



Çok Değişkenli Kalibrasyon Teknikleri Kullanılarak Demir, Kobalt ve Nikelin Birlikte Spektrofotometrik Tayini*

Ceren Talyak Bağdu^{1†}, Rukiye Saygılı Canlıdınç², Adnan Kenar¹, Mustafa Taştekin¹

¹ Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara, Türkiye, (ORCID: 0000-0002-8043-6706, ORCID: 0000-0002-2865-7966, ORCID: 0000-0003-3555-0283), ctbagdu@ankara.edu.tr, kenar@science.ankara.edu.tr, tastekin@science.ankara.edu.tr

² Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kütahya, Türkiye (ORCID: 0000-0002-3942-3196), rukiye.saygili@dpu.edu.tr

(İlk Geliş Tarihi 3 Kasım 2021 ve Kabul Tarihi 11 Şubat 2022)

(DOI: 10.31590/ejosat.1018639)

ATIF/REFERENCE: Talyak Bağdu, C., Saygılı Canlıdınç, R., Kenar, A. & Taştekin, M. (2022). Çok Değişkenli Kalibrasyon Teknikleri Kullanılarak Demir, Kobalt ve Nikelin Birlikte Spektrofotometrik Tayini. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (35), 17-24.

Öz

Bu çalışmada, çok değişkenli kalibrasyon teknikleri kullanılarak demir kobalt ve nikel tayininde, spektrofotometrik olarak elde edilen veriler kemometrik yöntemler ile hesaplanmıştır. 5-seviyeli tasarıma göre Fe(III), Co(II), Ni(II) metalleri ile 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 mg/L seviyelerinde kalibrasyon çözeltileri (training set) hazırlanmıştır. Metal katyonlarının kompleksleştirilmesinde ligand olarak [4-(2-Piridilazo) rezorsinol] (PAR) reaktifi kullanılmıştır. pH, sıcaklık, kompleksleşme süresi, kompleks stokiometri, alt tayin sınırı ve yabancı türlerin bozucu etkileri gibi deneysel parametreler araştırılmış ve optimum koşullar belirlenmiştir. Absorpsiyon spektrumları, Ultraviyole-Görünür bölge (UV-GB) spektrofotometresi ile alınmış ve sonuçlar klasik en küçük kareler (CLS), temel bileşen regresyonu (PCR) ve kısmi en küçük kareler (PLS1) teknikleri ile hesaplanmıştır. Bu tekniklerden PRESS (prediction error sum of squares) değerleri hesaplanarak en uygun yöntem olarak PCR yöntemi seçilmiştir. Cross validasyon (çapraz validasyon) işlemine göre kalibrasyon çözeltileri (training set) içerisindeki her bir çözelti numune kabul edilerek hesaplamalar yapılmış ve % geri kazanımlar Fe(III) için 97,16±2,98, Co(II) için 98,78±3,24 ve Ni(II) için 101,89±2,98 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca PCR yöntemiyle standart referans numune analizi yapılmış ve sonuçlar hesaplanmıştır; buna göre t değerleri Fe(III) için 1,08, Co(II) için 2,71 ve Ni(II) için 0,09 olarak bulunmuştur. Her üç tür için de hesaplanan t değerleri %95 güven seviyesinde t kritik değeri 2,84 den küçüktür. Buna göre geliştirilen yöntemle elde edilen değerler ile sertifika değerleri arasında anlamlı bir fark yoktur.

Anahtar Kelimeler: Çok Değişkenli Kalibrasyon, UV-Görünür Bölge Spektroskopisi, PAR, Demir, Kobalt, Nikel.

Simultaneously Spectrophotometric Determination of Iron, Cobalt and Nickel by Using Multivariate Calibration Techniques

Abstract

In this study, for the simultaneously determination of iron, cobalt and nickel, the data obtained spectrophotometrically using multivariate techniques were calculated by the chemometric methods. According to the 5-level design, calibration solutions (training set) were prepared at 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 mg/L levels for Fe(III), Co(II), Ni(II) ions. For the complexation of metal cations [4-(2-Pyridylazo) resorcinol] (PAR) reagent was used as ligand. Experimental parameters such as pH, temperature, complexation time, stoichiometry of the complex, limit of detection and effects of interfering species were investigated and optimum conditions were determined. Absorption spectra were obtained by Ultraviolet-Visible (UV-VIS) spectrophotometer and results were calculated by classical least squares (CLS), principal component regression (PCR) and partial least squares (PLS1) techniques. Among these techniques, PRESS (prediction error sum of squares) values were calculated and decided that the most suitable method was PCR. According to the cross validation process, each level in the calibration solutions (training set) was accepted as a sample and calculations were made. The % recoveries were found to be as 97.16±2.98, 98.78±3.24 and 101.89±2.98 for Fe(III), Co(II) and Ni(II), respectively. In addition, the standard reference sample analysis was performed by PCR method and the results were calculated; accordingly, t values were found as 1.08 for Fe(III); 2.71 for Co(II) and 0.09 for Ni(II). The t values calculated for all three species are less than the t critical value of 2.84 at the 95% confidence level. Accordingly, there is no significant difference between the values obtained with the developed method and the certificate values.

Keywords: Multivariate Calibration, UV-VIS Spectroscopy, PAR, Iron, Cobalt, Nickel.

* Bu çalışma tezden türetilmiştir.

† Sorumlu Yazar: ctbagdu@ankara.edu.tr

1. Giriş

Organizmaların yaşamsal fonksiyonlarındaki işlevleri açısından metaller önemli bir yere sahiptir. Günümüzde metallerin canlılar üzerindeki ve doğa döngüsündeki olumlu veya olumsuz her türlü etkisi incelenmektedir (Wang ve ark., 1997; Sun ve ark., 2020). Çevresel, jeolojik, biyolojik ve endüstriyel birçok örnekte demir, kobalt, nikel metalleri ile karşılaşmakta ve kimyasal yapıları açısından birbirlerine oldukça benzer özellik gösterebilmektedirler. Demir yer kabuğunda %5 oranla en çok bulunan metaller arasında olup, ayrıca besin maddeleri ve sularda bulunabilmektedir. Demir, kanda kırmızı kan hücreleri ile oksijenin taşınması ayrıca sitokrom gibi çeşitli enzimlerin yapı ve fonksiyonları için gereklidir (Gilardi ve ark., 2017).

