarak uygunluğu ispatlanmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. SHS-DLLME için Yağ Asidinin Seçimi

İlk etapta geliştirilecek olan SHS-DLLME yönteminde en yüksek verimi sağlayacak uygun yağ asidinin ekstraksiyon çözücüsü olarak seçimi son derece önemlidir. Kullanılacak olan ekstraksiyon çözücüsü, düşük toksisite, hidrofilik ve hidrofobik form arasında tersinir geçiş ve düşük sıcaklıkta kolay katılma gibi özelliklere sahip olmalıdır. Bu çalışmada, ekstraksiyon çözücüsü olarak yukarıdaki özelliklere sahip doğal orta zincirli yağ asitleri seçilmiştir. Bu amaçla n-oktanoik asit (OA), nonanoik asit (NA) ve dekanoik asit (DA) etkileri karşılaştırılmıştır. (OA, NA ve DA için erime noktası değerleri sırasıyla 16.0, 12.5 ve 31.6 °C' dir). Çalışmanın bu aşamasında 0.1 mg L⁻¹ Cu (II) iyonu içeren 3 farklı çözeltiye her bir yağ asidi ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılarak SHS-DLLME prosedürü uygulanmış ve Cu(II) iyonları için geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Dekanoik asit oda koşullarında katı olduğu için bu yağ asidinin analizleri 40 °C' lik su banyosunda yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.1.' de sunulmuştur.



Şekil 4.1. Yağ asidinin zenginleştirme katsayılarının karşılaştırılması

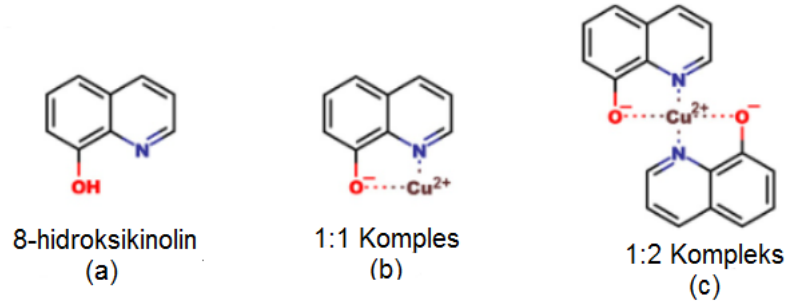
(Deney koşulları; 0.1 mg L^{-1} Cu(II) çözeltisi, pH: 6, $1.0 \text{ M Na}_2\text{CO}_3$ ve $1.0 \text{ M H}_2\text{SO}_4$)

Elde edilen sonuçlara göre en yüksek geri kazanım dekanıik asit ile çalışılan numunelerde olduğu gözlemlenmiştir. Bu sebeple bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda ekstraksiyon çözücüsü olarak dekanıik asit kullanılmasına karar verilmiştir.

4.2. Metal İyonu ve 8- Hidroksikinolin (8-HQ) Kompleksi

Geliştirilen SHS-DLLME yönteminde tayin edilmek istenen iyonları ekstrakte edilebilir forma dönüştürmek yani onlara hidrofobik karakter kazandırmak için kompleksleştirici kullanımına ihtiyaç vardır (Marczenko and Balcerzak, 2000). 8-hidroksikinolin ve türevleri, analitik kimyada şelat oluşturma ve/veya ön deriştirme reaktifi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Marczenko and Balcerzak, 2000). Bu sebeple bu tez çalışmasında Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarıyla kompleks oluşturduğu bilinen 8-hidroksikinolin (8-HQ) kullanılmıştır (Şekil 4.2-a) (Dalecki et al., 2017). 8-HQ bir +2 değerlikli bir metal ile metal-

ligand kompleksi oluşturduğunda iki olası koordinasyon geometrisi mevcuttur. Düşük ligand derişimlerinde 1:1 kompleks oluşur (Şekil 4.2-b), ancak ligand derişimi yüksek ise ilave bir molekül daha bağlanır ve kare düzlemsel koordinasyon geometrisi ile bir dihidroksikinolin metal kompleksi (1:2 kompleks, Şekil 4.2-c) oluşturur (Albert et al., 1953). Şekil 4.2. de Cu-8-HQ kompleksinin yapısı çalışılan diğer metal iyonları için de benzerdir.

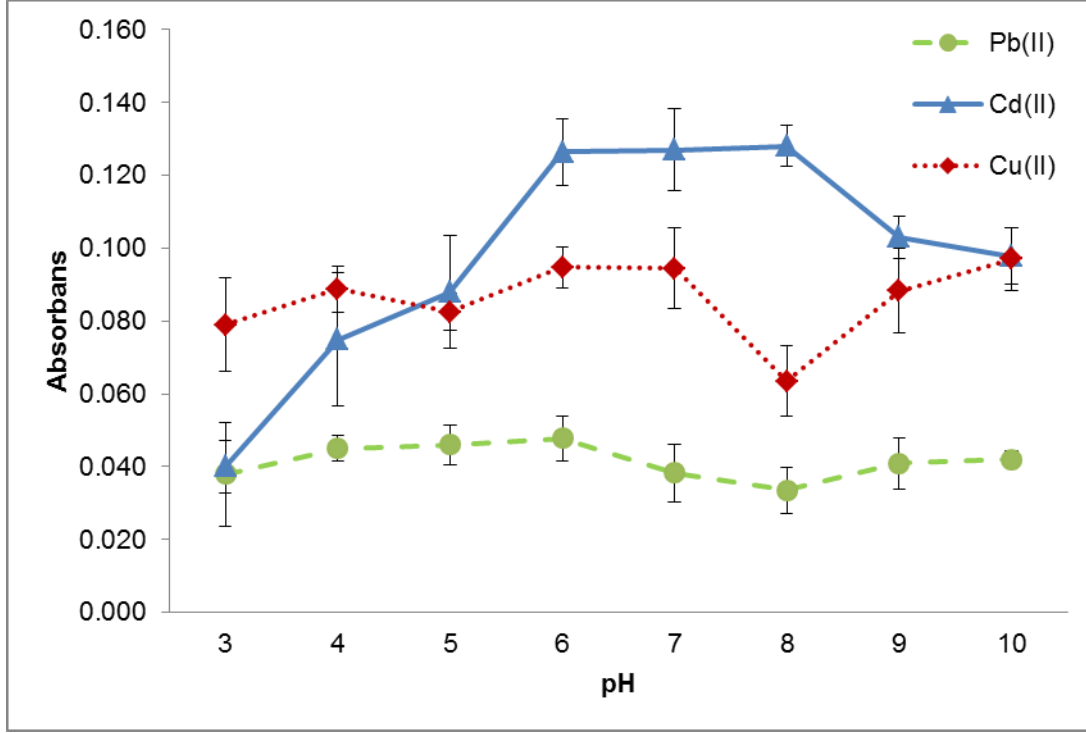


Şekil 4.2. a) 8-HQ yapısı b) 1:1 metal:lingant oranında Cu(II) iyonlarının 8-HQ ile oluşturduğu kompleks c) 1:2 metal:lingant oranında Cu(II) iyonlarının 8-HQ ile oluşturduğu kompleks (Dalecki et al., 2017)

4.3. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) İyonları için SHS-DLLME çalışma koşullarının optimizasyonu

4.3.1. pH Etkisi

Hem metal-kompleks oluşumunu hem de değiştirilebilir çözücü olan dekanolik asidin polaritesini etkilediği için pH en önemli parametrelerdendir. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için geliştirilen SHS-DLLME yönteminde, maksimum verimin gözlenebilmesi için pH 3-10 arasında değiştirilmiştir. pH 'ı istenilen değere ayarlamak için CH₃COOH/CH₃COONa, KH₂PO₄/NaOH, Na₂HPO₄/HCl ve Na₂CO₃/NaHCO₃ tampon çözeltileri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.3. de gösterilmiştir



Şekil 4.3. Ortam pH' sının Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi

(Cu(II) için Deney koşulları; 25 µg L⁻¹ Cu(II) çözeltisi, %0.1 (w/v) 8-HQ, 100 µL DA, 1.0 M Na₂CO₃ ve 1.0 M H₂SO₄;

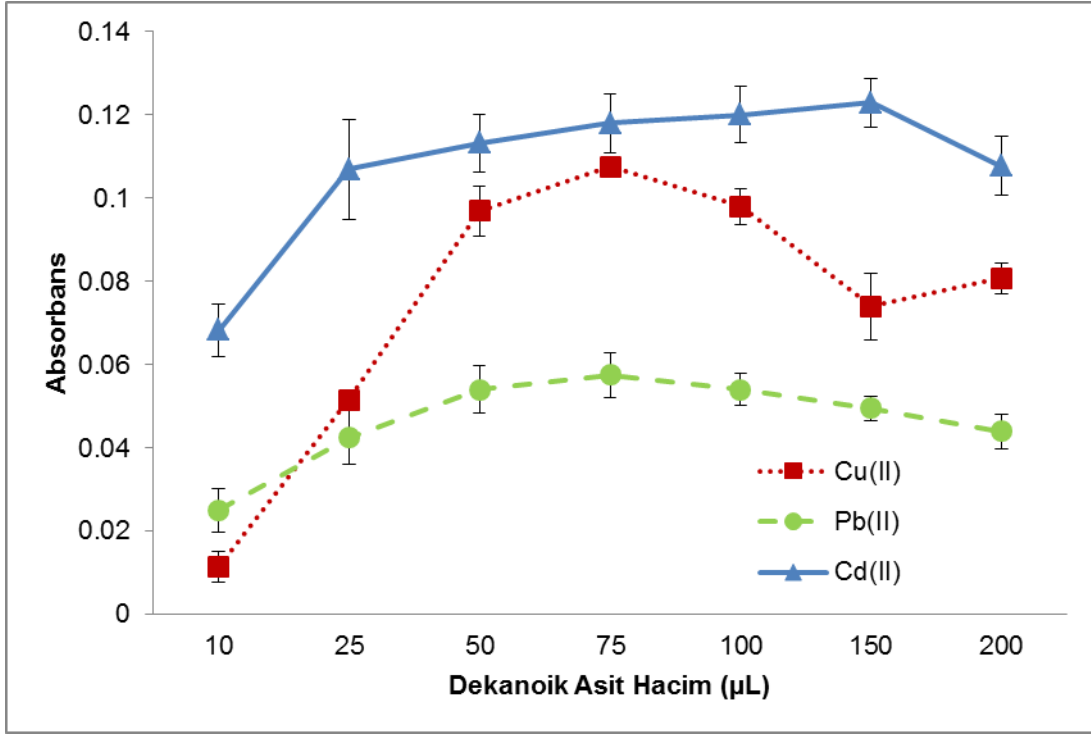
Cd(II) için Deney koşulları; 25 µg L⁻¹ Cd(II) çözeltisi, %0.1 (w/v) 8-HQ, 100 µL DA, 1.0 M Na₂CO₃ ve 1.0 M H₂SO₄;

Pb(II) için Deney koşulları; 200 µg L⁻¹ Pb(II) çözeltisi, %0.1 (w/v) 8-HQ, 100 µL DA, 1.0 M Na₂CO₃ ve 1.0 M H₂SO₄;

Şekilde görüldüğü gibi, çok düşük ve çok yüksek pH değerlerinde Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının absorbanslarında düşüş gözlenmiştir. Grafikten de izlenebildiği üzere en yüksek absorbans değerleri, Cu(II) iyonları için pH 6-7 aralığında, Cd(II) iyonları için pH 6-8 aralığında, Pb(II) iyonları içinse pH 5-6 aralığında olduğu zaman elde edilmiştir. Bu nedenle her üç iyon için de ortak pH değeri olarak yaklaşık pH: 6 optimum değer olarak seçilmiştir. Bundan sonraki bütün Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) çalışmalarında pH 6' da sabit tutulmuştur.

4.3.2. Dekanoik Asit Miktarının Etkisi

Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının geliştirilen SHS-DLLME yönteminde, eklenen dekanolik asit miktarının ekstraksiyon verimine etkisi incelenmiştir. Bu çalışma için numunelere 10 ile 200 μL aralığında değişen hacimlerde dekanolik asit eklenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.4.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Dekanoik asit hacminin Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi

(Cu(II) için Deney koşulları; $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Cu(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 1.0 M Na_2CO_3 ve 1.0 M H_2SO_4 ;

Cd(II) için Deney koşulları; $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 1.0 M Na_2CO_3 ve 1.0 M H_2SO_4 ;

Pb(II) için Deney koşulları; $200 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 1.0 M Na_2CO_3 ve 1.0 M H_2SO_4)

Sonuçlar, DA hacminin yaklaşık 75 µL' ye kadar arttığında ekstraksiyon veriminin de arttığını göstermektedir. Bunun nedeni, ortamda düşük hacimde DA bulunması durumunda analitlerin tamamının yetersiz miktardaki ekstraksiyon fazına geçememesidir. Bununla birlikte, 100 µL' den yüksek DA hacmi, ekstraksiyon veriminde düşüşe yol açmıştır. Bu, ortamda sodyum dekanonik asitinin tamamını dekanonik aside dönüştürmeye yetecek miktarda proton donörü (H_2SO_4) bulunmamasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca dekanonik asit miktarı arttıkça ekstraksiyon fazı hacmi, dolayısıyla ekstraksiyon fazını seyreltmek için gerekli çözücü miktarı ve son hacim artacağından mümkün olan en düşük DA hacimleri optimum değer olarak seçilmiştir. Bu değer her üç metal iyonu için de 75 µL olarak belirlenmiştir.

4.3.3. Na_2CO_3 ve H_2SO_4 Miktarının Etkisi

Geliştirilen SHS-DLLME metodunda sodyum karbonatın eklenmesinin iki sebebi vardır. İlk olarak, hidrofobik dekanonik asiti, hidrofilik sodyum dekanonata dönüştürmektir. İkincisi sodyum karbonatın ortama eklenen asit ile reaksiyona girerek efervesan oluşturması ve böylece ekstraksiyon sürecini hızlandırmak ve ekstraksiyon verimini artırmaktır.

Aynı şekilde, Na_2CO_3 ' ün ardından eklenen H_2SO_4 ' ün de eklenmesi iki amaca hizmet etmektedir. Bunlardan birincisi, hidrofilik sodyum dekanonik asit ilavesinden sonra hidrofobik ekstraksiyon çözücüsü dekanonik asite dönüştürülmesidir. İkincisi ise, sodyum karbonat ve asit arasındaki reaksiyon ürünü olan CO_2 kabarcıklarının, ekstraksiyon çözücüsü ile sulu faz arasındaki ekstraksiyon hızını ve verimini artıran geniş bir yüzey alanı oluşturmasıdır. (Hemmati and Rajabi, 2019). Tüm bu nedenlerle Na_2CO_3 ve H_2SO_4 miktarlarının hem hacim hem de derişim bakımından optimize edilmesi önemlidir.

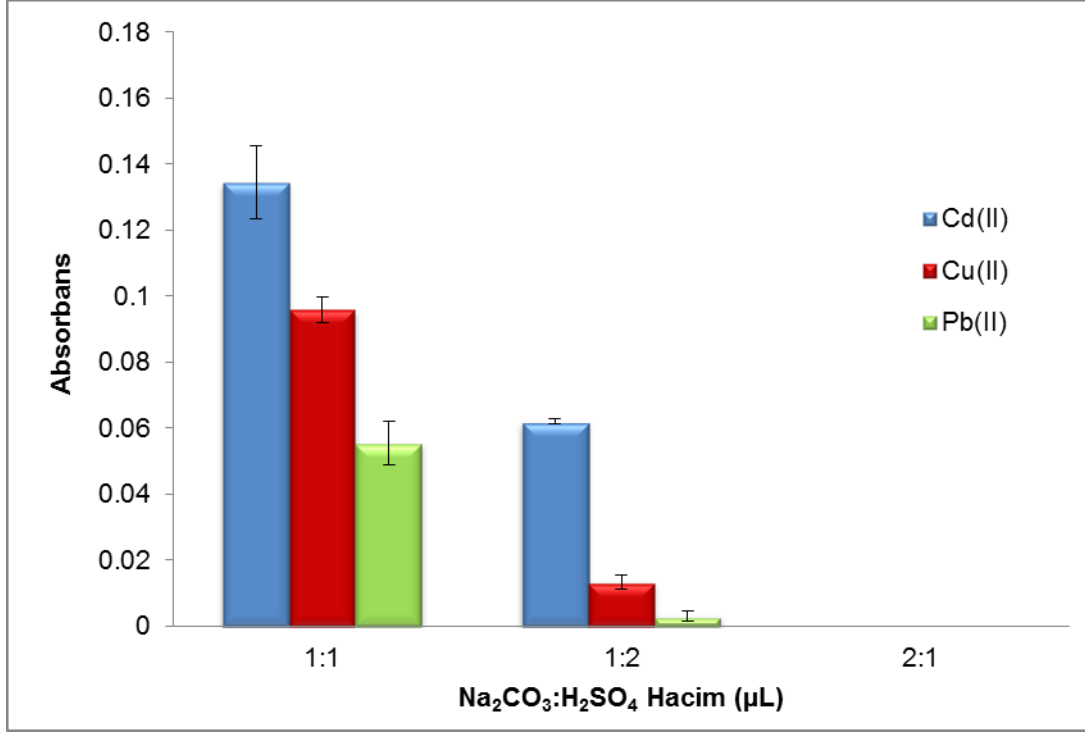
4.3.3.1. Na₂CO₃:H₂SO₄ hacim oranının etkisi

Efervesan oluşumu için aynı değeriğe sahip asit ve baz kullanılması durumunda 1:1 stokiyometrik orana sahip bir tepkime oluşacaktır. Deneysel çalışmaların bu aşamasında maksimum ekstraksiyon verimin elde edilebilmesi için eklenen Na₂CO₃ ve H₂SO₄ hacim oranının etkisi incelenmiştir. Bu amaçla ekstraksiyon işlemi sırasında ortama eşit derişimlere sahip Na₂CO₃ ve H₂SO₄ çözeltileri sırasıyla 1:1, 1:2 ve 2:1 hacim oranlarında eklenmiş, ekstraksiyon sonucunda elde edilen veriler değerlendirilerek Şekil 4.5.' de grafik olarak sunulmuştur. Ayrıca her bir Na₂CO₃ ve H₂SO₄ eklemesinden sonra numunelerin pH' ı ölçülmüş ve sonuçlar Çizelge 4.1.' de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Na₂CO₃ ve H₂SO₄ eklenmesi sonucu tayin çözeltilisinde ölçülen pH değerleri

