



Çeşitli ligandları kullanarak Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺ nin bir arada spektrofotometrik tayinleri için yöntem geliştirilmesi ve elde edilen verilerin en küçük kareler kalibrasyon yöntemi (PLS) ve temel bileşen regresyon (PCR) yöntemi ile değerlendirilmesi

Ahmet Kaba, A.Hakan Aktaş^{1*}

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen - Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 32260 Isparta

12.11.2013 Geliş/Received, 26.12.2013 Kabul/Accepted

ÖZET

Bu çalışmada iki farklı ligand alizarin red (AR) ve eriochrome black T (ECR) denenmiş, bunlardan ECR ile daha doğru sonuçlar elde edildiğinden çalışmalara ECR ile devam edilmiştir. Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺ 'nın ECR ile kompleksleri oluşturularak spektrofotometrik yöntemle bir arada tayinleri yapılmıştır. Uygun parametreler belirlenmiş (ligand miktarı, pH, bekleme süreleri, metal derişimi ile absorbans arasındaki ilişki ve yabancı iyon etkisi) ve optimum koşullar sağlanmıştır. Optimum şartlar sağlandıktan sonra Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺ içeren karışımların spektrofotometrik tayinleri gerçekleştirilmiş ve veriler en küçük kareler kalibrasyon yöntemi (PLS) ve temel bileşim regresyon (PCR) yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Uygulanan kemometrik yöntemler hızlı, basit ve çıkan sonuçlar uygulanabilir.

Anahtar Kelimeler: Demir, alüminyum, bakır, spektrofotometri, kemometrik yöntem.

Development a spectrophotometric method for simultaneous determination of Fe³⁺, Al³⁺ and Cu²⁺ using various ligands and assesment of the obtained data by least squares calibration (PLS) and principal component regression (PCR) methods

ABSTRACT

In this study, two different ligand alizarin red (AR), and eriochrome black T (ECR) tried these ECR more accurate results are obtained from studies ECR continued with. Fe³⁺, Al³⁺ and Cu²⁺ complexes formed by the ECR were determined by a combination of spectrophotometric method. Accordance with determined parameters (ligand concentration, pH, waiting times, the relationship between absorbance and concentration of metal ion effect and foreign) are provided and the optimum conditions. After establishing the optimum conditions Fe³⁺, Al³⁺ and Cu²⁺ containing mixtures spectrophotometric determinations and the data calibration method of least squares (PLS) regression, and principal component regression (PCR) methods were used. Chemometric methods are applied in a fast, simple, and the results are applicable.

Keywords: Iron, aluminum, copper, spectrophotometry, chemometric method.

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author hakanaktas@sdu.edu.tr

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Bu metallerin bir arada veya ikisinin bir arada veya tek başlarına analiz edildiği, literatürde çok sayıda metot mevcuttur. Bunlardan bazıları elektro termal atomik absorpsiyon metodu (ETAAS) ve grafit fırınlı atomik absorpsiyon metodu (GFAAS) [1,2], indüktif eşleşmiş plazma - optik emisyon spektrometre metodu (ICP-OES) [3,4], atomik absorpsiyon spektrofotometri (AAS) [5], kromatografi [6,7], spektrofotometri [8-11] ve voltametri'dir [12]. Yine yapılan kaynak araştırmasına göre, demir, alüminyum ve bakırın spektrofotometrik tayinleri için çeşitli ligandların kullanıldığını göstermiştir. Bunlara örnek olarak da krezol sarısı [4], alizarin kırmızısı [13], 2-hidroksi-1-naftaldehit benzoil hidrazon [14], eriochrome black T [15], setil trimetilamonyum bromür [16,17], krom azurol S [18] ve setil piridinyum klorür [19] verilebilir.

Son yıllarda kemometri alanındaki gelişmeler kompleks sistemlerin çözümü için çok değişkenli kalibrasyonların gelişmesine yol açmıştır. Çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri ile birden fazla bileşen içeren numunelerdeki bileşenler çok sayıdaki dalga boylarını kullanarak kantitatif olarak tayin edilebilmektedir. Absorpsiyon piklerinin dalga boyları birbirine yakın olan bileşenleri içeren karışımların spektrofotometrik yöntemle bir arada analizleri son yıllarda kemometrik kalibrasyon teknikleri ile kolaylıkla yapılmaktadır [20].

Bu çalışmada aynı ortamda bulunan bazı metal katyonlarının komplekslerinin oluşturulması suretiyle bir arada tayinleri amaçlanmıştır. Ancak burada karşılaşılan temel sorun katyonların birbiri üzerinde bozucu etki yapması dolayısıyla bu bozucu etki yapanların belirlenip ayrılması ya da katyonların ayrı ayrı tayinlerinin yapılmasıdır. Ayrı ayrı tayinlerde ayırma ve maskeleyme sırasında ortamda bulunan türlerden bazıları analitle kısmen de olsa benzerlik gösterir ve ayırma işleminde bir miktar analit de ortamdaki uzaklaşabilir. Her iki durumda da hata yapılması kaçınılmaz bir gerçektir [1]. Bu nedenle bu çalışmada bu üç metalin bir arada bulunduğu sentetik matris ortamları oluşturulmuş ve kemometrik yöntemler yardımıyla hiçbir ön ayırma işlemi yapmadan tayinleri gerçekleştirilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT (MATERIAL AND METHOD)

