

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

[N,N'-BİS(4-METOKSİSALİSİLİDEN)-1,3-PROPANDİAMİN]'NİN
METALLERLE KOMPLEKSLERİNDEN YARARLANILARAK
ZEYTİNYAĞINDA Cu, Fe, Ni ve Zn METALLERİNİN ANALİZLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Cihan BARAK

Balıkesir, Ağustos-2007

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

[N,N'-BİS(4-METOKSİSALİSİLİDEN)-1,3-PROPANDİAMİN]'İN
METALLERLE KOMPLEKSLERİNDEN YARARLANILARAK
ZEYTİNYAĞINDA Cu, Fe, Ni ve Zn METALLERİNİN ANALİZLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Cihan BARAK

Tez Danışmanı: Yrd.Doç.Dr. Sema BAĞDAT YAŞAR

Sınav Tarihi: 23.08.2007

Jüri Üyeleri: Yrd. Doç. Dr. Şahin SAVAŞCI (BAÜ)

Yrd. Doç. Dr. Erol ASKER (BAÜ)

Yrd. Doç. Dr. Sema BAĞDAT YAŞAR (BAÜ-danışman)

Balıkesir, Ağustos-2007

ÖZET

[N,N'-BİS(4-METOKSİSİLİSİLİDEN)-1,3-PROPANDİAMİN]'NİN METALLERLE KOMPLEKSLERİNDEN YARARLANILARAK ZEYTİNYAĞINDA Cu, Fe, Ni ve Zn METALLERİNİN ANALİZLERİ

Cihan BARAK

Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Kimya Anabilim Dalı

(Yüksek Lisans Tezi/Tez Danışmanı: Yrd.Doç.Dr.Sema BAĞDAT YAŞAR)

Balıkesir, 2007

4-metoksi-2-hidroksibenzaldehit ve 1,3-diaminopropanın tepkimeleri sonucunda [N,N'-bis(4-metoksisilisiliden)-1,3-propandiamin] (MSPA) sentezlenmiştir. ¹H NMR spektroskopisi, ¹³C NMR spektroskopisi, LC-MS, FT-IR spektroskopisi ve element analizi sonuçları ile [N,N'-bis(4-metoksisilisiliden)-1,3-propandiamin] yapısı aydınlatılmıştır.

MSPA-metal (Cu, Zn, Fe ve Ni) kompleksleri sentezlenerek, kompleksleşmenin zeytinyağında metal tayini için kullanılması hedeflenmiştir. Standart referans madde (SRM) ile hazırlanan örnekteki metal miktarları, oluşan metal komplekslerinin yağ fazından su çözelti fazına ekstraksiyonundan sonra Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (FAAS) ile belirlenmiştir. Ayrıca her bir metalin kompleksleşmesi için uygun pH ve dalga boyu (Cu-MSPA için pH=6, $\lambda=280$ nm; Fe-MSPA için pH=8, $\lambda=281$ nm; Ni-MSPA için pH=7, $\lambda=280$ nm; Zn-MSPA için pH=7, $\lambda=280$ nm) belirlenerek UV-Vis çalışmalar bu değerlerde yapılmıştır. Kinetik çalışmalar ile metal komplekslerinin oluşma süreleri (Cu-MSPA için 30 dakika, Fe-MSPA için 90 dakika, Ni-MSPA için 60 dakika, Zn-MSPA için 90 dakika) belirlenmiş; Job ve mol oranları yöntemleri ile metal-Schiff baz komplekslerinin metal-ligand oranları 1:1 saptanmıştır. Oluşan komplekslerin oluşum sabitleri (K_{ol}) de belirlenmiştir ($K_{Cu-MSPA}=1.37 \times 10^8 \pm 2.23 \times 10^7$, $K_{Fe-MSPA}=2.94 \times 10^9 \pm 2.80 \times 10^8$, $K_{Ni-MSPA}=6,36 \times 10^9 \pm 1,16 \times 10^9$, $K_{Zn-MSPA}=7.17 \times 10^{10} \pm 4.09 \times 10^9$). Metal-Schiff baz komplekslerine bazı katyonların girişim etkileri incelenmiştir.

Schiff baz ile metallerin zeytinyağından ekstraksiyonunda yağ miktarının kullanılan Schiff baz çözeltisinin hacmine oranı (g/mL), karıştırma süresi (dak), sıcaklık (°C) parametreleri merkezi kompozit dizayn yöntemi ile optimize edilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşullarında SRM ve zeytin yağından Cu, Zn, Fe ve Ni metalleri ekstrakte edilerek, yağ bozundurulması yapılmasına gerek kalmadan, bu metallerin tayini gerçekleştirilmiştir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Bakır / Demir / Nikel / Çinko / Schiff bazları / Merkezi kompozit dizayn / Zeytinyağı / Atomik absorpsiyon spektrofotometresi / UV-Vis spektrofotometresi / [N,N'-bis(4-metoksisilisiliden)-1,3-propandiamin].

ABSTRACT

THE ANALYSIS OF Cu, Fe, Ni AND Zn METALS OWING TO THE [N,N'-BIS(4-METHOXYSALICYLIDENE)-1,3-PROPANEDIAMINATO]- METAL COMPLEXES IN OLIVE OIL

Cihan BARAK

Balikesir University, Institute of Science,
Department of Chemistry

(MSc. Thesis / Supervisor Assis.Prof.Dr. Sema BAĞDAT YAŞAR)

Balikesir-Turkey, 2007

[N,N'-bis(4-methoxysalicylidene)-1,3-propanediaminato] was synthesized by the reaction of 2-hydroxy-4-methoxy benzaldehyde and 1,3-propanediamine. The structure of [N,N'-bis(4-methoxysalicylidene)-1,3-propanediaminato] was clarified with ^1H NMR spektroskopi, ^{13}C NMR spektroskopi, LC-MS, FT-IR spektroskopi and elemental analysis.

MSPA-metal (Cu, Zn, Fe and Ni) were synthesized and the determination of these metals in olive oil was achieved by the complexation. Amounts of metals in sample which was prepared with standard reference material has been determined with Flame Atomic Absorption Spectrometre (FAAS) after these complexes were extracted from oil phase to aqueous phase. The studies of UV-Vis were done by determining convenient pH and wavelength (For Cu-MSPA pH=6, $\lambda=280$ nm; for Fe-MSPA pH=8, $\lambda=281$ nm; for Ni-MSPA pH=7, $\lambda=280$ nm; for Zn-MSPA pH=7, $\lambda=280$ nm) for complexing of each metals and the experiments were carried on these values. The knowledge of the formation times of metal complexes were obtained with kinetic studies (For Cu-MSPA 30 min., for Fe-MSPA 90 min., for Ni-MSPA 60 min., for Zn-MSPA 90 min). Metal-ligand ratio of metal-schiff base complexes were determined as 1:1 with Job (continuous variation method) and mol ratio methods and also complex formation constants were calculated ($K_{\text{Cu-MSPA}}=1.37 \times 10^8 \pm 2.23 \times 10^7$, $K_{\text{Fe-MSPA}}=2.94 \times 10^9 \pm 2.80 \times 10^8$, $K_{\text{Ni-MSPA}}=6.36 \times 10^9 \pm 1.16 \times 10^9$, $K_{\text{Zn-MSPA}}=7.17 \times 10^{10} \pm 4.09 \times 10^9$). The interference effects of some metal cations on metal-Schiff base complexes have been researched.

In the extraction of schiff-base metal complexes in olive oil, the ratio of the amount of olive oil to the volume of Schiff base solution used (g/mL), the stirring time (min) and the temperature parameters were optimised with central composite design method. Cu, Zn, Fe and Ni metals were determined by extraction of these metals from SRM solution and olive oil at optimum extraction conditions without any digestion.

KEY WORDS: Copper / Iron / Nickel / Zinc / Schiff base / Central Composite Design / Olive oil / Atomic absorption spectrophotometer / UV-VIS spectrophotometer / [N,N'-bis(4-methoxysalicylidene)-1,3-propanediaminato].

İÇİNDEKİLER

Konu No	Konu	Sayfa
	ÖZET, ANAHTAR SÖZCÜKLER.....	ii
	ABSTRACT, KEY WORDS.....	iii
	İÇİNDEKİLER.....	iv
	ŞEKİL TABLOSU.....	vi
	ÇİZELGE TABLOSU.....	viii
	KISALTMA LİSTESİ.....	x
	ÖNSÖZ.....	xi
1	GİRİŞ.....	1
1.1	Zeytin Yağı.....	1
1.1.1	Zeytin Yağı ve Sağlık.....	1
1.1.2	Bitkisel Yağların Kimyasal İçerikleri	5
1.1.3	Yağların Reaksiyonları	8
1.1.3.1	Ester Bağlarındaki Reaksiyonlar.....	8
1.1.3.2	Yağ Asidi Zincirindeki Reaksiyonlar.....	10
1.1.4	Yağlar, Zeytin Yağı ve Zeytin Üzerine Yapılmış Çalışmalar.....	15
1.2	Tayini Yapılan Eser Elementler.....	19
1.2.1	Demir.....	19
1.2.2	Nikel	20
1.2.3	Bakır	21
1.2.4	Çinko.....	22
1.3	Kompleksleşme Tepkimeleri Ligandlar ve Schiff bazlar.....	23
1.3.1	Kompleksleşme Tepkimeleri ve Ligandlar.....	23
1.3.2	Schiff bazları ve Analitik Kullanım Alanları.....	27
1.4	Analitik Kimyada Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi	31
1.4.1	Doğruluk.....	32
1.4.2	Duyarlılık.....	32
1.4.3	Keskinlik ve Tekrarlanabilirlik.....	33
1.4.4	Seçimlilik.....	33
1.5	Kemometrik Metotlar ve Çoklu Bileşen Analiz Yöntemi.....	34
1.5.1	Kemometrik Metotlar ve Deneysel Dizayn.....	34
1.5.2	Merkezi Kompozit Dizayn.....	35
1.5.3	Çoklu Bileşen Analiz Yöntemi.....	38
2	ARAÇLAR VE YÖNTEMLER.....	40
2.1	Deneylerde Kullanılan Aletler ve Kimyasal Maddeler.....	40
2.1.1	Deneylerde Kullanılan Aletler.....	40
2.1.2	Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	41
2.2	Deneysel Kısım.....	42
2.2.1	[N,N'-bis(4-metoksi salisiliden)-1,3propandiamin](MSPA).....	42
2.2.1.1	[N,N'-bis(4-metoksi salisiliden)-1,3propandiamin](MSPA) Sentezi ve Yapısının Aydınlatılması.....	42
2.2.1.2	MSPA Schiff bazı için Uygun Çözgenin Belirlenmesi.....	43
2.2.2	Deneylerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	43
2.2.2.1	Stok Çözeltiler.....	44
2.2.2.2	pH Tampon Çözeltileri.....	44
2.2.2.3	Kinetik Çalışma	45
2.2.2.4	Mol Oranları.....	45

2.2.2.5	Job Metodu	46
2.2.2.6	Metal Komplekslerinin Oluşum Sabitlerinin Belirlenmesi.....	47
2.2.2.7	Standart Referans Madde Kullanarak Metallerin Yağdan Ekstraksiyonları	47
2.3	Schiff baz-metal Kompleksleri İçin Yapılan Çalışmalar.....	47
2.3.1	Schiff baz İle Metallerin Birleşme Oranlarının Belirlenmesi.....	47
2.3.1.1	pH Çalışması.....	47
2.3.1.2	Kinetik Çalışma.....	48
2.3.2	Mol Oranı Metodu' nun Uygulanması.....	48
2.3.3	Job Metodu (Sürekli Değiştirme Metodu)'nun Uygulanması.....	48
2.3.4	Metal Komplekslerinin Oluşum Sabitlerinin Belirlenmesi.....	49
2.4	Metallerin Yağdan Ekstraksiyonları İle İlgili Deneyler.....	49
2.4.1	Metallerin Yağdan Ekstraksiyonları İçin Optimum Koşulların Bulunması.....	49
2.4.2	Standart Referans Madde Kullanımı.....	51
2.4.3	Zeytinyağı Örneklerinden Metal Ekstraksiyonu.....	51
3	BULGULAR	52
3.1	[N,N'-bis(4-metoksi salisiliden)-1,3propandiamin](MSPA)'nin Yapısının Aydınlatılması.....	52
3.2	Kompleks Oluşumu.....	53
3.2.1	Schiff baz İçin Uygun Çözgen Belirlenmesi.....	53
3.2.2	Çalışmalar İçin Uygun pH ve Dalga Boyunun Belirlenmesi.....	53
3.2.3	Kinetik Çalışma.....	59
3.2.4	Mol Oranı Metodu.....	61
3.2.5	Job Metodu	65
3.2.6	Metal Komplekslerinin Oluşumunda Girişimler.....	67
3.2.7	Metal Komplekslerinin Oluşum Sabitlerinin Belirlenmesi İçin Yapılan Çalışmalar.....	70
3.3	Metallerin Zeytinyağından Ekstraksiyonu İçin Optimum Koşulların Merkezi Kompozit Dizayn İle Belirlenmesi.....	73
3.4	Standart Referans Madde Kullanarak Metallerin Yağdan Ekstraksiyonları	80
3.5	Yağ Örneklerinden Metal Ekstraksiyonu	81
4	SONUÇ VE TARTIŞMA	82
4.1	MSPA'nin Yapısal Analizi.....	82
4.2	Kompleks Oluşumu.....	83
4.3	Yöntemin Doğruluğu ve Kesinliği	88
4.4	Zeytinyağı Örneklerinden Metal Ekstraksiyonu	88
5	KAYNAKLAR	90
6	EKLER	99
EK-1	MSPA'nin ¹ H NMR spektrumu (0-18 ppm).....	99
EK-2	MSPA'nin ¹ H NMR spektrumu (7.6-88 ppm).....	100
EK-3	MSPA'nin ¹ H NMR spektrumu (2-6 ppm).....	101
EK-4	MSPA'nin ¹³ C NMR spektrumu (0-200 ppm).....	102
EK-5	MSPA'nin ¹³ C NMR spektrumu (90-170 ppm).....	103
EK-6	2-hidroksi-4-metoksibenzaldehit (4-metoksisalisilaldehit)'nin FT-IR spektrumu.....	104
EK-7	MSPA'nin FT-IR spektrumu.....	105
EK-8	MSPA'nin LC-MS spektrumu.....	106

ŞEKİL TABLOSU

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa
Şekil 1.1	Yağ asitlerinin gliserinle esterleşme tepkimesi.....	6
Şekil 1.2	Basit trigliseridler ve karışık trigliseridler.....	6
Şekil 1.3	Hidrolitik reaksiyon ile ester bağı parçalanması.....	9
Şekil 1.4	Yağ asitlerinin alkollerle esterifikasyonu	10
Şekil 1.5	Doymamış çift bağı hidrojenasyonu.....	11
Şekil 1.6	Yağ asitlerinin cis ve trans izomer yapısı.....	12
Şekil 3.1	[N,N'-bis(4-metoksi salisiliden) 1,3propandiamin] (MSPA)'nın yapısı.....	53
Şekil 3.2	Absorbans spektrumu (1×10^{-4} M MSPA, %12'lik (v/v) alkol- su karışımında).....	54
Şekil 3.3	Cu-MSPA kompleksinin pH değişimi ile absorbansının değişimi.....	54
Şekil 3.4	Fe-MSPA kompleksinin pH değişimi ile absorbansının değişimi.....	55
Şekil 3.5	Ni-MSPA kompleksinin pH değişimi ile absorbansının değişimi.....	55
Şekil 3.6	Zn-MSPA kompleksinin pH değişimi ile absorbansının değişimi.....	55
Şekil 3.7	MSPA, Cu ve Cu-MSPA kompleksinin absorbans spektrumları (pH=6).....	56
Şekil 3.8	MSPA, Fe ve Fe-MSPA kompleksinin absorbans spektrumları (pH=8).....	56
Şekil 3.9	MSPA, Ni ve Ni-MSPA kompleksinin absorbans spektrumları (pH=7).....	57
Şekil 3.10	MSPA, Zn ve Zn-MSPA kompleksinin absorbans spektrumları (pH=7).....	57
Şekil 3.11	Cu-MSPA kompleksinin pH ile absorbansının değişimi ($\lambda=280$).....	58
Şekil 3.12	Fe-MSPA kompleksinin pH ile absorbansının değişimi($\lambda=281$).....	58
Şekil 3.13	Ni-MSPA kompleksinin pH ile absorbansının değişimi($\lambda=280$).....	58
Şekil 3.14	Zn-MSPA kompleksinin pH ile absorbansının değişimi ($\lambda=280$).....	59
Şekil 3.15	Cu-MSPA kompleksinin absorbansının zamanla değişimi ($\lambda = 280$ nm, pH=6, 25 °C)	59
Şekil 3.16	Fe-MSPA kompleksinin absorbansının zamanla değişimi ($\lambda = 281$ nm, pH=8, 25 °C).....	60
Şekil 3.17	Ni-MSPA kompleksinin absorbansının zamanla değişimi ($\lambda = 280$ nm, pH=7, 25 °C).....	60
Şekil 3.18	Zn-MSPA kompleksinin absorbansının zamanla değişimi ($\lambda = 280$ nm, pH=7, 25 °C).....	60
Şekil 3.19	Cu-MSPA kompleksinin mol oranına (nCu/nL) bağlı olarak absorbansının değişimi (pH=6, $\lambda=280$ nm, T=25 °C).....	61
Şekil 3.20	Cu-MSPA kompleksinin mol oranına (nL/nCu) bağlı olarak absorbansının değişimi (pH=6, $\lambda=280$ nm, T=25 °C).....	62

Şekil 3.21	Fe-MSPA kompleksinin mol oranına (nFe/nL) bağlı olarak absorbandsının değişimi (pH=8, λ =281 nm, T=25 °C).....	62
Şekil 3.22	Fe-MSPA kompleksinin mol oranına (nL/nFe) bağlı olarak absorbandsının değişimi (pH=8, λ =281 nm, T=25 °C).....	62
Şekil 3.23	Ni-MSPA kompleksinin mol oranına (nNi/nL) bağlı olarak absorbandsının değişimi (pH=7, λ =280 nm, T=25 °C)	63
Şekil 3.24	Ni-MSPA kompleksinin mol oranına (nL/nNi) bağlı olarak absorbandsının değişimi (pH=7, λ =280 nm, T=25 °C).....	63
Şekil 3.25	Zn-MSPA kompleksinin mol oranına (nZn/nL) bağlı olarak absorbandsının değişimi (pH=7, λ =280 nm, T=25 °C).....	63
Şekil 3.26	Zn-MSPA kompleksinin mol oranına (nL/nZn) bağlı olarak absorbandsının değişimi (pH=7, λ =280 nm, T=25 °C)	64
Şekil 3.27	Cu-MSPA kompleksinin kationun hacim kesrine bağlı olarak Adüzeltilmiş değerlerin değişimi (pH=6, λ =280 nm, T=25 °C)	65
Şekil 3.28	Fe-MSPA kompleksinin kationun hacim kesrine bağlı olarak Adüzeltilmiş değerlerin değişimi (pH=8, λ =281 nm, T=25 °C)	65
Şekil 3.29	Ni-MSPA kompleksinin kationun hacim kesrine bağlı olarak Adüzeltilmiş değerlerin değişimi (pH=7, λ =280 nm, T=25 °C)	66
Şekil 3.30	Zn-MSPA kompleksinin kationun hacim kesrine bağlı olarak Adüzeltilmiş değerlerin değişimi (pH=7, λ =280 nm, T=25 °C)	66
Şekil 3.31	Cu-MSPA kompleksine bazı metallerin girişim etkisi (λ = 280 nm, pH=6, T=25 °C).....	67
Şekil 3.32	Fe-MSPA kompleksine bazı metallerin girişim etkisi (λ = 281 nm, pH=8, T=25 °C).....	68
Şekil 3.33	Ni-MSPA kompleksine bazı metallerin girişim etkisi (λ = 280 nm, pH=7, T=25 °C).....	68
Şekil 3.34	Zn-MSPA kompleksine bazı metallerin girişim etkisi (λ = 280 nm, pH=7, T=25 °C).....	68
Şekil 4.1	N,N'-bis(salisiliden)-2,2'-dimetil-1,3-propandiamin (LDM)....	82
Şekil 4.2	Kompleksin olası yapısı.....	84

ÇİZELGE TABLOSU

Çizelge No	Çizelge Adı	Sayfa
Çizelge 1.1	Yağların iyot sayılarına göre sınıflandırılması [13].....	6
Çizelge 1.2	Zeytinyağının yağ asit içeriği [15].....	7
Çizelge 1.3	Bazı yemeklik bitkisel yağların kimyasal bileşimi [16].....	7
Çizelge 1.4	Zeytinyağının kimyasal bileşimi [16].....	8
Çizelge 1.5	Yağ Asitlerin Otooksidasyonu	14
Çizelge 1.6	Oksidasyona etki eden parametreler [9].....	14
Çizelge 1.7	Ekstraksiyonlarda kullanılan şellatlar [58].....	26
Çizelge 1.8	Merkezi Kompozit Dizayn tablosu	37
Çizelge 1.9	Değişkenler ve çalışma aralığındaki değerlerin kodlanmasıyla oluşturulan matris	38
Çizelge 1.10	Çoklu bileşen analizi için oluşturulan matris.....	39
Çizelge 2.1	Deneyde kullanılan kimyasal maddeler	41
Çizelge 2.2	1×10^{-3} M metal ara stok çözeltilerin hazırlanması.....	44
Çizelge 2.3	pH çalışmalarında kullanılan asitler ve pK değerleri	44
Çizelge 2.4	Tampon çözeltiler.....	45
Çizelge 2.5	Metal derişimi sabit tutulduğu çözeltiler	46
Çizelge 2.6	Ligand derişimi sabit tutulduğu çözeltiler	46
Çizelge 2.7	Metal iyonlarının ligand ile birleşme oranları.....	46
Çizelge 2.8	MSPA, metal-MSPA ve metallerin ayar çözeltilerinin hazırlanması	47
Çizelge 2.9	Faktörler ve belirlenen aralıklar.....	50
Çizelge 2.10	Merkezi Kompozit Dizayn kapsamındaki deneyler.....	50
Çizelge 2.11	Standart Referans Madde Kullanarak Metallerin Yağdan Ekstraksiyonlarında uygulanan koşullar.....	51
Çizelge 3.1	MSPA'nin element analizi sonuçları.....	52
Çizelge 3.2	MSPA hesaplanan molar absorpsiyon değerleri, T=25 °C... ..	70
Çizelge 3.3	Cu-MSPA kompleksi için hesaplanan molar absorptivite değerleri, (T=25 °C, pH=6)	71
Çizelge 3.4	Fe-MSPA kompleksi için hesaplanan molar absorptivite değerleri, (T=25 °C, pH=8)	71
Çizelge 3.5	Ni-MSPA kompleksi için hesaplanan molar absorptivite değerleri, (T=25 °C, pH=7)	71
Çizelge 3.6	Zn-MSPA kompleksi için hesaplanan molar absorptivite değerleri, (T=25 °C, pH=7)	72
Çizelge 3.7	5×10^{-6} M Cu^{2+} ve 5×10^{-6} M MSPA çözeltisi karışımının absorbansı.....	72
Çizelge 3.8	5×10^{-6} M Fe^{3+} ve 5×10^{-6} M MSPA çözeltisi karışımının absorbansı.....	72
Çizelge 3.9	5×10^{-6} M Ni^{2+} ve 5×10^{-6} M MSPA çözeltisi karışımının absorbansı.....	72
Çizelge 3.10	5×10^{-6} M Zn^{2+} ve 5×10^{-6} M MSPA çözeltisi karışımının absorbansı.....	73
Çizelge 3.11	Kompleks oluşum sabitleri.....	73
Çizelge 3.12	FAAS çalışma şartları.....	74
Çizelge 3.13	Standart katma yöntemi için hazırlanan standartlar çözeltiler.....	74

Çizelge 3.14	FAAS 'de metaller için hesaplanan belirtme alt sınırları.....	74
Çizelge 3.15	Cu ve Fe metallerinin SRM'den geri kazanım değerleri.....	75
Çizelge 3.16	Ni ve Zn metallerinin SRM'den geri kazanım değerleri.....	76
Çizelge 3.17	Denemeler sonucunda bulunan yanıt değerleri.....	77
Çizelge 3.18	Hesaplamalar sonunda bulunan b değerleri.....	77
Çizelge 3.19	Oluşturulan y denklemleri ve her bir değişkene göre y denkleminin türevleri.....	78
Çizelge 3.20	Denklemlerin Derive 6 programı ile çözülmesi sonucu bulunan X_1 , X_2 , X_3 kod değerleri	79
Çizelge 3.21	Metallerin yağdan ekstraksiyonu için bulunan optimum değerler.....	79
Çizelge 3.22	SRM'den ekstrakte edilen metaller.....	80
Çizelge 3.23	Deneysel t değerleri.....	81
Çizelge 3.24	Zeytinyağı ekstraktlarından Cu, Fe, Ni ve Zn tayinleri.....	81
Çizelge 4.1	LDM'nin bazı metallerle oluşturduğu komplekslerin oluşum sabitleri.....	87

KISALTMA LİSTESİ

<u>Kısaltma</u>	<u>Açılımı</u>
FAAS	Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
¹ H NMR	Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹³ C NMR	¹³ C Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
LC-MS	Sıvı Kromatografisi Kütle Spektroskopisi
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
PUFA	Çoklu doymamış yağ asit(ler)i
MUFA	Tekli doymamış yağ asit(ler)i
L-CAT	Lesitil kolesterol asil transferaz
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
ET-AAS	Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
GF-AAS	Grafit fırın Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
ICP	İndüktif eşleşmiş plazma
ICP-AES	İndüktif eşleşmiş plazma Atomik Emisyon Spektroskopisi
ICP-MS	İndüktif eşleşmiş plazma Kütle Spektroskopisi
UV-Vis	Ultraviyole-Görünür bölge spektroskopisi
GC	Gaz Kromatografisi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
PA-FI	Paralel akışa enjeksiyon
LDM	N,N'-bis(salisiliden)-2,2'-dimetil-1,3-propandiamin
PCA	Temel bileşen analizi
NAA	Nötron Aktivasyon Analizi
SEC	Tanecik boyutlandırma (size-exclusion) kromatografisi
MSPA	[N,N'-bis(4-metoksi salisiliden)-1,3propandiamin]

ÖNSÖZ

Çalışmalarımın her aşamasında yardımına ve bilimsel desteğine ihtiyaç duyduğum, karşılaştığım her türlü sorun ile yakından ilgilenen Yrd. Doç. Dr. Sema BAĞDAT YAŞAR hocama teşekkür ederim.