Eklenen	pH	Eklenen	pH
500 µL 1.0 M Na ₂ CO ₃	10.19	500 µL 1.0 M H ₂ SO ₄	3.87
250 µL 1.0 M Na ₂ CO ₃	4.99	500 µL 1.0 M H ₂ SO ₄	2.20
500 µL 1.0 M Na ₂ CO ₃	9.85	250 µL 1.0 M H ₂ SO ₄	5.59

Na₂CO₃ ve H₂SO₄' ün 1:1 ve 1:2 oranında eklendiği deneylerde faz ayrımı çok net görülürken 2:1 hacim oranında Na₂CO₃ ve H₂SO₄ eklenen deneylerde faz ayrımının olmadığı gözlemlenmiştir. Bu durum ortamın pH' sında meydana gelen değişimin dekanolik asitin polaritesini etkilemesi sebebiyle hidrofobik faza geçememesinden kaynaklanmıştır. Dekanoik asidin pK_a' değeri 4.9' dur ve bu değerden daha büyük bir pH değerinde hidrofobik hale geçmektedir. Ortam pH' sının pK_a' değerinin altına düşürülmesiyle tekrar hidrofobik yapıya kavuşmaktadır. Bu nedenle Na₂CO₃ hacmine göre iki kat fazla hacimde eklenen H₂SO₄ misel oluşumundan sonra dekanolik asitin nötral formuna dönüşümüne yeterli gelmemekte ve hidrofobik faza dönmesini engellemektedir. Bu nedenle bundan sonraki yapılacak olan çalışmalarda 1:1 hacim oranında Na₂CO₃ ve H₂SO₄ kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.5. Na₂CO₃ ve H₂SO₄ için hacim oranının Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi

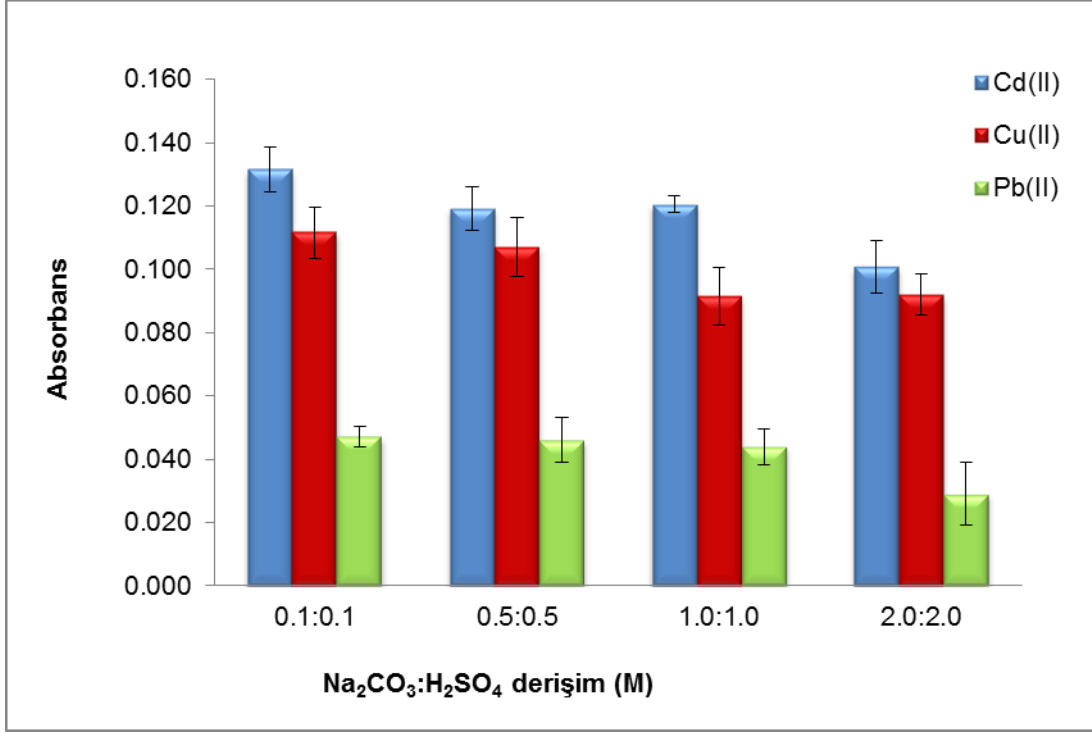
(Cu(II) için Deney koşulları; 25 µg L⁻¹ Cu(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 µL DA, 1.0 M Na₂CO₃:1.0 M H₂SO₄;

Cd(II) için Deney koşulları; 25 µg L⁻¹ Cd(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 µL DA, 1.0 M Na₂CO₃:1.0 M H₂SO₄;

Pb(II) için Deney koşulları; 200 µg L⁻¹ Pb(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 µL DA, 1.0 M Na₂CO₃:1.0 M H₂SO₄)

4.3.3.2. Na₂CO₃ ve H₂SO₄ Derişiminin Etkisi

Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının SHS-DLMME için geliştirilen yöntemde maksimum ekstraksiyon veriminin elde edilebilmesi için Na₂CO₃ ve H₂SO₄' ün optimum hacim oranı 1:1 olarak belirlendikten sonra derişimlerinin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla diğer tüm parametreler sabit tutulurken 500 µL:500 µL hacim oranına ve farklı derişim oranlarına (0.1-2.0 M arasında değişen) sahip Na₂CO₃ ve H₂SO₄ ortama eklenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.6. da grafik olarak sunulmuştur.



Şekil 4.6. Na₂CO₃ ve H₂SO₄ derişiminin Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi

(Cu(II) için Deney koşulları; 25 µg L⁻¹ Cu(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 µL DA, 500 µL:500 µL, Na₂CO₃:H₂SO₄;

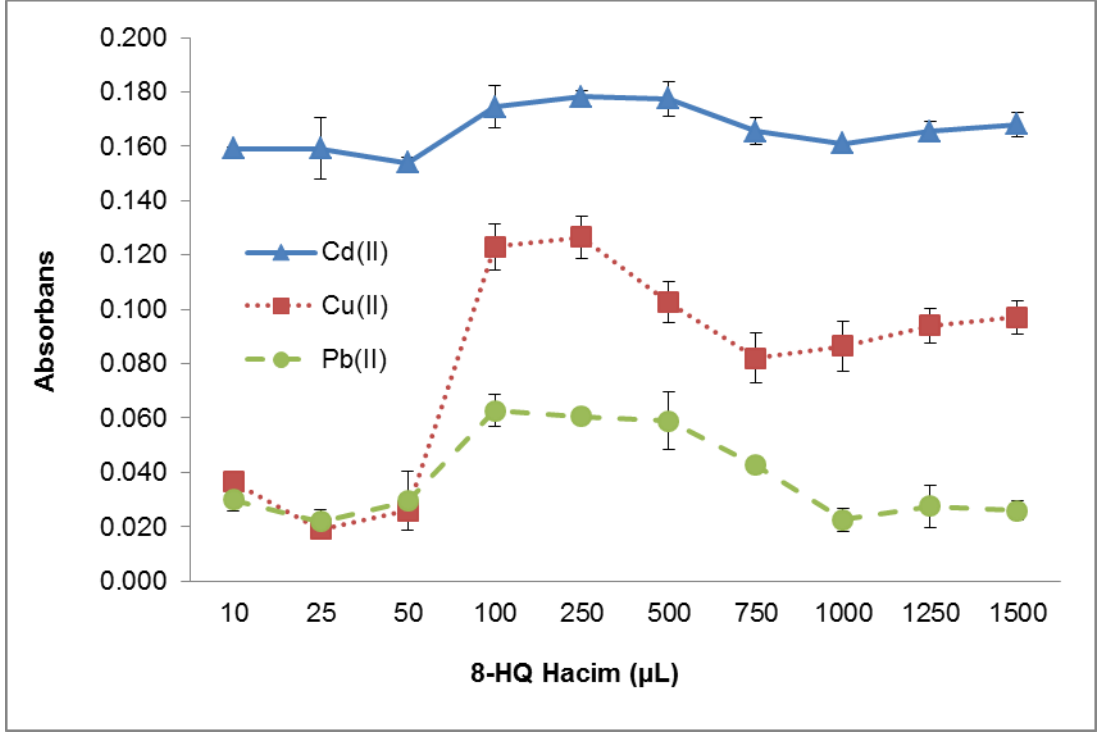
Cd(II) için Deney koşulları; 25 µg L⁻¹ Cd(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 µL DA, 500 µL:500 µL, Na₂CO₃:H₂SO₄;

Pb(II) için Deney koşulları; 200 µg L⁻¹ Pb(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 µL DA, 500 µL:500 µL, Na₂CO₃:H₂SO₄)

Daha önce de vurgulandığı gibi, eklenen Na₂CO₃ ile değiştirilebilir çözücü olan dekanolik asitin hidrofobik yapıdan hidrofilik yapıya geçmesi ve eklenen H₂SO₄ ile tekrar hidrofobik yapıya dönmesi sağlanmaktadır. Grafikten de görüldüğü gibi Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için en yüksek ekstraksiyon verimi eşit hacimde 0.1 M:0.1 M Na₂CO₃:H₂SO₄ ile çalışıldığında elde edilmiştir. Bu nedenle daha sonraki yapılan çalışmalarda eklenecek olan Na₂CO₃:H₂SO₄ derişimi 0.1 M:0.1 M olarak seçilmiştir.

4.3.4. Kompleksleştirici Miktarının Etkisi

Metal iyonlarının hidrofobik faza ekstraksiyonunu sağlamak için hidrofobik özellikli komplekslerini oluşturmak gereklidir ve tez kapsamında bu amaçla kompleksleştirici olarak 8-HQ kullanılmıştır. Bir analit için ekstraksiyon verimi, metal-ligand kompleksinin organik ve sulu fazlar arasındaki dağılım oranına bağlıdır (Arpa Şahin and Durukan, 2011). Sabit pH' da artan ligand miktarı ile dağılım oranı ve dolayısıyla ekstraksiyon verimi artar. 8-HQ miktarının Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisi, 10-1500 µL arasında değişen hacimlerde %0.1(w/v) 8-HQ çözeltisi eklenerek incelenmiştir. Bu deneyler sırasında diğer tüm parametreler SHS-DLLME prosedüründe belirtilen optimum değerlerde tutulmuştur. Deneylerde elde edilen sonuçlara göre çalışılan her üç metal iyonu için de 100 µL 8-HQ hacmine ulaşıncaya kadar ekstraksiyon verimi artmış ve ardından sabit bir değere ulaşmıştır. Bu nedenle, sonraki çalışmalar için optimum değer olarak 100 µL % 0.1(w/v) 8-HQ seçilmiştir. Konuyla ilgili deney sonuçları değerlendirilerek Şekil 4.7. de grafik olarak sunulmuştur.



Şekil 4.7. 8-HQ kompleksleştirici hacminin Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi

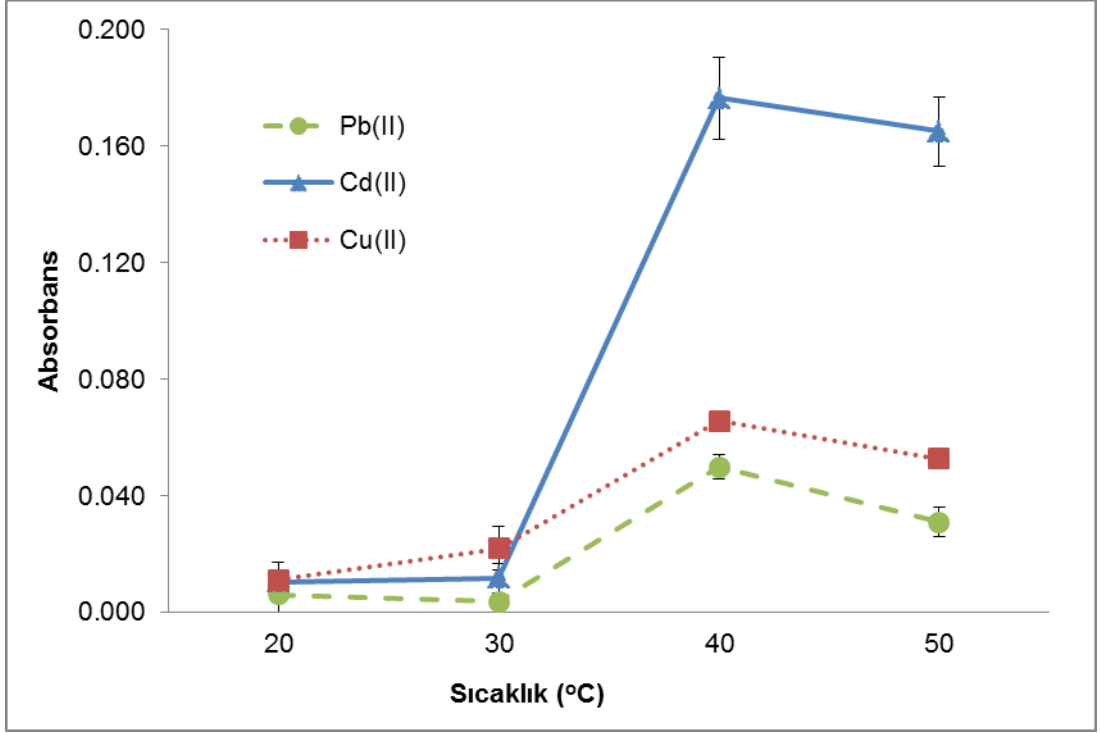
(Cu(II) için Deney koşulları; 25 µg L⁻¹ Cu(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 µL DA, 500 µL:500 µL, 0.1 M:0.1 M Na₂CO₃:H₂SO₄;

Cd(II) için Deney koşulları; 25 µg L⁻¹ Cd(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 µL DA, 500 µL:500 µL, 0.1 M:0.1 M, Na₂CO₃:H₂SO₄;

Pb(II) için Deney koşulları; 200 µg L⁻¹ Pb(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 µL DA, 500 µL:500 µL, 0.1 M:0.1 M Na₂CO₃:H₂SO₄)

4.3.5. Ekstraksiyon Sıcaklığının Etkisi

Dekanoik asit için erime noktası 31.6 °C olduğu için farklı sıcaklık değerleri tayin edilmek istenen metallerin ekstraksiyon verimlerini etkilemektedir. Bu sebeple, 20 ile 50 °C aralığında değişen sıcaklıklarda SHS-DLLME prosedürü diğer tüm parametreler optimum değerlerinde sabit tutularak uygulanmış ve Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Şekil 4.8' de sunulan sonuçlara göre çalışılan tüm metal iyonları için 40°C'ye kadar verimde artış sonrasında ise düşüş gözlemlenmiştir. Erime noktasının altında kalan sıcaklıklarda dekanolik asit katı halde bulunduğu için ekstraksiyon tam olarak gerçekleşmemiş ve çok düşük verim elde edilmiştir. Ekstraksiyon veriminin 40°C' de en yüksek değerde olduğu gözlenmiştir. Bu durumun artan sıcaklıkla beraber, dekanolik asidin sıvı hale geçmesi sonucu kütle transfer hızının artmasından kaynaklandığı düşünülebilir. Öte yandan sıcaklığın daha da artırılmasının analitin ekstraksiyon fazından göç hızının, ekstraksiyon fazına göç hızından fazla olmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Bu durum da analitin ekstraksiyon fazında dispersiyonunun azalmasına ve ekstraksiyon veriminin düşmesine sebep olmaktadır. (Asadi et al., 2015; Chen et al., 2015). Bu nedenle optimum ekstraksiyon sıcaklığı olarak dekanolik asitin erime noktasının üzerinde ve maksimum verimin elde edildiği sıcaklık olan 40°C seçilmiştir.



Şekil 4.8. Ekstraksiyon sıcaklığının Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının mikroekstraksiyonuna etkisi

(Cu(II) için Deney koşulları; $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Cu(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 μL DA, 500 μL :500 μL , 0.1 M:0.1 M Na_2CO_3 : H_2SO_4 ;

Cd(II) için Deney koşulları; $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 μL DA, 500 μL :500 μL , 0.1 M:0.1 M, Na_2CO_3 : H_2SO_4 ;

Pb(II) için Deney koşulları; $200 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II) çözeltisi, pH:6 tamponu, %0.1 (w/v) 8-HQ, 75 μL DA, 500 μL :500 μL , 0.1 M:0.1 M Na_2CO_3 : H_2SO_4)

4.3.6. Yabancı İyon Etkisi

Yüksek derişimlerdeki matris iyonları, eser seviyelerde metallerin atomik absorpsiyon spektrometrik tayini üzerinde bir etkiye sahiptir. Bu nedenle geliştirilen yöntemin, farklı iyonların varlığında tayin elementine has seçiciliğini test etmek amacıyla, yabancı iyonların etkisi incelenmiştir. Yabancı iyon taraması için, ayrı ayrı $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Cu(II), $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd(II) ve $200 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II) iyonlarını içeren çözeltilere çeşitli derişimlerde yabancı iyonlar eklenmiş ve geliştirilmiş yöntem optimum koşullarda uygulanmıştır. Yabancı iyon

eklenmemiş olan analit çözeltisinin absorbands değerinde $\pm\%5$ değişim olduğunda o iyonun girişim yaptığı kabul edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2. 'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) analizlerinde yabancı iyon etkisi

M	[Cu]:[M]	[Cd]:[M]	[Pb]:[M]	M	[Cu]:[M]	[Cd]:[M]	[Pb]:[M]
Na ⁺	>1:5000	>1:5000	1:1000	Al ³⁺	>1:5000	1:2000	1:500
K ⁺	>1:5000	1:1000	>1:5000	Cr ³⁺	>1:5000	>1:5000	1:100
Cd ²⁺	1:2000	-	1:500	Fe ³⁺	>1:5000	1:1000	1:100
Zn ²⁺	1:1000	>1:5000	1:500	Mg ²⁺	>1:5000	>1:5000	>1:5000
Co ²⁺	1:1000	>1:5000	>1:5000	Cu ²⁺	-	>1:5000	1:500
Ni ²⁺	1:10	>1:5000	>1:5000	Pb ²⁺	>1:5000	>1:5000	-
Mn ²⁺	1:1000	1:100	1:100	Ca ²⁺	1:1000	>1:5000	>1:5000

M: Engelleyici İyon

Çizelgede verilen sonuçlara göre Cu(II) iyonları için en yüksek girişimi yapan iyonun Ni²⁺ iyonu olduğu görülmektedir. Diğer sonuçlara bakıldığında yöntemin yabancı iyonlara karşı direncinin yüksek olduğu görülmektedir.