Fazla miktarda alınan iki değerlikli demir vücutta peroksitlerle reaksiyona girerek serbest radikal oluşumuna neden olmakta ve bu bakımdan insanlar üzerinde toksik etki gösterebilmektedir. (Anonim, 2008). Nikel ve kobalt doğada genellikle birlikte bulunur. Denizlerdeki plankton popülasyonunun kontrolünü sağlarlar. Nikel pil, akü, mıknaş, madeni para, alaşımların eldesi, kaplama gibi birçok ürün ve endüstriyel işlemlerde kullanılmaktadır. Sığır, keçi ve koyun gibi geviş getiren hayvanların enfeksiyona karşı korunması için yemlerinde kobalt bulunmalıdır. Ayrıca insanlarda alyuvarların çoğalması için gerekli olan B12 vitamini içeriğinde kobalt bulunur (Okatan ve ark., 2010).

Bu katyonların seçici ve hassas olarak tayinini yapabilmek oldukça önemlidir. Elektrokimya, atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), polarografi, UV-Görünür bölge spektroskopisi, florimetrik ve indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektroskopisi (ICP-MS) gibi çeşitli yöntemler bu iyonların tayininde kullanılmaktadır (Kumlay ve ark., 2021; Biller ve ark., 2012; Meyer ve ark., 2012). Tekrarlanabilirlik, kolaylık ve uygulama alanının genişliği bakımından UV-Görünür bölge spektrofotometri yöntemi oldukça tercih edilmektedir. Buna karşın bu iyonların spektrumlarının üst üste çakışmakta ve klasik yöntemlerle tayin edilememektedir. Karışımlarda iyonların bir arada tayini bu nedenle önem kazanmaktadır. Son zamanlarda numunelerde bulunan analitlerin eşzamanlı tayininde çok değişkenli kalibrasyon teknikleri sık olarak kullanılmaya başlamıştır (Zhu ve ark., 2021; Pekcan Ertokuş ve ark., 2020; Garcia Rodriguez ve ark., 1998; Dinç ve ark., 2005; Bekiroğlu ve ark., 2020; Kaba ve ark., 2014). Kemometrik yöntemlerden en sık kullanılan çok değişkenli kalibrasyon teknikleri; klasik en küçük kareler (CLS), ters en küçük kareler (ILS), temel bileşen regresyonu (PCR) ve kısmi en küçük kareler (PLS) yöntemleridir (Dinç, 2007; Bro ve ark., 2014; Brereton, 2003). UV-Görünür bölge spektrofotometrisi analizinde çok değişkenli kalibrasyon tekniklerinin önemli rol oynamasının sebebi bu iyonların spektrumlarının üst üste çakışarak tek değişkenli analizin mümkün olmayışındır.

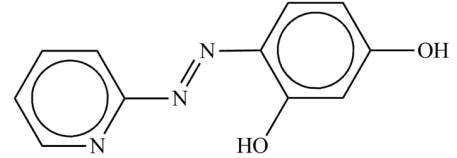
Bu çalışmada, demir, kobalt ve nikel iyonlarının 4-(2-pyridilazo) rezorsinol (PAR) ligandı ile renklendirilip, çok değişkenli kalibrasyon teknikleri kullanılarak, UV-Görünür bölge spektrofotometrisiyle bir arada tayini gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon için 5 seviyeli tasarım kullanılmış, buna göre 25 kalibrasyon çözeltisi PAR ile renklendirilip UV-Görünür bölge spektrumları alınmıştır. Bu spektrumlardan elde edilen matrislere klasik en küçük kareler (CLS), temel bileşen regresyonu (PCR) ve kısmi en küçük kareler (PLS1) teknikleri uygulanmıştır. Bu

tekniklerden PRESS (prediction error sum of squares) değerleri hesaplanarak en uygun yöntem olarak PCR yöntemi seçilmiştir. Çapraz validasyon (cross validasyon) ile sonuçlar hesaplanmış ayrıca standart referans numune analizi yapıp sonuçlara t testi uygulanmıştır. pH, sıcaklık, kompleksleşme süresi, kompleks stokiyometrisi, alt tayin sınırı ve yabancı türlerin bozucu etkileri gibi deneysel parametreler araştırılmış ve optimum koşullar belirlenmiştir.

Kemometrik yöntemler zenginleştirme, ekstraksiyon gibi ön işlemler veya kromatografik ayırma gerektirmemesi sebebiyle hızlı, kolay ve ekonomiktir (Safavi ve ark., 2006).

2. Materyal ve Metot

Demir, kobalt ve nikel iyonları ile 4-(2-pyridilazo) rezorsinol (PAR)'ın (Şekil 1) sodyum tuzu arasında renkli kompleksler oluşturularak, bunların UV-Görünür bölge spektrofotometresi ile analizi yapılmıştır. Elde edilen spektrumlardan alınan verilerden matrisler oluşturularak bilgisayar ortamında çok değişkenli kalibrasyon teknikleri uygulanmıştır.



Şekil 1. 4-(2-pyridilazo) rezorsinol (PAR)

Figure 1. 4-(2-pyridylazo) resorcinol (PAR)

2.1. Kullanılan araç ve gereçler

Deneylerde Digilab Hitachi marka ve U-2800 model (1000-200 nm aralığında ölçüm yapabilen) çift ışın yollu UV-Görünür Bölge spektrofotometre kullanılmıştır. Numunelerin absorpsiyonlarının okunmasında 1,00 cm ışın yollu kuvars hücreler kullanılmıştır. pH ölçümlerinde, Thermo Orion marka, 720 A+ model pH metre kullanılmıştır. Çözeltiler hazırlanırken, Rodwel marka saf su cihazı ile elde edilen bidestile su kullanılmıştır. MATLAB ile uyumlu ücretsiz lisanslı bir yazılım olan OCTAVE 4.0.0 kullanılarak MATLAB kodları yazılıp matris hesaplamaları yapılmıştır.

2.2. Kullanılan kimyasallar

Bütün çalışmalarda bidestile su kullanılmıştır. 1000 mg/L Merck marka Fe(III), Co(II), Ni(II) standart çözeltileri seyreltilerek 10 mg/L'lik stok çözeltiler hazırlanmıştır.