105T153 nolu proje ile yüksek lisans tezimi destekleyen TÜBİTAK-TBAG' a teşekkür ederim. Balıkesir Üniversitesi Temel Bilimler Araştırma Merkezi ve Çevre Sorunları Araştırma ve Uygulama Merkezinin tüm çalışanlarına uygun çalışma ortamını sağladıkları için teşekkürler.

Karşılaştığım her problemde kapılarını aşındırdığım Yrd. Doç. Dr. Şahin SAVAŞCI, Doç.Dr. Raif KURTARAN, Doç. Dr. Hilmi NAMLI, Yrd. Doç. Dr. Akın AZİZOĞLU, Arş. Gör. Onur TURAN' a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında sürekli, yanımda olan arkadaşlarım Eda BARAN, Arda KARAN, Pınar TURAN, Evrim ÇELEBİ, Ferit KARANFİL, Fatih Kerim ve Mehmet Nur YEĞİN'e de ayrıca teşekkür ederim.

Hayatın ne kadar anlamlı ve yapılacak çok şeyin olduğunu her zaman hatırlatan aileme; tüm umutlarımın kırıldığı anlarda bile bana benden fazla güvenen canım kardeşlerim Dilek ve Songül'e ve canım babacıma da çok çok teşekkür ediyorum. Her alanda kendime örnek aldığım ve kendisinden çok önemli edinimler kazandığım dayım Muammer ŞEKER'e teşekkürler.

Ve sen olmasaydın ben bunları başaramazdım dediğim canım ANACIM, lütfen kabul et! Bu çalışma senin eserin.

Bu çalışmayı sana atfediyorum annecim, iyi ki varsın!

Balıkesir, 2007

Cihan BARAK

1. GİRİŞ

1.1 Zeytin Yağı

1.1.1 Zeytin Yağı ve Sağlık

Özellikle Akdeniz iklim kuşağındaki ülkelerde zeytin ve zeytinyağı önemli bir besin maddesi olduğu gibi önemli bir ticari üründür. Ülkemizde, özellikle Akdeniz, Ege ve Marmara bölgelerinde, büyük ticari öneme sahip olup, bir çok ailenin geçim kaynağıdır.

Zeytinyağı, olgunlaşmış zeytin meyvelerinin sıkılması sureti ile elde edilen ve hiçbir kimyasal işlem görmeden doğal hali ile tüketilebilen bir yağdır. Hazmolma özelliği yüksek olan zeytinyağı, kendine has tadı ve kokusu ile diğer bitkisel yağlara göre ayrı bir değere sahiptir. Yüksek kalori değeri ve içerdiği bileşenler (esansiyel yağ asitleri, A, D, E, ve K vitaminleri, antioksidanlar) bakımından insan sağlığı açısından önemli besinlerden birisidir.

Vücudumuzun gereksinim duyduğu 20 farklı yağ asidi vardır. Vücudumuz için gerekli olan farklı yağ asitlerinin sentezi için çıkış maddesi linoleik asit ve linolenik asit olduğu için bu yağ asitlerine temel (esansiyel) yağ asitleri de denilmektedir. Linoleik asit omega-6 grubu yağ asitlerinin çıkış maddesi; linolenik asit omega-3 grubu yağ asitlerinin çıkış maddesidir. Bu yağ asitleri vücudumuzda üretilmediği için bu yağ asitlerinin besinlerden alınma zorunluluğu vardır.

Linoleik ve linolenik asitler vücudumuzda prostaglandinlerin sentez çıkış maddesidir. Prostaglandinler iltihaplanma, ağrı, şişkinlik, tansiyon, kalp, böbrekler, sindirim sistemi ve vücut sıcaklığı gibi vücuttaki birçok faaliyeti düzenler. Bunların

yanı sıra, alerjik reaksiyonlar, kanın pıhtılaşması ve diğer hormonların üretimi için de önemlidirler. Yağ asitleri, aynı zamanda kalp krizine yol açabilen kan pıhtılaşmasını önleyebilirler.

Oleik asitin (tekli doymamış yağ asidi); kandaki kolesterol miktarını azaltarak kalp krizi ve damar sertliği riskini düşürdüğü bilinmektedir. Kolesterol, tüm canlıların bünyesinde bulunan ve vücut içinde özel görevleri olan bir moleküldür. Ancak kolesterolün belli bir düzeyde olması gerekir. Kolesterol düzeyi belli sınırları aşınca zararlıdır. Kolesterol fazlalığında "familiar hiperkolesterolemi" hastalığı oluşur ve bu da damar tıkanıklığı ve kalp krizine yol açar. Kolesterolün vücut içinde taşınmasında lipoproteinler sorumludur. Lipoproteinlerin yüksek yada düşük yoğunlukta olması sağlık açısından önemlidir.

Yapılan araştırmalar sonunda kalp-damar rahatsızlıkları olanlarda çoğunlukla kandaki düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ile taşınan kolesterolün yüksek olduğu gözlenmiştir. Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kanda yükselmesi durumunda kolesterol karaciğere taşınarak safra ve benzer ürünlere indirgenmekte ve böylece damar sertliği olasılığı azalmaktadır. Sonuç olarak sağlık açısından LDL düşük, HDL ise mümkün olduğunca yüksek olmalıdır [1,2].

Doymamış yağ asitleri kandaki kolesterolü azaltır. Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) kandaki LDL ve HDL miktarını azaltırken, tekli doymamış yağ asitlerinin (MUFA) LDL'yi azalttığı, HDL miktarını ise arttırdığı bilinmektedir. Bu nedenle oleik asit kalp hastalıklarına karşı koruyucu bir etkiye sahiptir. Zeytin yağı oleik asit açısından en zengin bitkisel yağdır. Nitekim Napoli, İspanya, Yunanistan, Girit adası ve Fransa gibi Akdeniz ülkelerinde yaşayan insanların fazla yağ tüketmelerine karşın kalp ve damar hastalıklarına yakalanma oranının çok düşük olduğu dikkati çekmiş ve yapılan araştırmalar sonucunda bu etkinin zeytin yağı tüketiminden kaynaklandığı belirlenmiştir [3-6]. Oleik asit kemik gelişiminde, ülser ve şeker hastalığının tedavisinde önemli bir etkiye sahiptir. Ayrıca oleik asidin göğüs kanserine karşı koruyucu özellikler taşıması da zeytinyağının tercih nedenlerindedir [3-6].

Zeytin yağı, besin değerinin yanı sıra içerdiği antioksidanlar açısından da önemlidir. Antioksidanlar vücudumuzdaki serbest radikalleri tanıyan ve etkisiz hale getiren maddelerdir. Antioksidanlar enzimler, pek çok vitamin ve minerali içerir. Serbest radikaller, vücudumuzdaki hücreleri parçalayarak yaşlanmaya ve hastalıklara yol açan, yüksek tahrip gücüne sahip moleküllerdir. Damar sertliği ve kalp hastalıklarının başlıca nedeni, serbest radikallerin dokularda yaratmış olduğu tahribatlardır. Daha ileri safhalar ise; kalp-damar hastalıkları, kalp ile beyine giden kan ve oksijenin azalmasıdır.

Zeytinyağında antioksidan özelliğe sahip tokoferoller ve fenolik bileşikler bulunmaktadır. α -tokoferol miktarı 150-170 mg/kg ve fenolik bileşenler 30-50 mg/kg düzeyindedir [1,6,7,8]. Vücudun serbest radikal kontrol sistemi olarak görev yapan antioksidanlar, yaşlanmanın, hem genel olarak doku ve organlar, hem de beyin fonksiyonları üzerindeki etkilerini geciktirmektedir.

Zeytin yağındaki tokoferollerin % 90' ını biyolojik açıdan en aktif formdaki α -tokoferoller oluşturmaktadır. Taze naturel yağlarda az miktarda beta (β) tokoferol bulunmaktadır. Zeytin yağındaki tokoferol miktarı diğer bitkisel yağlara göre daha azdır. Natürel zeytin yağında 151-178 mg / kg oranında tokoferol bulunurken, depolanmış zeytin yağlarında bu oran 28-55 mg / kg' a düşmektedir. Rafine yağlarda ise α tokoferolün hiç bulunmadığı belirlenmiştir [9].

Tokoferoller yağdaki çoklu doymamış yağ asitlerinin okside olmalarını önleyici etkiye sahiptirler. Bu sebepten dolayı yağların acılaşmasına ve vücutta zararlı etkilere sebep olan serbest radikaller ve peroksitlerin oluşmasına engel olmaktadır. Zeytinyağının içerisinde bulunan α -tokoferolün(vitamin E), kansere karşı koruyucu etki yaptığı ve saç dökülmelerine karşı iyi geldiği de bilinmektedir [10,11].

Fenolik bileşikler (hidroksitirozol gibi basit fenoller ve oleuropein gibi kompleks fenoller), naturel zeytin yağında doğal olarak bulunan antioksidan maddelerin en önemlilerindedir. Zeytin yağının diğer bitkisel yağlara göre tokoferol bakımından fakir olması fenolik bileşiklerin önemini daha da

arttırmaktadır. Zeytin yağının kendine has tat ve kokusunun fenolik bileşiklerden kaynaklandığı bilinmektedir. Fenolik bileşikler, yağın oksidasyona dayanıklılığını arttırmasının yanında kalp-damar hastalıklarına karşı koruyucu etki yaptığı ve kansere karşı olumlu etkisinin de olduğu bilinmektedir.

Zeytin yağının diğer yan bileşenlerinin de beslenme ve sağlık üzerine önemli etkileri vardır. Zeytin yağının yapısındaki sterollerden β -sitosterol, besinsel kolesterolünün bağırsaklarda emilimini engellemektedir. Hidrokarbonlardan örneğin skualen L-CAT (lesitil kolesterol asil transferaz) enzimi vasıtası ile kolesterol sentezini önleyebilmektedir. Yine hidrokarbonlardan karoten, A vitamini taşır ve antioksidan özellik gösterir. Zeytin yağının yapısındaki terpenik alkollerden sikloartenol safra asidinin arttırılması ile kolesterolün ayrılmasına yardımcı olur. Aşırı miktarda tüketilen SFA ve PUFA ihtiva eden yağlar safra kesesinde kolesterol taşlarının oluşumunu arttırmaktadır. Zeytin yağının ise safra kesesinde kolesterol taşlarının oluşumunda koruyucu etki gösterdiği ileri sürülmektedir. Çünkü; zeytin yağı safra akımını arttırmakta, safra kesesinin boşalmasında yardımcı olmakta, böylece safra taşlarının oluşumunu engellemektedir. Ayrıca kanda HDL düzeyini yükselterek yağ asitleri arasındaki dengeyi sağlamaktadır [12].

Zeytin yağının yapısındaki renklendirici maddelerden karotenoidler ve klorofilin antioksidan etkiye sahip olduğu bilinmektedir.

Zeytin yağının linoleik asit yüzdesinin yüksek olması ve serbest yağ asidi yüzdelерinin anne sütüne benzemesi nedeni ile zeytinyağı, yağsız inek sütüne bir kaç damla katıldığında anne sütünden kesilmiş bebekler (4 buçuk aydan sonra) için doğal bir besin olarak kullanılabilir.

Hazmı kolay olan zeytinyağı besinlerin bağırsaklar tarafından çok daha iyi emilmesini sağlayarak bağırsakların çalışmasını düzenler. Zeytinyağı mideyi koruyucu bir tabakayla sararak mide asitliğini azaltır ve sindirim sistemini etkiler. Sıcak ve soğuk tüketildiğinde mide asiditesini azaltarak gastrit ve ülserle karşı koruyucu bir rol oynar. Zeytinyağı, safra kesesinin kontraksiyonlarını (kasılma) ve

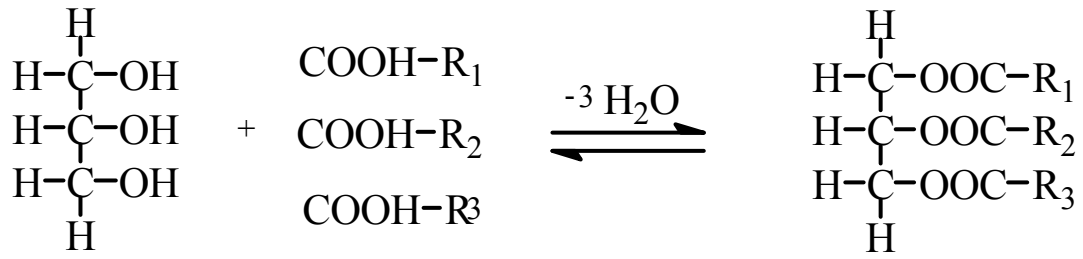
safra salgılanmasını uyararak; safra taşı oluşum riskini azaltır, hazmı kolaylaştırır. Ayrıca, dalakta taş oluşumunu önler; sarılığa ve karaciğer sancularına iyi gelir [8].

1.1.2 Bitkisel Yağların Kimyasal İçerikleri

“Nötral yağ” olarak adlandırılan trigliseridler, yağın esasını oluşturmaktadır. Trigliseridleri oluşturan yağ asitlerinin türleri, miktarları ve bunların trigliserid molekülündeki dağılımları ise yağların farklı özelliklerinin sebebidir. Trigliseridler yapısındaki yağ asiti türlerine göre basit trigliseridler ve karışık trigliseridler olarak da gruplandırılabilir.

Bitkisel Yağların Kimyasal İçerikleri aşağıda verilmektedir [13];

1. Trigliseridler (gliserinin yağ asitleri ile olan esteri)
2. Serbest yağ asitleri
3. Fosfolipidler (Lesitin, Sefalin, Fosfoinosidol vb.)
4. Lipoprotein kompleksleri
5. Liposakkarid kompleksleri
6. Uzun zincirli alkoller (yağ alkolleri), esterler (doğal mumlar)
7. Steroidler (ergosterol, kolesterol vb.)
8. Hidrokarbonlar (squalan, pristan, polisiklik aromatik hidrokarbonlar)
9. Renk maddeleri (karoten, ksantofil, klorofil)
10. Lipovitaminler (provitaminler A ve E vitaminleri)
11. Antioksidanlar (tokoferoller, sesamol, sesamolin vb.)
12. Eser elementler ($\text{Cu}^{1+,2+}$, $\text{Fe}^{2+,3+}$ vb.)
13. Yağın oksidasyon ürünleri, koku ve tat oluşturuıcı maddeler (epoksitler, peroksitler, azotlu bileşikler, daha kısa zincirli aldehitler, ketonlar, karboksilli asitler, aromatikler vb.).



Şekil 1.1 Yağ asitlerinin gliserinle esterleşme tepkimesi



Şekil 1.2 Basit trigliseridler ve karışık trigliseridler

İyot sayısı, yağların içerdikleri yağ asitleri miktarının bir ifadesidir. Yağlar iyot sayılarına göre üç sınıfta değerlendirilirler [13]. Bazı yemeklik bitkisel yağların iyot sayılarına göre sınıflandırılması Çizelge 1.11’de verilmektedir.

Çizelge 1.11 Yağların iyot sayılarına göre sınıflandırılması [13]

	İYOT SAYISI	ÖRNEKLER
Kuruyan Yağlar	> 170	Ketentohumu yağı, Odun yağı
Yarı Kuruyan Yağlar	170-100	Soya yağı, Ayçiçeği yağı, Balık yağı
Kurumayan Yağlar	<100	Zeytinyağı, Yerfıstığı yağı, palm yağı, Hindistancevizi yağı, iç yağ (don yağı)

Zeytin yağının bileşiminde bir çok fonksiyonel grup bulunmaktadır. Sabunlaşan maddeler (yağ asitleri ve esterleşmiş trigliseritler) zeytin yağının yaklaşık 99 % unu teşkil eder. Sabunlaşmayan maddeler 1 % ini oluşturmaktadır. Zeytinyağının sabunlaşmayan bileşenleri; antioksidan özelliği olan alfa tokoferoller ve fenoller, steroller, fosfolipitler, renk vericiler ve aroma bileşikleridir.

Zeytinyağının beslenme açısından değerli kılan en önemli bileşikler; yağ asitleri, tokoferoller, ve fenolik bileşiklerdir.

Çizelge 1.2 Zeytinyağının yağ asit içeriği [3,14,15]

Asit çeşidi	Bileşen	Konsantrasyon (%)
Doymamış yağ asitleri		
1 cis çift bağ:	Oleik asit	64-80
2 cis çift bağ:	Linoleik asit	8-16
3 cis çift bağ:	Linolenik asit	1-2
Doymuş yağ asitleri		
	Palmitik asit	7-14
	Stearik asit	2-4

Yapılan çalışmalarda yağ asidi bileşiminde farklılıklar görülmektedir. Bu farklılaşma, zeytin yağının hammaddesi olan zeytinin üretiminden, zeytinin sıkım işlenmesi ve zeytin yağının paketlenmesi ve saklamasına kadar gerçekleşen olaylardaki değişkenlerin önemini göstermektedir. (Toprağın yapısı, iklim koşulları, sıkma işlemi değişkenleri, paketlenme ve saklama koşulları v.b.).

Çizelge 1.3 Bazı yemeklik bitkisel yağların kimyasal bileşimi [16]

	Ayçiçek yağı	Soya yağı	Mısırözü yağı
Palmitik asit (%)	3-10	7-14	8-19
Stearik asit (%)	1-10	1.4-5.5	0.5-4
Oleik asit (%)	14-65	19-30	19-50
Linoleik asit (%)	20-75	44-62	34-62
Linolenik asit (%)	<0.7	4-11	<2.0
Tokoferoller (mg/kg)	250	175	200

Çizelge 1.4 Zeytinyağının kimyasal bileşimi [16]

Bileşimler	Oranı – Miktarı
Trigliseritler	% 99.8
Doymuş yağ asitleri	% 14
Palmitik asit (C 16:0)	% 7.5-20
Stearik asit (C 18:0)	% 0.5-5.0
Tekli doymamış yağ asitleri	% 72
Oleik asit (C 18:1)	% 55-83
Palmitoleik asit (C 16:1)	% 0.3-3.5
Çoklu doymamış yağ asitleri	% 12
Linoleik asit (C 18:2)	% 3.5-21
Linolenik asit (C 18:3)	% 0.0-1.5
Trigliserit olmayan ögeler	% 0.2
Tokoferoller (Vitamin E)	150 mg/kg
Polifenoller	300 mg/kg
Kolesterol	0

Yukardaki çizelgede zeytin yağının kimyasal bileşimi daha net gözlenebilmektedir.

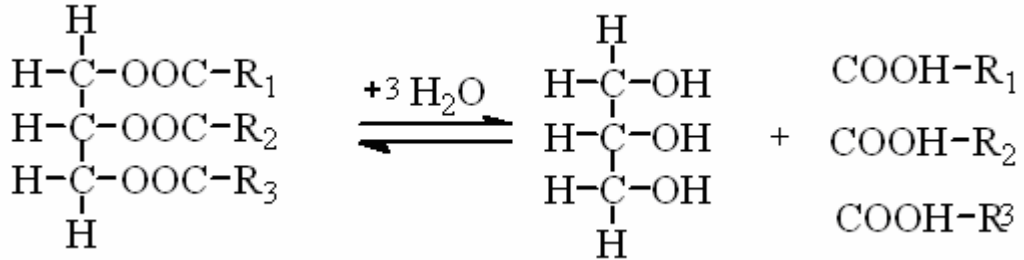
1.1.3 Yağların Reaksiyonları

Yağların reaksiyonları ester yapısında meydana gelen değişmeler (ester bağlarındaki reaksiyonlar) ve yağ asidi zincirindeki reaksiyonlar (özellikle doymamış yağlardaki çift bağlarda meydana gelen reaksiyonlar) olmak üzere iki ana başlık altında incelenmektedir.

1.1.3.1 Ester Bağlarındaki Reaksiyonlar

Genellikle yağların ester grupları, gıda işleme esnasında hidrolize olmaktadır. Hidroliz reaksiyonları; gıda depolanması ve üretilmesi sırasında özellikle enzimatik olarak gerçekleşmektedir. Yağların ester ve karboksil bağlarında meydana gelen değişiklikler; hidrolitik ve esterifikasyon reaksiyonları olarak sınıflandırılabilir.

Hidrolitik reaksiyonlar: Hidroliz reaksiyonları; yüksek sıcaklıkta su, lipolitik enzimler ya da kontamine olmuş küf ve bakterilerin ürettiği lipazlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Lipazlar, gliserin ve yağ asitlerinden oluşan esterleri hidroliz eden enzimlerdir. Katı ve sıvı yağ içerikleri çok olan gıda örneklerinin depolanmaları süresince, gıdalarda bulunan yağlar zamanla hidrolize olurlar. Hidrolitik reaksiyonlar sonucunda gıda hidrolitik olarak acılaşılmaktadır. Lipolitik enzimler, bazı gıdalarda istenen aromaya, bazı gıdalarda ise istenmeyen aromaya neden olurlar. Lipolitik enzimler, 14-22 karbonlu yağ asitlerine karşı inaktif, 4-10 karbonlu yağ asitlerine karşı aktiftirler. Lipazlardan başka esterazlar, lipo-protein lipazlar, fosfolipazlar da yağ hidrolizine katılmaktadırlar. Yağların hidrolizi kimyasal ya da enzimatik yolla gerçekleşir. Kimyasal hidrolizde ortamdaki suyun sıcaklığı, ortamdaki serbest yağ asidi konsantrasyonu ve suyun yağda çözünme oranı önemlidir. Enzimatik hidrolizde ortamda su bulunması gerekmektedir birlikte ortamda bitkisel veya hayvansal kökenli esteraz enzimlerinin de bulunması gerekmektedir.



Şekil 1.3 Hidrolitik reaksiyon ile ester bağı parçalanması

Lipitlerin enzimatik hidrolizinden sorumlu enzimler lipazlardır. Lipazlar karboksil-hidrolazlar grubunda yer alırlar. Lipazlar yağ asidi kökü ester yapısında olan lipitlere ve ancak yağ-su emülsiyonlarının sınır yüzeyinde etki ederler. Bu özellikleri lipazları diğer esterazlardan ayırır. Lipazların aktivite gösterebilmeleri için suyun lipid fazda çözünmesi gerekmektedir. Lipid-su emülsiyonlarında lipid faz ne kadar küçük moleküller halinde dağılmışsa enzim aktivitesi o kadar hızlı gerçekleşir. Ayrıca serbest yağ asitlerinin ortamdaki iyonlarla tuz oluşturması ortam pH sını sabit tutacağından enzim aktivitesi ve hidroliz artar. Lipazlar bir trigliserit molekülünü hidroliz ederken primer hidroksil grubundaki ester bağı daha çabuk

parçalar. Lipazların aktivitesine demir, magnezyum ve mangan gibi iyonlar etki edebilirler [17-21].

Esterifikasyon: Yağ asitleri, alkoller ile enzimatik katalizlenerek ya da kuvvetli asitlerin varlığında esterlenebilirler. Gıdaların işlenmeleri ve depolanmaları süresince transesterifikasyon olarak adlandırılan ester değiş-tokuşu meydana gelebilmektedir. Triaçilgliserole (yağ molekülüne) aşırı miktarda yağ asidi ilave edildiğinde; ilave edilen yağ asitlerinin ester moleküllerindeki orijinal yağ asitleri ile yer değiştirmeleri sonucu yeni ester bileşiği oluşması olayı asidolizis olarak tanımlanmıştır.



Şekil 1.4 Yağ asitlerinin alkollerle esterifikasyonu

Gıdaların depolanması sürecinde yağlardaki değişmeler, gıdaların su içeriğine bağlıdır ve su içeriği % 14,5-15'i geçince lipolizis çok hızlı bir şekilde başlamaktadır. Zeytinyağının su içeriği % 0,095'dir.

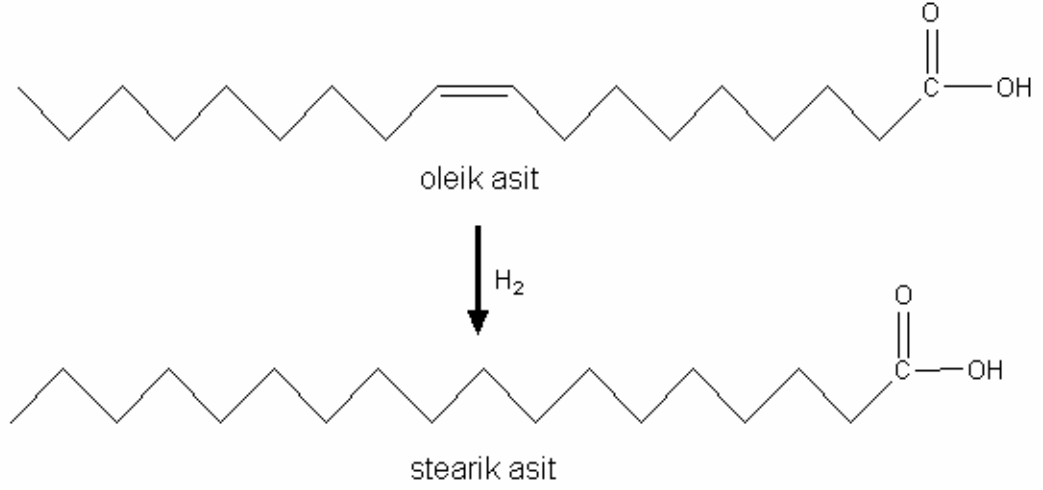
Yağların sodyum hidroksit ile ısıtılmaları sonucunda ester yapısını parçalanmakta ve sabunlaşma (saponifikasyon) gerçekleştirilmektedir.

Triaçilgliserol yapısındaki yağ asitlerinin molekül içindeki pozisyonlarındaki yer değiştirmeleri olayı interesterifikasyon olarak tanımlanmıştır. Yağların interesterifikasyonu ile yağların içeriğinde değişmeler gerçekleştirilmekte ve uygun izomerler elde edilmektedir.

1.1.3.2 Yağ Asidi Zincirindeki Reaksiyonlar

Yağ asidi zinciri reaksiyonları doymamış yağlardaki çift bağda meydana gelen reaksiyonlardır. Bu reaksiyonlar doymamış yağ asidinde mevcut olan çift bağ ya da bağların doyurulması, bu bağlardaki konfigürasyon değişimi ya da bu bağların yükseltgenmesi şeklinde olabilir.