Cd(II) iyonları için yapılan yabancı iyon taramasının sonuçlarına bakıldığında, en yüksek girişimi yapan iyonun Mn²⁺ olduğu görülmektedir. Diğer sonuçlara bakıldığında yöntemin yabancı iyonlara karşı direncinin yüksek olduğu görülmektedir.

Pb(II) iyonları için yapılan yabancı iyon taramasının sonuçlarına bakıldığında, en yüksek girişimi yapan iyonun Mn²⁺, Cr³⁺, Fe³⁺ olduğu görülmektedir. Diğer sonuçlara bakıldığında yöntemin yabancı iyonlara karşı direncinin yüksek olduğu görülmektedir.

Her üç metal iyonunda da girişime sebep olan iyonların yöntemde kullanılan 8-HQ kompleksleştirici ile çalışılan pH aralığında kompleks oluşumuna meyilli olduğu (Marczenko and Balcerzak, 2000) ve ortamda bulunan bu iyonların da belli derişimden sonra 8-HQ ile kompleks oluturarak bağlanma kapasitesini azalttığı, bu nedenle de analite ait absorpsiyonda azalmaya neden olduğu düşünölmektedir.

4.4.SHS-DLLME Yönteminin Analitik Performans Özellikleri

Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yöntemi için sulu standart çözeltiler ile oluşturulan kalibrasyon eğrisine ait doğrusal derişim aralığı, doğru denklemi ve R² değeri Çizelge 4.3. içerisinde sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) için sulu kalibrasyon verileri

	Doğrusal Derişim Aralığı (µg L ⁻¹)	Doğru Denklemi	R ²
Cu(II)	500-10,000	A= 6.56x10 ⁻⁵ C - 0.00486	0.9999
Cd(II)	250-4000	A= 0.00012 C – 0.0101	0.9933
Pb(II)	2500-50,000	A= 0.0058 C + 0.0029	0.9989

Elde edilen optimum koşullarda uygulanan SHS-DLLME yöntemi sonucu Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için zenginleştirme ile elde edilen doğrusal derişim aralığı, doğru denklemi ve R^2 değerleri Çizelge 4.4. de sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) için zenginleştirilmiş kalibrasyon verileri

	Doğrusal Derişim Aralığı ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Doğru Denklemi	R^2
Cu(II)	2.5-200	$A = 0.00338 C + 0.0250$	0.9990
Cd(II)	2.5-100	$A = 0.000565 C + 0.0243$	0.9953
Pb(II)	10-1000	$A = 0.000262 C + 0.0070$	0.9979

Analit iyonlarının zenginleştirme işlemi yapıldıktan sonra elde edilen kalibrasyon doğrusunun eğiminin sulu kalibrasyon doğrusununun eğimine oranı ile zenginleştirme faktörü (EF) bulunmuştur. Cu(II) iyonları için zenginleştirme faktörü 52, Cd(II) iyonları için 47, Pb(II) iyonları içinse 45 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Geliştirilen SHS-DLLME yönteminin analitik performans kriterleri ve hesaplanması

Özellik	Tanım	Hesaplama
Zenginleşme Faktörü (EF)	SHS-DLLME yöntemi uygulanmamış standartlarla çizilen kalibrasyon eğrisinden elde edilen eğimin (m_1), SHS-DLLME yöntemi uygulanarak alınan sonuçlardan elde edilen kalibrasyon eğrisinden elde edilen eğime (m_2) oranı olarak tanımlanır.	$EF = m_2/m_1$
Gözlenebilme Sınırı (LOD)	Yöntemde zemin girişimlerinden farklı olarak tespit edilebilen ancak nicel olarak tayin edilemeyen en düşük derişim miktarıdır. Geliştirilen SHS-DLLME yöntemi ile hazırlanmış içinde tayin elementinin bulunmadığı, 10 adet tanık çözeltisinin cihazda okutulması sonucu elde edilen standart sapmanın 3 katıdır.	$LOD = 3S$
Tayin Sınırı (LOQ)	Yöntemin tayin edebildiği en düşük derişim miktarı olarak tanımlanır. Geliştirilen SHS-DLLME yöntemi ile hazırlanmış içinde tayin elementinin bulunmadığı, 10 adet tanık çözeltisinin cihazda okutulması sonucu elde edilen standart sapmanın 10 katıdır.	$LOQ = 10S$
Korelasyon Katsayısı (R^2)	Çizilen kalibrasyon eğrisinde kullanılan standartlar arasındaki doğrusallığın göstergesidir. Korelasyon katsayısı 1'e ne kadar yakınsa o kadar doğrusal bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiş olur.	Kalibrasyon eğrisinden elde edilir

Özellik	Tanım	Hesaplama
Doğrusal Çalışma Aralığı	Lineer olarak çizilen kalibrasyon eğrisi ile tayin edilebilen derişim aralığıdır.	Kalibrasyon eğrisinden elde edilir
Bağıl Standart Sapma (RSD)	Belirli derişimde ve sayıda yapılan analizin standart sapmasının analiz sonuçlarının ortalamasına bölünerek 100 ile çarpılması sonucu bulunan değerdir.	$RSD = S/X_{ort} \times 100$
Kesinlik (Tekraredilebilirlik)	Aynı deneyin, aynı koşullar altında, aynı gün içerisinde aynı kişi tarafından yapılması sonucu birbirini tekrar eden deney sonuçları arasında oluşabilecek maksimum farktır. Birbirini tekrar eden 'n' tane analiz sonucunun standart sapmasının (S_r) 2.83 ile çarpılması sonucu bulunur.	$r = 2.83 \times S_r$
Tekrarüretebilirlik	Aynı deneyin farklı koşullar altında, farklı günlerde, farklı kişiler tarafından yapılması sonucu çıkan deney sonuçları arasında oluşabilecek maksimum farktır. Farklı günlerde yapılan 'n' tane analiz sonucunun standart sapmasının (S_R) 2.83 ile çarpılması sonucu bulunur.	$R = 2.83 \times S_R$
t-test	İki farklı grubun ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığını göstermek amacıyla uygulanan hipotez testidir.	$t_{hesap} = \frac{\mu - X}{S/\sqrt{n}}$
Anova	Grupların analiz sonuçlarının birbirinden farklı olup olmadığına bakılmak amacıyla yapılan varyans analizidir.	

Geliştirilen SHS-DLLME tekniğinin analitik performans özelliklerini belirtmek amacıyla Çizelge 4.5. te tanım ve hesaplama yöntemi verilen çeşitli analitik performans kriterleri uygulanmıştır. Hesaplama ve değerlendirmeler sonucu elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6. te sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin analitik performans özellikleri

Analitik Özellik	Değer		
	Cu(II)	Cd(II)	Pb(II)
Zenginleştirme Faktörü (EF)	52	47	45
Son Örnek Hacmi (μL)	300	300	300
Gözlenebilme Sınırı (LOD) ($\mu\text{g L}^{-1}$) (n=10)	0.75	0.69	2.88
Tayin Sınırı (LOQ) ($\mu\text{g L}^{-1}$) (n=10)	2.52	2.30	9.59
Doğrusal Derişim Aralığı ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2.5-200	2.5-100	10-1000
RSD (%) (n=10, 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cu(II), 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cd(II), 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II))	0.94	0.61	4.43
Kesinlik ($2.83 \times S_r$) ($\mu\text{g/L}$) (n=10, 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cu(II), 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cd(II), 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II))	0.84	0.57	4.04
Tekrarüretilebilirlik ($\mu\text{g/L}$) ($2.83 \times S_R$) (n=10, 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cu(II), 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cd(II), 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb(II))	1.36	0.69	4.58

4.5.Yöntemin Doğruluğu

Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin doğruluğunun kanıtlanabilmesi için iki farklı sertifikalı referans malzeme NCS ZC 73012 (Lahana) ve NCS ZC 73013 (Ispanak) kullanılmıştır.

Bunun için 0.5 gram numune, 7 mL HNO₃ ve 1 mL H₂O₂ kullanılarak 200°C' de mikrodalga parçalama sistemi ile parçalanmıştır. Bu amaçla uygulanan program Çizelge 4.7. 'de belirtilmiştir. Parçalanma işleminin ardından numunelerin pH' ları NH₃ çözeltisi kullanılarak 6.5-7.5 aralığında olacak şekilde ayarlanmış ve son olarak hacimleri balon jodede saf su ile 50 mL' ye tamamlanmıştır.

Çizelge 4.7. Numunelerin parçalanması için mikrodalga sıcaklık programı

Basamak	Süre (dk)	Sıcaklık (°C)	Mikrodalga gücü (watt)
1	20	200	max 1000
2	15	200	max 1000

Numuneler hazırlandıktan sonra 10 mL' lik kısımlar alınarak her bir iyon için geliştirilen SHS-DLLME yöntemine tabi tutulmuşlardır. Hesaplamalar sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.8.' de verilmiştir.

Lahana (NCS ZC 73012) ve ıspanak (NCS ZC 73013) sertifikalı referans malzemelerinin içerisinde kadmiyum için belirtilen derişim önerilen yöntemin LOD değerinin altında olduğu için numunelere son derişim 2.5 mg kg⁻¹ olacak şekilde ekleme (spike) yapılmıştır. Eklenen numune için geri kazanım değeri Eşitlik 4.1' de belirtildiği gibi hesaplanarak çıkan sonuçlar Çizelge 4.8.' de verilmiştir.

$$\% \text{ Geri Kazanım} = \frac{C_{\text{bulunan}} - C_{\text{bilinen}}}{C_{\text{eklenen}}} \times 100 \quad (4.1)$$

C_{bulunan} : Ekleme yapıldıktan sonra elde edilen toplam derişim değeri (mg kg^{-1})

C_{bilinen} : Ekleme yapılmadan önceki malzemedeki derişim değeri (mg kg^{-1})

C_{eklenen} : Numuneye eklenen derişim miktarı (mg kg^{-1})

Çizelge 4.8. den de görüleceği üzere, dört paralel deney sonucunda elde edilen değerler ile sertifika değerleri karşılaştırıldığında %94 ile %107 arasında değişen yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Bu da geliştirilen SHS-DLLME yönteminin eser düzeydeki Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının gerçek numunelerde ekstraksiyonu ve tayini için oldukça başarılı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.8. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için sertifikalı malzeme NCS ZC 73012 (Lahana) ve NCS ZC 73013 (Ispanak) analiz sonuçları ($n = 4$)

Örnek	Analit	Sertifika Değeri (mg kg^{-1})	Eklenen (mg kg^{-1})	Bulunan Değer (mg kg^{-1})	Geri Kazanım (%)
NCS ZC 73012 (Lahana)	Cu(II)	2.7 ± 0.2	-	2.9 ± 0.2	107 ± 8
	Cd(II)	0.035 ± 0.006	2.5	2.5 ± 0.1	101 ± 2
	Pb(II)	0.19 ± 0.03	-	n.d.*	-
NCS ZC 73013 (Ispanak)	Cu(II)	8.9 ± 0.4	-	8.4 ± 0.5	94 ± 6
	Cd(II)	0.15 ± 0.025	2.5	2.6 ± 0.1	106 ± 4
	Pb(II)	11.1 ± 0.9	-	11.1 ± 1.5	100 ± 14

*n.d.: tayin edilemedi

Geliştirilen yöntemde sertifikalı referans malzemelerin sertifika değerleri ile bulunan değerler arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığını test etmek amacıyla tek örneklem *t*-testi (Eşitlik 4.2) uygulanmış olup elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9.' da sunulmuştur.

$$t_{hesap} = \frac{\mu - X}{S/\sqrt{n}} \quad (4.2)$$

X: Yapılan analiz sonuçlarının ortalaması

μ : Sertifikalı referans malzemenin değeri

S: Yapılan analiz sonuçlarına ait standart sapma

n: Yapılan analiz sayısı

Çıkan sonuçla kıyaslama yapmak için t_{tablo} değeri, n-1 serbestlik derecesine göre $\alpha = 0.05$ anlamlılık seviyesinde (%95 güven seviyesi) hesaplanmıştır. t_{hesap} değerinin t_{tablo} değerinden küçük çıkması sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık olmadığını ispatlamıştır.

Çizelge 4.9. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için sertifikalı malzeme NCS ZC 73012 (Lahana) ve NCS ZC 73013 (Ispanak) *t*-testi sonuçları ($n = 4$)

Örnek	Analit	t_{hesap}	t_{tablo}	Değerlendirme
NCS ZC 73012 (Lahana)	Cu(II)	1.73	3.18	$t_{hesap} \leq t_{tablo}$
	Cd(II)	0.28	3.18	$t_{hesap} \leq t_{tablo}$
	Pb(II)	-	-	-
NCS ZC 73013 (Ispanak)	Cu(II)	1.81	3.18	$t_{hesap} \leq t_{tablo}$
	Cd(II)	0.17	3.18	$t_{hesap} \leq t_{tablo}$
	Pb(II)	0.01	3.18	$t_{hesap} \leq t_{tablo}$

4.6.Yöntemin Gerçek Gıda Numunelerine Uygulanması

Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin doğruluğunun kanıtlanmasının ardından, yöntem gerçek gıda numunelerine uygulanarak organik tarım ürünleri ile endüstriyel tarım ürünlerinin sonuçları karşılaştırılmıştır.

Organik tarım pazarından alınan beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak numuneleri ile yerel marketten alınan endüstriyel tarım ürünü olan beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak numuneleri karşılaştırılmıştır. Öncelikle alınan malzemeler çeşme suyu ve ardından deiyonize su ile yıkanarak etüvde 70°C sıcaklıkta kurutulmuştur. Kuruyan malzemeler değirmende öğütülerek homojen hale getirilmişlerdir. Kullanılan değirmenin herhangi bir kontaminasyona sebep olmaması için, numuneye temas eden kısımlarında metal aksam olmamasına dikkat edilmiştir.

Homojen toz haline getirilen numunelerden 0.5 g alınıp, 7 mL HNO₃ ve 1 mL H₂O₂ kullanılarak 200°C' de mikrodalga programında (Çizelge 4.10.) parçalanmıştır. Ardından çözünen numuneler, pH' ları NH₃ ile 6.5-7.5 aralığında olacak şekilde ayarlanarak, son hacimleri balon jodede saf su ile 50 mL' ye tamamlanmıştır.

Çizelge 4.10. Numunelerin parçalanması için mikrodalga sıcaklık programı

Basamak	Süre (dk)	Sıcaklık (°C)	Mikrodalga gücü (watt)
1	20	200	max 1000
2	15	200	max 1000

Numuneler hazırlandıktan sonra 10 mL alınarak her bir iyon için geliştirilen SHS-DLLME yöntemine tabi tutulmuşlardır. Numunelerin içerisinde tam olarak tayin iyonlarından ne kadar olduğu bilinmediğinden, Cu(II) ve Cd(II) metallerinin tayin edileceği numuneler içerisine 2.5 mg kg⁻¹ ve 5.0 mg kg⁻¹ olacak şekilde,

Pb(II) metalinin tayin edileceği numunelerin içerisine de 25 mg kg⁻¹ ve 50 mg kg⁻¹ olacak Şekilde tayin iyonlarından ekleme (spike) yapılarak SHS-DLLME yöntemi uygulanmıştır. Ekleme yapılan numuneler için geri kazanım değerleri EŞitlik 4.1' de verilmiş olan formül yardımı ile hesaplanmıştır. Yapılan her analiz dört tekrarlı yapılmış olup sonuçlar izelge 4.11. ve izelge 4.12.' da sunulmuştur.