2.1. Kullanılan Cihaz (Apparatus)

UV-Vis spektrum ölçümleri, bilgisayar kontrollü 1 cm kuartz hücreli UV 1700 Pharmaspec Shimadzu

Çeşitli ligandları kullanarak Fe³⁺, Al³⁺ ve Cu²⁺'nin bir arada spektrofotometrik tayinleri için yöntem geliştirilmesi ve elde edilen verilerin en küçük kalibrasyon yöntemi (PLS) ve temel bileşen regresyon (PCR) yöntemi ile değerlendirilmesi

spektrofotometresi (Shimadzu, Kyoto, Japan) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.2. Kemometrik Yazılım (Chemometric Software)

Elde edilen verileri kullanarak oluşturulan PCR ve PLS kemometrik yöntemleri için elimizde lisansı bulunan Minitab 16 paket programı kullanılmıştır.

2.3. Kullanılan Kimyasallar (Reagents)

Deneylerde analitik saflıkta olan kimyasallar kullanılmıştır. Kullanılan maddeler bakır (II) nitrat, alüminyum potasyum sülfat ve demir (III) klorür maddeleri ve pH çalışmaları için kullanılan asetik asit, sodyum asetat, amonyum klorür ve amonyak maddeleri Merck, eriochrome black T Fluka ve alizarin red Aldrich marka saf maddelerdir. Bütün maddelerin 1 g / 100 mL olacak şekilde stok çözeltileri hazırlanmış ve bu maddelerden yola çıkılarak deneyler yapılmıştır.

2.4. Yöntem (Method)

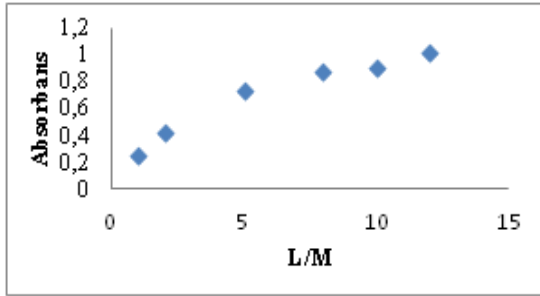
Bu çalışmada ilk olarak komplekslerin oluşumu için en uygun parametreler belirlenmiş (ligand miktarı, pH, bekleme süreleri, metal derişimi ile absorbans arasındaki ilişki ve yabancı iyon etkisi) ve optimum koşullar sağlanmıştır. Optimum koşullar sağlandıktan sonra her bir metalin önce tek tek sonra farklı oranlarda hazırlanan karışımlarının spektrumları alınmıştır. Elde edilen veriler, PCR ve PLS kalibrasyon yöntemleriyle değerlendirilmiştir. Spektrofotometrik çalışmanın ilk basamağında cihazın kalibrasyonu yapılmıştır. Kalibrasyon işlemi önce her iki hücre boş bırakılarak havaya karşı yapılır. Sonra aynı işlem bu kez her iki ışık yoluna saf su ile hazırlanan kör numunesi konularak yapılır. Bütün okumalarda hep kör bu şekilde hazırlanır. Kör seçimi yapılırken girişim etkilerini yok etmek için, kör olarak çözücü tercih edilir. İkinci basamakta, her bir maddenin tek tek spektrumları alınmıştır. Bu işlem esnasında stok maddelerinden derişimleri 2-10 ppm arasında olacak şekilde saf maddeler stoklardan alınarak toplan hacim 10 mL ye tamamlanarak çözeltileri hazırlanmış ve UV spektroskopisinde absorbans okumaları yapılmıştır. Üçüncü basamakta, her bir madde ayrı bir dalga boyunda maksimum verdiğinden saf maddelerden oluşturulan sentetik karışımların UV spektroskopisinde absorbans okumaları yapılmış ve birbiri yanında herhangi bir ön ayırma işlemine gerek olmaksızın maddeler incelenmiştir. En son basamakta ise, hazırlanan sentetik numune çözeltileri incelenmiştir.

3. BULGULAR (RESULTS)

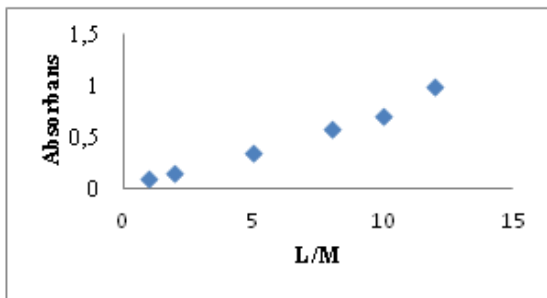
3.1. Ligand Miktarı (Amount of Ligand)

Çalışmada iki farklı ligand alizarin red (AR) ve eriochrome black T (ECR) denenmiş, bunlardan ECR ile daha doğru sonuçlar elde edildiğinden çalışmalara ECR ile devam edilmiştir.