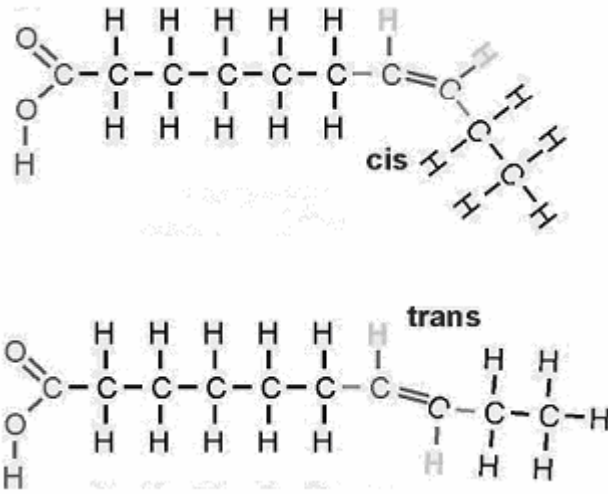
Çift bağın hidrojenasyonu: Doymamış yağ asitleri ve türevleri uygun katalizörler veya enzimler varlığında hidrojen ile doyurulabilirler.



Şekil 1.5 Doymamış çift bağın hidrojenasyonu

Pozisyonel izomerizasyon ve çift bağların konjugasyonu: Gıda ürünlerindeki doymamış yağ asitlerinin çoğu, cis konfigürasyonuna sahiptirler. Fakat otooksidasyon, arıtma, polimerizasyon gibi durumlarda trans-doyunmamış yağ asitlerinin de meydana geldiği belirtilmiştir. Hidrojenize olmuş sıvı yağlarda, doymamış çift bağların %3 ile 10'u hidrojenizasyonun ilk basamağında konjuge olurlar.

Polimerizasyon ve halka oluşumu: İnert gaz ortamında, doymamış yağ asitlerinin 270-300 °C' ye kadar ısıtılmaları sonucunda polimerizasyon gerçekleşebilmektedir. Konjuge doymamış yağ asitleri polimerizasyon reaksiyonlarına daha duyarlıdır.



Şekil 1.6 Yağ asitlerinin cis ve trans izomer yapısı

Oksidasyon reaksiyonları: Oksijen varlığında, doymamış yağlardaki çift bağların parçalanması, radikallerin oluşmasına yağların oksidasyonu denilmektedir. Yağların oksidasyonu sonucu oluşan radikaller yüksek aktiviteye sahiptir. Oluşan bu radikallerin vücuda ciddi zarar verdiği bilinmektedir [6].

Gıdalardaki yağların oksidasyonu sadece reaksiyon sonucu oluşan kötü tat ve koku açısından önemli değildir. Son yıllarda yapılan bazı araştırmalar oksidasyon sonucu oluşan ürünlerin sağlık açısından ciddi tehdit unsuru oluşturduğuna yönelik bulgular ortaya koymaktadır. Hatta bu bileşiklerin bir kısmı kanserojen etkiye sahiptir [22,23]. Bu nedenle lipidlerin oksidasyon mekanizmasının iyi bilinmesi gerekmektedir.

Yağların oksidasyonu sonucu yağlarda acılaşıma meydana gelmektedir. Bu reaksiyonların oluşmasında yağın doymamışlığı ve oksijenin rolü büyüktür. Oksidatif tepkimeler; kimyasal ya da enzimatik, otokatalitik, termik oksidasyon, oksipolimerizasyon (kuruma) ya da bunların karışımı şeklinde görülmektedir.

Gıdalarda ilk oksidasyon ürünlerinin ortaya çıkması için belli bir depolama süresinin geçmesi gerekmektedir. İndüksiyon periyodu olarak adlandırılan bu spesifik sürenin aşılmasından sonra tepkime hızı artar. Prooksidan içeren gıdalarda

oksidasyon indüksiyon periyodu gerektirmeksizin gerçekleşir. İndüksiyon periyodunun hızı ve uzunluğu öncelikle yağ asitlerinden etkilenir. Yağ asitlerindeki allil grubunun ($\frac{3}{4}C=C\frac{3}{4}$) artması, reaksiyon hızının artması ve periyodun kısılmasına sebep olmaktadır.

Yağların oksidasyon reaksiyonlarının birinci basamağını aktif radikal oluşumu oluşturur. Isı ışık veya metal iyonlarının varlığında allil grubuna komşu C atomuna bağlı H atomu yapıdan ayrılır. Öylece ayrılan H atomunun bağlı olduğu radikal aktivite kazanır. Bu olay allil grubu yerine ona komşu C atomunda gerçekleşir. Çünkü allil grubundaki H atomları daha stabildir. Peroksit aynı yağ asidi zincirindeki ya da başka bir yağ asidi zincirindeki labil H atomunu kendine bağlayarak ya da başka bir aktif radikalle birleşerek stabil forma geçmeye çalışır. Peroksitin bir hidrojen atomuyla reaksiyona girmesiyle yeni bir aktif radikal oluşur. Böylece reaksiyon bir kez başladıktan sonra otokatalitik olarak devam eder. Peroksit molekülünün başka bir peroksitle ya da aktif bir radikalle birleşmesi oksidasyonu sonlandırır. Bazı durumlarda oluşan aktif radikal peroksit oluşturmadan başka bir aktif radikalle birleşir ve stabilite kazanır.

Metallerin etkisiyle gerçekleşen oksidasyon reaksiyonları redoks tepkimeleridir. Bu reaksiyonlarda oluşan ilk bileşik hidroperoksitlerdir. Hidroperoksitler tatsız ve kokusuz olduklarından yağın tadında ve kokusunda bir değişikliğe neden olmazlar ancak parçalandıklarında kokulu karbonilli bileşikler olan aldehit ve ketonlar, melanil aldehitler, alkan ve alken yapısında hidrokarbonlar oluşur. Bu bileşikler çok az miktarlarda bile yağların tat ve kokusunda değişikliğe neden olurlar. Yemeklik yağların normal sıcaklıklardaki otoksidasyonunda oksijenin asıl bağlandığı yer doymamış yağ asitleridir. Doymuş yağ asitleri de otoksidasyona uğrayabilirler, ancak bu genellikle yüksek sıcaklıklarda gerçekleşir.

Yağların otooksidasyonunda, tepkime hızı bazı parametrelere bağlı olarak değişmektedir. Kısmi oksijen basıncı, oksijen ile temas edilen yüzeyin genişliği, yağ asitlerinin çeşit ve miktarı, depolama koşulları (sıcaklık, nem), protein içeriği ve antioksidanların etkinlik ve miktarı otooksidasyonda tepkime hızını etkileyen

faktörlerdendir. Doymamış yağ asitlerinin konjugasyonu sırasında meydana gelen aktif karbon radikaline oksijen bağlandıktan sonra otokatalitik karakterli peroksit radikalleri oluşmaktadır.

Çizelge 1.5 Yağ Asitlerin Otooksidasyonu

Başlangıç	$\text{R}-\overset{\text{H}}{\text{C}}=\overset{\text{H}}{\text{C}}-\text{R} \xrightarrow[\text{özellikle UV}]{\text{ISI, IŞIK, metal}} \text{R}-\overset{\cdot}{\text{C}}$
Çoğalma	$\text{R}\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROO}\cdot$ $\text{ROO}\cdot + \text{RH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{R}\cdot$
Sonlanma	$\text{R}\cdot + \text{R}\cdot \rightarrow \text{R-R}$ $\text{ROO}\cdot + \text{R}\cdot \rightarrow \text{ROOR}$ $\text{ROO}\cdot + \text{ROO}\cdot \rightarrow \text{ROOR} + \text{O}_2$
Metallerin Oksidasyona Etkisi	$2 \text{R-OOH} \xrightarrow{\text{metal iyonları}} \text{R-OO}\cdot + \text{R-O} + \text{H}^+$

Çizelge 1.6 Oksidasyona etki eden parametreler [9]

Parametre	Oksidasyona etkisi
Yağ asidi bileşimi	Yağ asidi bileşimindeki doymamışlık sayısı ile yağların oksidasyonundaki artış doğru orantılıdır.
Sıcaklık	Sıcaklıkla yağların oksidasyonu artmaktadır.
Su aktivitesi	Yağ oksidasyonu su aktivitesiyle düşmektedir.
Metal iyonları	Özellikle çözülmüş demir ve bakır tuzları, katalizör görevi görerek yağların oksidasyonunu hızlanmaktadır.
Oksijen	Yağda çözülmüş haldeki oksijen oksidasyonu arttırmakta ve hidroperoksit oluşumunu başlatmaktadır.
Işık	Başlangıçta radikal oluşumuna sebep olmakta ve oksidasyonu hızlandırmaktadır.

Bitkisel yağlarda bulunan lipoksigenaz enzimi, düşük sıcaklıklarda yapılarında 1-cis, 4-cis doymamışlığındaki pentadieni içeren yağ asitlerini okside etmektedir ve hidroperoksitler oluşmaktadır.

Bitkisel ve hayvansal orijinli doymamış yağ asitlerini monohidroperoksit düzeyine kadar okside eden reaksiyonlar lipoksigenazların katalizörlüğünde gerçekleşir. Enzimatik oksidasyonu kimyasal oksidasyondan ayıran başlıca iki etken enzimatik reaksiyonun bazı yağ asitlerine özgü olması ve peroksit oluşumunun seçicilik göstermesidir. Ayrıca radikallerin aktivasyonunda daha az enerjiye gerek duyulur.

Enzimatik oksidasyon reaksiyonlarında yalnız hidroperoksit oluşur. Oluşan hidroperoksitler bitkisel ve hayvansal dokularda hidroperoksit lipaz, lipoperoksidaz gibi enzimlerin aktivitesiyle parçalanırlar. Parçalanma reaksiyonları sonucu oksiasitler, aldehitler, ketonlar, alkoller ve kısa zincirli yağ asitleri oluşur. Oluşan bu ürünler pek çok gıdada karakteristik tat ve aromaya neden olur.

Yağlar 60 °C'nin üzerinde ısıtıldıklarında termik oksidasyonu oluşmakta ve bu olay en fazla kızartma ürünlerinin hazırlanmasında meydana gelmektedir. Yüksek sıcaklıklarda oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan hidroperoksitler hızlıca hidroksi ve alkoksi radikallerine parçalanarak aldehit ve ketonlar oluşmaktadır [17].

Yağların depolanmaları ve işlenmeleri süresince, yağ asitlerinin reaksiyonu sonucu oluşan ürünler proteinler ile reaksiyona girmeleri sonucu lipoproteinler ve diğer reaksiyonlar meydana gelmektedir [9].

1.1.4 Yağlar, Zeytin Yağı ve Zeytin Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Yağda metal tayinleri için değişik yöntemler uygulanmaktadır. Ancak bir çok yöntemde örneğin analizi için önişlem (çözünürleştirme, önderiştirme v.b.) yapmak gerekmektedir. Yağ örneklerini analize hazırlamak için çözünürleştirme gereklidir ve yağ yakma, kuru yakma gibi yöntemler sıkça kullanılmaktadır. Kuru yakma yönteminde, yağ örneği kül fırınında kademeli olarak yakılarak üzerine asit eklenir. Böylelikle yağ yapısındaki metallerin metaloksitleri elde edilir. Bu yöntem ile 0,5

gramdan fazla yağ kullanılabilir. Fakat örneğin kirlenme riski oldukça fazladır ve hata kaynağı çoktur, kesinlik kötüdür. Yaş yakma da ise örnek üzerine asit eklendikten sonra kapalı bir sistemde kaynatılarak elementlerin asit içerisinde parçalanması sağlanır. Mikrodalga ile çözünürleştirme işlemi de yağ yakma yöntemlerinden biridir. Mikrodalga ile örnek çözünürleştirmede bir defada en fazla 0,5 gram yağ örneği çözünürleştirilebilir. Çözünürleştirme işleminden sonra örnek çözeltisi bir miktar seyrelmektedir. Bir defada çözünürleştirilebilecek örnek miktarının az olması ve seyrelme, eser düzeyde bulunan elementlerin analizi için duyarlılığı yüksek bir yöntem gerektirmektedir. Bu nedenle, genellikle örnek çözünürleştirme işlemiyle birlikte analite uygun bir ön deriştirme yöntemi gerekir. Ancak ön deriştirme yöntemleri oldukça zaman alıcıdır ve hata kaynakları fazladır. Asit ile ekstraksiyon, yağda metal analiz için kullanılan ön hazırlık yöntemlerinden biridir. Asit ile ekstraksiyon yönteminde, yağ örneği nitrik asit ile geri soğutucu altında kaynatılırken ara ara hidrojen peroksit eklenir. Böylelikle yağ fazındaki metaller asit çözeltisine ekstraksiyonu sağlanmış olur. Asit ile ekstraksiyon yönteminin verimi ve tekrarlanabilirliği kötü olma ihtimali söz konusu olduğundan doğruluk kontrol edilmelidir. Yağ örneklerinde direkt metal analizi için yöntemler de geliştirilmektedir. Triton X-100 ile yağ emülsiyonu oluşturarak yağ örneği GF-AAS'ye veya bazı durumlarda ICP'ye direkt olarak verilebilir. Bu yöntemin de bazı dezavantajları vardır; girişim olasılığı fazladır, GF –AAS veya ICP gibi duyar cihaz gerekmektedir, ayrıca kesinliği de iyileştirmek zordur [6,21].

Yenilebilir yağlar ile ilgili çok sayıda çalışma vardır. Özellikle yağ oksidasyonunu katalizleyen metallerin (Cr, Mn, Fe, Ni, Co, Cu ve Zn v.b.) zeytin ve zeytinyağında analizlerinin yapıldığı çalışmalar oldukça fazladır [4].

AAS, ETAAS ve ICP-AES gibi atomik spektroskopik teknikler ile yağ örneğindeki metallerin analiz çalışmalarına sıkça rastlanmaktadır. Bu çalışmalarda genellikle toplam element analizleri yapılmıştır. Rastelli ve Amati, kuru yakma ön işleminden sonra, AAS tekniğini ile yağlarda eser elementlerin miktarını belirlemişlerdir [24]. Calapaj ve arkadaşları, yağ örneğini alkolik KOH ile , GF-AAS'ye enjekte ederek, yenilebilir yağlarda ağır metal analizini yapmışlardır [25]. Slikkerveer ve grubu, GF-AAS yönteminde duyarlılığı arttırmak için Lantanyum

çözeltisi kullanarak yenilebilir yağlarda fosfor tayini yapmışlardır [26]. Dalen ETAAS ile palladyumu ortam düzenleyici (matrix modifier) olarak kullanmış ve yağlardaki kadmiyum miktarının belirlenmesi için bir yöntem geliştirmiştir [27]. Moffett ve Brodie, yağ örneklerinde elektrotermal atomik absorpsiyon spektroskopisi ile Pb, Fe, Cu, Ni elementlerinin tayininde, girişim etkilerini en aza indirmek için standart katma kalibrasyonunu kullanmıştır [28]. Yine ET-AAS ile yağda Ni ve V tayini için çalışılmıştır [29]. Kowalewska ve arkadaşları bir diğer çalışmalarında ETAAS ile ortam düzenleyiciler (organik paladyum, paladyum ve magnezyum) kullanarak işlenmemiş yağ örneklerinde kurşunu direkt tayin etmişlerdir [30]. Guillaumin de yağlarda Ca ve Mg tayini için yağı izoamilasetat ve metil alkol karışımında çözerek direkt analizini AAS ile yapmıştır [31].

Yağ örneklerinde elementlerin tayininde bir ayırma ve ön deriştirme tekniği olarak anyon ve katyon değiştirici reçineler kullanılarak elementlerin analizi gerçekleştirildiği çalışmalar da rapor edilmiştir [32-34].

Yağda metal tayininde, ETAAS' nın yanı sıra indüktif eşleşmiş plazma kullanılarak, seçici ve çok duyar bir dedektör olan kütle spektrometrelerinin (ICP-MS) birleştirilmesi ile yapılan çalışmalar da yer almaktadır. Castillo, emülgatör yardımı ile optimum koşullarda zeytinyağında metal analizini ICP-MS ile yapmıştır [35]. Cichelli ve grubu nötron aktivasyon analizi (NAA) ile yağ örneklerinde bazı metallerin analizini yapmışlardır [36].

Metal tayinlerinin yanında yenilebilir yağlarda, bazı polar bileşiklerin de tayinleri yapılmıştır. Serrat ve arkadaşları katı ve sıvı yiyeceklerde yağ asidi analizi için titrimetrik ve kompleksimetrik yöntemler kullanmışlardır [37]. Yağ örneklerinde polar bileşiklerin tayini için katı faz ekstraksiyonu ve tanecik boyutlandırma (size-exclusion) kromatografisi (SEC) kullanılarak bir metot geliştirilmiştir [38]. Toschi ve Christie HPLC-GC ile zeytinyağında trialkilgliserol yapılarının analizini yapmıştır [39].

Bruno ve Calapaj yağ analizinde UV türev spektrofotometresi ile farklı tür yağ örneklerinin farkını görmeye yardımcı olduğunu belirtmişlerdir ve kullandıkları

yöntem ile zeytinyağına farklı yağ karıştırılması ile hazırlanmış olan karışımları belirlemekte kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir [40]. Nouros ve grubu 2-tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemini ile çoklu doymamış yağ asitlerinde peroksit değerini belirlemişlerdir [41]. Anthemidis ve Arvanitidis yağ örneklerinin Triton X-100 ile emülsiyonunu hazırlayarak ICP-AES ile metal miktarlarını direkt olarak belirlemişlerdir [42]. Yağ örnekleri metil izobutil keton (MIBK) ile çözülüp direkt metal tayinleri yapılmıştır [43, 44]. Leivre ve grubu tereyağ örneğini BuNH₂/ su / THF karışımında çözerek GF-AAS ile Cu ve Fe metalleri direkt tayin etmişlerdir [45].

Baran, metallerin LDM ile oluşturduğu komplekslerden yararlanarak metaller yağ fazından su fazına ekstrakte ederek FAAS ile tayin etmiştir. Baran, çalışmasında [N,N'-bis(salisiliden)-2,2'-dimetil-1,3-propandiamin] (LDM) ligandı ile bazı metallerin (Cu, Fe, Mn, Ni, Zn) komplekslerinin spektroskopik davranışlarını incelemiştir. Kinetik çalışma sonucunda metal-LDM komplekslerinin oluşumları için gerekli bekleme süreleri belirlenmiştir. Oluşan kompleksler için optimum pH belirlenmiş ve çalışmalar belirlenen pH değerlerinde yapılmıştır. Job yöntemi ya da mol oranları yöntemi ile metal-LDM oranları belirlenmiştir. Ayrıca; kemometrik dizayn çalışmaları sonucunda yağ örneklerinden LDM ile metal ekstraksiyonu için optimum koşulları belirlemiştir. Kompleks oluşumunda çeşitli metallerin (Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Na, Zn) girişim etkileri incelemiştir [6].

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, genellikle toplam element tayinlerinin yapıldığı gözlenmiştir. Fakat yiyecek örneklerindeki elementlerin toplam miktarları, elementlerin biyoalınabilirliği hakkında yeterli bilgi vermemektedir. Elementlerin hangi fraksiyon yada hangi kimyasal türde olduğu bu elementin biyoalınabilirliğini ve toksitesini belirlemektedir. Elementlerin biyoalınabilirliğine ve toksitesine açıklık getirebilmek için fraksiyonlama ve türlendirme çalışmaları yapılmaktadır. Türlendirme çalışmalarıyla elementlerin toksitesi, biyoalınabilirliği, biyoyararlılığı ve taşınma mekanizması hakkında bilgi edinilmeye çalışılmaktadır [46]. Yaşar, enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak görev yapan magnezyumun biyoyararlılığı ile ilgili yaptığı çalışmalarda, zeytin ve zeytinyağı örneklerinde magnezyum fraksiyonlaması için bir analitik yöntem

geliştirmiştir. Ayrıca zeytin örneklerinde farklı çözümler kullanarak yapmış olduğu ekstraksiyonlarda; yağa bağlı Mg, klorofila bağlı Mg, suda çözünebilen Mg, mideden alınabilen Mg ve bağırsaklardan alınan Mg olmak üzere değişik fraksiyonlarda magnezyum derişimlerini GF-AAS ve FAAS ile belirlemiştir [4,5]. Zeytinyağında toplam magnezyum tayininde, mikrodalga çözümlerleştirme ile yağ örneğini çözümlerleştirmiş; Mg derişimini FAAS ve ICP-AES belirleyerek ölçüm tekniklerinin karşılaştırmıştır [4].

1.2 Tayini Yapılan Eser Elementler

Yağlar, doymamış yağ asitlerinin ısı, ışık ve bazı ağır metallerin katalitik etkisiyle atmosferik oksijenle birleşmesiyle kolayca oksitlenebilir ve bozulabilir. Doymamış yağ asitlerinin çift bağlarından biri ısı, ışık, bazı metaller gibi faktörlerin etkisiyle oksijen alır ve serbest radikaller oluşmaya başlar. Cu, Fe, Ni, Zn, Mn gibi elementler yağlarda radikal oluşumuna neden olan, oldukça etkili katalizörlerdir. Oksidasyon, yağların bozularak acılaşmasına, istenmeyen karakterde bir kokunun ortaya çıkmasına ve yağ kalitesi düşmesine neden olur [9,22,43,47]. Bu sebepler göz önüne alındığında yağın itiva ettiği metal miktarı yağın kalitesini etkilemektedir.

1.2.1 Demir

Kanda oksijen taşıyan ve depolayan hemoglobin molekülünün üretimi için gereklidir. Aynı zamanda kas hücrelerinin oksijen depolamasına yardımcı olan myoglobinin bir parçasıdır. Myoglobin, hemoglobinin adalelerde bulunan şeklidir. Özellikle iskelet sistemindeki çizgili adalelerde ve kalpte bulunur. Adalelerin çalışmaları için gereken oksijeni taşır. [47]. Enerji üretimi ve protein metabolizmasında etkin bir çok enzim için demir gereklidir. Demir eksikliği anemi ve diğer patolojik sonuçlara neden olur [48]. Ayrıca demir eksikliği hem fiziksel

hem de zeka gelişimini olumsuz etkiler [49].

Aşırı miktarda alınan iki değerli demir (Fe^{+2}) vücuttaki peroksitlerle reaksiyona girerek serbest radikallerin oluşumuna neden olur ve bu nedenle demirin aşırısı insanlar için zehirleyicidir. Vücutta demirin emilimini kontrol eden bir sistem vardır, fakat alınan fazla demirin vücuttan atılması için bir sistem yoktur. Bu sebepten vücutta emilen demirin aşırısı dokulara, organlara zarar verebilir. Hatta aşırı dozda alımı ölümlere neden olabilmektedir. Vücut ağırlığının kilogramı başına alınacak 20 mg demir alınması zehirlenmelere, kilogram başına 60 mg demir alınması ise ölümlere neden olur. Vücudun azami günlük demir sınırı yetişkinlerde 45 mg, 14 yaş altı çocuklarda 40 mg' dır [49, 50]. Yapılan çalışmalarda, zeytin yağında 0,1 – 65 ppm Fe olduğu belirlenmiştir [7,11,12].

1.2.2 Nikel

Eser bir element olan nikel, kırmızı kan hücrelerinin yapımında önemli role sahiptir. Buna karşın; nikel bileşikleri genelde insan sağlığı açısından, toksik özellik gösterir. Bilinen en toksik nikel bileşiği olan nikel karbonilin aşırı alımı; zatürre belirtilerine, akciğerlerle ilgili semptomlara, baş ağrısına, baş dönmesine, mide bulantısına, kusmaya, uykusuzluğa ve sinirsel rahatsızlıklara yol açar. Karaciğere, böbreklere, adrenal bezlerine, dalağa ve beyine olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Nikel zehirlenme vakaları, nikel sülfat ve nikel klorür bulaşmış suyu yanlışlıkla tüketen hastalarda görülmüştür. Nikel rafinerilerinde çalışanlarda rinit, sinüzit, genizsel mikrobik yaralar ve astım gibi kronik rahatsızlıkların görüldüğü rapor edilmiştir [51]. Nikel ve bazı nikel bileşikleri ciddi anlamda kanserojen olarak kabul edilen malzemeler listesinde bulunmaktadır [52]. Sanayide kullanım alanı geniş olan nikel, hidrojenasyon reaksiyonlarında katalizör olarak da kullanılmaktadır [49]. Literatürde zeytin yağında ~0,3 ppm Ni olduğu rapor edilmiştir [7,11,12].

1.2.3 Bakır

Bakır, insan vücudunda toplam 80 - 100 mg kadar bulunur ve karaciğerde depolanır. Vücutta demir absorpsiyonu için gereklidir. Kan için gereken hemoglobin yapımı yanında, başka işlevleri de vardır. Bakır; birçok enzimin, özellikle de antioksidan enzimlerin, (askorbit asit, oksidaz, tirozinaz, laktoz monoamin v.b.) yapısına katılan sağlık açısından önemli bir elementtir [39]. Vücut fonksiyonlarının devamlılığı için gerekli olan adenozin trifosfat (ATP) yapımı için gereklidir. İnsanların normal beslenme rejimi her gün 2-5 mg arasında bakır gerektirir. Düşük miktarlarda bakır, sağlıklı yaşam sürdürebilmek ve sağlığımızı koruyabilmek için gerekliyken, yüksek miktarda bakırın ise zararlı etkileri vardır. Kalıtsal protein seruloplasmin eksikliği hemen hemen bütün dokularda, özellikle beyin ve karaciğerde bakır miktarının artmasıyla birlikte gelişir. Yüksek düzeyde bakır alımı, ağız, göz ve burunda tahrişlere sebep olabilir; ayrıca baş dönmesi, baş ağrısı, kusma, ishal ve mide bulantısı gibi rahatsızlıklarda sonuçlanabilir. Aynı zamanda yüksek dozda bakır alımı, karaciğer ve böbrek rahatsızlıklarına, hatta ölüme bile sebep olabilir [53]. Zeytin yağında 0,7-1,2 ppm Cu olduğu bilinmektedir [7,11,12].

Bakır sanayide de çok kullanılan bir elementtir. Bakır tel, yüksek frekans hattı, renkli cam yapımında ve elektrik endüstrisinde kullanılan bir metaldir. Bunların yanı sıra bakır, mikrodalga fırınlarda, vakum tüplerinde ve katot ışık tüplerinde kullanılır. Ayrıca bileşikleri, şeker analizinde Fehling çözeltisinin hazırlanmasında; bakır sülfat da tarım zehiri olarak ve suların saflaştırılmasında kullanılmaktadır [49].