Çizelge 4.11. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için organik üretim beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak analiz sonuçları ($n = 4$)

Numune	İyon	Eklenen Miktar (mg kg^{-1})	Bulunan Derişim (mg kg^{-1})	Gerikazanım (%)
Organik Beyaz Lahana	Cu(II)	0	1.77 ± 0.49	-
		2.5	4.19 ± 0.17	97 ± 7
		5.0	6.62 ± 0.21	97 ± 4
	Cd(II)	0	0.38 ± 0.06	-
		2.5	2.81 ± 0.04	97 ± 1
		5.0	5.08 ± 0.12	94 ± 2
	Pb(II)	0	3.83 ± 0.53	-
		25	28.21 ± 1.59	98 ± 6
		50	51.58 ± 1.33	96 ± 3
Organik Mor Lahana	Cu(II)	0	1.87 ± 0.63	-
		2.5	4.31 ± 0.19	98 ± 7
		5.0	6.62 ± 0.15	95 ± 3
	Cd(II)	0	0.39 ± 0.08	-
		2.5	2.69 ± 0.06	92 ± 2
		5.0	5.18 ± 0.06	96 ± 1
	Pb(II)	0	3.30 ± 0.30	-
		25	27.95 ± 1.05	99 ± 4
		50	52.71 ± 0.86	99 ± 2

Numune	İyon	Eklenen Miktar (mg kg ⁻¹)	Bulunan Derişim (mg kg ⁻¹)	Gerikazanım (%)	
Organik Pırasa	Cu(II)	0	2.50 ± 0.56	-	
		2.5	4.89 ± 0.12	95 ± 5	
		5.0	7.37 ± 0.13	97 ± 3	
	Cd(II)	0	0.63 ± 0.07	-	
		2.5	2.92 ± 0.08	92 ± 3	
		5.0	5.31 ± 0.15	94 ± 3	
	Pb(II)	0	3.31 ± 0.28	-	
		25	27.45 ± 0.65	97 ± 3	
		50	51.46 ± 0.75	96 ± 2	
	Organik Karnabahar	Cu(II)	0	3.80 ± 0.85	-
			2.5	6.25 ± 0.05	98 ± 2
			5.0	9.06 ± 0.28	105 ± 6
		Cd(II)	0	0.64 ± 0.13	-
			2.5	2.94 ± 0.02	92 ± 1
			5.0	5.22 ± 0.07	92 ± 1
Pb(II)		0	4.89 ± 1.52	-	
		25	29.46 ± 0.65	98 ± 3	
		50	52.59 ± 1.72	95 ± 3	

Numune	İyon	Eklenen Miktar (mg kg ⁻¹)	Bulunan Derişim (mg kg ⁻¹)	Gerikazanım (%)
Organik Ispanak	Cu(II)	0	2.77 ± 0.81	-
		2.5	5.18 ± 0.16	96 ± 6
		5.0	7.72 ± 0.19	99 ± 4
	Cd(II)	0	0.62 ± 0.08	-
		2.5	3.00 ± 0.05	95 ± 2
		5.0	5.69 ± 0.12	101 ± 2
	Pb(II)	0	4.47 ± 0.51	-
		25	28.96 ± 0.65	98 ± 3
		50	52.59 ± 2.41	96 ± 5

Çizelge 4.12. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için endüstriyel üretim beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak analiz sonuçları ($n = 4$)

Numune	İyon	Eklene Miktar (mg kg ⁻¹)	Bulunan Derişim (mg kg ⁻¹)	Gerikazanım (%)
Endüstriyel Beyaz Lahana	Cu(II)	0	2.86 ± 0.93	-
		2.5	5.30 ± 0.17	98 ± 7
		5.0	7.41 ± 0.18	91 ± 4
	Cd(II)	0	0.81 ± 0.13	-
		2.5	3.09 ± 0.05	91 ± 2
		5.0	5.43 ± 0.09	92 ± 2
	Pb(II)	0	4.23 ± 0.79	-
		25	27.45 ± 0.65	93 ± 3
		50	52.34 ± 0.92	96 ± 2
Endüstriyel Mor Lahana	Cu(II)	0	2.49 ± 0.48	-
		2.5	4.97 ± 0.14	99 ± 5
		5.0	7.62 ± 0.44	103 ± 9
	Cd(II)	0	0.63 ± 0.08	-
		2.5	3.12 ± 0.07	100 ± 3
		5.0	5.37 ± 0.06	95 ± 1
	Pb(II)	0	3.97 ± 0.89	-
		25	27.70 ± 1.09	95 ± 4
		50	51.96 ± 0.86	96 ± 2

Numune	İyon	Eklene Miktar (mg kg ⁻¹)	Bulunan Derişim (mg kg ⁻¹)	Gerikazanım (%)
Endüstriyel Pırasa	Cu(II)	0	4.23 ± 0.77	-
		2.5	6.80 ± 0.05	103 ± 2
		5.0	9.43 ± 0.19	104 ± 4
	Cd(II)	0	0.74 ± 0.16	-
		2.5	3.07 ± 0.06	93 ± 3
		5.0	5.38 ± 0.09	93 ± 2
	Pb(II)	0	5.77 ± 0.70	-
		25	29.96 ± 1.33	97 ± 5
		50	54.47 ± 1.90	97 ± 4
Endüstriyel Karnabahar	Cu(II)	0	4.26 ± 0.64	-
		2.5	6.70 ± 0.10	99 ± 4
		5.0	9.06 ± 0.12	96 ± 2
	Cd(II)	0	0.84 ± 0.28	-
		2.5	3.26 ± 0.11	97 ± 4
		5.0	5.39 ± 0.11	91 ± 2
	Pb(II)	0	5.26 ± 0.92	-
		25	28.96 ± 0.65	95 ± 3
		50	55.23 ± 0.86	100 ± 2

Numune	İyon	Eklenen Miktar (mg kg ⁻¹)	Bulunan Derişim (mg kg ⁻¹)	Gerikazanım (%)
Endüstriyel Ispanak		0	3.13 ± 0.92	-
	Cu(II)	2.5	5.53 ± 0.19	96 ± 7
		5.0	7.94 ± 0.13	96 ± 3
	Cd(II)	0	0.78 ± 0.07	-
		2.5	3.21 ± 0.06	97 ± 2
		5.0	5.44 ± 0.10	93 ± 2
Pb(II)	0	4.49 ± 0.79	-	
	25	28.58 ± 0.86	96 ± 3	
	50	53.47 ± 1.11	98 ± 2	

Organik ve endüstriyel olarak yetiştirilen sebzelerde tayin edilen metallerin genel olarak derişim sıralamalarına bakıldığında en yüksek derişimin kurşun metalinde en düşük derişimin ise kadmiyum metalinde olduğu görülmüştür (Pb>Cu>Cd).

Organik olarak ve endüstriyel olarak yetiştirilen tarım ürünleri arasında herhangi bir farklılık olup olmadığını karşılaştırmak amacıyla 'Tek Yönlü ANOVA' testi uygulanmıştır. Sonuçlar arasında anlamlı sayılabilecek bir farklılık olup olmadığını göstermek için F ile $F_{ölçütü}$ ve p değerleri karşılaştırılmıştır, $F < F_{ölçütü}$ ve $P > 0.05$ olduğu durumda sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı anlaşılır. $F > F_{ölçütü}$ ve $P < 0.05$ olduğu durumda ise sonuçlar arasında farklılık olduğu yani organik ve endüstriyel olarak üretilen tarım ürünleri arasında yetiştirmeden kaynaklı farklılık olduğu savunulur. Tarım ürünleri için yapılan ANOVA sonuçları Çizelge 4.13., 4.14. ve 4.15. de belirtilmiştir.

Çizelge 4.13. Cu(II) iyonları için organik ve endüstriyel olarak üretilen beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak için ANOVA sonuçları ($n = 4$)

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans
Organik Beyaz Lahana	4	7.07	1.77	0.24
Endüstriyel Beyaz Lahana	4	11.44	2.86	0.87

ANOVA

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	2.38	1	2.38	4.27	0.08	5.99
Gruplar İçinde	3.35	6	0.56			
Toplam	5.73	7				

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans
Organik Mor Lahana	4	7.47	1.87	0.40
Endüstriyel Mor Lahana	4	9.96	2.49	0.23

ANOVA

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.78	1	0.78	2.48	0.17	5.99
Gruplar İçinde	1.88	6	0.31			
Toplam	2.66	7				

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans
Organik Pırasa	4	10.02	2.50	0.31
Endüstriyel Pırasa	4	16.94	4.23	0.60

ANOVA

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	5.99	1	5.99	13.21	0.01	5.99
Gruplar İçinde	2.72	6	0.45			
Toplam	8.71	7				

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans
Organik Karnabahar	4	15.18	3.80	0.73
Endüstriyel Karnabahar	4	17.05	4.26	0.41

ANOVA

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.44	1	0.44	0.77	0.41	5.99
Gruplar İçinde	3.42	6	0.57			
Toplam	3.86	7				

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans
Organik Ispanak	4	11.10	2.77	0.66
Endüstriyel Ispanak	4	12.51	3.13	0.85

ANOVA

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Organik Ispanak	0.25	1	0.25	0.33	0.58	5.99
Endüstriyel Ispanak	4.53	6	0.75			
Toplam	4.78	7				

SS: Kareleri alınmış sapmaların toplamı

df: Serbestlik Derecesi

MS: Serbestlik derecesine bölünmüş sapma kareleri toplamı

F: Hesaplanan F değeri

P-Değeri: f hesap değeri elde etme yüzdesi

F ölçütü: F kritik değeri

Yapılan ANOVA testlerinin sonuçlarına bakıldığında, organik olarak üretilmiş beyaz lahana, mor lahana, karnabahar ve ıspanak için endüstriyel olarak üretilen aynı ürünler kıyaslandığında $F < F_{ölçütü}$ ve $P > 0.05$ olduğu için bakır elementi için sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. Ancak, organik ve endüstriyel olarak üretilen pırasa için bunun tam tersi olduğu görülmüştür, $F > F_{ölçütü}$ ve $P < 0.05$ olduğundan iki farklı üretim tarzı için sonuçların farklı olduğu görülmüştür.

İki farklı yolla yetiştirilen pırasa hariç bütün sebzelerin bakır için sonuçlarında anlamlı bir farklılık olmamasının sebebi pırasanın toprak altında yetişen kısmının da yenebilir olmasından ötürü pırasanın kökleri aracılığıyla topraktan ve sudan, yaprakları aracılığıyla da havadan ağır metalleri alıyor olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer dört sebze için (beyaz lahana, mor lahana, karnabahar ve ıspanak) ağır metal geçişi sadece yapraklar aracılığıyla sebzelerin yenebilen kısımlarına girdiği için topraktan geçebilecek olan ağır metaller pırasaya göre daha azdır. Zirai ilaç ya da böcek ilacı kullanımının özellikle beyaz lahana, mor lahana, karnabahar ve ıspanak için her iki üretim şeklinde de tayin edilen ağır metal açısından herhangi bir farklılığa neden olmadığı görülmüştür.

Ayrıca “Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği” çerçevesinde bakır için verilmiş bir limit değeri olmadığı için analiz sonuçları ile referans değerlere dair herhangi bir karşılaştırma yapılamamıştır.

Çizelge 4.14. Cd(II) iyonları için organik ve endüstriyel olarak üretilen beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak için ANOVA sonuçları ($n = 4$)

<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>
Organik Beyaz Lahana	4	1.53	0.38	0.00
Endüstriyel Beyaz Lahana	4	3.22	0.81	0.02

ANOVA

<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0.36	1	0.36	33.38	0.00	5.99
Gruplar İçinde	0.06	6	0.01			
Toplam	0.42	7				

<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>
Organik Mor Lahana	4	1.55	0.39	0.01
Endüstriyel Mor Lahana	4	2.51	0.63	0.01

ANOVA

<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0.12	1	0.12	17.22	0.01	5.99
Gruplar İçinde	0.04	6	0.01			
Toplam	0.16	7				

<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>
Organik Pırasa	4	2.51	0.63	0.00
Endüstriyel Pırasa	4	2.97	0.74	0.02

ANOVA

<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0.03	1	0.03	1.88	0.22	5.99
Gruplar İçinde	0.09	6	0.01			
Toplam	0.11	7				

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans
Organik Karnabahar	4	2.54	0.64	0.02
Endüstriyel Karnabahar	4	3.35	0.84	0.08

ANOVA

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.08	1	0.08	1.73	0.24	5.99
Gruplar İçinde	0.28	6	0.05			
Toplam	0.36	7				

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans
Organik Ispanak	4	2.49	0.62	0.01
Endüstriyel Ispanak	4	3.12	0.78	0.00

ANOVA

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Organik Ispanak	0.05	1	0.05	9.03	0.02	5.99
Endüstriyel Ispanak	0.03	6	0.01			
Toplam	0.08	7				

SS: Kareleri alınmış sapmaların toplamı

df: Serbestlik Derecesi

MS: Serbestlik derecesine bölünmüş sapma kareleri toplamı

F: Hesaplanan F değeri

P-Değeri: f hesap değeri elde etme yüzdesi

F ölçütü: F kritik değeri

Organik yöntemle üretilmiş olan beyaz lahana, mor lahana ve ıspanak ile endüstriyel yöntemle üretilmiş olan aynı ürünlerin Cd(II) içeriklerinin kıyaslaması için ANOVA sonuçlarına bakıldığında iki üretim tarzı açısından bu sebzelerin için kadmiyum derişimleri arasında anlamlı bir fark olduğu anlaşılmaktadır ($F > F_{ölçütü}$ ve $P < 0.05$). Ancak, organik ve endüstriyel olarak üretilen pırasa ve karnabahar için bunun tam tersi olduğu görülmüştür ($F < F_{ölçütü}$ ve $P > 0.05$).

Organik ve endüstriyel tarım ile üretilen beyaz lahana, mor lahana ve ıspanak kadmiyum derişimleri arasında farklılık oluşmasının sebebi olarak, her iki yetiştirme sisteminde kullanılan toprak yapıları, kullanılan sulama suyundaki farklılıklar ve kullanılan zirai ilaçlar öne sürülebilir.

Ayrıca “Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği” çerçevesinde kadmiyum için belirtilmiş olan limit değeri 0.20 mg kg^{-1} dir. Ancak bu limit değeri yaş numune bazında verilmiş olup, çalışma kapsamında sunulan analiz sonuçları kuru numune bazında olduğu için yönetmelikte belirtilen limit değerlerin aşıllp aşılmadığı ile ilgili anlamlı bir karşılaştırma yapmak mümkün olmamaktadır.

Çizelge 4.15. Pb(II) iyonları için organik ve endüstriyel olarak üretilen beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak için ANOVA sonuçları ($n = 4$)

<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>
Organik Beyaz Lahana	4	15.30	3.83	0.28
Endüstriyel Beyaz Lahana	4	16.90	4.23	0.62

ANOVA

<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0.32	1	0.32	0.71	0.43	5.99
Gruplar İçinde	2.70	6	0.45			
Toplam	3.02	7				

<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>
Organik Mor Lahana	4	13.20	3.30	0.09
Endüstriyel Mor Lahana	4	15.87	3.97	0.79

ANOVA

<i>VaryansKaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0.89	1	0.89	2.02	0.21	5.99
Gruplar İçinde	2.65	6	0.44			
Toplam	3.54	7				

<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>
Organik Pırasa	4	13.23	3.31	0.08
Endüstriyel Pırasa	4	23.09	5.77	0.50

ANOVA

<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	12.17	1	12.17	42.52	0.00	5.99
Gruplar İçinde	1.72	6	0.29			
Toplam	13.89	7				

<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>
Organik Karnabahar	4	19.54	4.89	2.32
Endüstriyel Karnabahar	4	21.05	5.26	0.85

ANOVA

<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0.28	1	0.28	0.18	0.69	5.99
Gruplar İçinde	9.50	6	1.58			
Toplam	9.78	7				

<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>
Organik Ispanak	4	17.88	4.47	0.26
Endüstriyel Ispanak	4	17.94	4.49	0.63

ANOVA

<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Organik Ispanak	0.00	1	0.00	0.00	0.97	5.99
Endüstriyel Ispanak	2.67	6	0.45			
Toplam	2.67	7				

SS: Kareleri alınmış sapmaların toplamı

df: Serbestlik Derecesi

MS: Serbestlik derecesine bölünmüş sapma kareleri toplamı

F: Hesaplanan F değeri

P-Değeri: f hesap değeri elde etme yüzdesi

F ölçütü: F kritik değeri

Son olarak organik ve endüstriyel tarım yoluyla yetiştirilmiş olan sebzelerin kurşun derişimlerinin kıyaslanması için istatistiki değerlendirme yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre pırasa hariç diğer sebzeler için (beyaz lahana, mor lahana, karnabahar ve ıspanak) kurşun derişimleri arasında her iki yetiştirilme tarzında da anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür.

Pırasa hariç hem organik hem de endüstriyel olarak yetiştirilen bütün sebzelerin kurşun için sonuçlarında anlamlı bir farklılık olmasının sebebi daha önce

açıklandığı gibi pırasanın toprak altındaki kısmının da yenilebilir olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu sayede pırasa hem kökleri vesilesiyle topraktan ve sudan hem de yaprakları aracılığıyla havadan ağır metalleri alıyor olduğu için iki farklı üretimde kullanılan farklı sistemler kurşun derişimini anlamlı ölçüde farklı kılmıştır. Beyaz lahana, mor lahana, karnabahar ve ıspanağın ise yenilebilen kısımları sadece yaprakları olduğu için ağır metal geçişi sadece yapraklar aracılığıyla olmakta ve topraktan geçebilecek olan ağır metal derişiminin pırasaya göre daha az olduğu düşünülmektedir. Özellikle beyaz lahana, mor lahana, karnabahar ve ıspanak için zirai ilaç ya da böcek ilacı kullanımının her iki üretim şeklinde de tayin edilen ağır metal açısından herhangi bir farklılığa sebep olmadığını görülmüştür.

Ayrıca “Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği” çerçevesinde kurşun için belirtilmiş olan limit değer 0.30 mg kg^{-1} dir. Kadmiyum hakkındaki yorumlarda da belirtildiği gibi bu limit değer yaş numune bazında verilmiş olduğu ve tez çalışmaları sırasında analiz elde edilen sonuçlar kuru numune bazında hesaplandığı için bu sonuçların referans değerle karşılaştırması mümkün olmamıştır.

5. YORUM

Çalışması yapılan bu tez kapsamında ilk olarak sulu ortamlardaki eser düzeydeki ağır metal iyonlarının zenginleştirilmesi ve tayini için yeni bir yöntem olan, akıllı çözücü olarak da adlandırılan, hidrofiliği değiştirilebilir çözücü kullanılarak sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (SHS-DLLME) tekniği geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntem ile öncelikle sulu numunelerdeki bakır, kadmiyum ve kurşun iyonlarının mikro-örneklemeli FAAS ile tayini sağlanmıştır. Daha sonra geliştirilen yöntem gerçek gıda numunelerine uygulanarak Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının tayini sağlanmıştır. Klasik dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon tekniklerine göre bu teknikte kullanılan ekstraksiyon çözücü hacminin mikrolitre düzeyinde olması yöntemin ekonomik ve çevre sağlığına zararsız olmasını sağlamaktadır. Ayrıca bu çalışmayı benzer çalışmalardan farklı olarak öne çıkarılabilecek diğer özelliklerden ilki, polarite değişimini sağlamak amacıyla kullanılan reaktiflerin oluşturduğu efervesan sayesinde dispersiyonun dışardan hiçbir enerjiye ihtiyaç duyulmaksızın kısa zamanda tamamlanabiliyor olmasıdır. Bir diğeri ise, hidrofiliği değiştirilebilir çözücü (SHS) olarak kullanılan yeşil kimyanın gerekliliklerine uygun yeni nesil akıllı çözücülerden dekanolik asitin ortam koşullarında hızlı bir şekilde donuyor olması ve bu sayede faz ayrımının çok kolay ve yüksek verimle yapılabiliyor olmasıdır. Dekanoik asitin hızlı bir şekilde donuyor olması ayrıca ekstraksiyon süresini fark edilir ölçüde kısaltmaktadır. Bütün bu etkiler göz önüne alındığında, geliştirilmiş olan SHS-DLLME nin kullanılan yeni nesil akıllı çözücüler ile ekonomik ve çevre dostu yeşil analitik kimya yaklaşımına uygun bir yöntem olduğu görülmüştür. Ayrıca geliştirilen bu yöntemde metal iyonlarının hidrofilik komplekslerini oluşturmak amacıyla kullanılan 8-HQ ve hidrofiliği değiştirilebilir çözücü olarak kullanılan dekanolik asitin birlikte kullanımı ile ilgili literatürde çalışma bulunmayışı da bu çalışmayı diğer çalışmalara göre ön plana çıkarmaktadır.