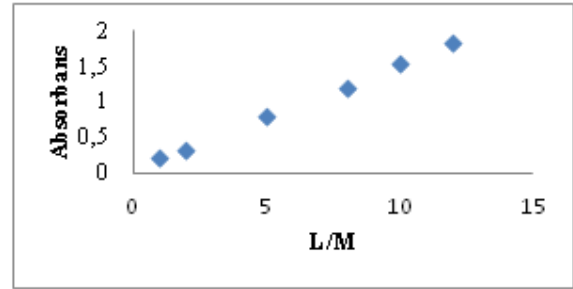
$Al(III)$ -ECR, $Fe(III)$ -ECR ve $Cu(II)$ -ECR komplekslerinin oluşumu için en uygun ligand miktarının bulunması amacı ile 10 ppm lik $Al(III)$ metal çözeltisinin 0,2 mL sine $7,4 \cdot 10^{-4}$ M ECR çözeltisinden, 10 ppm lik $Fe(III)$ metal çözeltisinin 0,5 mL sine $8,9 \cdot 10^{-4}$ M ECR çözeltisinden ve $Cu(II)$ metal çözeltisinin 0,8 mL sine 0,1; 0,2; 0,5; 0,8; 1,0 ve 1,2 mL eklenerek çözeltilerin hacimleri pH 4 tamponu ile 10 mL ye tamamlanmış ve 10 dakika bekletilmiştir. Bu işlemlere ait grafikler Şekil 1, 2 ve 3 de gösterilmiştir. En yüksek absorbans değerlerine 12 kat ligand ile ulaşılmıştır.



Şekil 1. $Al(III)$ -ECR kompleksinin oluşumuna ligand miktarının etkisi (The effect of the amount of ligand complex formation $Al(III)$ -ECR)



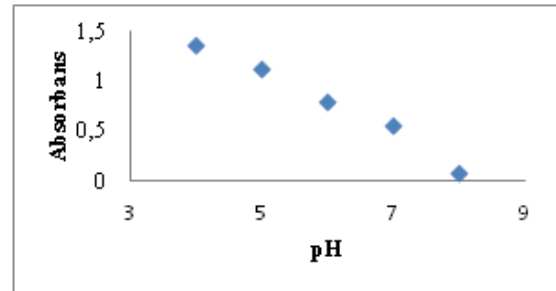
Şekil 2. $Fe(III)$ -ECR kompleksinin oluşumuna ligand miktarının etkisi (The effect of the amount of ligand complex formation $Fe(III)$ -ECR)



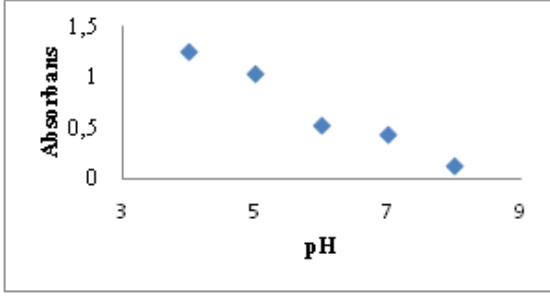
Şekil 3. $Cu(III)$ -ECR kompleksinin oluşumuna ligand miktarının etkisi (The effect of amount of ligand complex formation $Cu(III)$ -ECR)

3.2. pH (pH)

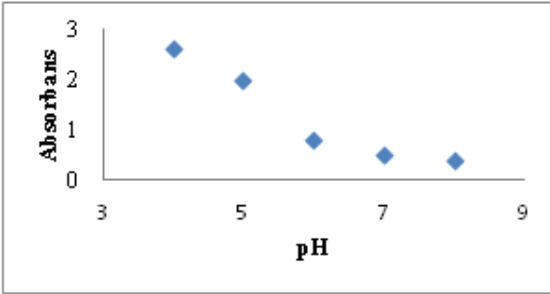
10 ppm'lik $Al(III)$ çözeltisinin 0,2 mL'sine $7,4 \cdot 10^{-4}$ M ECR çözeltisinden 1,2 mL, 10 ppm'lik $Fe(III)$ çözeltisinin 0,5 mL'sine $8,9 \cdot 10^{-4}$ M ECR 1,2 mL ve 10 ppm'lik $Cu(II)$ çözeltisinin 0,8 mL sine $7,4 \cdot 10^{-4}$ M katılarak 10 mL'lik balon jöjelere alınmış ve pH=4,0; 5,0; 6,0; 7,0 ve 8,0 tampon çözeltileri ile hacimlerine tamamlanmış ve final çözeltilerin pH'ları 4,0 ; 5,0; 6,0; 7,0 ve 8,0 yapılmıştır. 10 dakika bekletildikten sonra oluşan çözeltilerin spektrumları boş deneme çözeltisine karşı alınmış, pH değerlerine karşılık absorbans değerlerinin grafikleri Şekil 4, 5 ve 6 da gösterilmiştir. Grafiklerden de görüldüğü gibi en uygun pH değeri 4 olarak saptanarak çalışmalara devam edilmiştir.