1.2.4 Çinko

Çinkonun, insan vucudunda 300'den fazla enzimin, 3000 den de fazla proteinin yapısında olduğu bilinmektedir. İnsan bedeninde toplam olarak 2 - 2,5 mg bulunur. Demirden sonra vucutta en fazla bulunan ikinci eser elementtir. Bağışıklık sisteminin dzenli çalışabilmesi için vucutta bol miktarda bulunması gerekir. Hcre yenilenmesinde payı olduğu için cildi de gzeleştirir. Çocuklarda brymeyi hızlandırır, hcre uemesine yardımcı olur ve gorme duyusunu gculendirir. Vucudu serbest radikallerin zararlı etkilerinden korur, tırnakları sertleştirir ve saçı kuvvetlendirir, nrodermitisi ve uukları hafifletir. Alkol dehidrogenaz enziminin yapısına girerek, iki olarak alınan ve ayrıca vucuttaki kimyasal olaylarda oluşan alkolun etkisizleştirme işlemine yapar. A Vitaminin fonksiyonlarına etki eder. Deri sağlığı için gereklidir. Deri hcrelerinin uemesine, yağ bezlerinin çalışmasına, kollajen dokuya etki eder. Bylelikle hem cildimizin sağlığının korunmasına, hem de yanık vb. gibi nedenlerle oluşan kayıpların tamir edilmesine yardımcı olur. Enerji üretiminde ve kemiğe fosforun tutunmasında etkilidir. Bizzat kemik ve dişlerin yapısına girer. Prostat bezi, gze, dalak ve adale dokularına bu gun kesin olarak belirlenemeyen etkisi vardır. Antioksidan ozelliği ile hem hcreleri serbest radikallerden korur, hem de hcre zarı ve fonksiyonlarına yardım eder. Bağışıklık sistemine destek verir. Diş enfeksiyon etkenlerine karşı antikor üretimine yardımcı olur. Aşıların etkilerini gstermesine katkı sağlar. Protein sindirimine etkili enzimlerin yapısında bulunur. İnsulin aktivitesine etkilidir. Ayrıca inkonun beyin fonksiyonlarına, adale, eklem ve damar tabakalarına olumlu etkisi bulunur [49,54,55].

Gunluk besinlerle vucuda yeterli çinko alınmadığında iştahsızlık, tat ve koku duyularında azalma, bağışıklık fonksiyonlarının zayıflaması ve cilt problemleriyle karşılaşılması muhtemeldir. Yeterli inko alamayan kucuk çocukların yaşıtlarına gore boylarının daha kısa ve kilolarının da daha az olduğu bilinmektedir [53]. Zeytin yağındaki Zn miktarı, 2,65-3,00 ppm olarak tespit edilmiştir [7,11,12].

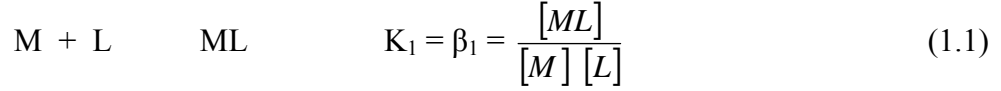
Metalik çinko sanayide de çok geniş bir kullanım alanına sahiptir. Çinko, metallerin korozyona karşı koruması amacı ile galvanizlenmesinde; pirinç, nikelli gümüş, değişik lehimler, alman gümüşü gibi alaşımların yapımında; otomotiv endüstrisinde, döküm kalıplarında; pillerin gövdelerinin yapımında ve bozuk para yapımında kullanılır. Çinko oksit (ZnO) bileşiği; sulu boyalarda beyaz pigment ve lastik sanayinde aktivatör olarak kullanılır. Ayrıca ZnO bileşiği kauçuk, kozmetik, plastik, sabun, yazıcı mürekkebi ve ilaç üretiminde kullanılmaktadır. Reçetesiz satılabilen bazı merhemlerin bileşiminde bulunan çinko oksit, ince bir tabaka halinde uygulandığında cildin su kaybetmesini önler; yazın güneş kışın da soğuk yanıklarına karşı koruyucu özelliğe sahiptir. Çinko oksit yaşa bağlı göz hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır. Çinkonun başka bir bileşiği olan çinko sülfür (ZnS) floresans özelliğe sahiptir ve bu özelliğinden dolayı saatlerin parlak kadrantlarının yapımında, floresans ışıklarda, X-ışınları elde edilmesinde ve televizyon ekranlarının yapımında kullanılmaktadır. Çinko klorür, deodorantlarda ve ahşap koruyucularda kullanılır. Metil çinko ($Zn(CH_3)_2$), pek çok organik maddenin sentezinde kullanılmaktadır [49].

1.3 Kompleksleşme Tepkimeleri Ligandlar ve Schiff bazlar

1.3.1 Kompleksleşme Tepkimeleri ve Ligandlar

Kompleks oluşturan maddelerin çoğu, metal iyonları ile kovalent bağ oluşturacak birkaç elektron sunabilen maddelerdir. Bu şekilde elektron çifti vererek metal iyonları ile kovalent bağ oluşturan maddelere ligand denir. Ligand ile sarılan metal iyonuna merkez iyon denir. Bu tepkimelerde ligandlar Lewis bazı, metal atomları Lewis asitidir. Birçok metal iyonu elektron çifti sunabilen maddeler ile reaksiyona girerek koordinasyon bileşiklerini oluştururlar. Kompleksler, metal iyonlarının elektron sunabilen türlerle koordinatif kovalent bağ yapması sonucu oluşan bileşiklerdir [56,57].

Metal ile ligandın oluşturduğu kompleksin kompleks oluşum sabiti, kompleksin kararlılığının bir ölçüsüdür. Kompleks oluşum sabiti büyük olması oluşan kompleksin kararlı olduğunu göstermektedir. Metal M ile ligand L ile gösterilirse basit bir kompleks oluşum tepkimesi aşağıdaki gibi olur.



$$\beta_2 = K_1 K_2 = \frac{[ML_2]}{[M][L]^2} \quad (1.2)$$



$$\beta_n = K_1 K_2 \dots K_n = \frac{[ML_n]}{[M][L]^n} \quad (1.3)$$

Merkez atomun bağlayacağı ligand sayısı, merkez iyonuna ve ligandın tek dişli veya çok dişli olmasına bağlıdır. Merkez iyonun bağlayabileceği tek dişli ligandın en büyük sayısına maksimum koordinasyon sayısı denir. En çok görülen maksimum koordinasyon sayısı 4 ile 6 olmakla birlikte, molibden gibi kimi metal iyonları için 8 olabilmektedir.

Ligandların bağlanma noktalarında elektron yoğunluğu yüksektir. Ligandların merkez atomu ile koordinatif kovalent bağ oluşturabilmesi ancak yapısındaki elementlerden (azot, oksijen, kükürt, fosfor v.b.) en az birinin ortaklanmamış elektron çifti içermesi ile mümkün olur. Ligand ortaklanmamış elektron çiftine sahip tek bir atom içeriyorsa ve metal atomu ile bu atom üzerinden kovalent bağ oluşturuyor ise bu liganda tek dişli ligand (NH_3 , CH_3COO^- , Cl^- , OH^- , SCN^- v.b.) ; ortaklanmamış elektron çiftine sahip birden fazla atom içeriyorsa ve bu atom üzerinden kovalent bağ oluşturuyor ise bu liganda çok dişli ligand denir. Ligandlar yüksüz moleküler yapıda olabileceği gibi yüklü iyonlar halinde de olabilir [56].

Merkez atomuna bir çeşit ligand bağlanabileceği gibi, değişik türden farklı ligandlar da bağlanabilir. Ligandları farklı olan bu tür komplekslere karma ligandlı kompleksler denir .

Komplekslerin çoğu tek merkez atomu içeren mononükleer (tek merkezli) komplekslerdir. Bununla birlikte, merkez atomun derişimi liganda göre çok aşırı olduğu durumlarda ve ligand ile merkez atomun etkileşimine bağlı olarak polinükleer (çok merkezli) kompleksler de oluşabilmektedir .

Çok dişli ligand ile kompleks oluşumunda, merkez atomun bağ gereksinimi tek bir molekülün karşılayabildiği durumlarda şelat denilen halkalı yapılar oluşmaktadır. Şelat oluşturucu ligandlarla oluşan kompleksler tek tür ve çoğunlukla 1:1 kompleksleri oldukları için, kompleks oluşumuna dayalı titrasyonlar çoğunlukla şelat oluşturucularla yapılır. Kompleksometrik titrasyon amacıyla kullanılan şelat oluşturucular genellikle aminokarboksilik asitlerdir. Karboksilik asit gruplarını da içeren tersiyer aminler pek çok metal iyonu ile önemli ölçüde kararlı şelatlar oluştururlar nitriлотriasetik asit (NTA), etilendiamintetraasetik asit (EDTA), 1,2 diamino sikloheksantetraasetik asit (DCTA), etilen glikolbis-(2 amino etileter) tetraasetik asit (EGTA), dietilentriaminpentaasetik asit (DTPA), trietilentetraamin hekzaasetik asit (TTHA), tetraetilenpentaamin (TETREN), trietilentetraamin (TRİEN) titrasyon amaçlı kullanılan önemli şelat oluşturucu ligandlardır [56,57].

Oksijen atomunun yüksek nükleofilik karakterinden dolayı elde edilmiş ligandlar vardır. Bu ligandlardan bir grubu da dioksimlerdir. Dioksimler, yapılarında bulunan gruplarının polaritesine bağlı olarak kısmen ya da tamamen suda çözünürler. Dimetilglioksim, laboratuvarlarda sıkça kullanılan (özellikle Ni(II) analizinde) bir ligand türüdür. Glioksimler farklı metal atomları (Co(II), Fe(II), Cu(II), Ni(II) gibi) ile kompleks bileşikler oluşturabilmektedirler. Bu oluşan kompleks bileşikleri, polaritelerine bağlı olarak farklı polaritede çözücüler kullanılarak ekstrakte edilebilirler [59].

Çizelge 1.7 Ekstraksiyonlarda kullanılan şelatlar [58]

Şelatlaştırıcı reaktif	Ekstrakte edilen metaller
β -Diketonlar (asetilaseton, thenoyltrifloroaseton)	50'nin üzerinde metalle reaksiyon verirler, özellikle alkali metaller, Be, Sn, Cr, Mn ve Mo metalleri için kullanılırlar.
8-Hidroksikinolin (oksin) ve türevleri	50'nin üzerinde metalle reaksiyon verirler, özellikle Al, Mg, Sr, V, W metalleri için yararlıdırlar
α -Dioksimler (dimetilglioksim)	Ni, Pd
Dialkilditiyokarbamatlar	Bi, Tl, Sb, Te, As, Se, Sn, V
Kupferron (N-nitrosofenil hidroksilamin)	Fe, Ga, Sb, Ti, Sn, Hf, Zr, V, U, Mo
PAN [1-(2-piridilazo)-2-naftol]	50'nin üzerinde metalle reaksiyon verir, U, V, Pd, Zn, Cd, Mn, Y
1-Nitrozo-2-naftol	Co

Asetilaseton gibi aseton türleri de oksijen atomunun yüksek nükleofilik karakterinden dolayı kullanılan ligandlardandır. Tiyosiyanat gibi ligandlar ise kükürt ve azot atomlarının yüksek nükleofilik karakteri sayesinde bir çok metal atomu ile kompleks oluşturabilmektedir. Bu komplekslerden en çok bilineni $FeSNC^{2+}$ kompleksidir. Kupferon yapısındaki azot ve oksijenin yüksek nükleofilik karakterinden dolayı, bir çok metal iyonu ile kompleks oluşturabilmektedir. Nitrozofenol ve türevleri yapısındaki $-N=O-$ etkin noktalarında, oksijenin azota kazandırdığı ekstra nükleofilik karakter ile bir çok metal atomu ile kompleks oluşturmaktadır.

Kompleksin oluşumu merkez atomu ve ligandın türüne; kompleksi oluşturan ligand bazik özellikte olduğu için pH ye ve bunun yanı sıra; çözelti ortamında bulunabilecek farklı metal iyonları ya da ligandlara da bağlı olacaktır.

Kompleks oluşum tepkimeleri analitik kimyada, titrimetrik amaçla ve spektrofotometrik ölçümlerde kullanılabilir. Ayrıca bazı ön deriştirme işlemlerinde, girişim giderme amaçlı maskelemelerde, ayırma işlemleri ile seçimliliği arttırmada, bazı az çözünen tuzları çözünürleştirmede kompleks oluşum tepkimeleri kullanılmaktadır. Ön deriştirme ve girişimcilerin giderilmesinde ve ayırma

işlemlerinde genellikle ligand-metal kompleksinin fazlar arasında transferinden faydalanılarak, metal iyonları buldukları çözelti ortamından başka bir çözelti ortamına aktarılır. Deneylerde daha çok organik faz ile sulu faz arasında dağılımları incelenmiştir. Organik fazla-sulu faz arasında metalin dağılım dengesinde ortamın pH değeri, metal şelatının değişmezlik sabiti ve organik fazdaki çözünürlüğü önemli niceliklerdendir.

Kaneko, Hoshino ve Yotsuyanagi; HPLC kolonunda 2,2'-dihidroksiazobenzen (DHAB) ligandını şelatlaştırıcı olarak kullanmışlar ve RP-HPLC ile kobalt tayini yapmışlardır [60]. Tani ve grubu, yüklü şelatlar oluşturup bu iyonların iyon çift ekstraksiyonu üzerine çalışmışlardır. Cu(II)- α , β , γ , δ -tetrakis(1-metilpiridinyum-4-yl)forfin şelatını, zıt yüklü dodesilbenzen sülfonat ile ekstrakte etmiştir. Sonuç olarak kullanılan affinite ligandlar ve su da çözünen polimerler sayesinde proteinlerin ekstraksiyonunun yapılabileceğini göstermişlerdir [61]. Cordero, uranyumun ayrılması ve önderiştirilmesi yönteminde Triton X-114 ü kullanmıştır [62]. Cesur, Cu metalinin ön deriştirilmesinde diethyldithiocarbamates ile katı faz ekstraksiyon yöntemini kullanmıştır [63]. Bakırcıoğlu kromosorb-103 reçinesi ile Co, Fe ve Pb için önderiştirme ve ayırma tekniği geliştirmiş ve FAAS ile analizlerini yapmıştır [64]. B. Yaşar, zeytin örneğinde katyonik Magnezyum tayini için Dowex 50Wx8-40 kuvvetli asidik katyon değiştirici reçine, adsorpsiyon işlemiyle organik bileşiklerin ayrılması için de Amberlite XAD-4 adsorbentini kullanmıştır [5].

1.3.2 Schiff bazları ve Analitik Kullanım Alanları

Ligand olarak kullanılabilen Schiff bazları, içinde C=N grubu bulunan bileşiklerdir. Özellikle salisilaldehit ve farklı salisilaldehid bileşiklerinden sentezlenen Schiff bazları, ilk olarak 1869'da Alman kimyacı H. Schiff tarafından sentezlenmiştir [65]. Pfeiffer ve arkadaşları tarafından ilk kez ligand olarak kullanılmışlardır. Schiff bazları çok zayıf bazik özellik gösterirler. Karbonil bileşiklerinin primer amin grupları ile kondensasyon reaksiyonu sonucu imin bağı olarak adlandırılan karbon azot çifte bağı oluşmaktadır. Bu reaksiyonlarda pH nin

önemi büyüktür. Kondenzasyon reaksiyonları katılma-ayırılma mekanizması üzerinden yürüdüğü için, düşük pH değerlerinde verim düşmektedir. Koordinatif özelliği olan Schiff bazları kolay ve istenen geometrik yapılarda hazırlanabilirler. Bu sebeple koordinasyon kimyası çalışmalarında kullanılan önemli ligandlardandır[66].

Literatür incelendiğinde, genellikle Schiff bazların ya da Schiff baz komplekslerinin kristalleri sentezlenmiş ve sentezlenen kristallerin spektroskopik yöntemler ile (NMR, IR, UV-vis v.b.) yapısal karakterizasyonu yapılmıştır.

Niasari ve Amiri' nin çalışmalarında salisil aldehid hidrazon (SAH) bileşiklerinin Mn(II), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) iyonları ile yaptıkları komplekslerinin yapılarını ve karakteristik özelliklerini elementel analiz, IR ve UV-vis spektrometre, kondüktometre, X-R fotoelektrik spektrometre ve manyetik ölçümler ile belirlemişlerdir [67]. Karvembu ve Natarajan, salisilaldehid aseton, etil metil keton ile sentezledikleri Schiff bazlarına çeşitli fosfin grupları bağlayarak, analitik ve spektral davranışlarını karakterize etmişlerdir [68]. Nikel, bakır ve kobalt' ın Schiff bazı ile kompleksleri sentezlemiş, analitik veriler ve elektriksel iletkenlik ölçümleri ile yapıları karakterize edilmiştir [69]. Azometin ve amino-3-methyl-benzimidazolin-2-tiyon ve 2-N tosilaminobenzaldehit (HL) den sentezlenen farklı metal-ligand şelatlarının yapıları elektronik kütle spektrometre, IR spektrometre, elektronik spektrometre ve manyetik ölçümler ile aydınlatılmıştır [70]. Gudasi ve çalışma grubu, 2,6-diacetylpyridine bis(3-metilsülfürhidril-4-amino-5-merkaptol-1,2,4-triazol) (DPMAMT) Schiff bazını sentezleyerek, Cu(II), Co(II), Ni(II), Mn(II), Zn(II), Cd(II) ve VO(IV) metalleri ile hazırladıkları komplekslerin yapısını aydınlatmışlardır [71]. Yapı analizi üzerine yapılmış çalışmaların sayısını arttırmak mümkündür.

Schiff bazlarının ligand olarak kullanılmasında sudaki çözünürlüğü önemli bir parametredir. Genellikle Schiff bazları sudaki çözünürlüğü az olan moleküllerdir. Suda çözünürlüğün az olması kompleks oluşumunu zorlaştırmakta ve oluşan komplekslerin saflaştırılması ve ekstraksiyonunda sorunlar çıkarmaktadır. Bu sorunları aşmak için su-organik çözgen karışımları kullanılmıştır.

Gündüz ve Kızılkılıç sudaki çözünürlüğü arttırmak amacıyla, Schiff bazlara polar gruplar bağlamayı hedeflemişler ve çözünürlüğü yüksek sülfo grubu içeren Schiff bazları sentezlemişlerdir [65]. Atakol ve çalışma grubu da, salisilaldehitten türeyen, suda çözünebilen Schiff bazları sentezlemişler. Ayrıca, IR spektroskopisi ve kristal X-ışını diffraksiyonu ile sentezlemiş oldukları Schiff bazlarının yapılarını aydınlatmışlar ve bu komplekslerin geri dönüşümsüz yükseltgenme reaksiyonları verdiğini belirlemişlerdir [72].

Literatürde çok sayıda μ -köprülü kompleks çalışmaları yer almaktadır. μ -köprüleri magnetik özellik, elektriksel iletkenlik, empedans gibi özellikleri etkiler ve magnetik anomalilere sebep olur. Ayrıca μ -köprülü komplekslerde, merkez atomlarının ve ligandların spektral özellikleri, çözünürlük gibi fiziksel özellikleri de değişir. Kurtaran, μ -köprüsü içeren çok çekirdekli komplekslerin hazırlanması ve bu maddelerin analitik kimya alanında uygulanabilirliği üzerinde çalışmıştır. Schiff bazların yanında yardımcı ligand olarak μ -köprüsü oluşturmak amacı ile azit anyonu kullanılmıştır. Kurtaran, doğrusal yapıya dört çekirdekli bakır(II) kompleksleri hazırlamıştır ve yapılarını aydınlatmıştır [66]. Kurtaran ve grubu N,N'-bis(salisiliden)-1,3-propandiamin ve N,N'-bis(salisiliden)-2,2'-dimetil-1,3-propandiamin Schiff bazları sentezlemişler, bu Schiff bazların bazı metallerle komplekslerini elde etmişler ve yapılarını aydınlatmışlardır [73,74].

Analitik kimya alanında Schiff bazlarından anyon ve katyon seçici elektrotlar ve sensörler üretilmektedir. Kurtaran, anyon duyarlı elektrot yapımında bazı Schiff baz komplekslerinin iyonofor olarak kullanılabilme özelliklerini araştırmıştır [64]. Mahajan ve çalışma arkadaşları, p-tertiyerbütikaliks[4]aren Schiff bazı kullanarak gümüş(I) iyonu için sensör hazırlamışlardır [75].

Literatürde, Schiff bazlarının metallerin tayini amaçlı kullanıldığı çalışmalara rastlanmaktadır. Shamspur'un çalışmasında Schiff bazı ligandı ile önderiştirme işlemi uygulamış ve gümüşü FAAS ile tayin etmiştir [76]. Baran, Schiff bazı kullanarak zeytin yağı örneklerinde, metal miktarının tayini için bir yöntem geliştirmiştir. Çalışmasında, Cu, Fe, Ni, Zn-Schiff bazı komplekslerini sentezleyerek bu komplekslerin oluşum sabitlerini belirlemiştir [6]. Tantar, Mn(II) iyonlarının

spektrofotometrik tayininde Schiff bazı kullanmışlardır [77]. Oshima ve Hirayama'da nötral di-Schiff bazı ve pikrat anyonu kullanarak metal (M^{2+}) kationlarını ekstrakte etmiş ve metal: ligand: pikrat oranını belirlemiştir [78]. Mashaly ve çalışma ekibi Co, Ni, Cu ve Zn metallerinin triazin Schiff bazlarıyla kompleks oluşumu üstüne çalışmış ve her bir metal için metal: ligand oranlarını belirlemiştir, ayrıca kompleks oluşum sabitlerini ve termodinamik parametreleri hesaplamışlardır [79]. Seleem, Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II), $UO_2(II)$ ve Th(IV) iyonlarının, Schiff bazı ile kompleksleşme özelliklerini potansiyometrik ve spektrofotometrik yöntemlerle incelemişler ve termodinamik parametreleri hesaplamışlardır [80]. Turak ve çalışma grubu, bazı metallerin Schiff baz ile kompleksleşmelerini potansiyometrik titrasyon yöntemiyle incelemişler ve kararlılık sabitlerini belirlemiştir [81,82]. Demirhan ve Avcıata da benzo-15-krown-5'den türetilen metal-Schiff baz komplekslerini potansiyometrik yöntemle incelemişlerdir [83,84]. Kara, N,N'-bis(hidroksi-5-bromobenzil)1,2 diaminopropan (HBDAP) ligandını sentezlemiş ve bazı geçiş metal kationlarının çözücü ekstraksiyonu ile önderiştirilmesi ve tayininde kullanmıştır [85].

Literatürde Schiff baz-metal komplekslerinin floresans spektral özelliklerinin incelendiği çalışmalar yer almaktadır. Liu ve Liao, suda çözünebilen metal (Mn, Ni, Cu)-Schiff baz komplekslerinin floresans şiddetlerini karşılaştırmışlar, ayrıca, DNA derişimine bağlı olarak komplekslerin floresans şiddetlerindeki değişimleri incelemişlerdir [86].

İnsan metabolizmasında bazı biyokimyasal reaksiyonlarının Schiff bazları üzerinden yürüdüğü bilinmektedir. Pessoa ve arkadaşları, birkaç doğal amino asit ile salisilaldehit, 3-, 4- veya 5 metoksi salisilaldehit ile tepkimeleri sonucu oluşan ligandlar ile oksovanadyum kompleksleri oluşturmuşlar ve bu kompleksleri ince tabaka kromatografisi ile incelemişlerdir [87]. Buna bağlı olarak son birkaç yıldır farmakoloji ve tıp alanlarında Schiff bazları kullanılmaktadır. Radyolojide kullanılan pozitron emisyon termografisi yönteminde Schiff bazı metal kompleksleri kullanılmaktadır [66]. Schiff bazlarının kansere karşı ilaç olma özellikleri vardır bu yüzden son yıllarda tıp alanında da Schiff bazlarla ilgili çalışmalar artış göstermektedir. Schiff bazları metal iyonlarıyla kompleks oluşturduklarından,

komplekslerin anti kanser etkileri artmaktadır [86]. Ayrıca, Schiff baz ve Schiff baz komplekslerinin antibakteriyel özellikleri incelenmiş ve komplekslerin serbest ligandlarına göre bakteri gelişimini önlemede daha etkili olduğu belirlenmiştir [88]. Literatürde Schiff bazlarının antibakteriyel etkilerinin araştırıldığı çok sayıda çalışmaya rastlanmaktadır. Chandra ve Gupta Mn(II), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) Schiff baz komplekslerini bakteri gelişimini önlemedeki kapasitelerini araştırmışlardır. Sonuçta, bakır(II) komplekslerinin diğer metal komplekslerine göre daha yüksek bakteri gelişimini önleme kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir [88].

Bizim çalışmamızda, zeytin yağında metal miktarının belirlenebilmesi için karışık ve zaman alıcı ön işlemlerin yerine; düşük maliyetli, kısa süren, basit, çok duyar tayin yöntemi gerektirmeyen ve kullanımı kolay bir yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bunun için [N,N'-bis(4-metoksisalisiliden)-1,3-propandiamin] (MSPA) ligandı sentezlenerek, bu ligandın Cu, Fe, Ni ve Zn gibi metallerle kompleksleşmesinden faydalanılarak, yağın bozundurulmasına gerek kalmadan, bu metallerin faz değiştirmesi sayesinde belirlenilmesi amaçlanmıştır.

1.4 Analitik Kimyada Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Bir maddeden analiz amacıyla alınan ve maddenin tümünü temsil etmesi gereken bir kesmine örnek denir. Örnekte belirlenmesi istenen bileşen ya da bileşenlere analit denilmektedir. Analitik kimya, maddelerin içinde “Ne var?” ve “Ne kadar var?” sorularına cevap aramaktadır. Örnekteki türlerin neler olduklarının belirlenmesi nitel (kalitatif) analiz; türlerin bağıl miktarının sayısal olarak belirlenmesi de nicel (kantitatif) analiz denir [56,57]. Bir yöntemi analiz yönüyle doğruluk, kesinlik, duyarlılık ve seçimlilik olarak tanımlanan kriterler karakterize eder.

1.4.1 Doğruluk

Bir ölçümde, ölçülen ya da gözlenen değerin, gerçek ya da gerçek kabul edilen değere yakınlığı olarak tanımlanmaktadır. Çoğu zaman gerçek değer bilinmediği için örneğe ait analiz sonuçlarının ortalama değerinin, doğruluk kontrol yöntemleri ile doğrulanması sayesinde gerçek kabul edilebilecek bir değer belirlenir. Ölçülen değerin doğru değerden sapma miktarın mutlak hata denilmektedir. Mutlak hatanın, gerçek değere oranına ise bağıl hata denilmektedir. Bağıl hatanın küçük olması doğruluğun yüksek olduğunu göstermektedir. Aşağıdaki eşitliklerde verilen mutlak hata ve bağıl hata doğruluğu ifade etmek için kullanılmaktadır.

$$E = X_{\delta} - X_g \quad (1.4)$$

$$\% \text{ Bağıl Hata } (E_r) = \frac{X_{\delta} - X_g}{X_g} \times 100 \quad (1.5)$$

X_{δ} : ölçülen değer,

X_g : gerçek kabul edilen değer,

E : mutlak hata,

E_r : yüzde bağıl hata.