Yapılan bu tez çalışmasında, sentetik bir yüzey aktif madde ve iyonik bir sıvı yerine, çevre dostu bir yağ asiti olan dekanolik asit hem pH' a bağlı yüzey aktif madde hem de ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmıştır. Bunun için n-oktanoik asit (OA), nonanoik asit (NA) ve dekanolik asit (DA) ile denemeler

yapılarak en yüksek verimin hangi yağ asidinde elde edildiği gözlemlenmiştir. Aynı derişimlerde sulu analit elementini içeren çözeltilere aynı oranlarda farklı yağ asitleri eklenerek geliştirilen SHS-DLLME yöntemi uygulanmış ve sonuçlara bakıldığında en yüksek verimin DA kullanılan çözeltilerde elde edildiği gözlemlenmiştir.

Tayin edilecek ağır metal iyonlarının hidrofobik kompleksini oluşturmak amacıyla bakır, kadmiyum ve kurşun için kompleks oluşumunu sağlayan 8-hidroksikinolin (8-HQ) kullanılmıştır. Geliştirilen yöntemde Na₂CO₃ DA'nın hidrofilik özellik kazanması amacıyla ve efervesan ajanı olarak kullanılmıştır. DA'nın tekrar hidrofobik özellik kazanmasını temin etmek amacıyla proton donörü olarak H₂SO₄ kullanılmıştır. Ekstraksiyon sonucu oluşan sulu faz ve ekstraksiyon fazını ayırmak için numuneler donana kadar buzdolabında bekletilmiş ve donan faz bir spatül yardımıyla ayrıldıktan sonra asidik etanol ile seyreltilerek mini kapiler bir boru ile numunenin aleve püskürtülmesini sağlayan ev yapımı mikro-örnekleme sistemli alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresinde analite ait pik yükseklikleri okunmuştur.

Geliştirilen SHS-DLLME yönteminin, doğruluğunun ispatı için önce sertifikalı referans maddelere, ardından da gerçek örnek olarak seçilen organik ve endüstriyel tarım gıda örneklerine uygulanmış ve sonuçları karşılaştırılmıştır.

Geliştirilen SHS-DLLME yönteminde, Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının maksimum verimle tayin edilebilmesi yöntemi etkileyen tüm parametreler optimize edilmiştir.

Optimize edilen ilk parametre pH' tır. pH' taki değişimler hem metal iyonun kompleks oluşumunu hem de dekanolik asitin polaritesini değiştirdiği için ekstraksiyon verimini etkileyen parametrelerin başında gelmektedir. Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarını içeren sulu çözeltilerin pH' ları 3-11 aralığında değiştirilerek en uygun çalışma pH' sı bulunmaya çalışılmıştır. Yapılan

taramalar sonucunda bütün iyonlar için ortak bir pH değeri olarak pH:6 seçilmiştir.

Metal iyonunun kompleks oluşumunda ortam pH' sınırı yanında yeteri kadar kompleksleştiricinin bulunması da oldukça önemlidir. Bunun için %0.1(w/v) derişimde 8-HQ seçilmiş olup analit çözeltilisine değişen hacimlerde eklenerek en yüksek verimin elde edildiği hacim bulunmaya çalışılmıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) tayini için en uygun miktar 75 µL olarak belirlenmiştir.

Optimizasyon sırasında yapılan bir diğer çalışma ise hem yüzey aktif madde hem de ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan DA' in miktarıdır. Bunun için analit çözeltilisine 10-200 µL aralığında değişen hacimlerde DA eklenerek en yüksek verimin elde edildiği hacim bulunmaya çalışılmıştır. Yapılan tarama sonucunda en yüksek verim Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) için 75 µL olarak tayin edilmiştir.

Yapılan diğer bir çalışma ise kullanılan Na₂CO₃ ve H₂SO₄ hacminin ve derişimlerinin etkisidir. Bunun için ilk olarak hacim taraması yapılmış, 1:1, 1:2 ve 2:1 oranlarında Na₂CO₃:H₂SO₄ eklenmiştir. 1:1, 1:2 oranında ekleme yapılan numunelerdeki faz ayrımı çok net gözlemlenirken 2:1 oranında ekleme yapılan numunelerde faz ayrımı gözlenememiştir. Bunun nedeni ortamın pH' sı fazla eklenen Na₂CO₃ sebebiyle yükselmiş, bu sebeple DA' nın polaritesi etkilenmiş ve hidrofobik özellik kazanamamış ve dolayısıyla da sulu fazdan ayıramamıştır. Bu sebeple çalışmalarda 1:1 oranında Na₂CO₃:H₂SO₄ kullanılmıştır. Yapılan bu taramanın ardından Na₂CO₃ ve H₂SO₄ derişimlerinin ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisi araştırılmış ve en yüksek verimin 0.1 M:0.1 M Na₂CO₃:H₂SO₄ eklendiğinde elde edildiği gözlemlenmiştir.

Çalışmada optimize edilen bir diğer parametre ise ekstraksiyon sıcaklığıdır. Dekanoik asitin erime noktası 31.6 °C olduğu için bunun altındaki ya da üstündeki sıcaklıkların ekstraksiyon verimine etkisi incelenmiştir. Bunun için 20-30-40 ve 50 °C' de optimum koşullara göre SHS-DLLME yöntemi uygulanmış ve en yüksek verimin 40 °C' de elde edildiği gözlemlenmiştir.

Geliştirilen SHS-DLLME yöntemi için belirlenmiş optimum koşullar Çizelge 5.1' de sunulmuştur.

Çizelge 5.1 Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin optimum koşulları

Parametre	Optimum Koşullar		
	Cu(II)	Cd(II)	Pb(II)
pH	6	6	6
DA hacmi (µL)	75	75	75
Na ₂ CO ₃ :H ₂ SO ₄ Hacmi (µL)	500:500	500:500	500:500
Na ₂ CO ₃ :H ₂ SO ₄ Derişimi (M)	0.1:0.1	0.1:0.1	0.1:0.1
8-HQ Hacmi (µL)	100	100	100
Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C)	40	40	40
Örnek Hacmi (mL)	10	10	10
Ekstraksiyon Faz Hacmi (mL)	0.3	0.3	0.3

Optimum koşullar uygulanarak tayin edilen Cu(II), Cd(II), Pb(II) iyonları için elde edilen zenginleştirme faktörleri sırasıyla; 52, 47 ve 45 dir. Bunun yanında Cu(II) için gözlenebilme sınırı 0.75 µg L⁻¹ tayin sınırı 2.52 µg L⁻¹, Cd(II) için gözlenebilme sınırı 0.69 µg L⁻¹ tayin sınırı 2.30 µg L⁻¹, Pb(II) için gözlenebilme sınırı 2.88 µg L⁻¹ tayin sınırı 9.59 µg L⁻¹ dir.

Geliştirilen SHS-DLLME yönteminin doğruluğunu test etmek amacıyla NCS ZC 73012 kodlu lahana sertifikalı referans malzemesi ve NCS ZC 73013 kodlu ıspanak sertifikalı referans malzemesi kullanılmıştır. NCS ZC 73012 için 4 tekrarlı yapılan analiz sonucunda, Cu(II) tayininde %107 geri kazanım değerine ulaşılmışken, Cd(II) tayininde sertifika değeri çok düşük olduğu için 2.5 mg kg⁻¹ ekleme yapılarak ölçüm alınmış ve %101 geri kazanım elde edilmiştir. NCS ZC 73012 için, Pb(II) sertifika değeri tayin sınırının altında olduğu için tayin edilememiştir. NCS ZC 73013 için yine 4 tekrarlı yapılan analiz sonucunda geri kazanım değerleri Cu(II) için %94, Cd(II) için %106 ve Pb(II) için %100 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca geliştirilen yöntem ile bulunan sonuçlar ile sertifika değerlerini kıyaslamak amacıyla *t-test* uygulanmıştır. Yapılan dört analiz sonucuna göre t_{hesap} değeri bulunmuş ve serbestlik derecesine göre belirlenen t_{tablo} değeriyle kıyaslanmıştır. Her iki sertifikalı referans malzeme için $t_{hesap} \leq t_{tablo}$ çıkmıştır. Yapılan hipotez testi sonucu göstermektedir ki 0.05 anlamlılık düzeyinde (%95 güven seviyesinde) sertifikalı referans malzeme ve geliştirilen yöntem ile bulunan analiz sonuçları arasında anlamlı bir farklılık yoktur. Yani geliştirilmiş olan yöntemin doğru sonuç verdiği ispatlanmıştır.

Yöntemin doğruluğunun kanıtlanmasının ardından organik ve endüstriyel tarım ürünleri olan beyaz lahana, mor lahana, pırasa, karnabahar ve ıspanak numuneleri üzerinde geliştirilen SHS-DLLME yöntemi uygulanmıştır. Numunelere ilk olarak herhangi bir ekstra ekleme yapılmadan geliştirilen SHS-DLLME yöntemi uygulanmış ardından, belli oranlarda eklemeler yapılarak zenginleştirme yöntemi uygulanmış ve geri kazanım oranları hesaplanmıştır. Tekrarlanan 4 analiz sonucunda geri kazanım değerlerinin %91 ile %105 aralığında olduğu gözlemlenmiştir. Organik tarım ve endüstriyel tarım ile üretilen ürünlerin arasında üretimden kaynaklanan herhangi bir farkın olup olmadığını anlamak için analiz sonuçlarına ANOVA testi uygulanmıştır. Çıkan test sonuçlarına göre;

Cu(II) ve Pb(II) için, beyaz lahana, mor lahana, karnabahar ve ıspanak için yapılan ANOVA testi sonucunda organik veya endüstriyel olarak yetiştirilmiş

olması bu metaller açısından herhangi bir derişim farklılığı olmadığını göstermiştir. Ancak, pırasa için aynı şeyi söylemek mümkün değildir. Organik olarak yetiştirilmiş ile endüstriyel olarak yetiştirilmiş pırasanın Cu(II) ve Pb(II) derişimleri arasında anlamlı bir sonuç farklılığına rastlanmıştır.

Cd(II) içinse yapılan istatistiki değerlendirme sonucunda, beyaz lahana, mor lahana ve ıspanak için yetiştirme tarzından kaynaklanan derişim farklılığı olduğu görülmüştür. Ancak, pırasa ve karnabahar ürünleri için bu durumunun tam tersi söz konusudur. İki farklı şekilde yetiştirilmiş olan pırasa ve karnabahardaki Cd(II) derişimleri arasında kayda değer bir sonuç farklılığı olmadığı görülmüştür.

Hem organik hem de endüstriyel yetiştirme sistemleri, coğrafi konuma, mevsime, iklime, bölgenin topraklarına ve ekonomik faaliyetlere bağlı olarak değişen tarımsal yöntemlerinin kombinasyonlarını içerir (Bourn and Prescott, 2002; Mitchell et al., 2007). Organik ve endüstriyel gıda üretim sistemlerini karşılaştıran çalışmalarda ekonomi, mahsul verimi, toprağın kimyasal özellikleri, toprağın fiziksel özellikleri, toprağın mikrobiyolojik aktivitesi, haşere ve hastalık yükleri vb., çiftlik yönetimi uygulamaları, ürün kalitesi (besin değeri, tat, raf ömrü), çevresel etkiler, biyolojik çeşitlilik, çiftlik besin girdileri ve gıda üretimi ile ilgili sosyal, ticari ve politik konular gibi çok çeşitli faktörler araştırılmıştır (Bourn and Prescott, 2002; Clark et al., 1998; Hornick, 1992; Lampkin, 1990; Reganold et al., 1993; Woese et al., 1997; Worthington, 1998; Wunderlich et al., 2008). Bu çalışmaların hepsi göstermektedir ki iki üretim sisteminin karşılaştırmasını yapmak için geniş bir açıdan fazla sayıda parametreye bakılması gereklidir.

Buna dayanarak yapılan bu çalışma ile beyaz lahana, mor lahana, karnabahar, ve ıspanak için bakır ve kurşun tayininden elde edilen sonuçlara bakıldığında; üretiminde yenilenebilir kaynakların ve atıkların geri dönüştürülerek gübre olarak kullanıldığı organik tarım ile üretilen gıdaların, zirai ilaçların, böcek ilaçlarının ve çeşitli gübrelerin kullanıldığı endüstriyel tarım ile üretilen gıdalar arasında kayda değer bir farklılık olmadığını gözlenmiştir.

Toprağın üzerinde yetişen ve yaprakları yenen sebzelerin (beyaz lahana, mor lahana, karnabahar, ıspanak) hem bakır hem de kurşun analiz sonuçları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı için organik ve endüstriyel yetiştirme tarzından kaynaklanan, emisyon yoluyla ağır metal geçişinin olmadığını söyleyebiliriz. Ancak toprak altında yetismeye başlayan ve toprak altında kalan kısmı da yenen pırasa için durum biraz daha farklıdır. Yetiştirildiği toprak ve sulama suyu göz önüne alındığında kökler yardımıyla ağır metallerin bitkiye girdiği düşünülmektedir. Bu nedenle organik ve endüstriyel tarım ile üretilen pırasa örnekleri arasında bakır ve kurşun metalleri için de analiz sonuçlarında anlamlı farklılıklar olduğu savunulabilir. Kadmiyum tayininde ise diğer iki metalin tam tersi olarak pırasa ve karnabahar için analiz sonuçlarında anlamlı bir farklılık olmadığı diğer sebzeler için (beyaz lahana, mor lahana ve ıspanak) analiz sonuçları arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür. Bunun nedeni ise, yetiştirilen toprak yapıları, kullanılan sulama suyu ve kullanılan zirai ilaçlar, pestisitler olabilir.

Cd(II) derişimi organik tarım ürünleri için 0.35-0.65 mg kg⁻¹ aralığında endüstriyel tarım ürünleri içinse 0.60-0.85 mg kg⁻¹ aralığında değişmektedir. Cu(II) derişimi organik tarım ve endüstriyel tarım ürünlerinde 2.00 ile 4.50 mg kg⁻¹ aralığında değişmektedir. Pb(II) derişimi de organik tarım ürünleri için 3.30-4.89 mg kg⁻¹ aralığında endüstriyel tarım ürünleri içinse 3.97-5.77 mg kg⁻¹ aralığında değişmektedir. Türkiye’ de Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından 2010 yılında Resmi Gazete’ de yayınlanan “Organik Tarımın Esasları ve Uygulanmasına İlişkin Yönetmelik” kapsamında organik tarımda kullanılan gübrelerin (kompostlanmış veya fermente evsel atık karışımları) içeriğinde maksimum kabul edilebilir derişimler kadmiyum için 0.7 mg kg⁻¹, bakır için 70 mg kg⁻¹ ve kurşun için 45 mg kg⁻¹ dır. Ayrıca yine Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından 2011 yılında Resmi Gazete’ de yayınlanan “Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği” ne göre sebzeler yıkandıktan sonra yenilebilir kısımları için kabul edilebilir limit değerler;

- Kurşun için; 0.30 mg kg⁻¹ yaş ağırlık
- Kadmiyum için; 0.20 mg kg⁻¹ yaş ağırlık
- Bakır için; Herhangi bir limit belirtilmemiştir.

Limit değerlere göre analiz sonuçları kıyaslandığında hem organik tarım hem de endüstriyel tarım ürünlerindeki Cd(II) ve Pb(II) derişiminin limitlerin çok üstündeymiş gibi görünmesine rağmen limit değerler yaş ağırlık, analiz sonuçları ise kuru ağırlık üzerinden olduğu için herhangi bir karşılaştırma yapmak mümkün değildir. Cu(II) içinse yönetmelikte herhangi bir limit değer belirtilmediği için bir kıyaslama yapmak mümkün değildir. “Organik Tarımın Esasları ve Uygulanmasına İlişkin Yönetmelik” uyarınca kullanılan gübreler için maksimum kabul edilebilir metal derişimleri nispeten yüksek çıkan analiz sonuçlarının kabul edilebilir limit değerlerini aşmayacağını göstermektedir. tutarlı olabileceğini göstermektedir.

Geliştirilen SHS-DLLME yöntemi her bir metal için en iyi koşullar altında, geniş ve doğrusal derişim aralığı, yüksek zenginleştirme faktörü, düşük LOD ve RSD değerleri ile yüksek tekraredilebilirliğe sahiptir. Geliştirilen SHS-DLLME yöntemi analitik performans özellikleri (zenginleştirme faktörü, LOD, LOQ, doğrusal derişim aralığı ve tekraredilebilirlik/kesinlik) açısından aynı ve farklı tayin metotlarını kullanan literatürdeki diğer çalışmalar ile karşılaştırılmış, sonuçlar Çizelge 5.2, 5.3 ve 5.4 de sunulmuştur.