Şekil 4. $Al(III)$ -ECR kompleksinin oluşumuna pH'in etkisi (The effect of pH on the formation of the complex $Al(III)$ -ECR)



Şekil 5. Fe(III)-ECR kompleksinin oluşumuna pH'in etkisi (The effect of pH on the formation of the complex Fe(III)-ECR)



Şekil 6. Cu(II)-ECR kompleksinin oluşumuna pH'in etkisi (The effect of pH on the formation of the complex Cu(II)-ECR)

3.3. Bekletme Süresi (Holding Time)

10 ppm'lik Al(III) çözeltisinin 0,2 mL'sine $7,4 \cdot 10^{-4}$ M ECR çözeltisinden 1,2 mL ve 10 ppm'lik Fe(III) çözeltisinin 0,5 mL'sine $8,9 \cdot 10^{-4}$ M ECR çözeltisinden 1,2 mL ve 10 ppm'lik Cu(II) çözeltisinin 0,8 mL sine 1,2 mL eklenip hacimleri pH=4 asetat tamponu ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 5'er dakika aralıklarla absorbansları ölçülmüş, yapılan ölçümler neticesinde bekletme süresinin fazla bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Bu sebeple metal-ligand etkileşimini deney hazırlanır hazırlanmaz spektrofotometrede okunmasına karar verilmiş ve bir sonraki aşamaya geçilmiştir.

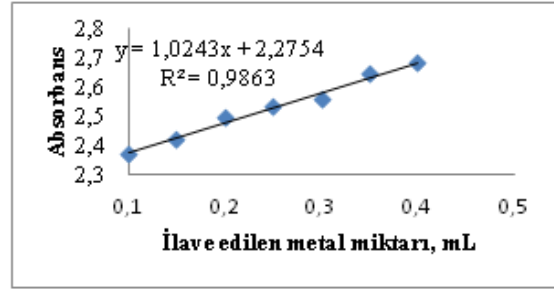
3.4. Metal Derişimi - Absorbans İlişkisi (Metal Concentration - Absorbance Relationship)

Al(III)-ECR kompleksine ait derişim-absorbans eğrisinin hazırlanması için 10 mL'lik 5 adet balon jöjeye 10ppm'lik alüminyum çözeltisinden sırasıyla 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,3; 0,35; 0,4 mL ve her birine $1,6 \cdot 10^{-3}$ M ECR çözeltisinden 1,2 mL konulmuş ve pH=4 tamponu ile hacimlerine tamamlanmıştır. Çözeltilerin absorbans değerleri boş deneme çözeltisine karşı okunmuş, her derişim için 3 kez ölçüm yapılmış ve ortalama değerlerle derişimler arasında grafik çizilerek derişim-absorbans eğrisi oluşturulmuştur.

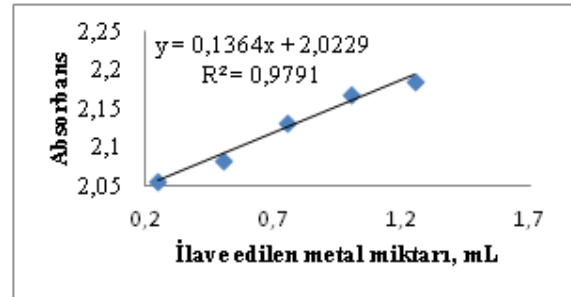
Çeşitli ligandları kullanarak Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} 'nin bir arada spektrofotometrik tayinleri için yöntem geliştirilmesi ve elde edilen verilerin en küçük kalibrasyon yöntemi (PLS) ve temel bileşen regresyonu (PCR) yöntemi ile değerlendirilmesi

Fe(III)-ECR kompleksine ait derişim-absorbans eğrisinin hazırlanması için 10 mL'lik 5 adet balon jöjeye 10ppm'lik demir çözeltisinden sırasıyla 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 mL ve her birine $1,6 \cdot 10^{-3}$ M ECR çözeltisinden 1,2 mL konulmuş ve pH=4 tamponu ile hacimlerine tamamlanmıştır. Çözeltilerin absorbans değerleri boş deneme çözeltisine karşı okunmuş, her derişim için 3 kez ölçüm yapılmış ve ortalama değerlerle derişimler arasında grafik çizilerek derişim-absorbans eğrisi oluşturulmuştur.

Cu(II)-ECR kompleksine ait derişim-absorbans eğrisinin hazırlanması için 10mL'lik 5 adet balon jöjeye 10ppm'lik bakır çözeltisinden sırasıyla 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 mL ve her birine $1,6 \cdot 10^{-3}$ M ECR çözeltisinden 1,2 mL konuldu ve pH=4 tamponu ile hacimlerine tamamlanmıştır. Çözeltilerin absorbans değerleri boş deneme çözeltisine karşı okunmuş, her derişim için 3 kez ölçüm yapılmış ve ortalama değerlerle derişimler arasında grafik çizilerek derişim-absorbans eğrisi oluşturulmuş ve regresyon denklemleri verilmiştir. Elde edilen grafikler Şekil 7, 8 ve 9 da gösterilmiştir.