1.4.2 Duyarlılık

Yöntemin duyarlılığı, o yöntemle ölçülebilen en küçük değişim olarak ifade edilmektedir. Belirtilebilen en küçük derişime belirtme alt sınırı, belirli bir hata ile belirlenebilen en küçük derişime ise saptama (belirleme) alt sınırı denilmektedir. Duyarlılık; ölçüm cihazının duyarlılığına bağlı olan kalibrasyon duyarlılığı ve cihaz duyarlılığına bağlı olmayan analitik duyarlılık olmak üzere ikiye ayrılır. Kalibrasyon duyarlılığı, ölçme ile elde edilen sinyalin derişime bağlı değişim grafiğindeki doğrunun eğimi (kalibrasyon grafiğinin eğimi) olarak ifade edilir. Kalibrasyon grafiğinin eğiminin yüksek olması kalibrasyon duyarlılığının yüksek olduğunu göstermektedir.

1.4.3 Kesinlik ve Tekrarlanabilirlik

Ölçümlerin tekrarlanabilirliğinin bir ifadesi olan kesinlik, aynı yolla elde edilen ölçümlerin yakınlığının göstergesidir. Tek ölçüm işlemin kesin olmaması sebebiyle analizin doğruluğunu ortaya koymak için birçok tekrar yapması gerekir. Verilerin kesinliğini ifade etmek için standart sapma, varyans, bağıl standart sapma ve yüzde bağıl standart sapma terimleri kullanılmaktadır. Bilimsel çalışmalarda daha çok standart sapma tercih edilmektedir. Standart sapma ne kadar küçükse, kesinlik bir başka söylemle tekrarlanabilirlik o kadar iyidir.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_{\ddot{o}} - X_{ort})^2}{N-1}} \quad (1.6)$$

$$V = (s)^2 \quad (1.7)$$

$$\% \text{ BSS} = (s / X_{ort}) \times 100 \quad (1.8)$$

s: standart sapma,

V: varyans,

% BSS: yüzde bağıl standart sapma,

$X_{\ddot{o}}$: ölçülen değer,

X_{ort} : ortalama değer,

N: ölçüm sayısı

1.4.4 Seçimlilik

Ölçülen sinyal yalnızca analite aitse, seçilen yöntem bu analit için seçimlidir denilmektedir. Yani seçilen yöntemin analit için seçimli olması, ölçülen sinyalin sadece analit tarafından sağlanmasıyla mümkündür. Analite ait sinyali arttıran yada azaltan bileşenlere girişim (interferens) denir. Girişim seçimliliği bozmakta ve doğruluğu azaltmaktadır.

1.5 Kemometrik Metotlar ve Çoklu Bileşen Analiz Yöntemi

1.5.1 Kemometrik Metotlar ve Deneysel Dizayn

İlk kez 1972 yılında İsveçli bilim adamı Svante Wold ve Amerikalı bilim adamı Bruce R. Kowalski, rakamlar ve işaretler sistemi olan kemometri'yi bilim dünyasına tanıtmıştır. Kemometrinin tanımlaması 1974'de Uluslararası Kemometri kuruluşu tarafından yapılmıştır. Kemometri, bilgisayar, istatistik ve matematiksel yöntemlerin kimyasal verilere uygulandığı bir kimya bilgi dalıdır. Kemometri kimyasal verilerin analizinde maksimum kimyasal bilgiyi sağlamaktadır. Kemometride, en uygun ölçüm prosedürlerinin ve deneylerinin seçimi ya da dizaynı için matematiksel ve istatistiksel yöntemler kullanılır. Analitik kimya, modern analitik enstrümantal yöntemlerle oluşturulan veriler sayesinde kemometrik yöntemlerin uygulanmasının gelişmesine önemli ölçüde katkıda bulunmuştur [89].

Kimyasal problemlerin çözümü için uygun kemometrik metotların kullanılması, bu metotların sınırlarını ve varsayımlarının tam olarak anlaşılması ile mümkündür. Kemometrik yöntemler, kimyasal verilere etki eden parametreleri, bu parametrelerin etkisinin ne ölçüde olduğunu ve parametreler arasındaki etkileşim miktarlarını belirlemek amaçlı geliştirilmiştir. Verilerin kemometrik yöntemlerle analizinde MATLAB, VISUAL BASIC ve C⁺⁺ gibi bilgisayar programları kullanılmaktadır. Analizde optimum koşulların sağlanabilmesi için deneysel dizaynlar oluşturulur [90].

Deneysel dizaynda sık sık karşılaşılabilecek terimlerden bazıları faktör, yanıt ve seviyedir. Deneyi yapan kişilerden kaynaklı farklılıklar gibi kontrol edilemeyen faktörlerde olabilmektedir ve deneyin dizaynında kontrol edilemeyen faktör etkilerinin en aza indirilmesi de önemli bir basamaktır. Kontrol edilemeyen faktörlerin dikkate alınabilmesi için randomizasyon tekniği kullanılabilir ve böylece konu dışı değişkenlere karşı önlem alınmış olur [91].

Spektroskopi ve Kromatografi alanında, karışımların analizinde çok değişkenli veri analiz yöntemleri gibi kemometrik yöntemler kullanılarak çalışmalar

yapılmaktadır. Çok değişkenli veri analizinde, temel bileşen analizi (Principal Component Analysis, PCA) en çok kullanılan tekniklerdendir [89, 90].

1.5.1 Merkezi Kompozit Dizayn

Merkezi kompozit dizayn, full faktöriyel veya fraksiyonel faktöriyel ve star dizaynın kombinasyonu şeklindedir.

Merkezi kompozit dizayn yöntemiyle:

- 1 Faktörlerin etkisi incelenebilir,
- 2 Faktörler arasındaki etkileşim incelenebilir,
- 3 Tekrarlanan deneyler ile deneysel hatanın olup olmadığının anlaşılabilir,
- 4 Her bir faktörün parabolik etkileri inceleyebilir ve optimum koşullar bulunur.

Deney sayısı aşağıdaki:

$$\text{Deney sayısı} = 2^k + 2k + 1 \quad (1.9)$$

(k: faktör sayısı)

formülü ile belirlenir.

2^k full faktöriyel yada fraksiyonel faktöriyel dizayndaki deney sayısını, $2k$ star dizayn deney sayısını ve 1' de orta seviyedeki deney sayısını belirtmektedir [88, 89].

Merkezi kompozit dizaynda, deneysel hataların saptanabilmesi için, orta seviyede 5 tekrar deneyi yapılır ve 3 faktör için deney sayısı 15'den 20'ye; 4 faktör için 25'den 30'a çıkmaktadır. Deneysel dizayn tablosu oluşturulurken kodlanmış değerler kullanılır; 2^k 'daki seviyeler (-1) ve (+1), $2k$ 'dakiler $\pm\alpha$ ve 1' deki seviye (0) olarak alınır. Merkezi kompozit dizaynda, dairesel (α) star noktaları şekilde hesaplanabilir [90, 91].

3 faktör için star değerleri aşağıdaki gibidir:

Dairesel dizaynda; $\alpha = \pm 1,682$

Star değerleri çalışma aralığındaki alt ve üst sınırları belirtmektedir. Star seviyelerinde faktörlerin aldığı değerler aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$\alpha = \pm \sqrt[4]{2^k} \quad \text{daireysel dizayn} \quad (1.10)$$

Örneğin üç faktörlü ($k=3$)daireysel dizayn için $\alpha = \pm 1.682$, ortagonal dizayn için ise $\alpha = \pm 1.732$ olarak hesaplanır.

Star seviyelerinin aldığı değerler aşağıdaki eşitlikle hesaplanır:

$$\pm \alpha = \quad (1.11)$$

Genellikle incelenilen faktör değerleri arasındaki fark eşittir. Bu sebepten orta değer ile en yakın değer arasındaki fark, aralık boyutu olarak da düşünülebilir. Faktör değerlerinden star seviye değerleri elde edilir ve merkezi kompozit dizayn tablosu oluşturulur.

Çizelge 1.8'da üç seviyeli merkezi kompozit dizayn tablosu verilmiştir. Verilen seviye değerleri, faktör değerleri arasındaki farkın eşit olduğu değerler için geçerlidir.

Çizelge 1.8 Merkezi Kompozit Dizayn tablosu

Deney	X ₁	X ₂	X ₃	Deney	X ₁	X ₂	X ₃
	Seviye değerleri				Seviye değerleri		
1	-1	-1	-1	11	+1,682	0	0
2	+1	-1	-1	12	0	-1,682	0
3	-1	+1	-1	13	0	+1,682	0
4	+1	+1	-1	14	0	0	-1,682
5	-1	-1	+1	15	0	0	+1,682
6	+1	-1	+1	16	0	0	0
7	-1	+1	+1	17	0	0	0
8	+1	+1	+1	18	0	0	0
9	0	0	0	19	0	0	0
10	-1,682	0	0	20	0	0	0

Merkezi kompozit dizayn yönteminde her bir deney için değiştirilecek parametrelerin tespitinde matematiksel bir matris oluşturulur. Değişkenler ve çalışma aralığındaki değerlerin kodlanması ile bir matris oluşturulur.

Matrisin oluşturulmasından sonra bilgisayar yardımı ile;

- Çizelge 1.9'daki matrisin türevi alınır, (X')
- Matrisin türevi ile kendisi çarpılır, (X * X')
- (X * X') matrisinin tersi alınır, (X * X')⁻¹
- Denemeler sonunda elde edilen yanıt değerleri ile (X * X')⁻¹ * X' çarpılması sonucu bulunan değerler b değerleri olarak kodlanır, [b = (X * X')⁻¹ * X' * y]
- b değerlerinin belirlenmesinden sonra aşağıdaki denklem oluşturulur,
$$y = b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3$$
- Düzenlenen denklemin X₁ , X₂ , X₃ 'e göre türevleri alınır ve yeni denklemler elde edilir, bu denklemler sıfıra eşitlenerek çözüldüğünde X₁ , X₂ , X₃ 'ün kod değerleri bulunur,
- Elde edilen kodların gerçek değerlere dönüştürülmesiyle seçilen faktörlerin optimum koşulları belirlenmiş olur [92].

Çizelge 1.9 Değişkenler ve çalışma aralığındaki değerlerin kodlanmasıyla oluşturulan matris

DENEY	x1	x2	x3	x11	x22	x33	x12	x13	x23	x123
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1
4	1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	1	1
5	-1	1	-1	1	1	1	-1	1	-1	1
6	1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1
7	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	-1	1
8	1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	-1
9	-1	1	1	1	1	1	-1	-1	1	-1
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	-1,682	0	0	2,829	0	0	0	0	0	0
13	1,682	0	0	2,829	0	0	0	0	0	0
14	0	-1,682	0	0	2,829	0	0	0	0	0
15	0	1,682	0	0	2,829	0	0	0	0	0
16	0	0	-1,682	0	0	2,829	0	0	0	0
17	0	0	1,682	0	0	2,829	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1.5.2 Çoklu Bileşen Analiz Yöntemi

Çoklu bileşen analiz yöntemi, ölçülen sinyale etki eden parametrelerinden birden çok olduğu durumlarda, sinyal kaynağı analitlerin miktarlarının belirlenmesi için geliştirilmiştir.

Aşağıda spektrometrik bir ölçümde, ölçülen absorban değerini etkileyen birden fazla bileşenden oluşmuş bir karışım için çoklu bileşen analiz yönteminde yapılması gereken işlemler sırası ile verilmektedir [92]:

$$A = \epsilon_1 b C_1 + \epsilon_2 b C_2 + \epsilon_3 b C_3 \quad (1.13)$$

- Molar absorptivitelere göre boyutunda E matrisi oluşturulur;
 ϵ_{ij} , i = dalga boyu, j = bileşenler

Çizelge 1.10 Çoklu bileşen analizi için oluşturulan matris

	ϵ_{11}	ϵ_{12}	ϵ_{13}
E =	ϵ_{21}	ϵ_{22}	ϵ_{23}
	ϵ_{31}	ϵ_{32}	ϵ_{33}

- E matrisinin transpozu alınır, E^T
- E matrisi ile E^T matrisi çarpılarak yeni bir matris oluşturulur;
 $E \times E^T = E'$
- Farklı dalga boylarında elde edilen absorpsiyon sinyalleri kullanılarak D matrisi oluşturulur,
- D matrisi ile E^T matrisi çarpılarak yeni bir matris oluşturulur;
 $D \times E^T = D'$
- E' nin tersi ile D' çarpılır ve karışımdaki bileşenlerin derişimlerini içeren matris elde edilir; $C = (E')^{-1} \times D'$

2. ARAÇLAR VE YÖNTEMLER

2.1 Deneylerde Kullanılan Aletler ve Kimyasal Maddeler

2.1.1 Deneylerde Kullanılan Aletler

Tartımlar alınırken ölçüm kapasitesi 220.0000 g olan Shimadzu LIBROR AEG-220 marka terazi kullanılmıştır.

Deneylerde kullanılan saf su analitik saflıkta olup Sartorius Arium 611 saf su cihazından elde edilmiştir.

pH ayarlamalarında NEL marka pH-metre kullanılmıştır.

BİOHİT Proline marka 50-200 µL mikropipet, Eppendorf Reserch marka 200-1000 µL otomatik pipet, Eppendorf Reserch marka 1000-5000 µL otomatik pipet kullanılmıştır.

Moleküler absorpsiyon spektrumları alınırken UVWIN 5.0 UV-VIS spektrofotometre ve kuartz küvetler kullanılmıştır.

Metal tayinlerinde Unicam 929 A marka, döteryum düzeltmeli alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (FAAS) kullanılmıştır.

Sentezlenen ligandın yapısal analizi için, BRUKER AVENCE DPX-400 cihazı ile ¹H ve ¹³C NMR analizi, LECO CHNS 932 cihazı ile element analizi, AGİLENT 1100 MSD cihazı ile LC-MS analizleri Tübitak-ATAL laboratuvarında yaptırılmıştır.

2.1.2 DeneYlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasal maddelerin tümü analitik saflıkta olup bazı özellikleri çizelge 2.1 de verilmiştir.

Çizelge 2.1 DeneYde kullanılan kimyasal maddeler

Ligand Sentez Maddeleri			
Kimyasal madde		Katalog numarası	Markası
2-hidroksi-4-metoksi-benzaldehid		8.41611	Merck
1,3 diamino propan		33260	Fluka
Tampon Çözelti maddeleri			
Kimyasal madde		Katalog numarası	Markası
Oksalikasit		380954	Fluka
Sodyum dihidrojen fosfat monohidrat (NaH ₂ PO ₄ H ₂ O)		1,06346	Merck
Disodyum hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)		1,06586	Merck
Trisodyum fosfat dodekahirat (Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O)		1,06578	Merck
Trisodyumsitrat dihidrat (C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ 2 H ₂ O)		1,06448	Merck
Amonyumklorür (NH ₄ Cl)		1,01145	Merck
Standart Çözeltiler			
Katyon	Konsantrasyon	Katalog numarası	Markası
Cu ²⁺	1000 mg L ⁻¹	1,009987 Titrisol	Merck
Fe ³⁺	1000 mg L ⁻¹	1,009972 Titrisol	Merck
Ni ²⁺	1000 mg L ⁻¹	1,009989 Titrisol	Merck
Zn ²⁺	1000 mg L ⁻¹	1,009953 Titrisol	Merck
K ⁺	1000 mg L ⁻¹	1,009924 Titrisol	Merck
Ca ²⁺	1000 mg L ⁻¹	1,009943 Titrisol	Merck
Mg ²⁺	1000 mg L ⁻¹	1,009949 Titrisol	Merck
Mn ²⁺	1000 mg L ⁻¹	1,009988 Titrisol	Merck

Çizelge 2.1' in devamı		
Organik ve İnorganik Çözücüler		
Metilalkol	8045	J.T.Baker
Etilalkol	1,00983	Merck
İzopropilalkol	1,09634	Merck
Aseton	1,00013	Merck
n-hegzan	446903	Carlo Erba
Dimetilformamit (DMF)	444923	Carlo Erba
İnorganik asit ya da bazlar		
NaOH	302626	Carlo Erba
HCl	480507	Carlo Erba
Standart referans maddeler (SRM)		
20 elementlik standart yağ kör çöz.	35	Conostan
5000 mg/ kg lık Cu SRM	507717	Conostan
5000 mg/ kg lık Fe SRM	508619	Conostan
5000 mg/ kg lık Ni SRM	506516	Conostan
5000 mg/ kg lık Zn SRM	507718	Conostan

2.2 Deneysel Kısım

2.2.1 [N,N'-bis(4-metoksisalisiliden)-1,3-propandiamin](MSPA)

2.2.1.1 [N,N'-bis(4-metoksisalisiliden)-1,3-propandiamin](MSPA) Sentezi ve Yapısının Aydınlatılması

Yaklaşık 1.5212 g 2-hydroxy-4-methoxy-benzadehyde (1×10^{-2} mol) tartılarak 40 mL etilalkolde ($T=40^{\circ}\text{C}$) çözüldü. Yaklaşık 0.4245 mL (5×10^{-3} mol = 0,3765 g) 1,3 diamino propan 40 mL etilalkolde ($T=40^{\circ}\text{C}$) çözüldü ve önceden

hazırlamış olduğumuz 2-hydroxy-4-methoxy-benzadehyde (etilalkolde) çözeltisinin üzerine eklendi. 5 dakika daha ısıtılarak kristallenmesi için dinlendirilmeye bırakıldı.

Kristaller olgunlaştıktan sonra (yaklaşık 1 gün) kristaller mavi bant süzgeç kağıdı ile süzülüp 60 mL etilalkolde ısıtılarak ve tekrar kristallenmesi için dinlendirilmeye bırakıldı. Kristaller olgunlaşınca, mavi bant süzgeç kağıdı ile süzüldü ve etanol ile yıkanarak kurumaya bırakıldı.

[N,N'-bis(4-metoksisalisiliden)-1,3-propandiamin] (MSPA) sentezlenip, yapısal analizi için ^1H ve ^{13}C NMR, FT-IR ve LC-MS spektrumları alınmış ve element analizi yapılmıştır.

2.2.1.2 MSPA Schiff bazı için Uygun Çözgenin Belirlenmesi

Yaklaşık 5×10^{-3} mol L^{-1} olacak miktarda (0,0856 g) MSPA alınarak son hacmi 50 mL olacak şekilde farklı çözgen ortamlarında çözülmeye çalışılmıştır. MSPA'yı çözmek için izopropilalkol, metanol, aseton ve etanol çözgenlerinin farklı oranlardaki su ile karışımları denenmiştir.

2.2.2 Deneyleerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Deneyleerde, analitik saflıkta kimyasal maddeler ve bidestile saf su kullanılmıştır. Tarafımızdan sentezlenen MSPA Schiff bazı ile metallerin kompleksleşme özellikleri incelenmiştir.

2.2.2.1 Stok Çözeltiler

Çizelge 2.2 1×10^{-3} M metal ara stok çözeltilerin hazırlanması

	1000 ppm Stok çözelti (mL)	Etanol (mL)	Son hacim (mL)	Derişim (mol/L)
Cu ²⁺	6,36	12	100	1×10^{-3}
Fe ⁺²	5,58	12	100	1×10^{-3}
Ni ⁺²	5,87	12	100	1×10^{-3}
Zn ⁺²	6,54	12	100	1×10^{-3}
Ca ⁺²	4,01	12	100	1×10^{-3}
K ⁺¹	3,91	12	100	1×10^{-3}
Mg ⁺²	2,43	12	100	1×10^{-3}
Mn ²⁺	5,49	12	100	1×10^{-3}

MSPA Schiff bazının Cu²⁺, Fe³⁺, Ni²⁺ ve Zn²⁺ metalleri ile kompleksleşme özelliklerinin incelenmesinde 1000 ppm (mg/L)' lik standart stok çözeltiler (Merck, Titrisol) kullanılmıştır. 1×10^{-3} M metal çözeltileri, stok çözeltilerden % 12'lik etanol-su karışımında hazırlanmıştır ve aşağıda verilmektedir.

0,08559 g MSPA ($M_A = 342.39 \text{ g mol}^{-1}$) 12 mL etanolde çözülerek 50 mL'ye tamamlanması ile 5×10^{-3} M stok L çözeltisi hazırlandı.

2.2.2.2 pH Tampon Çözeltileri

Çizelge 2.3 pH çalışmalarında kullanılan asitler ve pK değerleri

Asitler	pK ₁	pK ₂	pK ₃
Amonyum	9.24	-	-
Fosforikasit	2.15	7.20	12.35
Sitrikasit	3.12	4.76	6.40
oksalikasit	1.30	4.27	-

Yukarıdaki asitler ya da tuzları kullanılarak %12 (v/v) etilalkol-su karışımında uygun pH'deki tampon çözeltiler hazırlanırken; pH ayarlamalarında NaOH ya da HCl çözeltileri kullanılmıştır.

Çizelge 2.4 Tampon çözeltiler

pH	Kimyasal maddeler	pH	Kimyasal maddeler
1	H ₂ C ₂ O ₄ / NaHC ₂ O ₄	6	NaC ₆ H ₄ Na ₃ O ₇ / Na ₂ C ₆ H ₃ Na ₃ O ₇
2	H ₃ PO ₄ / NaH ₂ PO ₄	7	NaC ₆ H ₄ Na ₃ O ₇ / Na ₂ C ₆ H ₃ Na ₃ O ₇
3	H ₃ PO ₄ / NaH ₂ PO ₄	8	NaH ₂ PO ₄ / Na ₂ HPO ₄
4	NaHC ₂ O ₄ / Na ₂ C ₂ O ₄	9	NH ₄ Cl / NH ₃
5	NaHC ₂ O ₄ / Na ₂ C ₂ O ₄	10	NH ₄ Cl / NH ₃

Son hacim 10 mL olacak şekilde hazırlanan çözeltiler 1 mL tampon içermektedir. Çözeltilerde metal derişimi 1×10^{-5} M olan metal çözeltisi, ligand derişimi 5×10^{-5} M olan ligand çözeltisi ve 1×10^{-5} M metal- 5×10^{-5} M ligand içeren kompleks çözeltileri hazırlanmış ve UV-VİS spektrumları alınmıştır.

2.2.2.3 Kinetik Çalışma

Her bir metal için uygun pH'de 5×10^{-5} M M^{+n} - 5×10^{-5} M MSPA çözeltisi hazırlanmıştır.

2.2.2.4 Mol Oranları

Her bir metal için ligand derişiminin sabit tutulup metal iyonları derişiminin değıştığı; metal iyonları derişiminin sabit tutulup ligand derişiminin değıştığı çözeltiler hazırlanmıştır.

Çizelge 2.5 Metal derişimi sabit tutulduğu çözeltiler

nL / nM	MSPA derişimi (mol / L)	Metal derişimi (mol / L)
0	0	2×10^{-5}
1	2×10^{-5}	2×10^{-5}
2	4×10^{-5}	2×10^{-5}
3	6×10^{-5}	2×10^{-5}
4	8×10^{-5}	2×10^{-5}
5	1×10^{-4}	2×10^{-5}

Çizelge 2.6 Ligand derişimi sabit tutulduğu çözeltiler

nL / nM	MSPA derişimi (mol / L)	Metal derişimi (mol / L)
0	0	2×10^{-5}
1	2×10^{-5}	2×10^{-5}
2	4×10^{-5}	2×10^{-5}
3	6×10^{-5}	2×10^{-5}
4	8×10^{-5}	2×10^{-5}
5	1×10^{-4}	2×10^{-5}

2.2.2.5 Job Metodu

Job metodu ile metallerin ligandla birleşme oranlarının tespiti için değişen aronlarda V_m / V_T oranlarındaki hazırlanmıştır.

Çizelge 2.7 Metal iyonlarının ligand ile birleşme oranları

V_{metal} (mL)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
V_{ligand} (mL)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Katyonun hacim kesri V_m / V_T	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1

2.2.2.6 Metal Komplekslerinin Oluşum Sabitlerinin Belirlenmesi

Çizelge 2.8 MSPA, metal-MSPA ve metallerin ayar çözeltilerinin hazırlanması

	MSPA ayar çözeltileri	Metal-MSPA ayar çözeltileri	Metal ayar çözeltileri
1 std çöz	1×10^{-5} M	1×10^{-5} M	2×10^{-5} M
2 std çöz	2×10^{-5} M	2×10^{-5} M	4×10^{-5} M
3 std çöz	3×10^{-5} M	3×10^{-5} M	6×10^{-5} M
4 std çöz	4×10^{-5} M	4×10^{-5} M	8×10^{-5} M
5 std çöz	5×10^{-5} M	5×10^{-5} M	1×10^{-4} M

2.2.2.7 Standart Referans Madde Kullanarak Metallerin Yağdan Ekstraksiyonları

Her bir metalin 5000 mg/kg'lık standart referans maddelerinden, yaklaşık 20 mg/kg'lık temsili örnekleri ve 1×10^{-3} M MSPA çözeltisi hazırlanmıştır.

2.3 Schiff baz-metal Kompleksleri İçin Yapılan Çalışmalar

2.3.1 Schiff baz İle Metallerin Birleşme Oranlarının Belirlenmesi

2.3.1.1 pH Çalışması

Schiff baz ile metallerin kompleks oluşturup oluşturmadıklarının belirlenmesi ve çalışmaların yapılacağı uygun dalga boylarının seçilebilmesi amacı ile her bir metal için son derişimi 1×10^{-5} M ve ligand derişimi 5×10^{-5} M olacak şekilde (1 : 5)

metal-ligand çözeltisi , 5×10^{-5} M ligand çözeltisi, 1×10^{-5} M metal çözeltisi hazırlanmış ve pH 1-10 değerleri arasında spektrumları alınmıştır.

2.3.1.2 Kinetik Çalışma

Kompleks oluşum ve dayanıklılık süresinin tespit edilebilmesi amacı ile son derişimi 1×10^{-5} M olacak olacak şekilde kompleks çözeltilerinin zamana bağlı olarak absorbans ölçülmüştür. Metal ve ligand çözeltileri uygun hacimlerde karıştırılarak absorbans değerleri 120 dak. boyunca her 5 s'de bir ölçülerek , zamana bağlı absorbans değerleri grafiğe geçirildi. Ölçümler kompleksin absorbansının en büyük olduğu, Cu-MSPA kompleksi için 280 nm dalga boyunda (pH=6), Fe-MSPA kompleksi için 281 nm dalga boyunda (pH=8), Ni-MSPA kompleksi için 280 nm dalga boyunda (pH=7), Zn-MSPA kompleksi için 280 nm dalga boyunda (pH=7) yapılmıştır.