Çizelge 5.2 Cu(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin literatürdeki diğer Cu(II) iyonlarının tayin yöntemleriyle karşılaştırılması

Analitik Yöntem	Tayin Tekniği	EF	LOD ($\mu\text{g/L}$)	Doğrusal		Referans
				Derişim Aralığı ($\mu\text{g/L}$)	RSD (%)	
SDME	GF-AAS	45.2	0.025	0.1-1.3	6.77	(Neri et al., 2019)
UA-CPE	UV-Gör	17	0.7	0-500	2.9	(Yang et al., 2015)
UA-DLLME	UV-Gör	16	0.8	0-500	3.3	(Yang et al., 2015)
DLLME-SFO	FAAS	20	0.93	5-400	-	(Karadaş and Kara, 2017)
SFODME	FI-FAAS	324	0.4	1.00-25.0	0.9	(Şahin and Tokgöz, 2010)
SPE	FAAS	35	1.9	10-340	2.1	(Ghaedi et al., 2010)
D-CPE	FAAS	22	0.5	5-300	2.7	(Gao et al., 2010)
SsLLME	FAAS	53	0.52	-	2.6	(Yılmaz and Soylak, 2014)
HF-LPME	FAAS	551	4	10-5000	5.7	(Es'haghi and Azmoodeh, 2010)
DLLME-MSPE	ICP-MS	81	0.017	0.02-20	2.6	(Wang et al., 2015)
SS-DLLME	FAAS	52	0.75	2.5-200	0.94	Bu Çalışma

Çizelge 5.3 Cd(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin literatürdeki diğer Cd(II) iyonlarının tayin yöntemleriyle karşılaştırılması

Analitik Yöntem	Tayin Tekniği	EF	LOD (µg/L)	Doğrusal Derişim Aralığı (µg/L)	RSD (%)	Referans
IL-VADLLME	FAAS	72.2	0.13	100-500	4.2	(Shaikh et al., 2019)
Um-CPE	FAAS	30.5	0.052	1.5-200	3.56	(Khan et al., 2017)
RP-DLLME	FAAS	32.7	0.12	0.30-20	2.9	(Sorouraddin et al., 2020)
SUPRAS	TS-FF-AAS	8.92	0.11	0.36-7.50	7.08	(Suquila et al., 2019)
VA-DLLME	FAAS	110	0.25	1.0-225	2.4	(Elik et al., 2017)
UA-CPE	FAAS	65	0.90	3.0-250	≤3.2	(Gürkan et al., 2016)
SM-DLLME	FAAS	22	0.3	5.0-180	2.5	(Jafarvand and Shemirani, 2011)
LL-USAEME	ICP-OES	19.6	0.20	1.0-250	7.50	(Karimi et al., 2013)
DLLME-MSPE	ICP-MS	78	0.007	0.01-20	1.1	(Wang et al., 2015)
SPE	FAAS	100	0.09	1-120	3.8	(Behbahani et al., 2013)
SS-DLLME	FAAS	47	0.69	2.5-100	0.61	Bu Çalışma

Çizelge 5.4 Pb(II) iyonlarının tayini için geliştirilen SHS-DLLME yönteminin literatürdeki diğer Pb(II) iyonlarının tayin yöntemleriyle karşılaştırılması

Analitik Yöntem	Tayin Tekniği	EF	LOD ($\mu\text{g/L}$)	Doğrusal Derişim Aralığı ($\mu\text{g/L}$)	RSD (%)	Referans
IL-VADLLME	FAAS	76.1	0.4	100-500	4.2	(Shaikh et al., 2019)
Um-CPE	FAAS	30.3	0.450	1.5-200	4.12	(Khan et al., 2017)
VA-DLLME	ICP-OES	20	0.15	0.5-250	1.85	(Guedes et al., 2020)
DLLME	ET-AAS	150	0.02	0.05-1.0	2.5	(Naseri et al., 2008)
UA-DLLME	FAAS	80	0.29	1.0-400	2.7	(Altunay et al., 2019)
DLLME	SQT-FAAS	32	2.7	10-500	2.7	(Erarpat et al., 2017)
UASEME	GF-AAS	20	0.02	0.06-1.5	9.3	(Yao et al., 2018)
UDILBME	FAAS	70	0.19	-	<5	(Talpur et al., 2018)
SHS-LPME	GF-AAS	49	0.016	0.04-2.0	4.2	(Zhang et al., 2018)
CPE	FAAS	58	0.27	5-100	2.12	(Naeemullah et al., 2016)
SS-DLLME	FAAS	45	2.88	10-1000	4.43	Bu Çalışma

Önerilen yöntemin, Cu(II) iyonları için zenginleştirme faktörü, LOD, doğrusal derişim aralığı ve RSD değerleri açısından diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında; özellikle UV-görünür bölge spektrometri temelli yöntemlerden daha başarılı olduğu gözlemlenmiştir (Yang et al., 2015). Tabloda FAAS kullanan diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında ise çoğu yöntemden daha iyi olduğu anlaşılmaktadır (Arpa Şahin and Tokgöz, 2010; Es'haghi and Azmoodeh, 2010; Gao et al., 2010; Ghaedi et al., 2010; Karadaş and Kara, 2017; Yılmaz and Soylak, 2014). GF-AAS ve ICP-MS yöntemleri kullanıldığında önerilen yöntemde göre düşük LOD değerleri elde edilmesine rağmen, tekrar edilebilirlik değerlerinin önerilen yöntemde daha iyi olduğu görülmektedir (Neri et al., 2019; Wang et al., 2015). Zenginleştirme faktörü ise GF-AAS tekniği ile karşılaştırıldığında önerilen yöntemde çok daha iyidir (Neri et al., 2019).

Cd(II) iyonları için yapılan karşılaştırmalarda, önerilen metodun özellikle ICP-OES yönteminden zenginleştirme faktörü, doğrusal derişim aralığı ve RSD değerleri açısından daha iyi olduğu gözlemlenmektedir (Karimi et al., 2013). Sunulan SHS-DLLME çalışması özellikle diğer FAAS yöntemleriyle karşılaştırıldığında daha yüksek zenginleştirme faktörüyle daha iyi bir performans göstermiştir (Behbahani et al., 2013; Elik et al., 2017; Gürkan et al., 2016; Jafarvand and Shemirani, 2011; Khan et al., 2017; Shaikh et al., 2019; Sorouraddin et al., 2020; Suquila et al., 2019). Önerilen yöntem ICP-MS yöntemine karşı daha düşük zenginleştirme faktörü, LOD ve doğrusal derişim aralığı gösterse de, tekraredilebilirlik açısından ICP-MS yöntemine göre çok daha başarılıdır (Wang et al., 2015).

Pb(II) iyonları için önerilen yöntemin zenginleştirme faktörü, LOD, doğrusal derişim aralığı ve RSD değerleri açısından Çizelge 5.4' te verilen diğer FAAS yöntemleri ile kıyaslandığında daha iyi doğrusal derişim aralığına ve hemen hemen aynı RSD değerlerine sahip olduğu görülmektedir (Altunay et al., 2019; Erarpat et al., 2017; Khan et al., 2017; Naeemullah et al., 2016; Shaikh et al., 2019; Talpur et al., 2018). Zenginleştirme faktörü açısından GF-AAS yöntemiyle karşılaştırıldığı zaman ise önerilen yöntemin daha iyi olduğu görülmektedir

(Naseri et al., 2008; Yao et al., 2018; Zhang et al., 2018). ICP-OES yöntemi zenginleştirme faktörü, LOD ve tekraredilebilirlik açısından önerilen yöntemden daha iyi olmasına rağmen doğrusal derişim aralığı önerilen yöntem için daha iyidir (Guedes et al., 2020).

Bu sonuçlara göre, önerilen SHS-DLLME yönteminin tarım ürünlerinde bakır, kadmiyum ve kurşun iyonlarının zenginleştirilmesi ve tayini için hassas, tekrarlanabilir, hızlı ve kolay uygulanabilir, çevreci ve literatürle yarışabilecek özelliklere sahip bir metot olduğu sonucuna varılmaktadır. Şekil 2.3. te sunulan literatür taraması sonuçlarına göre çalışılmış olan metallerle ilgili son 10 yılda yapılan tüm mikroekstraksiyon çalışmalarının %16 sı SHS ile yapılmıştır ve bu da konunun çalışmaya uygun ve literatürde yer bulacak nitelikte olduğunu göstermektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abdul, K.S.M., Jayasinghe, S.S., Chandana, E.P.S., Jayasumana, C., De Silva, P.M.C.S., 2015. Arsenic and human health effects: A review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 40, 828–846.
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.09.016>
- Abeywickrama, C.J., Wansapala, J., 2019. Review of organic and conventional agricultural products: Heavy metal availability, accumulation and safety. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 4, 77–88.
- Albert, A., Gibson, M.I., Rubbo, S.D., 1953. The influence of chemical constitution on antibacterial activity. VI. The bactericidal action of 8-hydroxyquinoline (oxine). *Br. J. Exp. Pathol.* 34, 119–130.
- Albert Kh Gilmutdinov, 1999. *Atomic Absorption, Theory.* Elsevier 1, 54–62.
<https://doi.org/10.1201/9780203755686-9>
- Almås, Å., Singh, B., 2001. Plant uptake of cadmium-109 and zinc-65 at different temperature and organic matter levels. *J. Environ. Qual.* 30, 869–877.
- Altunay, N., Elik, A., Gürkan, R., 2019. Monitoring of some trace metals in honeys by flame atomic absorption spectrometry after ultrasound assisted-dispersive liquid liquid microextraction using natural deep eutectic solvent. *Microchem. J.* 147, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.03.003>
- Alver, E., Demirci, A., Özcimder, M., 2012. *Sigma* 30, 75-90, 2012. *Mühendislik ve Fen Bilim. Dergisi*, *Sigma* 30, 75–90.
- Antoniadis, V., Robinson, J., Alloway, B., 2008. Effects of short-term pH fluctuations on cadmium, nickel, lead, and zinc availability to ryegrass in a sewage sludge-amended field. *Chemosphere* 71, 759–764.
- Armenta, S., Garrigues, S., de la Guardia, M., 2008. Green Analytical Chemistry. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 27, 497–511.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.05.003>
- Arpa Şahin, Ç., Durukan, I., 2011. Ligandless-solidified floating organic drop microextraction method for the preconcentration of trace amount of cadmium in water samples. *Talanta* 85, 657–661.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.04.044>
- Arpa Şahin, Ç., Tokgöz, I., 2010. A novel solidified floating organic drop

- microextraction method for preconcentration and determination of copper ions by flow injection flame atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 667, 83–87. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.04.012>
- Asadi, M., Dadfarnia, S., Shabani, A.M.H., Abbasi, B., 2015. Simultaneous extraction and quantification of lamotrigine, phenobarbital, and phenytoin in human plasma and urine samples using solidified floating organic drop microextraction and high-performance liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* 38, 2510–2516. <https://doi.org/10.1002/jssc.201500237>
- Auclair, L., Zee, J., Karam, A., Rochat, E., 1995. Nutritive value, organoleptic quality and productivity of greenhouse tomatoes in relation to production method: organic-conventional-hydroponic. *Sci. Des. Alim.* 15, 511-528.
- Aydin, F., Yilmaz, E., Soylak, M., 2015. Supramolecular solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction of copper from water and hair samples. *RSC Adv.* 5, 40422–40428. <https://doi.org/10.1039/c4ra17116k>
- Baltussen, E., Cramers, C.A., Sandra, P.J.F., 2002. Sorptive sample preparation - A review. *Anal. Bioanal. Chem.* 373, 3–22. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1266-2>
- Barfi, B., Asghari, A., Rajabi, M., Sabzalian, S., Khanalipoor, F., Behzad, M., 2015. Optimized syringe-assisted dispersive micro solid phase extraction coupled with microsampling flame atomic absorption spectrometry for the simple and fast determination of potentially toxic metals in fruit juice and bio-fluid samples. *RSC Adv.* 5, 31930–31941. <https://doi.org/10.1039/c5ra03537f>
- Bazel, Y., Rečlo, M., Chubirka, Y., 2020. Switchable hydrophilicity solvents in analytical chemistry. Five years of achievements. *Microchem. J.* 157, 105115. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105115>
- Beaty, R.D., Kerber, J.D., 1993. *Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry*, The Perkin-Elmer Corporation.
- Behbahani, M., Salarian, M., Amini, M.M., Sadeghi, O., Bagheri, A., Bagheri, S., 2013. Application of a New Functionalized Nanoporous Silica for Simultaneous Trace Separation and Determination of Cd(II), Cu(II), Ni(II), and Pb(II) in Food and Agricultural Products. *Food Anal. Methods* 6, 1320–1329. <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9545-9>
- Berijani, S., Assadi, Y., Anbia, M., Milani Hosseini, M.R., Aghaee, E., 2006.

- Dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-flame photometric detection. Very simple, rapid and sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water. *J. Chromatogr. A* 1123, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.05.010>
- Bingöl, M., Yentür, G., Er, B., Öktem, A.B., 2010. Determination of some heavy metal levels in soft drinks from Turkey using ICP-OES method. *Czech J. Food Sci.* 28, 213–216.
- Bourn, D., Prescott, J., 2002. A comparison of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42, 1–34.
- Bravo, B., Sánchez, J., Cáceres, A., Chávez, G., Ysambertt, F., Márquez, N., Jaimes, M., Briceño, M.I., Salager, J.L., 2008. Partitioning of fatty acids in oil/water systems analyzed by HPLC. *J. Surfactants Deterg.* 11, 13–19. <https://doi.org/10.1007/s11743-007-1048-0>
- Cabrera, F., E, D., Madrid, L., 1989. Effect of using urban compost as manure on soil contents of some nutrients and heavy metals. *J. Sci. Food Agric.* 47, 159-169.
- Campillo, N., López-García, I., Hernández-Córdoba, M., Viñas, P., 2018. Food and beverage applications of liquid-phase microextraction. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 109, 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.004>
- Cantle, J.E., 1982. TECHNIQUES AND INSTRUMENTATION IN ANALYTICAL CHEMISTRY Volume 5 - Atomic Absorption Spectrometry, Elsevier Scientific Publishing Company. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Chaiyo, S., Siangproh, W., Apilux, A., Chailapakul, O., 2015. Highly selective and sensitive paper-based colorimetric sensor using thiosulfate catalytic etching of silver nanoplates for trace determination of copper ions. *Anal. Chim. Acta* 866, 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.01.042>
- Chandrajith, R., Dissanayake, C.B., 2009. Phosphate mineral fertilizers, trace metals and human health. *J. Natl. Sci. Found. Sri Lanka* 37, 153–165.
- Chavas, J.P., Posner, J.L., Hedtcke, J.L., 2009. Organic and conventional production systems in the Wisconsin integrated cropping systems trial: II. Economic and risk analysis 1993-2006. *Agron. J.* 101, 288–295. <https://doi.org/10.2134/agronj2008.0055x>

- Chen, S., Zhu, S., Lu, D., 2015. Solidified floating organic drop microextraction for speciation of selenium and its distribution in selenium-rich tea leaves and tea infusion by electrothermal vapourisation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chem.* 169, 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.147>
- Chitturi, R., Baddam, V.R., Prasad, L., Prashanth, L., Kattapagari, K., 2015. A review on role of essential trace elements in health and disease. *J. Dr. NTR Univ. Heal. Sci.* 4, 75. <https://doi.org/10.4103/2277-8632.158577>
- Cistola, D.P., Hamilton, J.A., Jackson, D., Small, D.M., 1988. Ionization and Phase Behavior of Fatty Acids in Water: Application of the Gibbs Phase Rule. *Biochemistry* 27, 1881–1888. <https://doi.org/10.1021/bi00406a013>
- Clark, M.S., Horwath, W.R., Shennan, C., Scow, K.M., 1998. Changes in soil chemical properties resulting from organic and low-input farming practices. *Agron. J.* 90, 662–671. <https://doi.org/10.2134/agronj1998.00021962009000050016x>
- Clarke, R., Merrow, S., 1979. Nutrient composition of tomatoes homegrown under different cultural procedures. *Ecol. Food Nutr.* 8, 37–46.
- Cobb, G., Sands, K., Waters, M., Wixson, B., Dorward-King, E., 2000. Accumulation of heavy metals by vegetables grown in mine wastes. *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 600–607.
- Dadalı, C., Elmacı, Y., 2017. Gıdalarda Uçucu Bileşen Analizinde Katı Faz Mikroekstraksiyon. *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknol. Derg.* 5, 1173–1183.
- Dadfarnia, S., Haji Shabani, A.M., 2010. Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals-A review. *Anal. Chim. Acta* 658, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.022>
- Dai, J., Becquer, T., Rouiller, J., Reversat, G., Reversat, F., Lavelle, P., 2004. Influence of heavy metals on C and N mineralization and microbial biomass in Zn-, Pb-, Cu-, and Cd-contaminated soils. *Appl. Soil Ecol.* 25, 99–109.
- Dalecki, A.G., Crawford, C.L., Wolschendorf, F., 2017. Copper and Antibiotics: Discovery, Modes of Action, and Opportunities for Medicinal Applications, in: *Advances in Microbial Physiology*. Elsevier Ltd., pp. 193–260. <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2017.01.007>
- DC, O., MC, M., GV, M., LK, S., TA, S., 1991. Chemical Contamination of Soils

- and their Protection. Agropromizdat Publ. House Moscow (in Russ).
- De Carvalho Oliveira, R., Santelli, R.E., 2010. Occurrence and chemical speciation analysis of organotin compounds in the environment: A review. *Talanta* 82, 9–24. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.04.046>
- Dharmarathne, N., Gunatilake, J., 2013. Leachate characterization and surface groundwater pollution at municipal solid waste landfill of Gohagoda, Sri Lanka. *Int. J. Sci. Res. Publ.* 3, 1–7.
- Dong, B., Liu, X., Dai, L., Dai, X., 2013. Changes of heavy metal speciation during high-solid anaerobic digestion of sewage sludge. *Bioresour. Technol.* 131, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.112>
- Duffus, J.H., 2002. “Heavy Metals” - A meaningless term? (IUPAC technical report), INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY CHEMISTRY. <https://doi.org/10.1351/pac200274050793>
- Durukan, I., Arpa Şahin, Ç., Bektaş, S., 2011. Determination of copper traces in water samples by flow injection-flame atomic absorption spectrometry using a novel solidified floating organic drop microextraction method. *Microchem. J.* 98, 215–219. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.02.001>
- Elik, A., Altunay, N., Gürkan, R., 2017. Microextraction and preconcentration of Mn and Cd from vegetables, grains and nuts prior to their determination by flame atomic absorption spectrometry using room temperature ionic liquid. *J. Mol. Liq.* 247, 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.09.121>
- Elmer, P., 1996. Analytical methods for atomic absorption spectroscopy, Perkin-Elmer Corporation.
- EPA, 1991. Lead and Copper Rule (LCR) 56 FR.
- Erapat, S., Özzeybek, G., Chormey, D.S., Bakirdere, S., 2017. Determination of lead at trace levels in mussel and sea water samples using vortex assisted dispersive liquid-liquid microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry. *Chemosphere* 189, 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.072>
- Es'haghi, Z., Azmoodeh, R., 2010. Hollow fiber supported liquid membrane microextraction of Cu²⁺ followed by flame atomic absorption spectroscopy determination. *Arab. J. Chem.* 3, 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2009.12.004>
- European Council, 1999. Council Regulation (EEC) No.2092/91 of 24 June on

organic production of agricultural products and indications referring thereto on agricultural products and foodstuffs.