Bozucu etkilerin araştırılmasında, Merck marka 1000 mg/L'lik; Sr(II), Ca(II), Hg(II), Al(III), Mn(II), As(III), Zn(II), Cd(II), Na(I), Cr(III), Mg(II), Pb(II), Cu(II) standart çözeltileri ile 10 mg/L'lik stoklar hazırlanıp kullanılmıştır. DIONEX marka PAR'ın 1000 mg/L'lik stok çözeltisi hazırlanmıştır.

pH'sı 11 olan tampon çözelti hazırlamak için; 5 mL orto fosforik asit (Merck) alınarak 250 mL'ye bidestile su ile seyreltilip, NaOH (Merck) ile pH'sı ayarlanmıştır.

2000 µL tampon çözelti üzerine 100 µL PAR çözeltisi eklenip, 2500 µL olacak şekilde seyreltilerek tanık çözelti olarak hazırlanmıştır.

Dr. Hoepfner Substanz firmasının ait Nickel Kobalt Erz V adlı numunesi standart referans numune olarak kullanılmıştır.

2.3. Yöntem

5 seviyeli tasarıma göre kalibrasyon çözeltileri (training set) hazırlanmıştır (Brereton, 1997) (Tablo 1). Buna göre PAR ile Fe(III), Co(II) ve Ni(II)'in 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 mg/L'lik seviyelerdeki karışımı renklendirilip, fosfat tamponuyla pH 11'e ayarlanmıştır.

Tablo 1. Kalibrasyon çözeltilerinin 5 seviyeli tasarıma göre hazırlanmasında kullanılan hacimler

Table 1. The volumes used in the preparation of calibration solutions according to the 5-level design

10 mg/L Fe(III) (µL)	10 mg/L Ni(II) (µL)	10 mg/L Co(II) (µL)	Su (µL)	PAR (µL)	Tampon (µL)
50	50	50	250	100	2000
50	0	0	350	100	2000
0	0	100	300	100	2000
0	100	25	275	100	2000
100	25	100	175	100	2000
25	100	50	225	100	2000
100	50	25	225	100	2000
50	25	25	300	100	2000
25	25	75	275	100	2000
25	75	100	200	100	2000
75	100	75	150	100	2000
100	75	50	175	100	2000
75	50	100	175	100	2000
50	100	100	150	100	2000
100	100	0	200	100	2000
0	75	0	325	100	2000
75	0	50	275	100	2000
0	50	75	275	100	2000
50	75	75	200	100	2000
75	75	25	225	100	2000
75	25	0	300	100	2000
25	0	25	350	100	2000
0	25	50	325	100	2000
25	50	0	325	100	2000

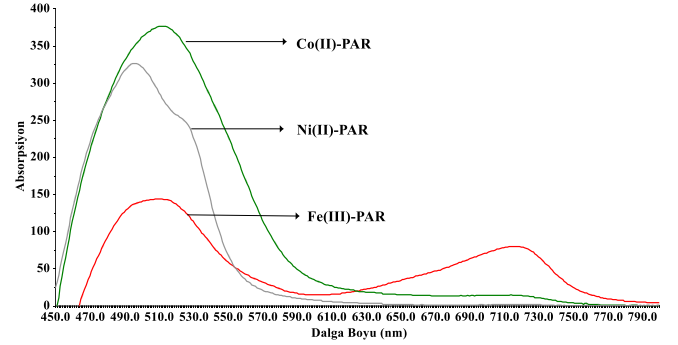
Her bir kalibrasyon çözeltilisinin 430-800 nm aralığında analizi yapılarak, dalga boyu ile absorpsiyon matrisleri oluşturulmuştur. Daha sonra analiz edilmek istenilen numunelerin 430-800 nm aralığında UV-Görünür bölge spektrumları taranarak matrisleri elde edilmiştir. Bu elde edilen matrislerden yararlanılarak, CLS, PCR, PLS gibi kalibrasyon teknikleri kullanılarak numunelerin konsantrasyonları tayin edilmiştir.

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

3.1 Metal-ligand komplekslerinin UV-Görünür bölge spektroskopisi analizleri

Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR ve Ni(II)-PAR ligandlarının ayrı ayrı UV-Görünür bölge spektrumları alınmış ve bu spektrumların üst üste çakıştığı görülmüştür (Şekil 2). Daha sonra Tablo 1'de görüldüğü şekilde kalibrasyon çözeltilerinin

UV-Görünür bölge spektrumları alınmış kemometrik yöntemler ile numunedeki Fe(III), Co(II) ve Ni(II) miktarları hesaplanmıştır.

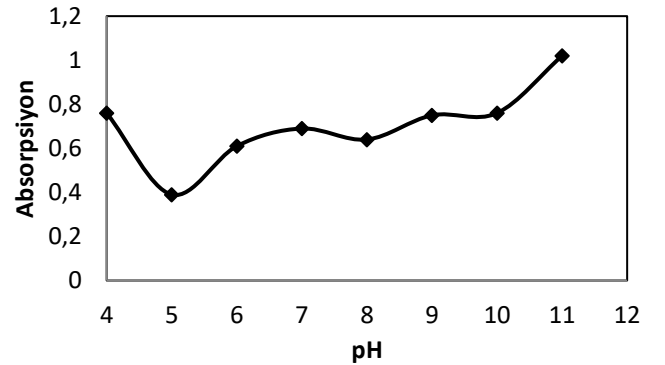


Şekil 2. Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR, komplekslerinin spektrumları

Figure 2. Spectra of Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR complexes

3.2. pH etkisi

Çalışma aralığındaki maksimum absorpsiyonun hangi pH'da gerçekleştiğini belirlemek amacıyla; Fe(III), Co(II) ve Ni(II) karışımı PAR ile kompleksleştirilip pH 4-11 aralığında değiştirilerek spektrumlar alınmıştır (Şekil 3). Bu çalışma sonucunda maksimum absorpsiyonun pH 11'de olduğu belirlenmiş ve daha sonra yapılan deneylerde fosfat tamponuyla pH 11 olacak şekilde ayarlanmıştır.