2.3.2 Mol Oranı Metodu' nun Uygulanması

Mol oranı metodu, Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} ve Zn^{2+} metallerinin MSPA ile birleşme oranlarının belirlenmesinde birinci basamak olarak kullanılmıştır. Mol oranı metodunda metal ya da ligandın herhangi birinin konsantrasyonunu sabitken, diğerinin derişimi değişkendir. Böylece absorbansın mol oranına bağlı grafiklerinden yararlanılarak metal ile ligandın birleşme oranının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2.3.3 Job Metodu (Sürekli Değişirme Metodu)'nun Uygulanması

Job Metoduyla (sürekli değişirme metodu) kompleks bileşikte metal ve ligandın birleşme oranlarının belirlenmesi için, toplam hacim 10 mL olacak şekilde 1×10^{-4} M ligand ve 1×10^{-4} M metal çözeltileri hazırlandı ve UV-Vis cihazında uygun dalga boyunda absorbans ölçümleri alındı.

2.3.4 Metal Komplekslerinin Oluşum Sabitlerinin Belirlenmesi

Metal komplekslerinin oluşum sabitlerinin belirlenmesi amacı ile her bir metalin MSPA ligandı ile kompleksleri elde edilmiştir. Komplekslerin elde etmek için 1:1 mol oranında metal-ligand karışımı hazırlanarak etil alkol içinde kaynatılmıştır. Oluşan karışımın üzerine dimetilformamit (DMF) eklenerek kristallenmesi için dinlendirilmiştir. Kristaller oluşuktan sonra süzülerek etilalkol ile yıkanmıştır. Kristaller 110 °C’de etüvde kurutulmuştur.

Elde edilen metal-MSPA kristallerinden %12’lik (v/v) etilalkol-su karışımında 1×10^{-3} M çözeltileri hazırlanmıştır. 1×10^{-3} M metal-MSPA stok çözeltilerinden, 1×10^{-3} M metallerin stok çözeltilerinden, 1×10^{-3} M MSPA stok çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapılarak hazırlanan çözeltilerin absorbans değerlerinin ayar eğrilerinin eğiminden; metallerin, MSPA’nin ve metal-MSPA komplekslerinin molar absorpsiyon katsayıları belirlenecektir.

5×10^{-5} M metal-MSPA çözeltileri hazırlanarak her bir metal-MSPA kompleksinin, metalin ve MSPA’nin 3 farklı dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Ölçülen bu absorbans değerleri kullanılarak çoklu bileşen analizleri yapılmıştır.

2.4 Metallerin Yağdan Ekstraksiyonları İle İlgili Deneyler

2.4.1 Metallerin Yağdan Ekstraksiyonları İçin Optimum Koşulların Bulunması

Bu çalışmada zeytin yağında metal tayini için etkili olan Schiff baz/zeytinyağ oranı (v/w), karıştırılma süresi ve sıcaklığın optimum değerlerinin belirlenmesi amacıyla kemometrik dizayn yöntemlerinden biri olan merkezi kompozit dizayn metodu uygulanmıştır. Hazırlanan 20 mg/kg metal içeren temsili örnekler ve 1×10^{-3} M MSPA çözeltisi merkezi kompozit dizayn deneylerinde kullanılmıştır.

Çizelge 2.9 Faktörler ve belirlenen aralıklar

X ₁ (1. faktör)	Schiff baz / Zeytinyağ (V/W) oranı (mL / g)	0,5	1	1,5
X ₂ (2. faktör)	Karıştırılma süresi (dakika)	30	60	90
X ₃ (3. faktör)	Sıcaklık (°C)	20	30	40

Çizelge 2.10 Merkezi Kompozit Dizayn kapsamındaki deneyler

Deney	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	y
1	-1	-1	-1	1/2	30	20	
2	+1	-1	-1	1,5	30	20	
3	-1	+1	-1	1/2	90	20	
4	+1	+1	-1	1,5	90	20	
5	-1	-1	+1	1/2	30	40	
6	+1	-1	+1	1,5	30	40	
7	-1	+1	+1	1/2	90	40	
8	+1	+1	+1	1,5	90	40	
9	0	0	0	1	60	30	
10	-1,682	0	0	0,159	60	30	
11	+1,682	0	0	1,841	60	30	
12	0	-1,682	0	1	9,56	30	
13	0	+1,682	0	1	110,46	30	
14	0	0	-1,682	1	60	13,18	
15	0	0	+1,682	1	60	46,82	
16	0	0	0	1	60	30	
17	0	0	0	1	60	30	
18	0	0	0	1	60	30	
19	0	0	0	1	60	30	
20	0	0	0	1	60	30	

Ekstraksiyon çözeltilerindeki metallerin miktarları alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi (FAAS) ile standart katma kalibrasyon yöntemi ile belirlenmiştir. FAAS ile 20 deney sonucu elde edilen örneklerin analizleri, optimum koşullarda gerçekleştirilmiştir.

2.4.2 Standart Referans Madde Kullanımı

Merkezi kompozit dizayn sonuçlarıyla elde edilen optimum ekstraksiyon koşulları dikkate alınarak temsili yağ örneklerinden Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} ve Zn^{2+} metallerinin ekstraksiyon koşulları belirlenmiş ve bu koşullar altında ekstraksiyon yapılmıştır. Uygun koşullarda FAAS ile standart katma kalibrasyon yöntemi kullanılarak derişimler belirlenmiştir.

Çizelge 2.11 Standart Referans Madde Kullanarak Metallerin Yağdan Ekstraksiyonlarında uygulanılan koşullar

	Schiff baz / Zeytinyağ (V/W) oranı (mL/g)	Karıştırılma süresi (dakika)	Sıcaklık (°C)
Cu	1	30	27
Fe	1	90	21
Ni	1	60	29
Zn	1	90	26

2.4.3 Zeytinyağı Örneklerinden Metal Ekstraksiyonu

Gerçek zeytin yağı örnekleri için de, yukarıdaki çizelgede belirtilen optimum koşullar altında yöntemimiz uygulanmış ve ekstraktlar alınarak, Cu, Fe, Ni ve Zn tayinleri yapılmıştır.

3. BULGULAR

3.1 [N,N'-bis(4-metoksi salisiliden)-1,3propandiamin](MSPA)'nin Yapısının Aydınlatılması

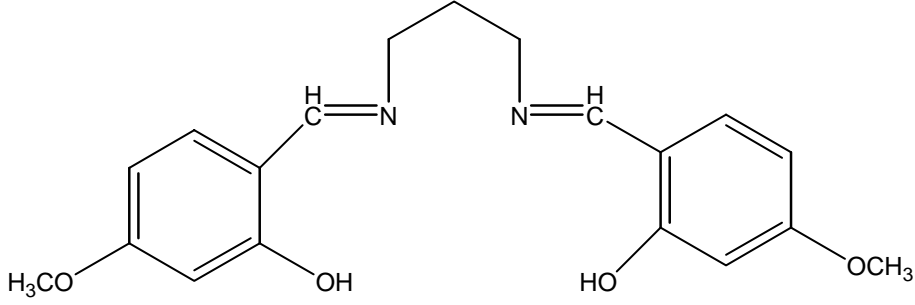
[N,N'-bis(4-metoksi salisiliden)-1,3propandiamin] (MSPA) yapısal aydınlatılması için yapılan ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları, elemental analizi, FT-IR spektrumu ve LC-MS spektrumu incelenerek MSPA'nin yapısı aydınlatılmaya çalışılmıştır. Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3'te MSPA'nin ^1H NMR spektrumları; Şekil 3.4, Şekil 3.5'te MSPA'nin ^{13}C NMR spektrumları, Şekil 3.6'da MSPA'nin giriş maddelerinden 2-hidroksi-4-metoksibenzaldehit (4-metoksisalasilaldehyt)'nin FT-IR spektrumu; Şekil 3.7'de MSPA'nin FT-IR spektrumu; Şekil 3.8 de MSPA'nin LC-MS spektrumu yer almaktadır.

Çizelge 3. 1 MSPA'nin element analizi sonuçları

MSPA	Teorik element yüzdeleri			Deneysel element yüzdeleri			% BSS		
	C	H	N	C	H	N	C	H	N
	66,65	6,48	8,18	66,70	5,39	8,30	0,08	16,82	1,48

^1H NMR spektrumunda 8.35 ppm de gözlenen pik imin protuna ait olduğundan imin yapısının oluştuğunu; ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde, 165.6 ppm de gözlenen pik imin karbonuna ait olduğundan imin yapısının oluştuğunu; 2-hidroksi-4-metoksi-bezaldehyt (4-metoksi-salisilaldehyt) FT-IR spektrumlarında 1659 cm^{-1} deki pikin 1622 cm^{-1} deki pike dönüşmesi aldehit grubunun imine dönüştüğünü göstermektedir. LC-MS spektrumu incelendiğinde 343,1 g gelen pikin bizim maddemize ait olduğu gösterirken, Çizelge 3.1'deki elemental analiz sonuçlarıyla da paralellik göstermektedir. Bu veriler, giriş maddeleri olan 4-metoksi-2-hidroksibezaldehit ile 1,3 diamin propanın tepkimesi sonucunda MSPA'nin oluştuğunu göstermektedir.

Spektrumların (EK-1, EK-2, EK-3, EK-4, EK-5, EK-6, EK-7 ve EK-8) ve elemental analiz sonuçlarının incelenmesi sonucu sentezlenen ligandın yapısı aşağıdaki gösterilmektedir. Tüm bu bulgular hedeflenen ligandın sentezlendiğini doğrulamaktadır.



Şekil 3.1 [N,N'-bis(4-metoksisalisiliden)-1,3-propandiamin](MSPA)'nın yapısı

3.2 Kompleks Oluşumu

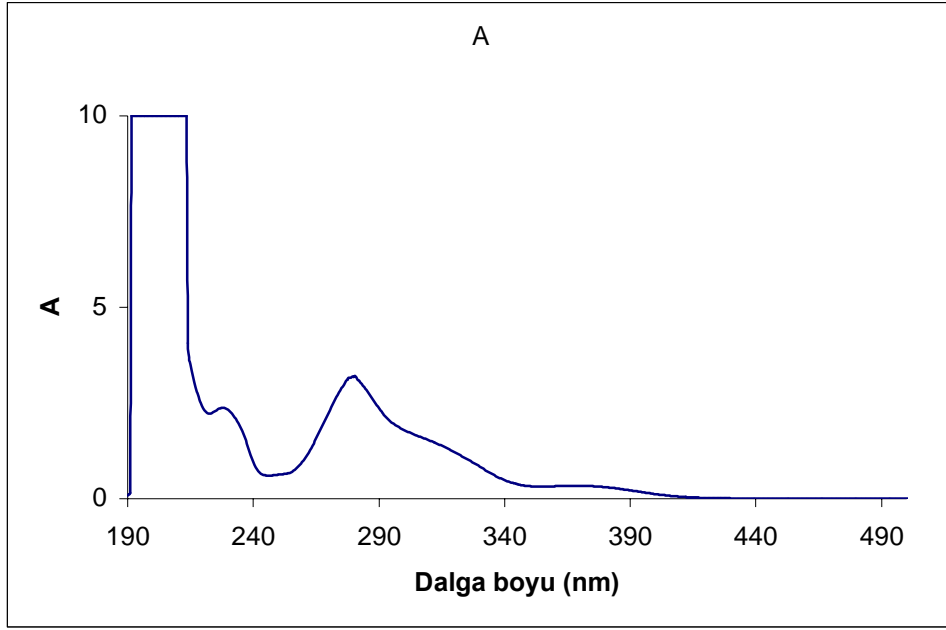
3.2.1 Schiff baz İçin Uygun Çözgen Belirlenmesi

Ligand suda çözünmediğinden, çözmek için etilalkol-su karışımları, aseton-su karışımları, izopropilalkol-su karışımları ve metanol-su karışımlarında çözülmeye çalışılmış, ligandın %12'lik (v/v) etilalkol-su karışımında iyi çözüldüğü görülmüştür. Tüm deneylerde %12'lik (v/v) etilalkol-su karışımı kullanılmıştır.

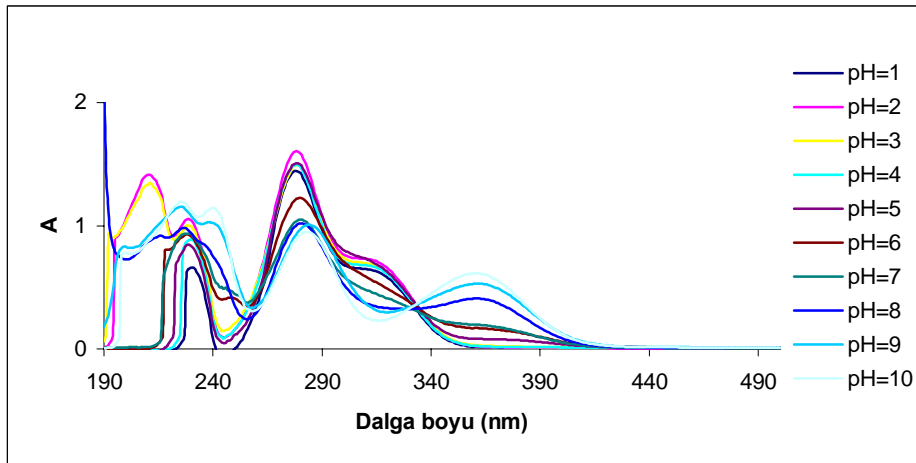
3.2.2 Çalışmalar İçin Uygun pH ve Dalga Boyunun Belirlenmesi

MSPA Schiff bazının metallerle kompleksleşme özelliklerinin belirlenmesinde en önemli adım, çalışmaların yapılacağı uygun dalga boylarının seçimidir. Bu amaçla MSPA, metal ve metal komplekslerinin pH 1-10 değerleri arasındaki tampon çözeltilerde 200-900 nm arasında spektrumları alınmıştır. 500 nm

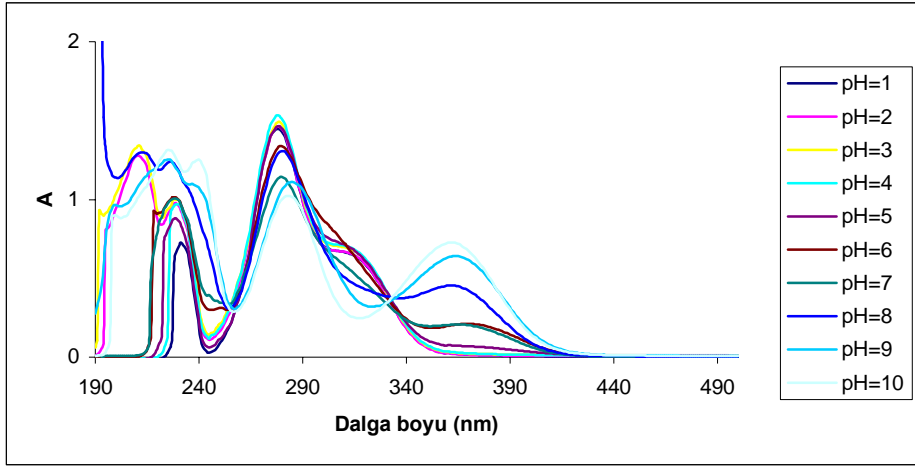
dalga boyundan büyük değerlerde metal, ligand yada kompleksin absorbanlarının çok düşük olmalarından dolayı grafiklerde 500 nm'den büyük dalga boyu değerleri gösterilmemiştir.



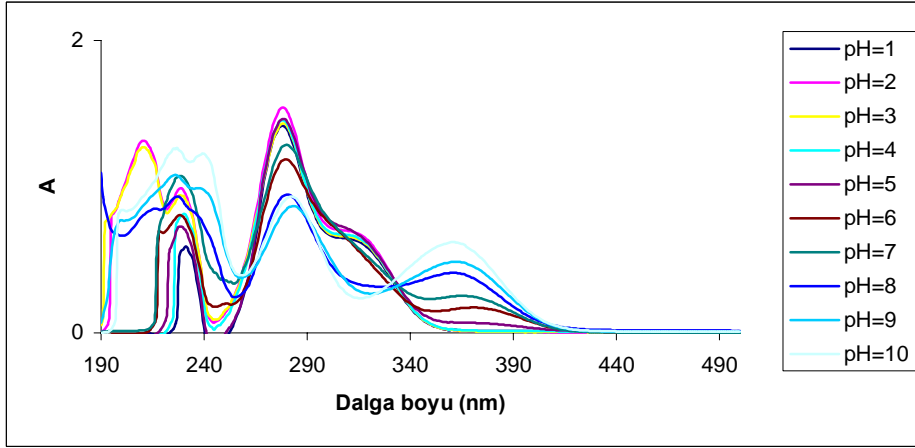
Şekil 3.2 Absorbans spektrumu (1×10^{-4} M MSPA, %12'lik (v/v) alkol-su karışımında)



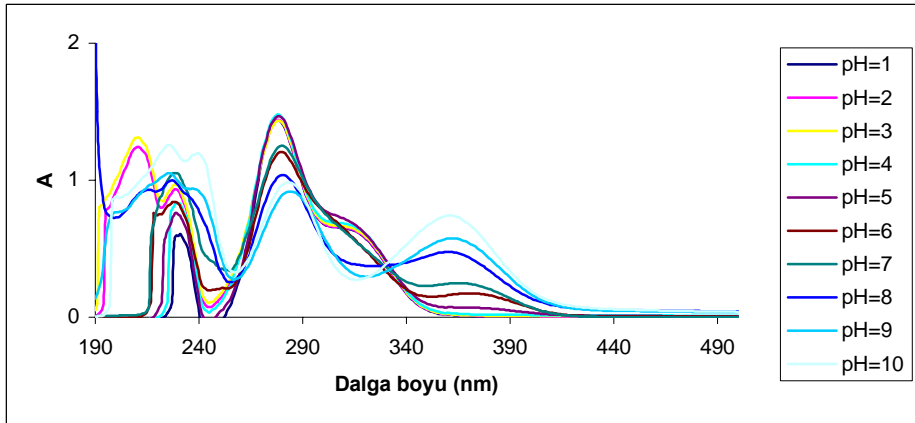
Şekil 3.3 Cu-MSPA kompleksinin pH değişimi ile absorbanlarının değişimi



Şekil 3.4 Fe-MSPA kompleksinin pH değişimi ile absorbansının değişimi



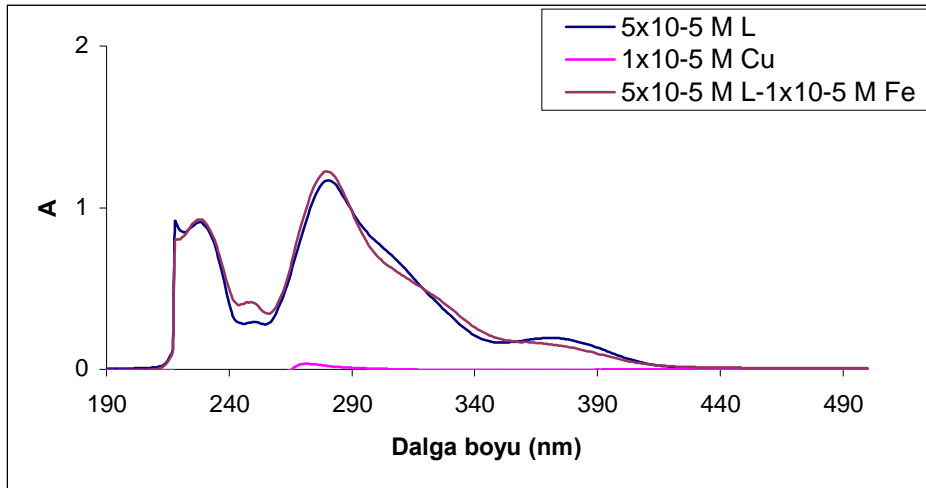
Şekil 3.5 Ni-MSPA kompleksinin pH değişimi ile absorbansının değişimi



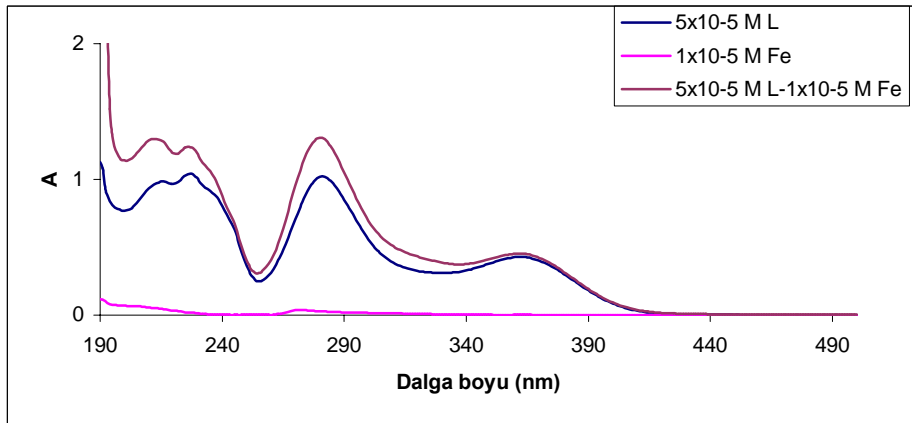
Şekil 3.6 Zn-MSPA kompleksinin pH değişimi ile absorbansının değişimi

Her bir pH değerindeki spektrumlar incelenirken kompleksin absorbensinin, ligandın absorbensinden yüksek olmasına ve ilgili metalin absorbensinin düşük olmasına dikkat edilmiştir. Asidik çözeltiler ortamlarında imin bağının parçalandığı göz önüne alınarak pH=3 ve daha altındaki pH'lerde çalışılmamıştır. Metal iyonlarının, bazik bölgelerde hidroksitleri halinde çökmelerinden dolayı pH=9 ve daha yüksek pH değerlerinde de çalışılmamıştır.

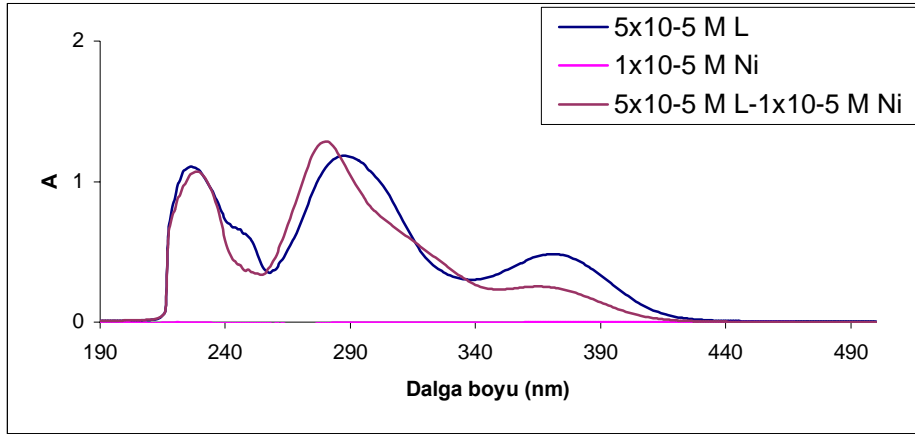
pH spektrumlarının incelenmesi sonucunda Cu^{2+} için pH=6'da 280 nm dalga boyunda çalışılmasına, Fe^{3+} için pH=8'de 281 nm dalga boyunda çalışılmasına, Ni^{2+} için pH=7'de 280 nm dalga boyunda çalışılmasına ve Zn^{2+} için pH=7'de 280 nm dalga boyunda çalışılmasına karar verilmiştir.