- Farahani, M.D., Shemirani, F., Ramandi, N.F., Gharehbaghi, M., 2015. Ionic Liquid as a Ferrofluid Carrier for dispersive solid phase extraction of copper from food samples. *Food Anal. Methods* 8, 1979–1989.
- Fernández, V., Sotiropoulos, T., Brown, P., 2013. Foliar Fertilization: Scientific Principles and Field Practices. *Int. Fertil. Ind. Assoc.*
- Fjelkner-Modig, S., Bengtsson, H., Stegmark, R., Nyström, S., 2000. The influence of organic and integrated production on nutritional, sensory and agricultural aspects of vegetable raw materials for food production. *Acta Agric. Scand. - Sect. B Soil Plant Sci.* 50, 102–113. <https://doi.org/10.1080/090647100750374250>
- Flora, G., Gupta, D., Tiwari, A., 2012. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip. Toxicol.* 5, 47–58.
- Fraga, C.G., 2005. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol. Aspects Med.* 26, 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.013>
- Gallardo-Lara, F., Nogales, R., 1987. Effect of the application of town refuse compost on the soil-plant system: A review. *Biol. wastes* 19, 35–62.
- Gałaszka, A., Migaszewski, Z., Namieśnik, J., 2013. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 50, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>
- Gao, Y., Wu, P., Li, W., Xuan, Y., Hou, X., 2010. Simultaneous and selective preconcentration of trace Cu and Ag by one-step displacement cloud point extraction for FAAS determination. *Talanta* 81, 586–590. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.12.038>
- Garbisu, C., Alkorta, I., 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresour. Technol.* 77, 229–236.
- Ghaedi, M., Niknam, K., Taheri, K., Hossainian, H., Soylak, M., 2010. Flame atomic absorption spectrometric determination of copper, zinc and manganese after solid-phase extraction using 2,6-dichlorophenyl-3,3-bis(indolyl)methane loaded on Amberlite XAD-16. *Food Chem. Toxicol.* 48,

891–897. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.12.029>

- Guedes, L.F. de M., Braz, B.F., Freire, A.S., Santelli, R.E., 2020. Assessing the harmfulness of high-salinity oilfield-produced water related to trace metals using vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction combined with inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Microchem. J.* 155, 104714. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104714>
- Gürkan, R., Altunay, N., Yıldırım, E., 2016. Combination of Ultrasonic-Assisted Cloud Point Extraction with Flame AAS for Preconcentration and Determination of Trace Amounts of Silver and Cadmium in Dried Nut and Vegetable Samples. *Food Anal. Methods* 9, 3218–3229. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0505-7>
- Hack, M.D., 1993. Organically grown products; perceptions, preferences and motives of Dutch consumers. *Acta Hortic.* 340, 247–53.
- Hajšlová, J., Schulzova, V., Slanina, P., Janne, Hellenäs, K., 2005. Quality of organically and conventionally grown potatoes: four-year study of micronutrients, metals, secondary metabolites, enzymic browning and organoleptic properties. *Food Addit. Contam.* 22, 514–534.
- Hemmati, M., Rajabi, M., 2019. Switchable fatty acid based CO₂-effervescence ameliorated emulsification microextraction prior to high performance liquid chromatography for efficient analyses of toxic azo dyes in foodstuffs. *Food Chem.* 286, 185–190.
- Herschey, R.W., 2012. Guidelines for Drinking-water Quality, World Health Organization. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4410-6_184
- Hettiarachchi, G., Ryan, J., Chaney, R., Fleur, C. La, 2003. Sorption and desorption of cadmium by different fractions of biosolids-amended soils. *J. Environ. Qual.* 32, 1684–1693.
- Hornick, S.B., 1992. Factors affecting the nutritional quality of crops. *Am. J. Altern. Agric.* 7, 63–68.
- Ivanov, V.S., 2000. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 48, 523–544.
- Izah, S., Inyang, I., Angaye, T., Okowa, I., 2016. A review of heavy metal concentration and potential health implications of beverages consumed in Nigeria. *Toxics* 5, 1.
- Jafarvand, S., Shemirani, F., 2011. Supramolecular-based dispersive liquid-

- liquid microextraction: Determination of cadmium in water and vegetable samples. *Anal. Methods* 3, 1552–1559. <https://doi.org/10.1039/c1ay05013c>
- Järup, L., 2003. Hazards of heavy metal contamination. *Br. Med. Bull.* 68, 167–182.
- Jayasumana, C., Fonseka, S., Fernando, A., Jayalath, K., Amarasinghe, M., Siribaddana, S., Gunatilake, S., Paranagama, P., 2015. Phosphate fertilizer is a main source of arsenic in areas affected with chronic kidney disease of unknown etiology in Sri Lanka. *Springerplus* 4, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-0868-z>
- Jayasumana, C., Paranagama, P., Amarasinghe, M., Wijewardane, K., 2013. Possible link of chronic arsenic toxicity with chronic kidney disease of unknown etiology in Sri Lanka. *J. Nat. Sci. Res.* 3.
- Jessop, P.G., 2013. Switchable Solvents, in: 10th Green Chemistry Conference. pp. 2–3.
- Jessop, P.G., Heldebrant, D.J., Li, X., Eckert, C.A., Liotta, C.L., 2005. Green chemistry: Reversible nonpolar-to-polar solvent. *Nature* 436, 1102.
- Jessop, P.G., Mercer, S.M., Heldebrant, D.J., 2012. CO₂-triggered switchable solvents, surfactants, and other materials. *Energy Environ. Sci.* 5, 7240–7253. <https://doi.org/10.1039/c2ee02912j>
- Jessop, P.G., Olmstead, M.M., Ablan, C.D., Grabenauer, M., Sheppard, D., Eckert, C.A., Liotta, C.L., 2002. Carbon dioxide as a solubility “switch” for the reversible dissolution of highly fluorinated complexes and reagents in organic solvents: Application to crystallization. *Inorg. Chem.* 41, 3463–3468. <https://doi.org/10.1021/ic020057h>
- Jolly, D.A., Norris, K., 1991. Marketing prospects for organic and pesticide-free produce. *Am. J. Altern. Agric.* 6, 174–9.
- Jordao, C., Nickless, G., 1989. Chemical associations of Zn, Cd, Pb and Cu in soils and sediments determined by the sequential extraction technique. *Environ. Technol.* 10, 743–752.
- Jorhem, L., Slanina, P., 2000. Does organic farming reduce the content of Cd and certain other trace metals in plant foods? A pilot study. *J. Sci. Food Agric.* 80, 43–48.
- Karadaş, C., Kara, D., 2017. Dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic drop for preconcentration and determination

- of trace amounts of copper by flame atomic absorption spectrometry. *Food Chem.* 220, 242–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.005>
- Karimi, M., Sereshti, H., Khojeh, V., Samadi, S., 2013. Ligandless-ultrasound-assisted emulsification microextraction followed by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry for simultaneous determination of heavy metals in water samples. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 93, 401–415. <https://doi.org/10.1080/03067319.2012.656308>
- Kashem, M., Singh, B., 2001. Metal availability in contaminated soils: I. Effects of flooding and organic matter on changes in Eh, pH and solubility of Cd, Ni and Zn. *Nutr. Cycl. Agroecosystems* 61, 247–255.
- Kazantzi, V., Kabir, A., Furton, K.G., Anthemidis, A., 2018. Fabric fiber sorbent extraction for on-line toxic metal determination by atomic absorption spectrometry: Determination of lead and cadmium in energy and soft drinks. *Microchem. J.* 137, 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.11.006>
- Kenar, J.A., Moser, B.R., List, G.R., 2017. *Naturally Occurring Fatty Acids, Fatty Acids*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809521-8.00002-7>
- Khan, M., Kazi, T.G., Afridi, H.I., Bilal, M., Akhtar, A., Ullah, N., Khan, S., Talpur, S., 2017. Application of ultrasonically modified cloud point extraction method for simultaneous enrichment of cadmium and lead in sera of different types of gallstone patients. *Ultrason. Sonochem.* 39, 313–320. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.04.043>
- Khan, S., Cao, Q., Zheng, Y., Huang, Y., Zhu, Y., 2008a. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environ. Pollut.* 152, 686–692.
- Khan, S., Cao, Q., Zheng, Y.M., Huang, Y.Z., Zhu, Y.G., 2008b. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environ. Pollut.* 152, 686–692.
- Khanam, R., Kumar, A., Nayak, A.K., Shahid, M., Tripathi, R., Vijayakumar, S., Bhaduri, D., Kumar, U., Mohanty, S., Panneerselvam, P., Chatterjee, D., Satapathy, B.S., Pathak, H., 2020. Metal(loid)s (As, Hg, Se, Pb and Cd) in paddy soil: Bioavailability and potential risk to human health. *Sci. Total Environ.* 699, 134330. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134330>
- Khani, R., Shemirani, F., 2010. Determination of trace levels of nickel and

- manganese in soil, vegetable, and water. *Clean–Soil Air Water* 38, 1177–1183.
- Kiszkiel-Taudul, I., Starczewska, B., 2019. Single drop microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SDME-LC-MS/MS) for determination of ranitidine in water samples. *Microchem. J.* 145, 936–941. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.12.015>
- Kokosa, J.M., 2019. Selecting an extraction solvent for a greener liquid phase microextraction (LPME) mode-based analytical method. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 118, 238–247. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.012>
- Kumar, P., Dushenkov, S., Motto, H., Raskin, I., 1995. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soil. *Environ. Sci. Technol.* 29, 1232–1238.
- Kuppusamy, S., Thavamani, P., Megharaj, M., Naidu, R., 2015. Bioremediation potential of natural polyphenol rich green wastes: a review of current research and recommendations for future directions. *Environ. Technol. Innov.* 4, 17–28.
- Lairon, D., Spitz, N., Termine, E., Ribaud, P., Lafont, H., Hauton, J., 1984. Effect of organic and mineral nitrogen fertilization on yield and nutritive value of butterhead lettuce. *Plant Foods Hum. Nutr.* 34, 97–108.
- Lampkin, N., 1990. *Organic Farming*. UK:Farming Press Books.
- Latorre, M., Troncoso, R., Uauy, R., 2019. *Biological Aspects of Copper, Clinical and Translational Perspectives on WILSON DISEASE*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-810532-0.00004-5>
- Li, H., Wang, J., Wang, Q., Qian, X., Y Qian, Yang, M., Li, F., 2015. Chemical fractionation of arsenic and heavy metals in fine particle matter and its implications for risk assessment: A case study in Nanjing, China. *Atmos. Environ.* 103, 339–346.
- Li, T., Yang, J., 2015. Cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometric determination for copper(II) ion in environmental samples. *J. Iran. Chem. Soc.* 12, 367–370.
- Li, X., Yang, Z., Sui, H., Jain, A., He, L., 2018. A hybrid process for oil-solid separation by a novel multifunctional switchable solvent. *Fuel* 221, 303–310. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.02.081>
- Liu, Y., Ma, L., Li, Y., Zheng, L., 2007. Evolution of heavy metal speciation

- during the aerobic composting process of sewage sludge. *Chemosphere* 67, 1025–1032. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.056>
- Lobinski, R., Marczenko, Z., 1996. Spectrochemical trace analysis for metals and metalloids, Elsevier. <https://doi.org/10.1080/15507394.2011.544983>
- M. Stoepler, 1992. TECHNIQUES AND INSTRUMENTATION IN ANALYTICAL CHEMISTRY - VOLUME 12 HAZARDOUS METALS IN THE ENVIRONMENT, Elsevier Scientific Publishing Company. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Malmauret, L., Parent-Massin, D., Hardy, J., Verger, P., 2002. Contaminants in organic and conventional foodstuffs in France. *Food Addit. Contam.* 19, 524–532.
- Marchiol, L., Assolari, S., Sacco, P., Zerbi, G., 2004. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environ. Poll.* 132, 21–27.
- Marczenko, Z., Balcerzak, M., 2000. Separation and preconcentration of elements, in: *Analytical Spectroscopy Library*. pp. 5–25. [https://doi.org/10.1016/S0926-4345\(00\)80065-6](https://doi.org/10.1016/S0926-4345(00)80065-6)
- Massoud, R., Hadiani, M.R., Hamzehlou, P., Khosravi-Darani, K., 2019. Bioremediation of heavy metals in food industry: Application of *Saccharomyces cerevisiae*. *Electron. J. Biotechnol.* 37, 56–60. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2018.11.003>
- McCauley, A., Jones, C., Olson-Rutz, K., 2017. Nutrient Management : Soil pH and Organic Matter. *Nutr. Manag.* 4449, 1–16.
- Memon, Z.M., Yilmaz, E., Soylak, M., 2017. Switchable solvent based green liquid phase microextraction method for cobalt in tobacco and food samples prior to flame atomic absorption spectrometric determination. *J. Mol. Liq.* 229, 459–464. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.12.098>
- Miró, M., Estela, J.M., Cerdà, V., 2004. Application of flowing stream techniques to water analysis: Part III. Metal ions: Alkaline and alkaline-earth metals, elemental and harmful transition metals, and multielemental analysis. *Talanta* 63, 201–223. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2003.10.047>
- Mitchell, A.E., Hong, Y.J., Koh, E., Barrett, D.M., Bryant, D.E., Denison, R.F., Kaffka, S., 2007. Ten-year comparison of the influence of organic and conventional crop management practices on the content of flavonoids in

- tomatoes. *J. Agric. Food Chem.* 55, 6154–6159.
- Müller, M., Anke, M., Illing-Günther, H., 1998. Aluminium in foodstuffs. *Food Chem.* 61, 419-428.
- Naeemullah, Kazi, T.G., Tuzen, M., 2016. Development of novel simultaneous single step and multistep cloud point extraction method for silver, cadmium and nickel in water samples. *J. Ind. Eng. Chem.* 35, 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2015.12.022>
- Nagajyoti, P.C., Lee, K.D., Sreekanth, T.V.M., 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environ. Chem. Lett.* 8, 199–216. <https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
- Naseri, M.T., Milani Hosseini, M.R., Assadi, Y., Kiani, A., 2008. Rapid determination of lead in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta* 75, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.10.029>
- Neri, T.S., Rocha, D.P., Muñoz, R.A.A., Coelho, N.M.M., Batista, A.D., 2019. Highly sensitive procedure for determination of Cu(II) by GF AAS using single-drop microextraction. *Microchem. J.* 147, 894–898. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.014>
- Nolan, A., Lombi, E., MJ McLaughlin, 2003. Metal bioaccumulation and toxicity in soils - why bother with speciation? *Aust. J. Chem* 56, 77-91.
- Nordberg, G.F., Fowler, B.A., Nordberg, M., Friberg, L., 2007. *Handbook of the Toxicology of Metals*, 3rd ed. Atlanta, Academic Press.
- Nordberg, G.F., Sandstrom, B., Becking, G., Goyer, R.A., 2002. *Heavy Metals in the Environment*. Marcel Dekker, New York.
- Ojeda, C.B., Rojas, F.S., 2009. Separation and preconcentration by a cloud point extraction procedure for determination of metals: An overview. *Anal. Bioanal. Chem.* 394, 759–782. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2660-9>
- Pandey, J., Pandey, U., 2009. Accumulation of heavy metals in dietary vegetables and cultivated soil horizon in organic farming system in relation to atmospheric deposition in a seasonally dry tropical region of India. *Environ. Monit. Assess.* 148, 61–74.
- Pawliszyn, J., 2012a. Solid-Phase Microextraction in Perspective, in: *Handbook of Solid Phase Microextraction*. Elsevier Inc., pp. 1–12.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416017-0.00001-2>

- Pawliszyn, J., 2012b. Theory of Solid-Phase Microextraction, in: Handbook of Solid Phase Microextraction. Elsevier Inc., pp. 13–59.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416017-0.00002-4>
- Pawliszyn, J., 2000. Solid-Phase Microextraction. Acad. Press 1416–1424.
- Peavy, W., Greig, J., 1972. Organic and mineral fertilizers compared by yield, quality, and composition of spinach. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 97, 718–723.
- Pedersen-Bjergaard, S., Rasmussen, K.E., 1999. Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* 71, 2650–2656.
<https://doi.org/10.1021/ac990055n>
- Perez-Llamas, F., Navarro, I., Marin, J., Madrid, J., Zamora, S., 1996. Comparative study on the nutritive quality of foods grown organically and conventionally. *Alimentaria* 34, 41–44.
- Phan, L., Andreatta, J.R., Horvey, L.K., Edie, C.F., Luco, A.L., Mirchandani, A., Darensbourg, D.J., Jessop, P.G., 2008. Switchable-polarity solvents prepared with a single liquid component. *J. Org. Chem.* 73, 127–132.
<https://doi.org/10.1021/jo7017697>
- Phansi, P., Henriquez, C., Palacio, E., Nacapricha, D., Cerda, V., 2014. An automated in-chip-catalytic-spectrophotometric method for determination of copper(II) using a multisyringe flow injection analysis-multipumping flow system. *Anal. Methods* 6, 8494–8504.
- Pinamonti, F., Stringari, G., Gasperi, F., Zorzi, G., 1997. The use of compost: its effects on heavy metal levels in soil and plants. *Resour. Conserv. Recycl.* 21, 129–143.
- Płotka-Wasyłka, J., Rutkowska, M., Owczarek, K., Tobiszewski, M., Namieśnik, J., 2017. Extraction with environmentally friendly solvents. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 91, 12–25. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.03.006>
- Pochivalov, A., Vakh, C., Garmonov, S., Moskvin, L., Bulatov, A., 2020. An automated in-syringe switchable hydrophilicity solvent-based microextraction. *Talanta* 209, 120587.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120587>
- Pollet, P., Eckertabc, C.A., Liotta, C.L., 2011. Switchable solvents. *Chem. Sci.* 2, 609–614. <https://doi.org/10.1039/c0sc00568a>