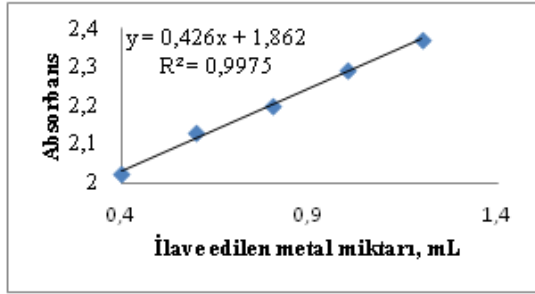
Şekil 7. Alüminyum için derişim-absorbans grafiği (Concentration-absorbance graph of aluminium)



Şekil 8. Demir için derişim-absorbans grafiği (Concentration-absorbance graph of iron)

Çeşitli ligandları kullanarak Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} 'nin bir arada spektrofotometrik tayinleri için yöntem geliştirilmesi ve elde edilen verilerin en küçük kalibrasyon yöntemi (PLS) ve temel bileşen regresyon (PCR) yöntemi ile değerlendirilmesi

A. Kaba, A. H. Aktaş



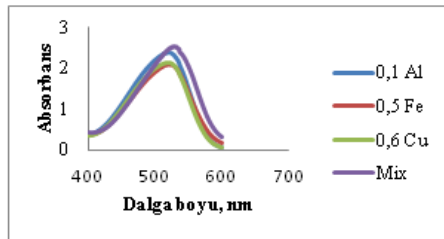
Şekil 9. Bakıra ait derişim-absorbans grafiği (Concentration-absorbance graph of copper)

3.5. Yabancı İyon Etkisi (Interference Study)

Kadmiyum, kurşun ve mangan iyonlarının 100 ppm' lik çözeltilerinin 0,5 mL'sine $1,6 \cdot 10^{-3}$ M ECR çözeltisinin 1 mL'si katılarak tampon çözelti ile 10 mL' ye tamamlanmıştır. Çözeltilerin 400-600 nm arasındaki spektrumları boş deneme çözeltisine karşı alınmıştır. Çalışılan iyonların çalışma koşullarında absorbans oluşumuna etki edecek herhangi bir reaksiyon vermediği saptanmıştır.

3.6. Spektral Koşulların Optimizasyonu (Optimization of Spectral Conditions)

Spektrofotometrik çalışmalarda Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} nin uygun çözeltileri hazırlanmış ve bunların önce tek başlarına sonra da karışımlarının 400 - 600 nm dalga boyu aralğında spektrumları alınmıştır (Şekil 10). Şekil 10' dan da görüldüğü gibi her üç bileşik aynı dalga boyu aralğında girişim yapmaktadır. Bu nedenle klasik spektroskopik yaklaşımlarla her üç bileşimin aynı anda miktar tayinleri mümkün olmadığından kemometrik metotlara başvurulmuştur.



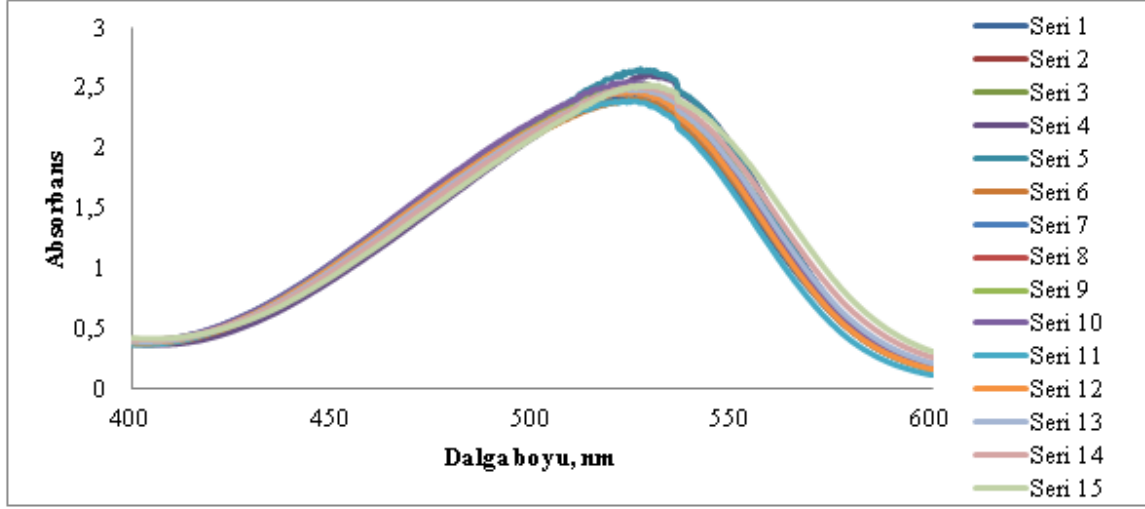
Şekil 10. 0,1 ppm Al^{3+} , 0,5 ppm Fe^{3+} , 0,6 ppm Cu^{2+} komplekslerinin ve bunlara karşılık gelen karışımın absorpsiyon spektrumları (Absorption spectra of 0,1 ppm Al^{3+} , 0,5 ppm Fe^{3+} and 0,6 ppm Cu^{2+} complexes and their mixture)

3.7. Kalibrasyon ve Validasyon (Calibration and Validation)

Her bir metalden elde edilen optimum şartlarda belli hacimlerde miktarlar alınarak çeşitli karışımlar hazırlanarak kalibrasyon ve validasyon çalışmalarına geçilmiştir. Kalibrasyon işlemi için aşağıdaki Tablo 1 de gösterildiği gibi 18 tane karışım hazırlanmış ve bunların ilk 15'i validasyon işleminde kullanılmıştır. Validasyon işleminde kullanılan karışımların spektrofotometrik grafikleri Şekil 11'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} nin kalibrasyon ve validasyon çalışmaları için hazırlanan karışım (A concentration set of the mixture solutions Al^{3+} , Fe^{3+} and Cu^{2+} substances for the calibration and validation)