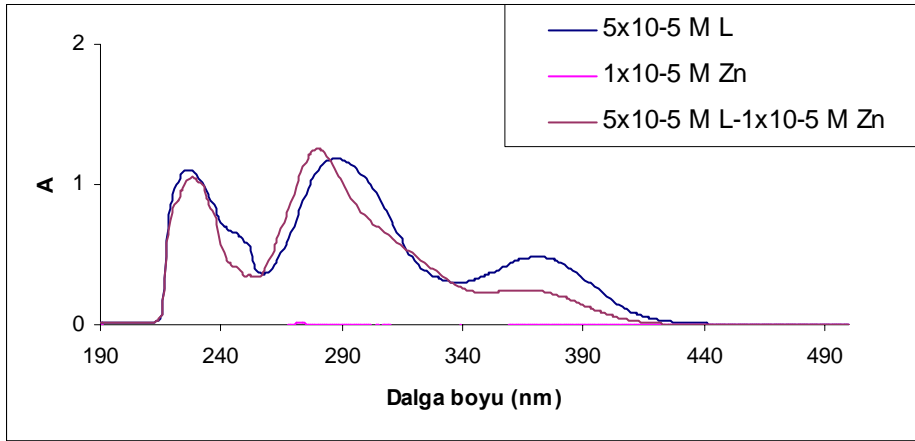
Şekil 3.7 MSPA, Cu ve Cu-MSPA kompleksinin absorbens spektrumları (pH=6)



Şekil 3.8 MSPA, Fe ve Fe-MSPA kompleksinin absorbens spektrumları (pH=8)

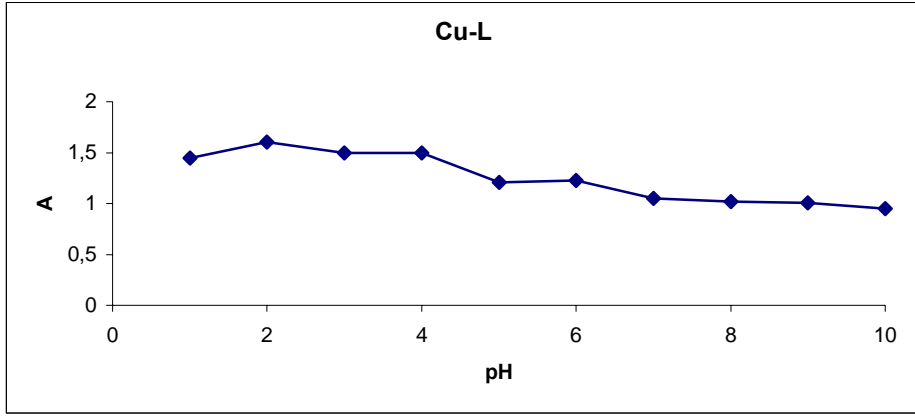


Şekil 3.9 MSPA, Ni ve Ni-MSPA kompleksinin absorbans spektrumları (pH=7)

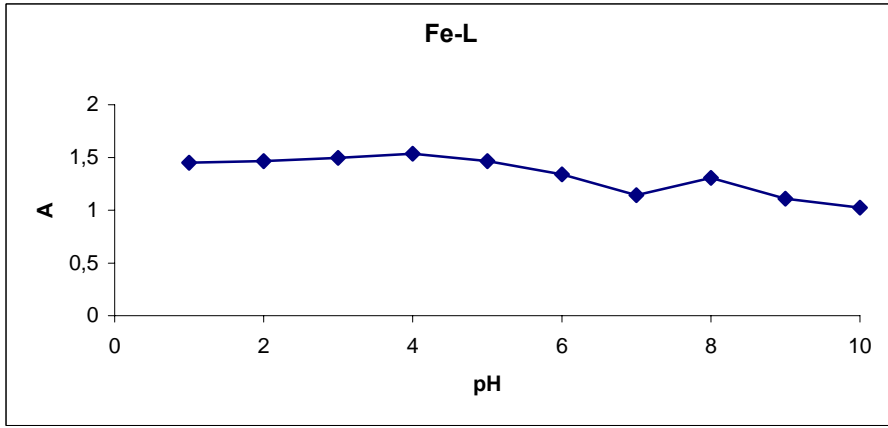


Şekil 3.10 MSPA, Zn ve Zn-MSPA kompleksinin absorbans spektrumları (pH=7)

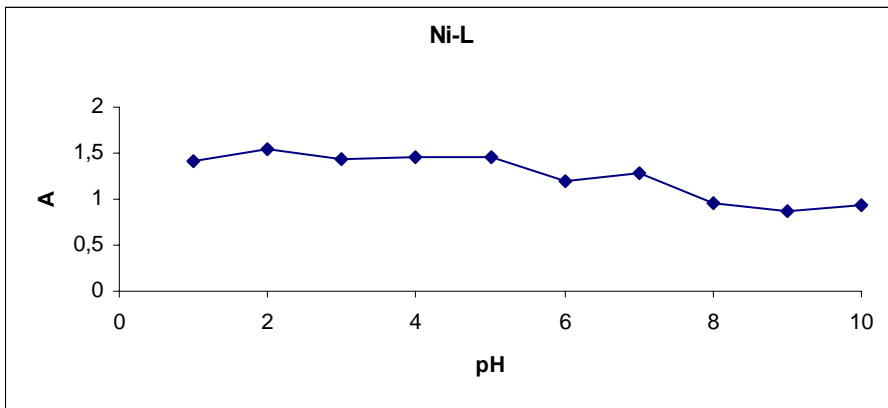
Şekil 3.11 incelendiğinde, Cu-MSPA kompleksinin 280 nm’de en yüksek absorbansın pH=2’de olduğu görülmektedir. pH=2 asidik bölgede olması, diğer pH spektrumlarında ise ligand ve metal-ligand kompleksinin absorbans spektrumlarında bir farklılaşma olmadığından dolayı pH=6’da çalışılması uygun görülmüştür. Aynı sebeplerden dolayı Fe³⁺ için pH=8’de, Ni²⁺ ve Zn²⁺ için pH=7’de çalışılmıştır.



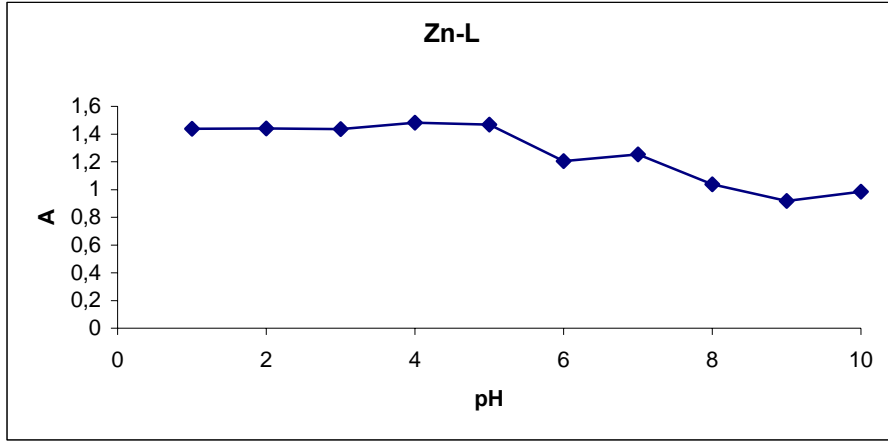
Şekil 3.11 Cu-MSPA kompleksinin pH ile absorbansının değişimi ($\lambda=280$)



Şekil 3.12 Fe-MSPA kompleksinin pH ile absorbansının değişimi($\lambda=281$)



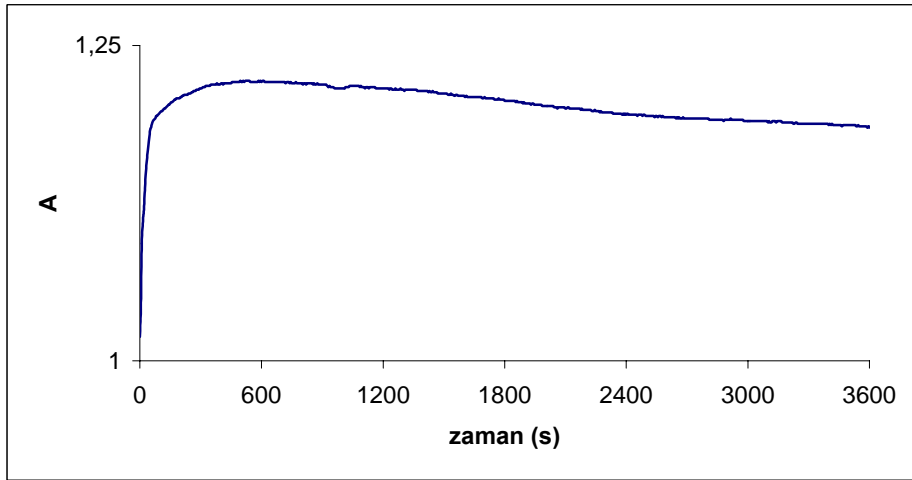
Şekil 3.13 Ni-MSPA kompleksinin pH ile absorbansının değişimi($\lambda=280$)



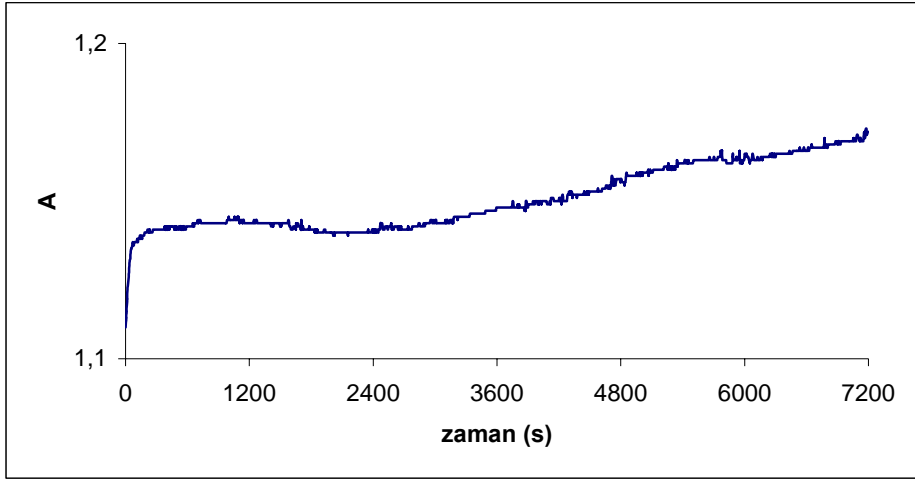
Şekil 3.14 Zn-MSPA kompleksinin pH ile absorbansının değişimi ($\lambda=280$)

3.2.3 Kinetik Çalışmalar

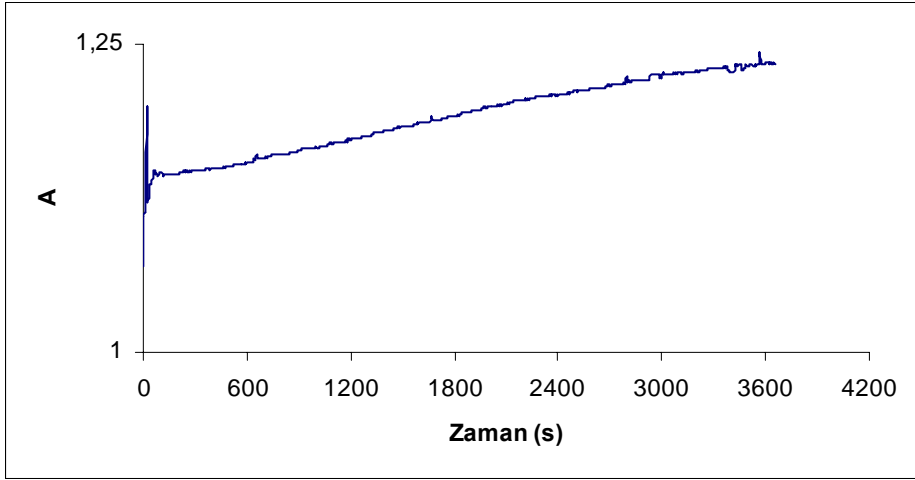
Kompleks oluşum ve dayanıklılık süresinin tespit edilebilmesi amacı ile yapılan kinetik çalışmalardan zamanla absorbans sinyallerinin değişim incelenmiştir.



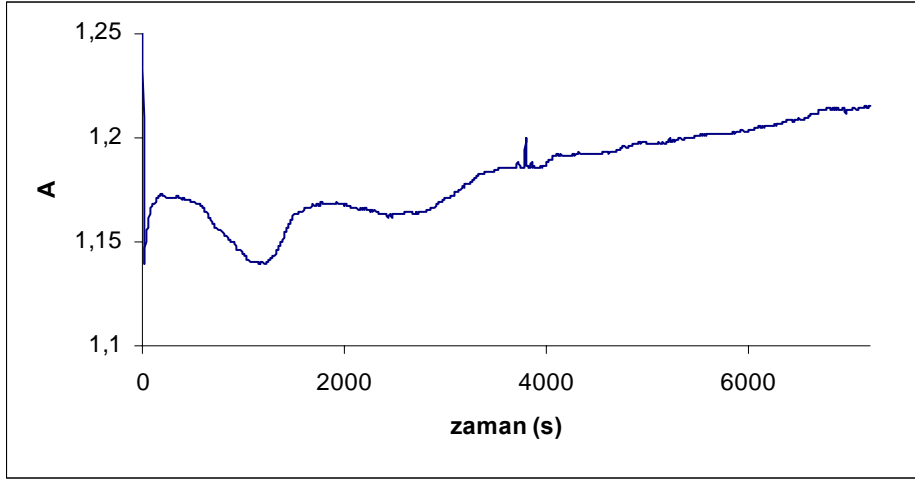
Şekil 3.15 Cu-MSPA kompleksinin absorbansının zamanla değişimi ($\lambda = 280$ nm, pH=6, 25 °C)



Şekil 3.16 Fe-MSPA kompleksinin absorbansının zamanla değişimi ($\lambda = 281$ nm, pH=8, 25 °C)



Şekil 3.17 Ni-MSPA kompleksinin absorbansının zamanla değişimi ($\lambda = 280$ nm, pH=7, 25 °C)

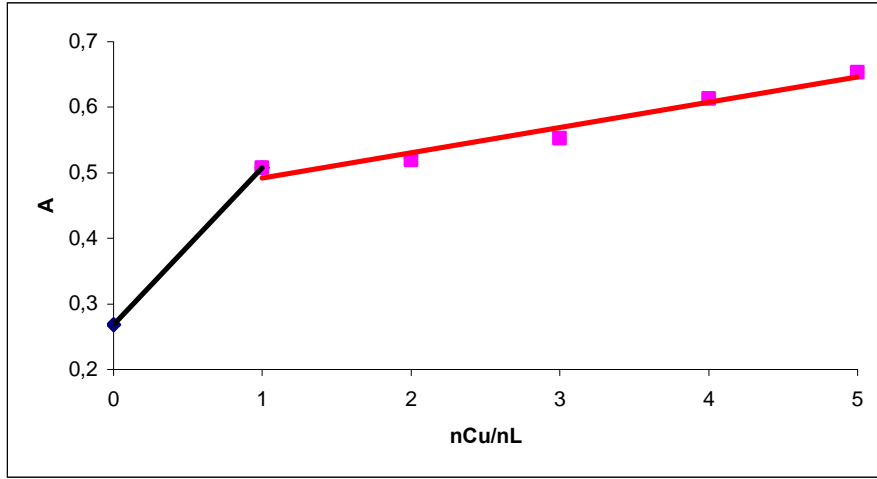


Şekil 3.18 Zn-MSPA kompleksinin absorbansının zamanla değişimi ($\lambda = 280$ nm, pH=7, 25 °C)

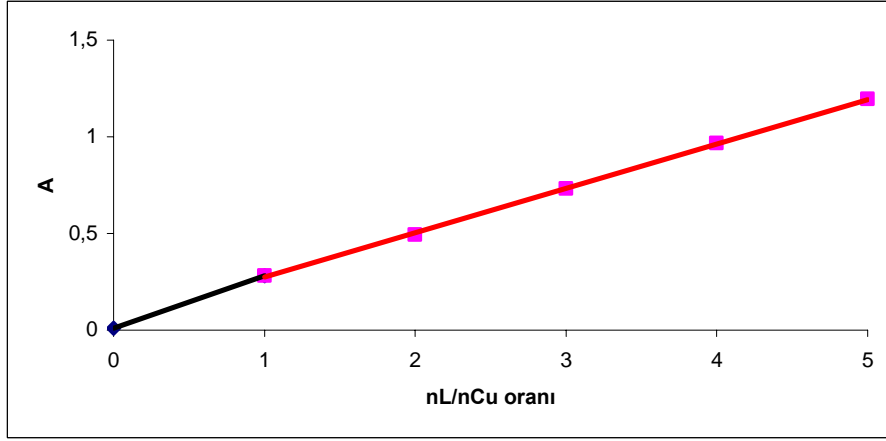
Kinetik çalışma sonucunda Cu-MSPA kompleksinin dengeye ulaşma süresi yaklaşık 10 dakika olarak belirlenmiştir. Fakat 30 dakikadan sonra absorbansının zamanla azalmaya başladığı görülmektedir. Bu veriler dikkate alınarak, Cu-MSPA kompleksinin çalışmalarındaki absorbas ölçümleri 10-30 dakika arasında alınmıştır. Fe-MSPA kompleksinin kinetik çalışmaları sonucunda dengeye ulaşma süresi 90 dakika olarak belirlenmiştir. Ni-MSPA kompleksinin kinetik çalışmaları dengeye ulaşma süresinin 60 dakika olduğunu göstermektedir. Zn-MSPA kompleksinin dengeye ulaşma süresi 90 dakika olarak belirlenmiştir.

3.2.4 Mol Oranı Metodu

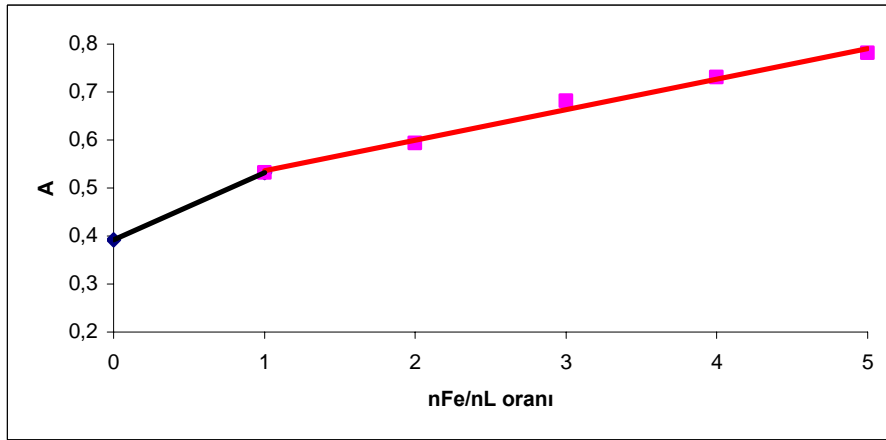
Mol oranı metodunda metal ya da ligandın herhangi birinin konsantrasyonu sabit iken, diğerinin derişimi değişkendir.



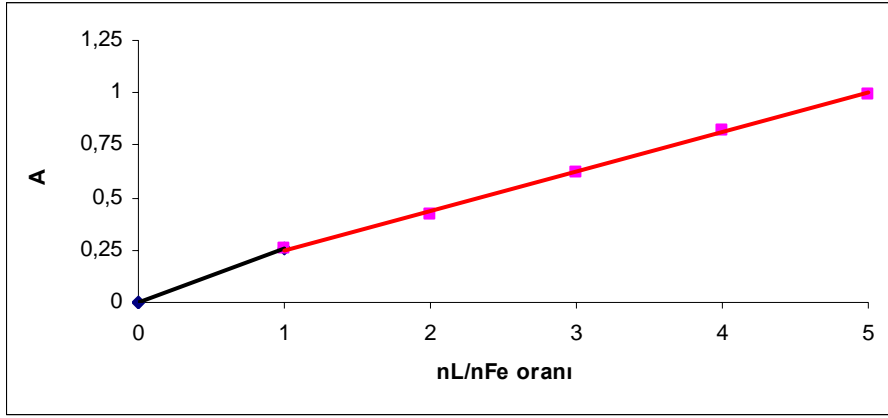
Şekil 3.19 Cu-MSPA kompleksinin mol oranına (nCu/nL) bağlı olarak absorbansının değişimi (pH=6, $\lambda=280$ nm, T=25 °C)



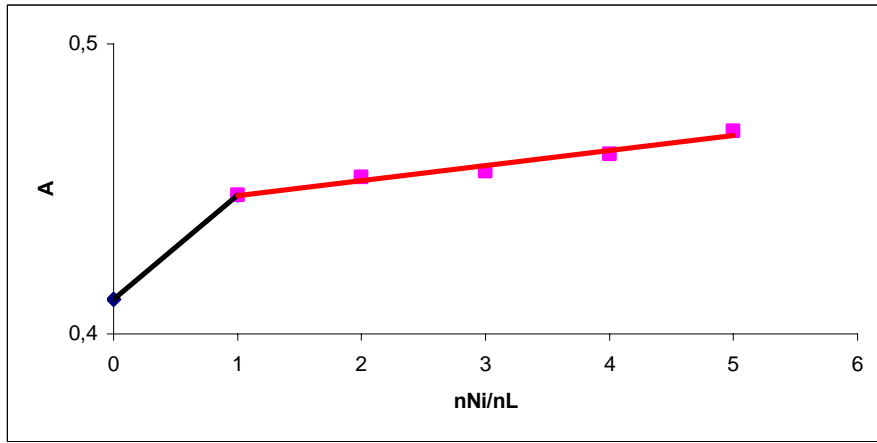
Şekil 3.20 Cu-MSPA kompleksinin mol oranına (nL/nCu) bağlı olarak absorbansının değişimi (pH=6, $\lambda=280$ nm, T=25 °C)



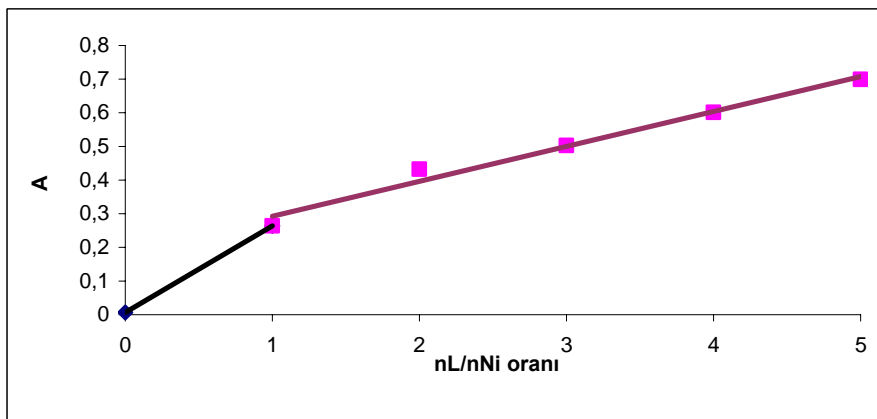
Şekil 3.21 Fe-MSPA kompleksinin mol oranına (nFe/nL) bağlı olarak absorbansının değişimi (pH=8, $\lambda=281$ nm, T=25 °C)



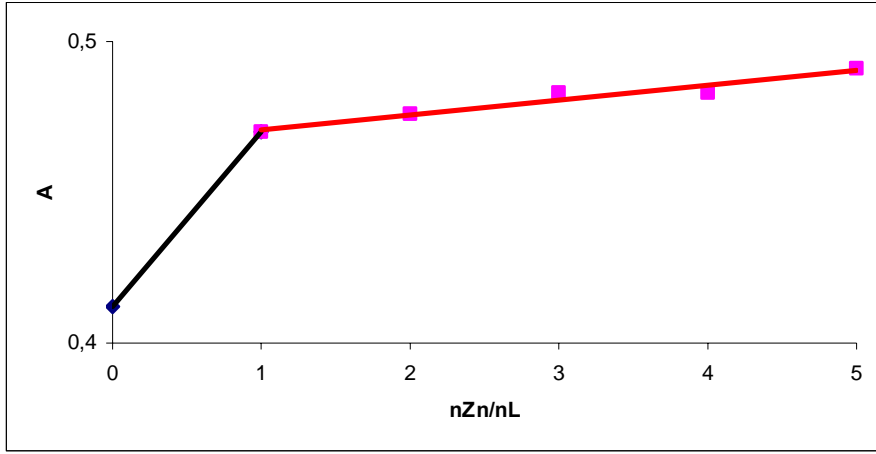
Şekil 3.22 Fe-MSPA kompleksinin mol oranına (nL/nFe) bağlı olarak absorbansının değişimi (pH=8, $\lambda=281$ nm, T=25 °C)



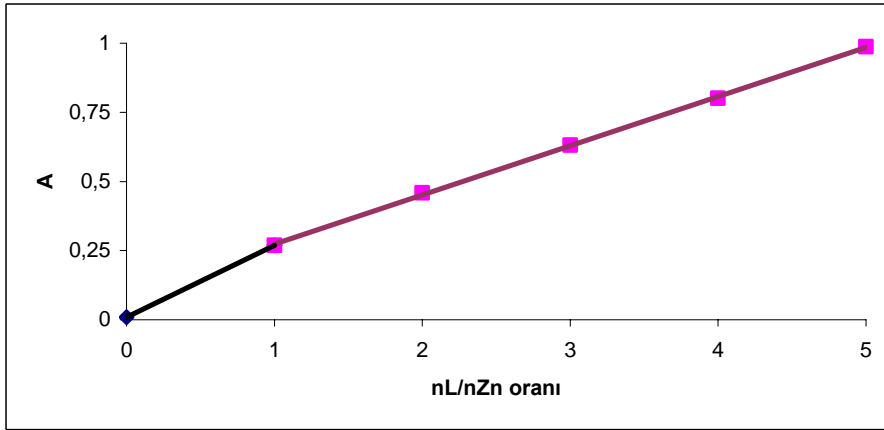
Şekil 3.23 Ni-MSPA kompleksinin mol oranına (nNi/nL) bağlı olarak absorbansının değişimi (pH=7, $\lambda=280$ nm, T=25 °C)



Şekil 3.24 Ni-MSPA kompleksinin mol oranına (nL/nNi) bağlı olarak absorbansının değişimi (pH=7, $\lambda=280$ nm, T=25 °C)



Şekil 3.25 Zn-MSPA kompleksinin mol oranına (nZn/nL) bağlı olarak absorbansının değişimi ($pH=7$, $\lambda=280$ nm, $T=25$ °C)



Şekil 3.26 Zn-MSPA kompleksinin mol oranına (nL/nZn) bağlı olarak absorbansının değişimi ($pH=7$, $\lambda=280$ nm, $T=25$ °C)

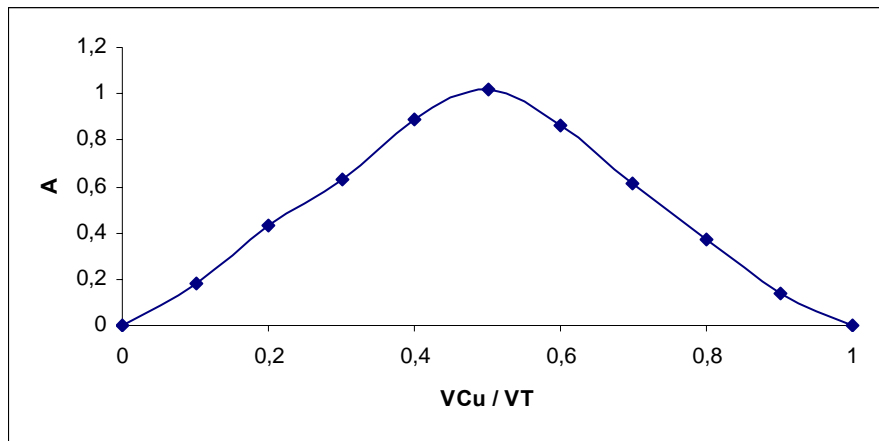
Mol oranları metodunda ligand derişimi sabit tutulup metal derişimin değiştirildiği grafikler incelendiği 1:1 metal-ligand mol oranından sonra kompleksin absorbans miktarında çok büyük bir değişim olmadığı çok net olarak gözlenebilmektedir. Metal derişimin sabit tutulup, ligand derişimin değiştirildiği grafikler incelendiğinde doğruların ekstrapolasyonu sonucunda yaklaşık olarak 1:1 metal-ligand molar oranında keşitiği gözlenmektedir. Cu-MSPA kompleksinin ligand derişimi sabit tutulup metal derişimin değiştirildiği grafik incelendiğinde Cu-MSPA'nin 1:1 mol oranından kompleksleştii düşünölmüştür. Metal derişimin sabit tutulup, ligand derişimin değiştirildiği grafikte doğruların ekstrapolasyonu sonucunda ligand/metal oranı $x=0.81$ olarak belirlenmiştir. Fe-MSPA, Ni-MSPA

ve Zn-MSPA komplekslerinin ligand derişiminin sabit tutulup metal derişimin değiştirildiği grafikler incelendiğinde metal/ligand oranının 1:1 olduğu düşünölmektedir. Metal derişiminin sabit tutulup, ligand derişiminin değiştirildiği grafiklerde oluşturulan doğruların ekstrapolasyonu sonucunda Fe-MSPA kompleksi için ligand/metal oranı $x=0,86$, Ni-MSPA kompleksi için ligand/metal oranı $x=1,18$, Zn-MSPA kompleksi için ligand/metal oranı $x=1,06$ olarak belirlenmiştir. Sonucun daha net olması için Job metodu ile de metal/ligand oranının belirlenmesine ihtiyaç duyulmuştur.