- Prosen, H., 2019. Applications of hollow-fiber and related microextraction techniques for the determination of pesticides in environmental and food samples—a mini review. *Separations* 6, 1–24. <https://doi.org/10.3390/separations6040057>
- Qishlaqi, A., Moore, F., 2007. Statistical Analysis of Accumulation and Sources of Heavy Metals Occurrence in Agricultural Soils of Khoshk River Banks, Shiraz, Iran. *Am. J. Agric. Environ. Sci.* 2, 565–573.
- Rai, P.K., Lee, S.S., Zhang, M., Tsang, Y.F., Kim, K.H., 2019. Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. *Environ. Int.* 125, 365–385. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.067>
- Raskin, I., Smith, R., Salt, D., 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8, 221–226.
- Reganold, J.P., Palmer, A.S., Lockhart, J.C., Macgregor, A.N., 1993. Soil quality and financial performance of biodynamic and conventional farms in new zealand. *Science (80-)*. 260, 344–349.
- Rezaee, M., Assadi, Y., Milani Hosseini, M.R., Aghaee, E., Ahmadi, F., Berijani, S., 2006. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *J. Chromatogr. A* 1116, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.007>
- Rezaee, M., Yamini, Y., Faraji, M., 2010. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. *J. Chromatogr. A* 1217, 2342–2357. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.088>
- Sarafraz-Yazdi, A., Amiri, A., 2010. Liquid-phase microextraction. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 29, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.10.003>
- Şatiroğlu, N., Tokgöz, I., 2010. Cloud point extraction of aluminum (III) in water samples and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry, flame atomic absorption spectrometry and uv-visible spectrophotometry. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 90, 560–572. <https://doi.org/10.1080/03067310903276266>
- Ščančar, J., Stibilj, V., Milačič, R., 2004. Determination of aluminium in Slovenian foodstuffs and its leachability from aluminium-cookware. *Food Chem.* 85, 151–157.
- Schreck, E., Laplanche, C., Guédard, M. Le, Bessoule, J., Austruy, A., Xiong,

- T., Foucault, Y., 2013. Influence of fine process particles enriched with metals and metalloids on *Lactuca sativa* L. leaf fatty acid composition following air and/or soilplant field exposure. *Environ. Pollut.* 179, 242–249.
- Schroeder, W.H., Dobson, M., Kane, D.M., Johnson, N.D., 1987. Toxic Trace Elements Associated With Airborne Particulate Matter: A Review. *J. Air Pollut. Control Assoc.* 37, 1267–1285. <https://doi.org/10.1080/08940630.1987.10466321>
- Schuphan, W., 1974. Nutritional value of crops as influenced by organic and inorganic fertilizer treatments. *Plant Foods Hum. Nutr.* 23, 333–358.
- Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Schreck, E., Xiong, T., Niazi, N.K., 2017. Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. *J. Hazard. Mater.* 325, 36–58. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.11.063>
- Shahid, M., Khalid, S., Abbas, G., Shahid, N., Nadeem, M., Sabir, M., Aslam, M., Dumat, C., 2015. Heavy Metal Stress and Crop Productivity. *Crop Prod. Glob. Environ. Issues* 1–25. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23162-4>
- Shaikh, R., Kazi, T.G., Afridi, H.I., Akhtar, A., Baig, J.A., 2019. An environmental friendly enrichment method for microextraction of cadmium and lead in groundwater samples: Impact on biological sample of children. *Chemosphere* 237, 124444. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124444>
- Sharma, R., Agrawa, L., 2005. Biological effects of heavy metals: an overview. *J. Environ. Biol.* 26, 301–313.
- Shen, G., Hian, K.L., 2002. Hollow fiber-protected liquid-phase microextraction of triazine herbicides. *Anal. Chem.* 74, 648–654. <https://doi.org/10.1021/ac010561o>
- Singh, R., Agrawal, M., 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Manag.* 28, 347–358.
- Sirisena, D., Suriyagoda, L., 2018. Toward sustainable phosphorus management in Sri Lankan rice and vegetable-based cropping systems: A review. *Agric. Nat. Resour.*
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Crouch, S.R., 2007. *Principle of Instrumental Analysis*, David Harris. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Smith, E.G., Clapperton, M.J., Blackshaw, R.E., 2004. Profitability and risk of

- organic production systems in the Northern Great plains. *Renew. Agric. Food Syst.* 19, 152–158.
- Sorouraddin, S.M., Farajzadeh, M.A., Okhravi, T., 2020. Application of deep eutectic solvent as a disperser in reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for the extraction of Cd(II) and Zn(II) ions from oil samples. *J. Food Compos. Anal.* 93, 103590. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103590>
- Soylak, M., Aydin, A., 2011. Determination of some heavy metals in food and environmental samples by flame atomic absorption spectrometry after coprecipitation. *Food Chem. Toxicol.* 49, 1242–1248. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.03.002>
- Spietelun, A., Marcinkowski, Ł., De La Guardia, M., Namieśnik, J., 2014. Green aspects, developments and perspectives of liquid phase microextraction techniques. *Talanta* 119, 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.10.050>
- Steenland, K., Boffetta, P., 2000. Lead and cancer in humans: where are we now? *Am J Ind Med.* 38, 295–9.
- Sukreeyapongse, O., Holme, P., Strobel, B., Panichsakpatana, S., Magid, J., 2002. pH-dependent release of cadmium, copper, and lead from natural and sludge-amended soils. *J. Environ. Qual.* 31, 1901–1909.
- Suquila, F.A.C., Scheel, G.L., de Oliveira, F.M., Tarley, C.R.T., 2019. Assessment of ultrasound-assisted extraction combined with supramolecular solvent-based microextraction for highly sensitive cadmium determination in medicinal plant sample by TS-FF-AAS. *Microchem. J.* 145, 1071–1077. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.12.011>
- T, S., J, M., X, W., T, J., X, L., Y, Z., F., W., 2018. Inventories of heavy metal inputs and outputs to and from agricultural soils: A review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 164, 118–124.
- Talpur, S., Kazi, T.G., Afridi, H.I., Talpur, F.N., Nizamani, S., Lashari, A., Akhtar, A., Khan, M., 2018. Ultrasonically dispersed ionic liquid-based microextraction of lead in biological samples of malnourished children prior to analysis by flame atomic absorption spectrometry. *J. AOAC Int.* 101, 883–890. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0269>
- Tan, C., Wang, Y., Lee, C., 1998. Effect of organic fertilizers on nitrate, Cu and

- Zn contents in vegetables. *J. Agric. For.* 47, 107–114.
- Tang, S., Qi, T., Ansah, P.D., Nalouzebi Fouemina, J.C., Shen, W., Basheer, C., Lee, H.K., 2018. Single-drop microextraction. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 108, 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.09.016>
- Termine, E., Lairon, D., Taupier-Letage, B., Gautier, S., Lafont, R., Lafont, H., 1987. Yield and content in nitrates, minerals and ascorbic acid of leeks and turnips grown under mineral or organic nitrogen fertilizations. *Plant Foods Hum. Nutr.* 37, 321–332. <https://doi.org/10.1007/BF01092208>
- Terzano, R., Al Chami, Z., Vekemans, B., Janssens, K., Miano, T., Ruggiero, P., 2008. Zinc distribution and speciation within rocket plants (*Eruca vesicaria* L. Cavaleri) grown on a polluted soil amended with compost as determined by XRF microtomography and Micro-XANES. *J. Agric. Food Chem.* 56, 3222–3231. <https://doi.org/10.1021/jf073304e>
- Theis, A.L., Waldack, A.J., Hansen, S.M., Jeannot, M.A., 2001. Headspace solvent microextraction. *Anal. Chem.* 73, 5651–5654. <https://doi.org/10.1021/ac015569c>
- Tobiszewski, M., Mechlinska, A., Namie, J., 2010. Green analytical chemistry— theory and practice. *Chem. Soc. Rev.* 39, 2869–2878. <https://doi.org/10.1039/b926439f>
- Tregear, A., Dent, J.B., McGregor, M.J., 1997. The demand for organically-grown produce. *Br. Food J.* 96, 21–5.
- Turan, V., Khan, S., Iqbal, M., Ramzani, P., Fatima, M., 2018. Promoting the productivity and quality of brinjal aligned with heavy metals immobilization in a wastewater irrigated heavy metal polluted soil with biochar and chitosan. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 161, 409–419.
- Türkdoğan, M., Kilicel, F., Kara, K., Tuncer, I., Uygan, I., 2003. Heavy metals in soil, vegetables and fruits in the endemic upper gastrointestinal cancer region of Turkey. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13, 175–179.
- Türkiyede Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı, 2011. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği.
- Uriu-Adams, J.Y., Keen, C.L., 2005. Copper, oxidative stress, and human health. *Mol. Aspects Med.* 26, 268–298. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.015>
- Usman, A., Kuzyakov, Y., Stahr, K., 2008. Sorption, desorption, and

- immobilization of heavy metals by artificial soil. University of Hohenheim.
- Vanderveen, J.R., Durelle, J., Jessop, P.G., 2014. Design and evaluation of switchable-hydrophilicity solvents. *Green Chem.* 16, 1187–1197. <https://doi.org/10.1039/c3gc42164c>
- Vareda, J.P., Valente, A.J.M., Durães, L., 2019. Assessment of heavy metal pollution from anthropogenic activities and remediation strategies: A review. *J. Environ. Manage.* 246, 101–118. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.126>
- Vrček, I., DV, Č., D, R., M, P., I, Ž., M, B., M, M.-Š., 2014. A comparison of the nutritional value and food safety of organically and conventionally produced wheat flours. *Food Chem.* 143, 522-529.
- Wang, H., Wu, Q., Hu, W., Huang, B., Dong, L., Liu, G., 2018. Using multi-medium factors analysis to assess heavy metal health risks along the Yangtze River in Nanjing, Southeast China. *Environ. Pollut.* 243, 1047–1056.
- Wang, M.Q., Ma, W.J., Shi, J., Zhu, Y., Lin, Z., Lv, H.P., 2020. Characterization of the key aroma compounds in Longjing tea using stir bar sorptive extraction (SBSE) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC–MS), gas chromatography-olfactometry (GC-O), odor activity value (OAV), and aroma recombination. *Food Res. Int.* 130, 108908. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108908>
- Wang, X., Chen, J., Zhou, Y., Liu, X., Yao, H., Ahmad, F., 2015. Dispersive Liquid–Liquid Microextraction and Micro-Solid Phase Extraction for the Rapid Determination of Metals in Food and Environmental Waters. *Anal. Lett.* 48, 1787–1801. <https://doi.org/10.1080/00032719.2014.1002036>
- Wang, Y.Y., Zhao, G.Y., Chang, Q.Y., Zang, X.H., Wang, C., Wang, Z., 2010. Developments in liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop. *Fenxi Huaxue/ Chinese J. Anal. Chem.* 38, 1517–1522. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(09\)60073-6](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(09)60073-6)
- Warman, P., Havard, K., 1996. Yield, Vitamin and Mineral Content of Four Vegetables Grown with Either Composted Manure or Conventional Fertilizer. *J. Veg. Crop Prod.* 2, 13–25.
- Welz, B. hard, Sperling, M., 1999. Atomic absorption spectrometry, Wiley-Vch. <https://doi.org/10.1002/9781118654316.ch10>

- WHO, 2020. International Programme on Chemical Safety [WWW Document].
URL https://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/cadmium/en/
(accessed 9.21.20).
- WHO, 2000. Fifty-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.
- Wieteska, E., Drzewinska, A., 1999. The role of sample pretreatment in analysis of aluminium traces in food by GFAAS. *Polish J. Environ. Stud.* 8, 189–196.
- Wimalawansa, S., 2014. Escalating chronic kidney diseases of multi-factorial origin in Sri Lanka: causes, solutions, and recommendations. *Environ. Health Prev. Med.* 19, 375.
- Woese, K., Lange, D., Boess, C., Bögl, K.W., 1997. A comparison of organically and conventionally grown foods—results of a review of the relevant literature. *J. Sci. Food Agric.* 74, 281–293.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199707\)74:3<281::AID-JSFA794>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199707)74:3<281::AID-JSFA794>3.0.CO;2-Z)
- Worthington, V., 1998. Effect of agricultural methods on nutritional quality: a comparison of organic with conventional crops. *Altern Ther. Heal. Med.* 4, 58–69.
- Wu, C.X., Wu, Q.H., Wang, C., Wang, Z., 2011. A novel method for the determination of trace copper in cereals by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop coupled with flame atomic absorption spectrometry. *Chinese Chem. Lett.* 22, 473–476.
<https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2010.10.049>
- Wunderlich, S.M., Feldman, C., Kane, S., Hazhin, T., 2008. Nutritional quality of organic, conventional, and seasonally grown broccoli using vitamin C as a marker. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 59, 34–45.
<https://doi.org/10.1080/09637480701453637>
- Xiao-Huan, Z., Qiu-Hua, W.U., Zhang, M.Y., Guo-Hong, X.I., Zhi, W., 2009. Developments of dispersive liquid-liquid microextraction technique. *Chin. J. Anal. Chem.* 37, 161–168.
- Yadav, R., Goyal, B., Sharma, R., Dubey, S., Minhas, P., 2002. Post irrigation impact of domestic sewage effluent on composition of soils, crop and ground water—a case study. *Environ. Int* 28, 481–486.
- Yamada, T., Lukac, P.J., George, M., Weiss, R.G., 2007. Reversible, Room-

- Temperature Ionic Liquids. Amidinium Carbamates Derived from Amidines and Aliphatic Primary Amines with Carbon Dioxide. *Chem. Mater.* 19, 967–969.
- Yang, K., Zhu, Y., Shan, R., Shao, Y., Tian, C., 2017. Heavy metals in sludge during anaerobic sanitary landfill: Speciation transformation and phytotoxicity. *J. Environ. Manage.* 18958–66.
- Yang, Shengchun, Fang, X., Duan, L., Yang, Shu, Lei, Z., Wen, X., 2015. Comparison of ultrasound-assisted cloud point extraction and ultrasound-assisted dispersive liquid liquid microextraction for copper coupled with spectrophotometric determination. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 148, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.03.129>
- Yang, Z., He, C., Sui, H., He, L., Li, X., 2019. Recent advances of CO₂-responsive materials in separations. *J. CO₂ Util.* 30, 79–99. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2019.01.004>
- Yao, L., Liu, H., Wang, X., Xu, W., Zhu, Y., Wang, H., Pang, L., Lin, C., 2018. Ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction using a magnetic ionic liquid coupled with micro-solid phase extraction for the determination of cadmium and lead in edible vegetable oils. *Food Chem.* 256, 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.132>
- Yavuz, E., Tokalioglu, S., Sahan, H., Patat, S., 2016. Nanosized spongelike Mn₃O₄ as an adsorbent for preconcentration by vortex assisted solid phase extraction of copper and lead in various food and herb samples. *Food Chem.* 194, 463–469.
- Yılmaz, E., Soylak, M., 2015. Switchable polarity solvent for liquid phase microextraction of Cd(II) as pyrrolidinedithiocarbamate chelates from environmental samples. *Anal. Chim. Acta* 886, 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.06.021>
- Yılmaz, E., Soylak, M., 2014. Development a novel supramolecular solvent microextraction procedure for copper in environmental samples and its determination by microsampling flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* 126, 191–195. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.03.053>
- Yousefi, S.R., Shemirani, F., 2010. Development of a robust ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction against high concentration of salt for preconcentration of trace metals in saline aqueous samples: Application to

- the determination of Pb and Cd. *Anal. Chim. Acta* 669, 25–31.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.04.026>
- Yu, T., Yamada, T., Gaviola, G.C., Weiss, R.G., 2008. Carbon dioxide and molecular nitrogen as switches between ionic and uncharged room-temperature liquids comprised of amidines and chiral amino alcohols. *Chem. Mater.* 20, 5337–5344. <https://doi.org/10.1021/cm801169c>
- Zacccone, C., Caterina, R. Di, Rotunno, T., Quinto, M., 2010. Soil–farming system–food–health: Effect of conventional and organic fertilizers on heavy metal (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) content in semolina samples. *Soil Tillage Res.* 107, 97-105.
- Zaman, B.T., Bakaraki Turan, N., Bakirdere, E.G., Topal, S., Sağsöz, O., Bakirdere, S., 2020. Determination of trace manganese in soil samples by using eco-friendly switchable solvent based liquid phase microextraction-3 holes cut slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry. *Microchem. J.* 157, 104981. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104981>
- Zang, X.H., Wu, Q.H., Zhang, M.Y., Xi, G.H., Wang, Z., 2009. Developments of dispersive liquid-liquid microextraction technique. *Fenxi Huaxue/ Chinese J. Anal. Chem.* 37, 161–168. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(08\)60082-1](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(08)60082-1)
- Zhang, H.H., Li, F.B., Wu, Z.F., Li, D.Q., Xu, D.R., Yuan, H.X., 2008. Baseline Concentrations and Spatial Distribution of Trace Metals in Surface Soils of Guangdong Province, China. *J. Environ. Qual.* 37, 1752–1760.
- Zhang, J., Zhang, L., Wei, Y., Chao, J., Shuang, S., Cai, Z., Dong, C., 2014. A selectively rhodamine-based colorimetric probe for detecting copper(II) ion. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 132, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.04.006>
- Zhang, S., Chen, B., He, M., Hu, B., 2018. Switchable solvent based liquid phase microextraction of trace lead and cadmium from environmental and biological samples prior to graphite furnace atomic absorption spectrometry detection. *Microchem. J.* 139, 380–385. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.03.017>
- Zolfaghari, G., Atash, Z., Sazgar, A., 2018. Baseline heavy metals in plant species from some industrial and rural areas: Carcinogenic and non-carcinogenic risk assessment. *MethodsX* 5, 43–60.