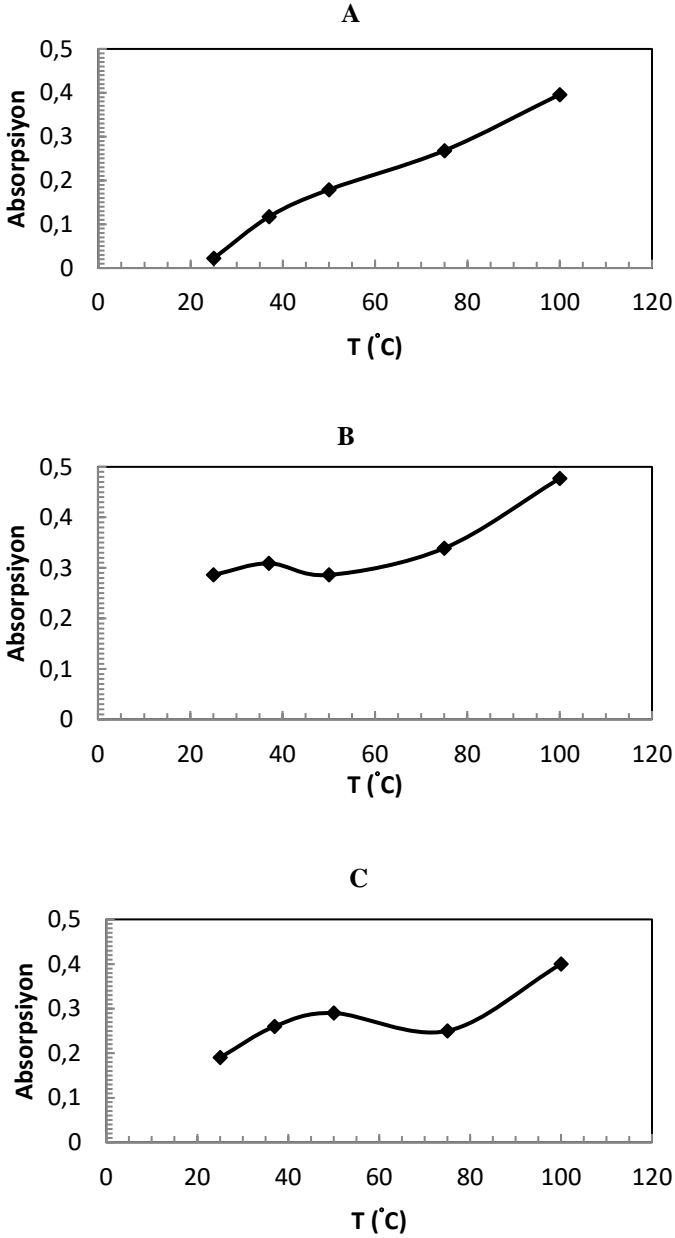


Şekil 3. Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR, komplekslerinin pH-absorpsiyon grafiği

Figure 3. pH-absorption plot of Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR complexes

3.3. Kompleks oluşum sıcaklığının etkisi

Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR ve Ni(II)-PAR komplekslerinin oluşumuna sıcaklığın etkisini araştırmak için pH 11'e ayarlanmış kation çözeltilerine PAR çözeltileri ilave edilip 5 dakika boyunca çalışma sıcaklığında bekletilip oda sıcaklığına soğutulup spektrumlar alınmıştır. Çalışma sıcaklığı sırasıyla 25; 37,5; 50; 75; 100 °C için tekrarlanmış ve en yüksek absorpsiyonlar 100 °C'de elde edilmiştir (Şekil 4).

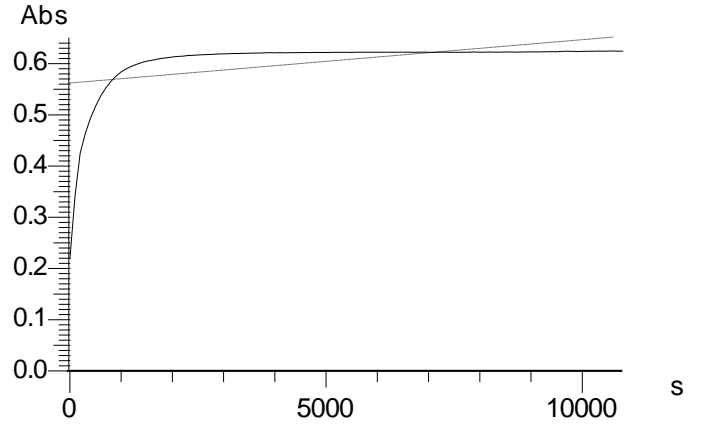


Şekil 4. a) Fe(III)-PAR b) Ni(II)-PAR grafiği c) Co(II)-PAR komplekslerinin sıcaklık-absorpsiyon grafiği

Figure 4. a) Temperature-absorption plot of a) Fe(III)-PAR b) Ni(II)-PAR c) Co(II)-PAR complexes

3.4. Kompleks oluşumuna sürenin etkisi

Süre ile absorpsiyon şiddetinin değişimini araştırmak amacıyla Fe(III), Co(II) ve Ni(II) karışımının pH'sı 11'e ayarlanarak, PAR çözeltisi eklenmiş ve UV-Görünür bölge spektrofotometresiyle spektrumu alınmıştır. Bu çalışmayla, 1 saat bekletildikten sonra maksimum absorbansa ulaşıldığı ve bu süreden sonra artış olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 5). Bu veriler sonucunda kompleks oluşumunu hızlandırmak için çözeltileri tek tek 100 °C'ye ısıtarak tekrar soğutmak yerine 1 saat beklenmesi tercih edilmiştir.