No	Al^{3+} (ppm)	Fe^{3+} (ppm)	Cu^{2+} (ppm)
1	0,10	0,50	0,60
2	0,20	0,50	0,60
3	0,30	0,50	0,60
4	0,40	0,50	0,60
5	0,50	0,50	0,60
6	0,20	0,50	0,40
7	0,20	0,50	0,60
8	0,20	0,50	0,80
9	0,20	0,50	1,00
10	0,20	0,50	1,20
11	0,20	0,25	0,60
12	0,20	0,50	0,60
13	0,20	0,75	0,60
14	0,20	1,00	0,60
15	0,20	1,25	0,60
16	0,30	0,30	0,00
17	0,00	0,30	0,30
18	0,30	0,00	0,30



Şekil 11. Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} 'nin kalibrasyon spektrumları (Calibration spectra of Al^{3+} , Fe^{3+} and Cu^{2+})

Tablo 2. Yapay karışıma PCR ve PLS yöntemlerinin uygulanması sonucunda ele geçen geri kazanım değerleri (Recovery data obtained from the synthetic mixture by using the proposed PCR and PLS methods)

Karışım			Geri Kazanım (%)					
Al^{3+} (ppm)	Fe^{3+} (ppm)	Cu^{2+} (ppm)	Al^{3+}	PCR		Al^{3+}	PLS	
				Fe^{3+}	Cu^{2+}		Fe^{3+}	Cu^{2+}
0,10	0,50	0,60	81,97	134,69	114,56	104,44	97,80	116,35
0,20	0,50	0,60	104,95	137,91	89,86	118,83	100,81	92,08
0,30	0,50	0,60	108,59	137,17	90,95	112,42	100,72	81,48
0,40	0,50	0,60	102,84	136,80	129,89	106,42	100,24	128,24
0,50	0,50	0,60	92,49	133,47	124,82	88,57	98,26	124,75
0,20	0,50	0,40	90,84	133,72	113,57	90,84	97,72	114,09
0,20	0,50	0,60	91,50	134,85	91,21	94,97	98,58	90,89
0,20	0,50	0,80	106,92	137,34	99,10	104,61	101,52	99,21
0,20	0,50	1,00	102,60	134,94	89,65	104,03	98,83	89,47
0,20	0,50	1,20	111,59	138,80	85,38	109,73	102,95	81,94
0,20	0,25	0,60	108,02	176,21	113,57	87,18	107,53	114,09
0,20	0,50	0,60	91,50	134,85	102,70	94,97	98,58	101,76
0,20	0,75	0,60	97,96	124,02	101,39	92,51	100,32	100,54
0,20	1,00	0,60	103,53	116,35	95,59	98,36	98,55	95,32
0,20	1,25	0,60	99,86	115,40	80,58	98,52	101,05	92,07
Ortalama			99,68	135,10	101,52	100,44	100,23	101,48
SD ^a			8,38	13,60	14,74	9,21	2,53	14,77

a : Standart Sapma

3.8. PCR ve PLS Kemometrik Yöntemlerinin Uygulanması (Applying PCR and PLS Chemometric Methods)

Gerekli kalibrasyon çalışmaları hazırlandıktan sonra kemometrik uygulamalara geçilmiştir. Bu aşamada Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} yi içeren 15 farklı karışım hazırlanmış ve bu karışımların spektrumları alınarak veriler elde edilmiştir. Ele geçen veriler önce Excel'de gerekli hale getirilmiş ve buradan Minitab 16 paket programına taşınarak gerekli işlemlerin yapılmasıyla PCR ve PLS yöntemleri ile geri kazanımlar hesaplanmış ve hesaplanan değerler Tablo 2'de gösterilmiştir.

3.9. Kemometrik Yöntemlerin Validasyonu (Validation of Chemometric Methods)

PCR ve PLS kalibrasyonlarının kurulmasında faktör seçimi için çapraz validasyon işlemi kullanılır. Bunun için karelerin tahmin hatalarının toplamı (prediction error sum of squares → PRESS) hesaplanır. Optimal faktör sayısını bulmak için önerilen kriterler PRESS değeri ve F- istatistiğidir [21,22]. Hesaplanan PRESS değerleri için aşağıda verilen formül kullanılmıştır.

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (C_i^{eklenen} - C_i^{bulunan})^2$$

Kemometrik kalibrasyonların validasyonu için kalibrasyonu ve tayin basamaklarında kalibrasyonun standart hatası (standard error of calibration → SEC) parametresi kullanılmaktadır. SEC değerini minimum yapan kalibrasyon koşulları ve F-istatistiği kullanılır. Çalışmada hesaplanan SEC değerleri için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i^{eklenen} - C_i^{bulunan})^2}{n-1}}$$

Burada n değeri yapay karışımların toplam sayısıdır.