Şekil 5. Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR, komplekslerinin süre-absorpsiyon grafiği (s: saniye)

Figure 5. Time-absorption plot of Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR (s:second)

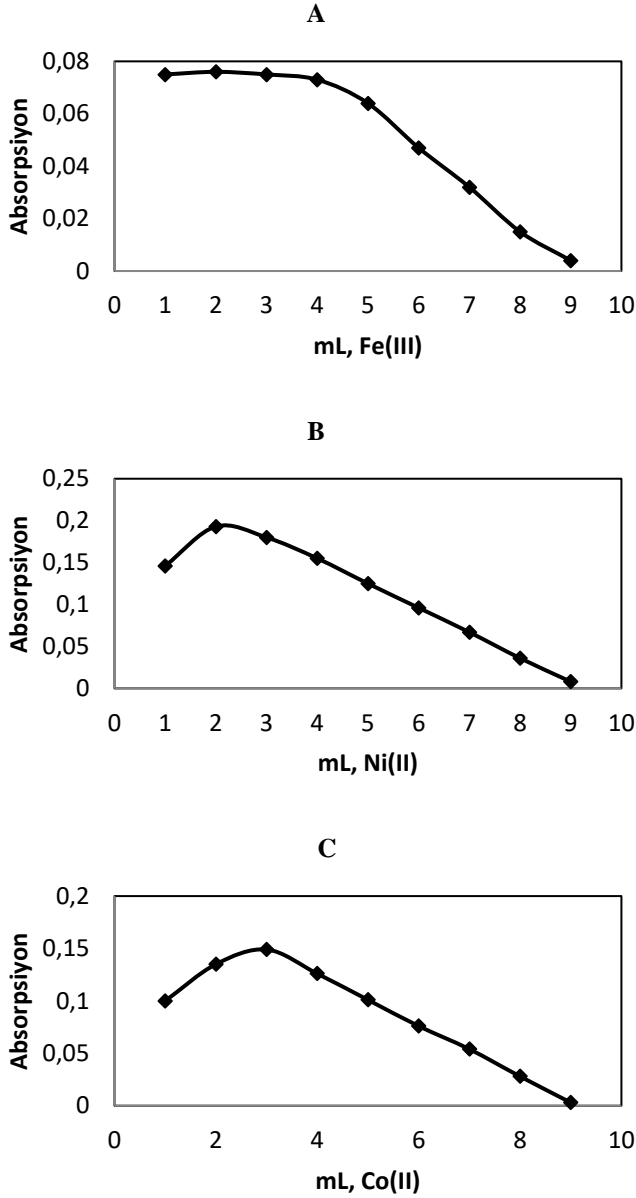
3.5. Kompleks stokiyometrisinin tayini

Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR komplekslerinin kompleks stokiyometrisinin tayininde Job yöntemi yapılmıştır (Olso ve ark., 2011). Bu yöntemle göre $1,10^{-5}$ mol/L katyon ve $1,10^{-5}$ mol/L PAR çözeltileri hazırlanarak değişik oranlarda karıştırılmıştır (Tablo 2). Hazırlanan çözeltilerin daha önce belirlenen optimum koşullarda spektrumları alınmıştır (Şekil 6). Bu yöntemle göre Fe(III) ve PAR arasındaki kompleks stokiyometrisi 1:2, Co(II) ve PAR arasındaki kompleks stokiyometrisinin 1:2, Ni(II) ve PAR arasındaki kompleks stokiyometrisi 1:3, olduğu saptanmıştır.

Tablo 2. Kompleks stokiyometrilerinin belirlenmesinde kullanılan hacimler

Table 2. The volumes used determination of complex stoichiometry

Katyon hacmi (mL)	PAR hacmi (mL)
1	9
2	8
3	7
4	6
5	5
6	4
7	3
8	2
9	1

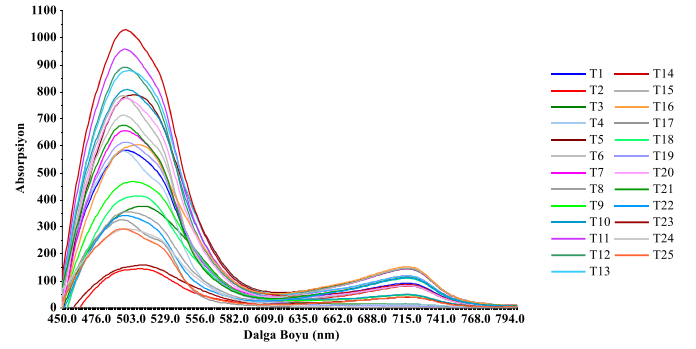


Şekil 6. a) Fe(III)-PAR b) Ni(II)-PAR c) Co(II)-PAR komplekslerinin stokiyostrisinin tayini

Figure 6. a) Stoichiometry of the Fe(III)-PAR b) Ni(II)-PAR c) Co(II)-PAR complexes

3.6. Kalibrasyon çözeltilerinin (training set çözeltilerinin) hesabında CLS, PCR ve PLS1 yöntemlerinden elde edilen değerlerin karşılaştırılması

Tablo 1'de gösterildiği şekilde kalibrasyon çözeltileri (training set) hazırlanarak 430-800 nm dalga boyu aralığında spektrumları alınmıştır (Şekil 7). Değişik dalga boyu aralıklarında hesaplamalar tekrar edilerek en küçük PRESS değerleri 500-800 nm aralığında hesaplanmıştır. Sonraki hesaplamalarda çalışma aralığı olarak bu aralık kullanılmıştır.



Şekil 7. Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR, komplekslerine ait kalibrasyon çözeltileri (training set) spektrumları

Figure 7. Calibration set (training set) spectra of Fe(III)-PAR, Co(II)-PAR, Ni(II)-PAR complexes

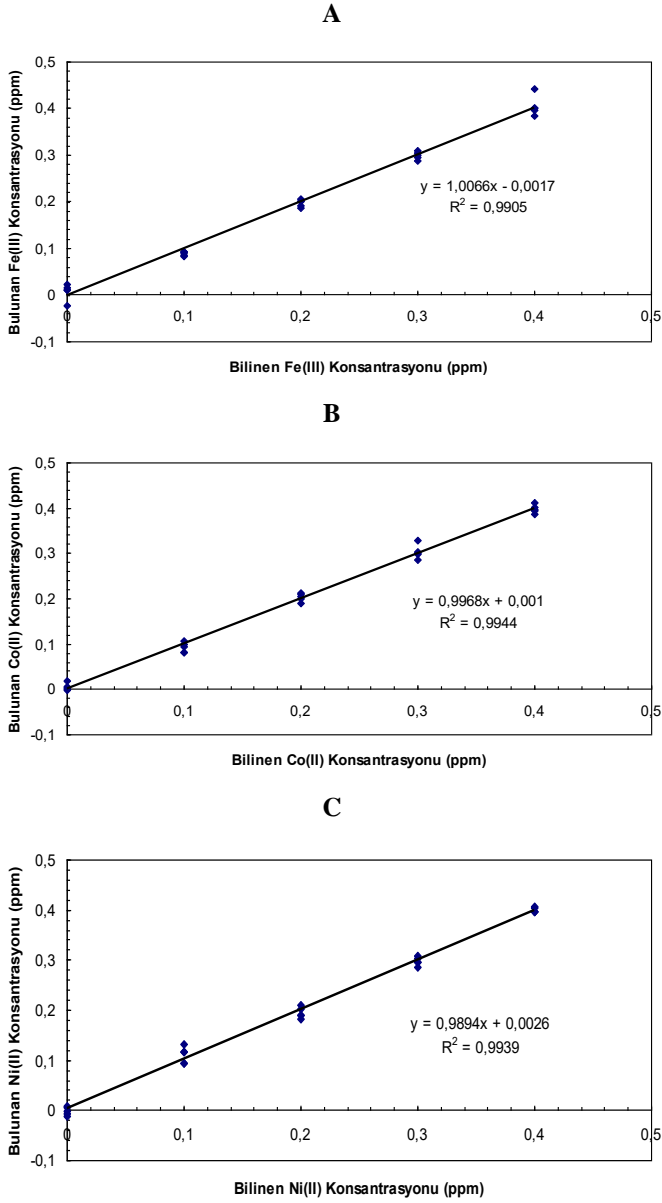
5 farklı seviyede 5 tekrar ile her bir katyonun bulunduğu bu kalibrasyon çözeltileri (training set) için, Cross validasyon işlemi uygulanarak, bilinen ve bulunan konsantrasyonlar grafiğe geçirilmiştir (Brereton ve ark., 2018). Bulunan değerleri hesaplamada CLS, PCR ve PLS1 yöntemleri kullanılmıştır. Bu yöntemlerine göre çizilen bilinen-bulunan konsantrasyon grafiklerinden (Şekil 8) en iyi R^2 değerleri PCR yöntemiyle hesaplanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. CLS, PCR ve PLS1 yöntemlerinden elde edilen değerler

Table 3. Values obtained from CLS, PCR and PLS1 methods

CLS					
	G.K%	PRESS	s	m	R^2
Fe(III)	96,48	0,162	7,69	1,0243	0,9884
Co(II)	99,13	0,066	6,82	0,9911	0,9948
Ni(II)	100,34	0,655	20,53	1,0471	0,9569
PCR					
	G.K%	PRESS	s	m	R^2
Fe(III)	97,16	0,122	6,37	1,0066	0,9905
Co(II)	98,78	0,070	6,93	0,9968	0,9944
Ni(II)	101,89	0,077	9,86	0,9894	0,9939
PLS1					
	G.K%	PRESS	s	m	R^2
Fe(III)	97,49	0,152	5,40	0,9790	0,9880
Co(II)	98,58	0,070	7,03	0,9941	0,9944
Ni(II)	102,28	0,088	10,82	0,9946	0,9930

(GK%: yüzde geri kazanım, PRESS: tahmini artık kareler toplamı (prediction error sum of squares), s: standart sapma, m: kalibrasyon eğrisinin eğimi, R^2 : korelasyon katsayısı)



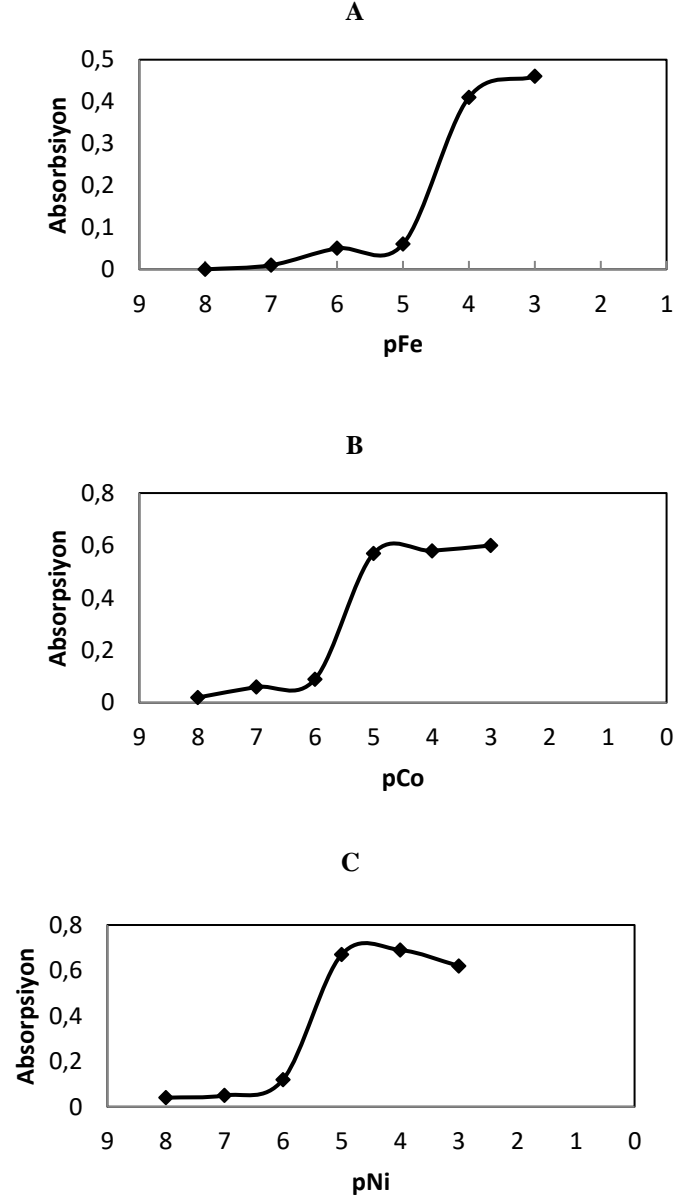
Şekil 8. Cross validasyon uygulanarak PCR yöntemiyle bulunan sonuçların-bilinen sonuçlara karşı grafikleri

Figure 8. Graphs of results found by PCR method by applying cross validation against known results

Temel bileşenlerin sayısı hesaplanırken PRESS değerleri kullanılmıştır (Albayrak ve ark., 2019). Ayrıca temel bileşen analizi için Malinowski yöntemi de kullanılmıştır (Gamperline, 2006). Bu hesaplamalar ile PCR için temel bileşen sayısı 4 olarak tespit edilmiş ve yapılan hesaplamalarda kullanılmıştır. PRESS değerleri hesaplanarak çizilen grafiklerden temel bileşen sayısı; Fe(III) için 2, Co(II) için 3 ve Ni(II) için 4 olarak belirlenmiş ve bu veriler ile hesaplamalar yapılmıştır. Tablo 3 incelendiğinde PCR yöntemi ile en küçük PRESS değerleri elde edilmiş olup, sonraki işlemlerde verileri değerlendirmek için PCR yöntemi kullanılarak çalışma gerçekleştirilmiştir.