PCR ve PLS yöntemlerini doğrulamak amacıyla Al^{3+} için 0,1-0,5 ppm, Fe^{3+} için 0,2-1,25 ppm ve Cu^{2+} için 0,4-1,2 ppm çalışma aralığı içinde olacak şekilde farklı derişimlerde 15 adet yapay karışım çözeltisinden ibaret olan bir set hazırlanmıştır. Hazırlanan bu validasyon seti (Tablo1) kullanılarak kurulan PCR ve PLS kalibrasyonunun kesinlik ve doğruluğu test edilmiştir. PCR ve PLS kalibrasyon yöntemlerinin doğruluk ve kesinliğini doğrulamak amacıyla elde edilen sonuçlara ANOVA testi uygulanmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA (RESULTS AND DISCUSSION)

Bu çalışmada, Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} in çeşitli ligandlarla en uygun kompleksleri oluşturulmuş ve optimum şartlar belirlenmiş ve daha sonra spektrofotometrik yöntemle bir arada analizi yapılmıştır.

Optimum şartlar oluşturulurken çeşitli parametreler göz önüne alınmıştır. Bunlardan ligand miktarı çalışmada 1,2 ; optimum pH 4 olarak tespit edilmiştir. Oluşan metal - ligand kompleksinin bekletme süresine etkisi olmadığı saptanmıştır. Metal derişimi-absorbans ilişkisinin saptandığı denemelerde Al^{3+} için 0,9863, Fe^{3+} için 0,9791 ve Cu^{2+} için ise 0,9975 R^2 değerlerine ulaşılmıştır. Bu sonuçlar bize metal-absorbans ilişkisinin en yüksek değerlerde olduğunu göstermektedir. Çalışmada ayrıca kadmiyum, kurşun ve mangan iyonlarının çalıştığımız her üç metalin absorpsiyonuna etki etmediği anlaşılmıştır.

Optimum şartlar sağlandıktan sonra çalıştığımız metallerin her birinin saf haldeki spektrumları alınmış ve aynı dalga boylarında absorbans vermelerinden yararlanarak bu metallerin sentetik karışımları hazırlanmıştır. Şekil 10' dan da görüldüğü gibi her üç metal aynı dalga boyu aralığında girişim yapmaktadır bu durumda her üç metalin klasik spektroskopik yaklaşımlarla aynı anda miktar tayinlerinin mümkün olmadığı görülmüştür. Bu gibi hallerde kemometri bize yardımcı olduğundan bu metallerin bir arada tayinleri için PCR ve PLS kemometrik yöntemleri geliştirilmiştir. Hazırlanan validasyon seti (Çizelge 2) kullanılarak kurulan PCR ve PLS kalibrasyonunun kesinlik ve doğruluğu test edilmiştir. PCR ile geri kazanım (GK) değerleri; Al^{3+} için % 99,68 ; Fe^{3+} için % 135,10 ve Cu^{2+} için % 101,52 olarak PLS ile ise Al^{3+} için % 100,44 ; Fe^{3+} için % 100,23 ve Cu^{2+} için % 101,48 bulunmuştur.

PCR ve PLS kalibrasyon yönteminin doğruluk ve kesinliğini doğrulamak amacıyla elde edilen sonuçlara ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1, grup içi serbestlik derecesi=28 % 95 güven aralığında F-tablo değeri 4,19 olmasına karşılık PCR için, Al^{3+} için hesaplanan F-test değeri $1,78 \cdot 10^{-7}$ ve p-değeri 0,99, Fe^{3+} için hesaplanan F-test değeri 4,08 ve p-değeri 0,05 ve Cu^{2+} için ise hesaplanan F-test değeri $1,79 \cdot 10^{-5}$ ve p değeri 0,99 olarak bulunmuştur. PLS için ise Al^{3+} için hesaplanan F-test değeri 0,11 ve p-değeri 1,00, Fe^{3+} için hesaplanan F-test değeri $3,7 \cdot 10^{-5}$ ve p-değeri 0,99 ve Cu^{2+} için ise hesaplanan F-test değeri $1,30 \cdot 10^{-14}$ ve p değeri 0,98 olarak bulunmuştur. ANOVA testinde $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p\text{-değeri} > p=0,05$ olduğu için % 95 güven aralığında elde edilen

sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Varyans analizinde iki serbestlik derecesi kullanılmıştır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1 Grup içi serbestlik derecesi=28. $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p\text{-değeri} > p=0,05$ olduğu için bu kalibrasyon modellerinden PLS' in bu metallerin karışımlarının analizinde PCR' ye karşı üstünlük kurduğunu bize göstermiştir.

Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} içeren karışımlarda bu maddelerin miktar tayini için PCR ve PLS kalibrasyonunun kurulmasında çapraz validasyon işleminde tahmin edilen hataların karelerinin toplamı (Predicted Residual Error Some of Squares → PRESS) değerleri ve kalibrasyonun standart hatası (standard error of calibration → SEC) değerleri de hesaplanmıştır. Kurulan PCR kalibrasyonunda PRESS değeri Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} için sırasıyla 0,0046 ; 0,4872 ve 0,1123 olarak ve PLS için ise PRESS değeri Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} için sırasıyla 0,0087; 0,0015 ve 0,1133 olarak ve PCR kalibrasyonunda SEC değerleri Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} için sırasıyla 0,0175 ; 0,1802 ve 0,0865 olarak ve PLS için SEC değerleri Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} için sırasıyla 0,0241 ; 0,0100 ve 0,0869 olarak hesaplanmıştır. PRESS ve SEC değerlerinin sıfıra yakın olması doğruluk derecesini arttırmaktadır. Elde edilen PRESS ve SEC değerleri PLS' de yeterince küçüktür ve bu da PLS yönteminin bu çalışmada PCR 'ye üstün olduğunu bize tekrar göstermektedir.

Sonuç olarak, geliştirilen kemometrik yöntemlerden PLS yönteminin Al^{3+} , Fe^{3+} ve Cu^{2+} karışımlarının analizinde uygun olduğu ve bu yöntemin tekrarlanabilirliğinin yüksek olup duyarlı ve doğru sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir.

Teşekkür

3405-YL1-12 no'lu proje ile bu çalışmayı destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığına teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

- [1] Zarei K., Atabati M., Malekshabani Z., (2006) "Simultaneous spectrophotometric determination of iron, nickel and cobalt in micellar media by using direct orthogonal signal correction-partial least squares method", Anal. Chim. Acta, 556, 247-254.
- [2] Scancar J., Benedik R.M.M., Krizaj I., (2003) "Total metal concentrations in serum of dialysis patients and fractionation of Cu, Rb, Al, Fe and Zn in spent continuous ambulatory peritoneal dialysis fluid", Talanta, 59, 355-364.

Çeşitli ligandları kullanarak Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} 'nin bir arada spektrofotometrik tayinleri için yöntem geliştirilmesi ve elde edilen verilerin en küçük kalibrasyon yöntemi (PLS) ve temel bileşen regresyon (PCR) yöntemi ile değerlendirilmesi

- [3] Tahan J.E., Granadilla V.A., Romero R.A., (1994) "Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of Al, Cu, Fe, Pb, V and Zn in clinical samples and certified environmental reference materials", Anal. Chim. Acta, 295, 187-197.
- [4] Nagaoku M.H., Maitani T., (2000) "Binding patterns of co-existing aluminium and iron to human serum transferrin studied by HPLC-high resolution ICP-MS", Analyst, 125,1962-1965.
- [5] Coscaine A.R, Andrade J.C., Poppi R.J.,(2002) "PLS regression using real sample calibration for aluminium and iron determination in plant extracts", Analyst, 127,135-139.
- [6] Kendüzler E., Türker A.R., (2003) "Atomic absorption spectrophotometric determination of trace copper in waters, aluminium foil and tea samples after preconcentration with 1-nitroso-2-naphthol-3,6-disulfonic acid on Amsersorb 572", Anal. Chim. Acta, 480, 259-266.
- [7] Ryan E., Meaney M., (1992) "Determination of trace levels of copper (II), aluminium (III) and iron (III) by reversed phase high performance liquid chromatography using a novel on-line sample preconcentration technique", Analyst, 117, 1435-1439.
- [8] Bond A.M., Nagaosa Y., (1985) "Determination of aluminium, copper and manganese in biological and other samples as 8-quinolinol complexes by high-performance liquid chromatography with electrochemical and spectrophotometric detection", Anal. Chim. Acta, 178, 197-208.
- [9] Coscine A.R., Andrade J.C., Poppi R.J., Mello C., Raji B.V., Mbrey M.F., (2000) " Multivariate calibration applied to a highly interfering chemical system: The simultaneous spectrophotometric determination of aluminium and iron in plants using xylenol orange and partial least squares regression", Anal. Chim. Acta, 423, 31-40.
- [10] Wang N., Liang W., (1993) "Simultaneous third-derivative spectrophotometric determination of copper and nickel in iron alloys and aluminium alloy", Talanta, 40(6), 897-899.
- [11] Thakur M., Deb M.K., (1999) " The use of 1-jpyridyl-(2)-azoj-naphthol-(2) in the presence of Tx-100 and N-N'-diphenylbenzamidine for the spectrophotometric determination of copper in real samples", Talanta, 49, 561-569.
- [12] Limson J., Nyokong T., Daya S.,(1998) "The interaction of melatonin and its precursors with aluminium, cadmium, copper, iron, lead, and

- zinc: An adsorptive voltametric study", Journal of Pineal Research, 24(1), 15-21.
- [13] Safavi A., Abdollahi H., Mirzajani R., (2006) "Simultaneous spectrophotometric determination of Fe(III), Al (III) and Cu(III) by partial least squares calibration method", Spectrochimica Acta Part A, 63, 196-199.
- [14] Reddy V.K., Reddy S.M., Reddy P.R., Reddy T.S., (2000) "Simultaneous spectrophotometric determination of copper (II), vanadium (V) and iron (III) using 2-hydroxy-1-naphthaldehyde benzoylhydrazone", Journal of Analytical Chemistry, 55(5), 435-439.
- [15] Honorato R.S., Carneiro J.M.T., Zagatto E.A.G., (2001) "Spectrophotometric flowbatch determination of aluminium in plant tissues exploiting a feedback mechanism", Anal. Chim. Acta, 441, 309–315.
- [16] Rodrigues J.L., de Magalhaes S.C., Lucas P.O.,(2005) "Flow injection spectrophotometric determination of Al in hemodialysis solutions", Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 36, 1119–1123.