3.7. Alt tayin sınırının ve bozucu etki yapan türlerin belirlenmesi

1×10^{-8} ; 1×10^{-7} ; 1×10^{-6} ; 1×10^{-5} ; 1×10^{-4} ve 1×10^{-3} mol/L' lik Fe(III), Co(II), Ni(II) çözeltilerinin konsantrasyona karşı absorbans grafiği çizilmiş ve alt tayin sınırları sırasıyla $6,31 \times 10^{-6}$; $7,94 \times 10^{-7}$ ve $6,30 \times 10^{-7}$ mol/L olarak hesaplanmıştır (Şekil 9).



Şekil 9. Fe(III), Co(II) ve Ni(II) için alt tayin sınırlarının deneysel olarak belirlenmesi grafikleri

Figure 9. Graphs for experimental determination of detection limits for Fe(III), Co(II) and Ni(II)

Fe(III), Co(II), Ni(II) kation derişimlerinin yarısı (0,1 mg/L), eşit (0,2 mg/L) miktarı ve iki katı (0,4 mg/L) miktarda Cr(III), Al(III), Sr(II), As(III), Pb(II), Cd(II), Ca(II), Na(I), Hg(II), Mg(II), Zn(II), Mn(II), Cu(II) kationlarının çözeltileri ortama eklenerek PAR ile kompleksleştirilip tayinler gerçekleştirilmiştir. Bu yabancı türlerin Fe(III), Co(II), Ni(II) kationlarının PAR ile kompleksleştirilerek çok değişkenli analiz yöntemleriyle birlikte tayinine etkisi belirlenmiştir. Buna göre

Fe(III), Co(II), Ni(II) tayinine Pb(II), Mg(II) Al(III), Hg(II), As(III), Sr(II), Ca(II), Na(I) kanyonlarının bozucu etki göstermediği, Cu(II), Cd(II), Zn(II), Mn(II), Cr(III) kanyonlarının ise bozucu etki gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Yabancı kanyonların bozucu etkisi ve sınırları

Table 4. Interfering effect and limits of foreign cations

Kasyon	Fe(III)	Co(II)	Ni(II)
Mn(II)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,1 mg/L bozucu etki gösterdi	0,1 mg/L bozucu etki gösterdi
Cd(II)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,1 mg/L bozucu etki gösterdi
Cr(III)	0,1 mg/L bozucu etki gösterdi	0,1 mg/L bozucu etki gösterdi	0,1 mg/L bozucu etki gösterdi
Zn(II)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,1 mg/L bozucu etki gösterdi	0,1 mg/L bozucu etki gösterdi
Cu(II)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,1 mg/L bozucu etki gösterdi	0,1 mg/L bozucu etki gösterdi
Al(III)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi
As(III)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi
Ca(II)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi
Pb(II)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi
Hg(II)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi
Sr(II)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi
Na(I)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi
Mg(II)	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi	0,4 mg/L bozucu etki göstermedi

3.8. Geliştirilen yöntemin standart numuneye uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar

Bileşiminde % 1,76 Fe(III), %12,21 Co(II), %5,32 Ni(II) bulunan Nickel Kobalt Erz V standart numunesi kullanılarak Fe(III), Co(II), Ni(II) iyonlarının birlikte tayini için geliştirilen metodun gerçek numunelere uygulanabilirliği araştırılmıştır. Numuneden 0,2517; 0,3532; 0,4453; 0,2067; 0,3032 gram'lık kısımlar alınarak HNO₃ ve HCl ile çözülmüş ve hacmi bidestile su ile 100 mL olacak şekilde tamamlanmıştır. Hazırlanan stoklara 1/10 ve 1/50 oranlarında seyreltme işlemi yapıldıktan sonra hesaplamalar yapılmış ve sonuçlar Tablo 5' de verilmiştir.

Tablo 5. Standart Nickel Kobalt Erz V numunesinden elde edilen sonuçlar

Table 5. Standard Nickel Cobalt Erz V sample results

Kasyon	Teorik Değer (%)	PCR Yöntemi			Geri Kazanım (%)
		*X±ts/√N	S	N t	
Fe(III)	1,76	1,58±0,18	0,36	5 1,08	90,00
Co(II)	12,21	11,76±0,45	0,37	5 2,71	96,31
Ni(II)	5,32	5,29±0,032	0,77	5 0,09	99,40

*(%95 Güven Seviyesi için t kritik=2,78)

(X:ortalama değer, s: standart sapma, N: analiz sayısı)

4. Sonuç

Çok çeşitli numunelerde bir arada bulunabilen demir, kobalt ve nikel iyonları gibi hem çok önemli fonksiyonlara sahip hem de toksik etki gösterebilecek metallerin tayini son derece önemlidir. Çalışılan kasyon çözeltilerinin PAR ile komplekslerinin ayrı ayrı spektrumları alındığında Şekil 2'de görüldüğü gibi spektrumların üst üste çakışması nedeniyle klasik spektroskopik yöntemler ile tayinleri mümkün değildir. Bu çalışmada Fe(III), Co(II) ve Ni(II) kanyonları PAR ile kompleksleştirilerek çok değişkenli kalibrasyon teknikleri kullanılarak birlikte tayinleri yapılmıştır. Bu amaçla, öncelikle optimum şartlar araştırılmış ve buna göre pH 11'de, kompleks oluşumu 1 saat sürede tamamlanmıştır. 5 seviyeli tasarıma göre hazırlanan kalibrasyon çözeltilerinin (training setinin) UV-Görünür bölge spektrumları alınarak elde edilen matrizen faydalanılıp CLS, PCR, PLS1 yöntemleriyle konsantrasyonlar hesaplanmıştır. Cross validasyon işleminden bulunan sonuçların, bilinen konsantrasyonlara karşı grafikleri oluşturulmuştur. CLS, PCR ve PLS1 yöntemleri için PRESS değerleri hesaplanmış, en küçük PRESS değeri PCR yöntemiyle elde edildiği için bu yöntem tercih edilmiştir. PCR yöntemine göre hesaplanan % geri kazanım değerleri Fe(III) için 97,16±2,98, Co(II) için 98,78±3,24 ve Ni(II) için 101,89±2,98 olarak bulunmuştur.

Yöntemin gerçek numuneye uygulanabilirliğini test etmek amacıyla standart referans numune PCR tekniği kullanılarak analiz edilmiş ve sonuçlara t-testi uygulanmıştır. Fe(III), Co(II) ve Ni(II) kanyonları için t değerleri sırasıyla; 1,08; 2,71; 0,09 olarak hesaplanmıştır. %95 güven seviyesinde 2,78 olan t kritik değerinden daha küçük t değerleri hesaplanmıştır. Buna göre bulunan sonuçlar ile gerçek değerler arasında anlamlı fark yoktur. Dolayısıyla geliştirilen bu yöntem, demir, kobalt ve nikel kanyonlarının, üst üste çakışan spektrumlarına rağmen zaman alıcı, ekonomik olmayan ve zahmetli olan ayırma, ekstraksiyon, zenginleştirme gibi ön işlemlere gerek duymadan bir arada spektroskopik tayinine kolaylıkla uygulanabilir.

Kaynakça

Albayrak, M., Demirkaya-Miloglu, F., Senol, O., Polatdemir, E. (2019). Design, optimization, and validation of chemometrics-assisted spectrophotometric methods for simultaneous determination of etodolac and thiocolchicoside

- in pharmaceuticals. *Journal of Analytical Science and Technology*, 10:16.
- Anonim, (2008). Demir. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Demir> (Erişim Tarihi: 21.06.2021)
- Bekiroğlu Ataş, H., Kenar, A., Taştekin, M. (2020). An electronic tongue for simultaneous determination of Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ and NH_4^+ in water samples by multivariate calibration methods. *Talanta*, 217, 1-12.
- Biller, D.V., Bruland, K.B. (2012). Analysis of Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in seawater using the Nobias-chelate PA1 resin and magnetic sector inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Marine Chemistry*, 130-131, 12-20.
- Brereton, R.G. (1997). Multilevel Multifactor Design for Multivariate Calibration. *The Analyst*, 122, 1521-1529.
- Brereton, R.G. (2003). Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant. *Journal of Analytical Chemistry*, 60(10), 994-996.
- Brereton, R.G., Jansen, J., Lopes, J., Marini, F., Pomerantsev, A., Rodionova, O., Roger, J.M., Walczak, B., Tauler, R. (2018). Chemometrics in analytical chemistry-part II: modeling, validation, and applications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410, 6691-6704.
- Bro, R., Smilde, A. K. (2014). Principal component analysis. *The Royal Society of Chemistry*, 6, 2812-2831.
- Dinç, E. (2007). Kemometri Çok Değişkenli Kalibrasyon Yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 1, 61-92.
- Dinç, E., Üstündağ, Ö., (2005). A New Application of Chemometric Techniques to HPLC Data for the Simultaneous Analysis of a Two-Component Mixture. *Journal of Liquid Chromatography&Related Technologies*, 28, 2179-2194.
- Garcia Rodriguez, A.M., Garcia de Torres, A., Cano Pavon, J.M., Bosch Ojeda, C. (1998). Simultaneous determination of iron, cobalt, nickel and copper by UV-Görünür bölgeible spectrophotometry with multivariate calibration. *Talanta*, 47, 463-470.
- Gemperline, P. (2006). Practical Guide to Chemometrics Second Edition. Taylor&Francis Group, 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, 520s.
- Gilardi, G., Di Nardo, G. (2017). Heme iron centers in cytochrome P450: structure and catalytic activity. *Renciconti Lincei*, 28, 159-167.
- Kaba, A., Aktaş, A.H. (2014). Çeşitli ligandları kullanarak Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} 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. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18, 71-79.
- Kumlay, A. M., Koçak, M. Z., Öztürk, E., (2021). Zilan Vadisi'nde Toplanan (Van-Erciş) Yenen Yabani Mantar (*Chlorophyllum agaricoides*, *Mycenastrum corium* ve *Paxina queletii*) Örneklerindeki Ağır Metal İçeriklerinin Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 25, 291-294.
- Meyer, D., Prien, R.D., Dellwig, O., Connelly D.P., Schulz-Bull, D. E. (2012). In situ determination of iron(II) in the anoxic zone of the central Baltic Sea using ferene as spectrophotometric reagent. *Marine Chemistry*, 130-131, 21-27.
- Okatan, A. (2010). Solvent Ekstraksiyon Tekniği ile Kobalt ve Nikelin Sinerjistik Ekstraksiyonu. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 83s, Sakarya.
- Olson, E.J., Bühlmann, P. (2011). Getting More out of a Job Plot: Determination of Reactant to Product Stoichiometry in Cases of Displacement Reactions and n:n Complex Formation. *The Journal of Organic Chemistry*, 76, 8406-8412.
- Pekcan Ertokuş, G., Bineci Doğan, M. (2020). Simultaneous Determination of Binary Drug Components in Pharmaceutical Formulations with Chemometric Methods. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(2), 1171-1179.
- Safavi, A., Abdollahi, H., Mirzajani, R. (2006). Simultaneous spectrophotometric determination Fe(III), Al(III) and Cu(II) by partial least-squares calibration method. *Spectrochimica Acta Part A* 63, 196-199.
- Sun, Z., Gong, C., Ren, J., Zhang, X., Wang, G., Liu, Y., Ren, Y., Zhao, Y., Yu, Q., Wang, Y., Hou, J. (2020). Toxicity of nickel and cobalt in Japanese flounder, *Environmental Pollution*, 263, 1-10.
- Wang, P., Lee, H.K. (1997). Recent applications of high-performance liquid chromatography to the analysis of metal complexes. *Journal of Chromatography*, 789, 437-451.
- Zhu, X., Chen, L., Pumpanen, J., Keinänen, M., Laudon, H., Ojala, A., Palviainen, M., Kiiirikki, M., Neitola, K., Berninger, F. (2021). Assessment of a portable UV-Vis spectrophotometer's performance for stream water DOC and Fe content monitoring in remote areas. *Talanta*, 224, 1-8.