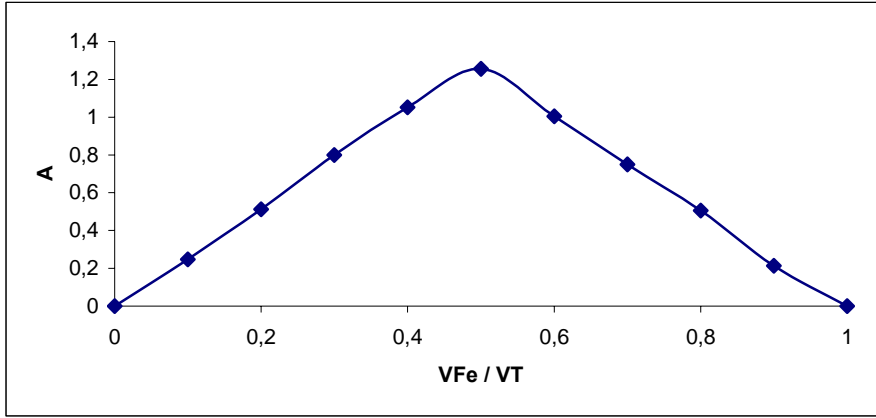
3.2.5 Job Metodu

Job metodu ile metallerin ligandla birleşme oranlarının tespiti için V_m / V_T oranlarındaki hazırlanmış ve absorbsanları ölçölmüştür. V_m / V_T oranlarındaki çözeltiler için, kompleksten kaynaklı absorbsan değerlerinin yani düzeltilmiş absorbsan değerlerinin hesaplanabilmesi için ligandın kalibrasyon denklemini kullandı. Kalibrasyon denkleminde teorik konsantrasyon değerleri yerine konularak teorik absorbsan değerleri hesaplandı. Aşağıda verilen eşitlikten düzeltilmiş absorbsan değerleri hesaplandıktan sonra da katyonun hacim kesrine (V_m / V_T) karşı $A_{düzeltilmiş}$ grafiği çizildi.

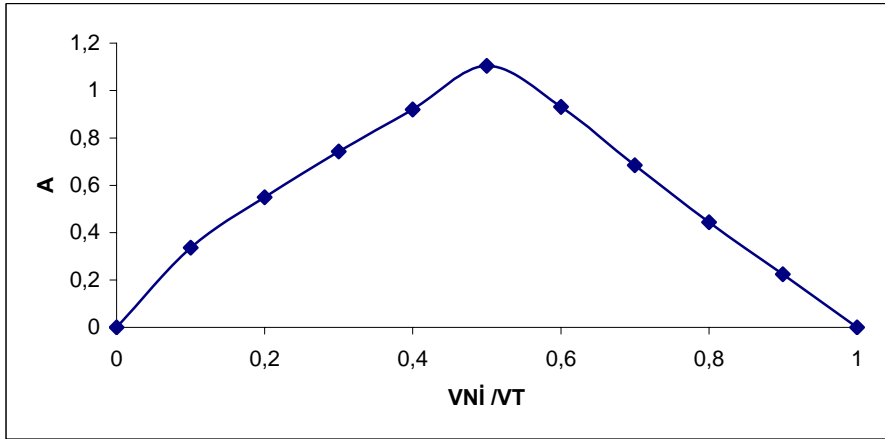
$$A_{okunan} - A_{teorik} = A_{düzeltilmiş} \quad (3.1)$$



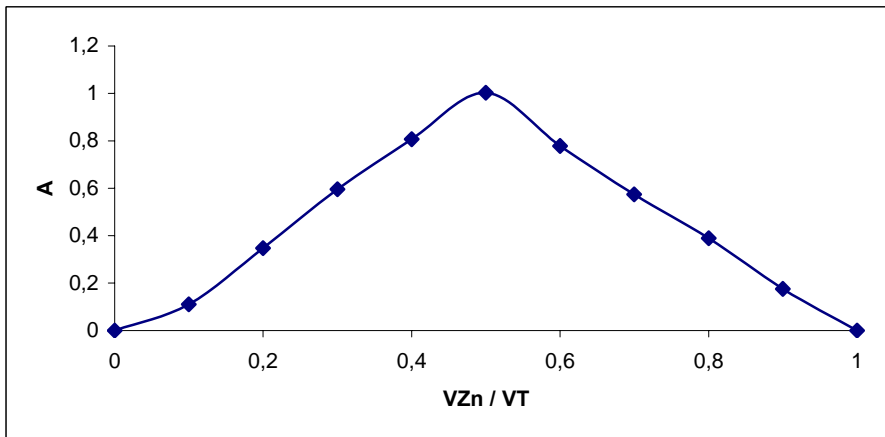
Şekil 3.27 Cu-MSPA kompleksinin katyonun hacim kesrine bağlı olarak $A_{düzeltilmiş}$ değerlerinin değişimi ($pH=6$, $\lambda=280$ nm, $T=25$ °C)



Şekil 3.28 Fe-MSPA kompleksinin katyonun hacim kesrine bağlı olarak $A_{\text{düzeltilmiş}}$ değerlerin değişimi (pH=8, $\lambda=281$ nm, T=25 °C)



Şekil 3.29 Ni-MSPA kompleksinin katyonun hacim kesrine bağlı olarak $A_{\text{düzeltilmiş}}$ değerlerin değişimi (pH=7, $\lambda=280$ nm, T=25 °C)



Şekil 3.30 Zn-MSPA kompleksinin katyonun hacim kesrine bağlı olarak $A_{\text{düzeltilmiş}}$ değerlerin değişimi (pH=7, $\lambda=280$ nm, T=25 °C)

Mol oranları metodu sonucunda metal-ligand oranlarının 1:1 olabileceği tahmininde bulunmuştuk. Job metodunun uygulamasında bu tahminin doğruluğu test edilmiştir. Değişen hacim oranlarında çözeltiler hazırlanmış ve komplekslerin metal-ligand oranlarının 1:1 olması durumunda artacağı düşünülen bileşenin teorik absorbans değeri deneysel absorbans değerlerinden çıkarılarak $A_{\text{düzeltmiş}}$ değerleri elde edilmiştir. Hacim kesirlerine karşı absorbans değişimi grafiklerinde oluşturulan doğruların kesiştirilmesi sonucunda sonucunda Cu-MSPA kompleksinin Cu:MSPA oranı $x=0,99$; Fe-MSPA kompleksinin Fe:MSPA oranı $x=1,14$; Ni-MSPA kompleksinin Ni:MSPA oranı $x=0,99$; Zn-MSPA kompleksinin Zn:MSPA oranı $x=0,97$ olarak belirlenmiştir.

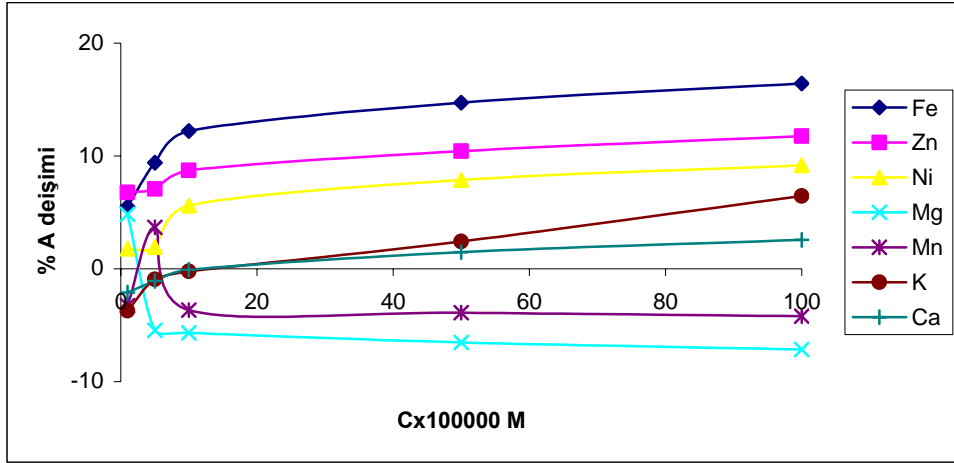
3.2.6 Metal Komplekslerinin Oluşumunda Girişimler

Metal komplekslerinin oluşumunda diğer metallerin girişim etkileri UV-VIS spektroskopisi ile incelenmiştir. Her bir kompleks için 7 metalin (Potasyum, mangan, kalsiyum, magnezyum, çinko, demir, nikel ve bakır) girişim etkisi incelenmiştir. 1×10^{-5} M metal kompleks çözeltisine 1×10^{-5} M ile 1×10^{-3} M arasında değişen derişimlerde girişim yapıcı metallerin absorbans sinyalleri ölçülmüş ve % A değişimleri hesaplanmıştır.

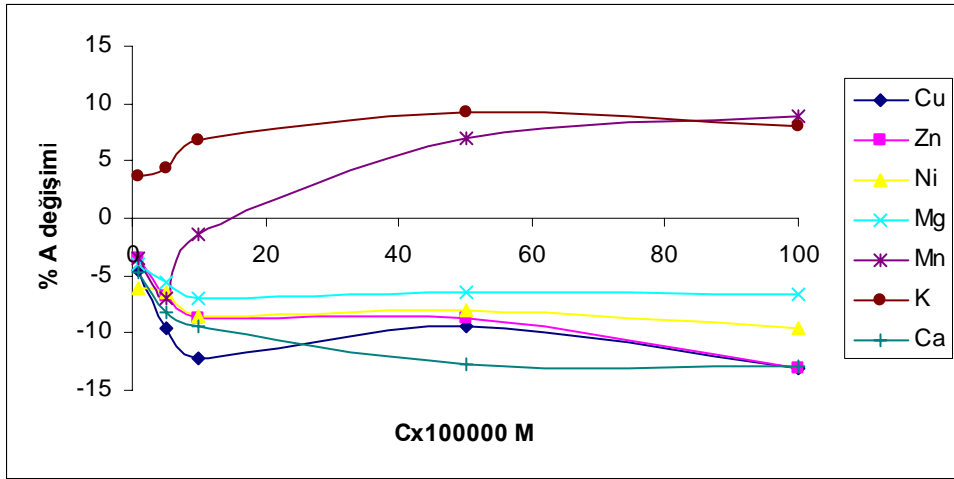
$$\%A \text{ değişimi} = \frac{(A_i - A_{\text{kompleks}})}{A_{\text{kompleks}}} \times 100 \quad (3.2)$$

A_{kompleks} : 1×10^{-5} M metal kompleksinin A sinyali

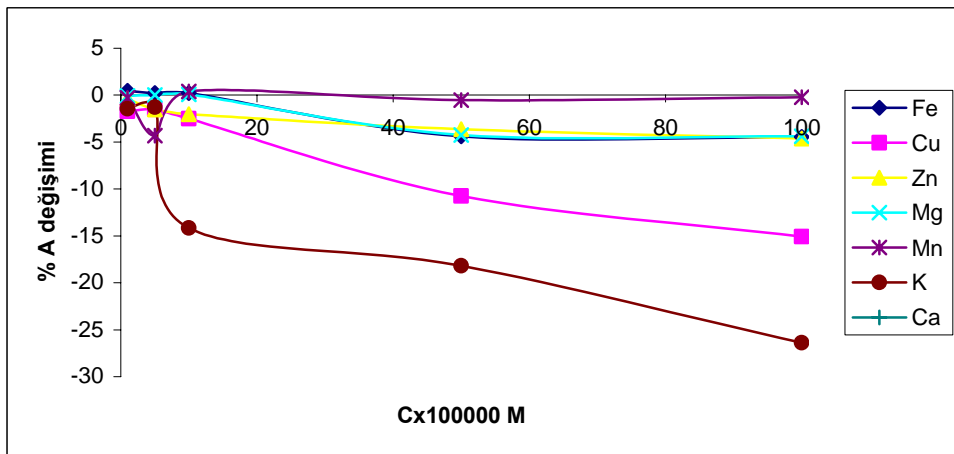
A_i : (1×10^{-5} M metal kompleksi + girişim yapıcı) çözeltinin A sinyali



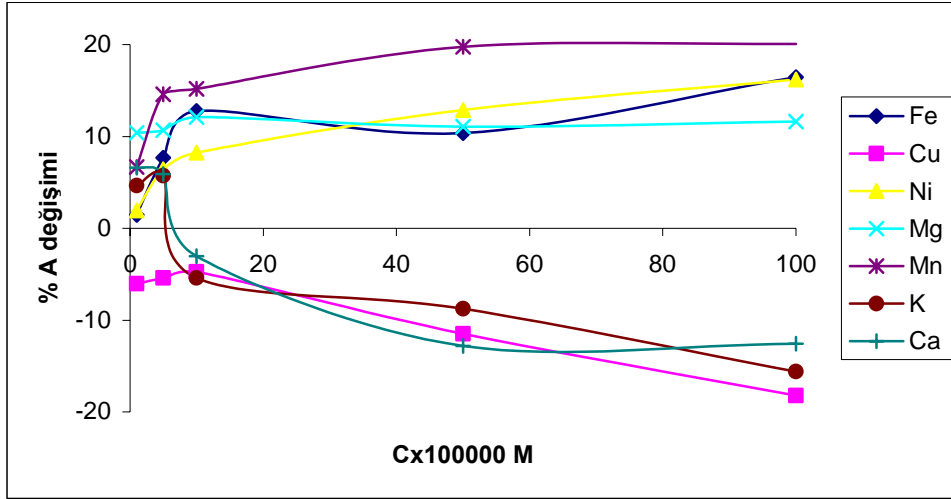
Şekil 3.31 Cu-MSPA kompleksine bazı metallerin girişim etkisi ($\lambda= 280$ nm, pH=6, T=25 °C)



Şekil 3.32 Fe-MSPA kompleksine bazı metallerin girişim etkisi ($\lambda= 281$ nm, pH=8, T=25 °C)



Şekil 3.33 Ni-MSPA kompleksine bazı metallerin girişim etkisi ($\lambda= 280$ nm, pH=7, T=25 °C)



Şekil 3.34 Zn-MSPA kompleksine bazı metallerin girişim etkisi ($\lambda=280$ nm, pH=7, T=25 °C)

Yukarıdaki şekiller incelendiğinde, Cu-MSPA kompleksinin absorbasına özellikle Fe^{3+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} iyonlarının pozitif yönde yüksek bir girişim etkisini gösterdikleri gözlenmektedir. Ca^{2+} , K^+ iyonunun Cu^{2+} 'nin 10 katlık bir derişime kadar negatif girişim etkisi gösterdiği, daha yüksek derişimlerde ise pozitif girişim etkisi yaptıkları belirlenmiştir. Mg^{2+} iyonunun derişimi Cu^{2+} 'nin derişimine eşit olduğu durumlarda pozitif girişim etkisi gösterirken daha yüksek derişimlerde negatif girişim etkisi gösterdiği gözlenmiştir. Mn^{2+} iyonu başlangıçta küçük şiddette negatif girişim etkisinde bulunurken, Cu^{2+} 'nin derişiminin 5 katı derişimde pozitif girişim yapmaktadır. Daha yüksek derişimlerde ise negatif girişim etkisi göstermektedir.

Fe-MSPA kompleksinin absorbasına Mg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} ve Ca^{2+} iyonları negatif girişim etkisi göstermektedir. Mn^{2+} iyonu ise Fe^{3+} 'nin derişiminin 10 kat derişimine kadar negatif girişim etkisi gösterirken artan derişimlerde pozitif girişim etkisi göstermektedir. K^+ pozitif girişim etkisi göstermektedir.

Ni-MSPA kompleks absorbasına Mn^{2+} neredeyse hiç bir girişim yapmazken Ca^{2+} iyonu Ni^{2+} 5 kat derişimine kadar pozitif girişim etkisi gösterirken, artan derişimlerde negatif girişim etkisi göstermektedir. $K^+ > Ca^{2+} > Cu^{2+} > Mg^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{3+}$ iyonları sırasına göre negatif girişim etkisi göstermektedirler.

Zn-MSPA kompleks absorbansına $Mn^{2+} > Ni^{2+} > Fe^{3+} > Mg^{2+}$ iyonları pozitif girişim etkisinde bulunmaktadır. K^+ ve Ca^{2+} iyonları Zn^{2+} iyon derişiminin 5 kat derişimine kadar pozitif girişim etkisi gösterirken, artan derişimlerde negatif girişim etkisi göstermektedirler. Cu^{2+} iyonu ise negatif girişim etkisi göstermektedir.

3.2.7 Metal Komplekslerinin Oluşum Sabitlerinin Belirlenmesi İçin Yapılan Çalışmalar

Metal komplekslerinin oluşum sabitlerinin belirlenmesinde UV-Vis spektrometre ile elde edilen verilerden çizilen ayar eğrileri kullanılmıştır. Ayar eğrilerinin eğimlerinden elde edilen molar absorpsiyon değerleri çizelgelerde verilmiştir.

Çizelge 3.2 MSPA hesaplanan molar absorpsiyon değerleri, T=25 °C

λ	pH	ϵ_L	R^2
228 nm	6	22382	0,9798
249 nm	6	5723	0,9981
280 nm	6	20138	0,9973
360 nm	6	3542	0,9991
228 nm	7	21842	0,9801
249 nm	7	11976	0,9921
251 nm	7	10872	0,9937
254 nm	7	8572	0,9954
280 nm	7	21759	0,9987
349 nm	7	6,772	0,9908
366 nm	7	9,486	0,9866
212 nm	8	19187	0,9809
226 nm	8	20737	0,9788
254 nm	8	5032	0,9964
281 nm	8	20354	0,9916
337 nm	8	63243	0,9927
361 nm	8	8459	0,9962

Çizelge 3.3 Cu-MSPA kompleksinin hesaplanan molar absorptivite değerleri, (T=25 °C, pH=6)

λ	$\epsilon_{\text{Cu-L}}$	R^2
228 nm	18322	0,9805
249 nm	13024	0,9902
280 nm	24482	0,9942
360 nm	2451	0,9935

Çizelge 3.4 Fe-MSPA kompleksinin hesaplanan molar absorptivite değerleri, (T=25 °C, pH=8)

λ	$\epsilon_{\text{Fe-L}}$	R^2
212 nm	38212	0,9812
226 nm	31032	0,9943
254 nm	12253	0,9921
281 nm	31012	0,9933
337 nm	7982	0,9908
361 nm	7,122	0,9927

Çizelge 3.5 Ni-MSPA kompleksinin hesaplanan molar absorptivite değerleri, (T=25 °C, pH=7)

λ	$\epsilon_{\text{Ni-L}}$	R^2
228 nm	20841	0,9812
249 nm	7056	0,9943
254 nm	7403	0,9921
280 nm	24819	0,9933
349 nm	3598	0,9908

Çizelge 3.6 Zn-MSPA kompleksinin hesaplanan molar absorptivite değerleri, (T=25 °C, pH=7)

λ	ϵ_{Zn-L}	R^2
228 nm	17962	0,9878
251 nm	5486	0,9911
280 nm	24817	0,9978
349 nm	3685	0,9906
366 nm	3928	0,9926

Çizelge 3.7 5×10^{-6} M Cu^{2+} ve 5×10^{-6} M MSPA çözeltisi karışımının absorbanısı

λ	228 nm	249 nm	280 nm	360 nm
Örn 1	1,072	0,578	1,232	0,129
Örn 2	1,055	0,558	1,222	0,128
Örn 3	1,05	0,557	1,218	0,126

Çizelge 3.8 5×10^{-6} M Fe^{3+} ve 5×10^{-6} M MSPA çözeltisi karışımının absorbanısı

λ	212 nm	226 nm	254 nm	281 nm	337 nm	361 nm
Örn 1	1,686	1,445	0,523	1,46	0,365	0,396
Örn 2	1,713	1,446	0,524	1,472	0,367	0,398
Örn 3	1,738	1,46	0,532	1,473	0,367	0,398

Çizelge 3.9 5×10^{-6} M Ni^{2+} ve 5×10^{-6} M MSPA çözeltisi karışımının absorbanısı

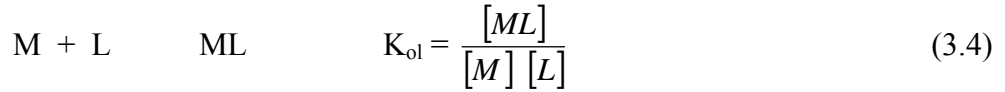
λ	228 nm	249 nm	254 nm	280 nm	349 nm
Örn 1	1,045	0,412	0,363	1,182	0,229
Örn 2	1,038	0,39	0,343	1,187	0,231
Örn 3	1,098	0,424	0,379	1,196	0,235

Çizelge 3.10 5×10^{-6} M Zn^{2+} ve 5×10^{-6} M MSPA çözeltisi karışımının absorbanası

λ	228 nm	251 nm	280 nm	349 nm	366 nm
Örn 1	0,96	0,292	1,183	0,208	0,221
Örn 2	0,996	0,309	1,195	0,211	0,223
Örn 3	0,991	0,302	1,195	0,212	0,224

$$A = \varepsilon_M b C_{M^+} + \varepsilon_L b C_L + \varepsilon_{ML} b C_{ML} \quad (3.3)$$

Molar absorpsiyon değerleri kullanılarak, aynı çözelti ortamındaki metalin, ligandın ve metal-ligand kompleksinin derişimleri çoklu bileşen analiz yöntemi ile hesaplanmış ve bu derişimler aşağıdaki denge sabiti ifadesinde yazılarak kompleks oluşum sabitleri hesaplanmıştır.



Çizelge 3.11 Kompleks oluşum sabitleri

	K_{ol}	s
Cu-MSPA	1.37×10^8	2.23×10^7
Fe-MSPA	2.94×10^9	2.80×10^8
Ni-MSPA	$6,36 \times 10^9$	$1,16 \times 10^9$
Zn-MSPA	7.17×10^{10}	4.09×10^9

3.3 Metallerin Zeytinyağından Ekstraksiyonu İçin Optimum Koşulların Belirlenmesi

FAAS ile element analizinde, her bir element için lamba akımı, alev yüksekliği ve yakıt akış hızının en uygun değerleri belirlenmiş ve analizler bu koşullar altında yapılmıştır. Her bir element için belirlenen en uygun koşullar aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 3.12 FAAS çalışma şartları

	Cu	Zn	Fe	Ni
Dalga boyu (nm)	324,8	213,9	248,3	232,0
Bant genişliği (nm)	0,5	0,5	0,2	0,2
Lamba akımı (mA)	4	5	5	4
Yakıt akış hızı(L/dak)	0,70	0,58	0,70	0,70
Alev yüksekliği (mm)	14	16	14	16

Çizelge 3.13 Standart katma yöntemi için hazırlanan standart çözeltiler

	Cu	Zn	Fe	Ni
Std 1 (ppm)	5	3	5	5
Std 2 (ppm)	10	6	10	10
Std 3 (ppm)	15	9	15	15

Çizelge 3.14 FAAS 'de metaller için hesaplanan belirtme alt sınırları

Metaller	Belirtme Alt Sınırı (mg/L)	Kalibrasyon denklemleri
Cu	0.093	0,017 x + 0,0023
Fe	0.361	0,010 x + 0,0061
Ni	0.173	0,008 x + 0,006
Zn	0.035	0,022 x + 0,011

SRM kullanılarak merkezi kompozit dizayn kapsamındaki deneyler ile elde edilen ekstraktlardaki metal miktarları, standart katma yöntemi kullanılarak FAAS ile belirlenmiştir. Belirlenen bu metal derişimlerinden yararlanılarak % geri kazanım (% recovery) değerleri hesaplanmıştır. % Geri kazanım, teorik değeri bilinen bir standart için deneysel olarak bulunan değerin doğruluğunun bir ifadesidir ve aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Geri kazanım} = (\text{DeneySEL Değer} / \text{Teorik Değer}) \times 100 \quad (3.5)$$

Çizelge 3.15 Cu ve Fe metallerinin SRM'den geri kazanım değerleri

Deney	Cu			Fe		
	SRM Cu (mg/kg)	Bulunan Cu (mg/kg)	% Geri Kazanım	SRM Fe (mg/kg)	Bulunan Fe (mg/kg)	% Geri Kazanım
1	20	19,86 ± 0,56	99,28 ± 2,82	20	19,62 ± 2,82	98,12 ± 14,12
2	20	19,87 ± 0,93	99,36 ± 4,64	20	19,68 ± 1,80	98,38 ± 9,04
3	20	19,57 ± 1,24	97,86 ± 6,21	20	20,34 ± 3,93	101,68 ± 19,66
4	20	19,21 ± 1,16	96,07 ± 5,78	20	19,99 ± 2,58	99,97 ± 12,92
5	20	19,85 ± 1,24	99,26 ± 6,19	20	19,70 ± 2,43	98,48 ± 12,18
6	20	19,84 ± 1,29	99,21 ± 6,43	20	19,39 ± 1,96	96,96 ± 9,83
7	20	18,10 ± 1,19	90,52 ± 5,94	20	19,80 ± 4,54	99,01 ± 22,74
8	20	18,94 ± 0,70	94,72 ± 3,51	20	19,82 ± 1,88	99,08 ± 9,40
9	20	19,70 ± 2,59	98,51 ± 12,97	20	19,76 ± 2,01	98,78 ± 10,05
10	20	17,82 ± 5,37	89,12 ± 26,85	20	19,80 ± 5,78	98,99 ± 28,91
11	20	19,88 ± 2,05	99,41 ± 10,26	20	18,69 ± 2,46	93,42 ± 12,32
12	20	19,75 ± 3,59	98,74 ± 17,94	20	19,79 ± 4,73	98,93 ± 23,67
13	20	18,26 ± 3,14	91,30 ± 15,68	20	19,83 ± 3,27	99,17 ± 16,38
14	20	17,95 ± 2,82	89,76 ± 14,11	20	17,97 ± 2,61	89,83 ± 13,08
15	20	19,76 ± 4,31	98,78 ± 21,54	20	18,75 ± 1,83	93,76 ± 9,19
16	20	19,77 ± 3,45	98,83 ± 17,23	20	19,58 ± 2,44	98,88 ± 12,21
17	20	19,77 ± 3,56	98,83 ± 17,82	20	19,74 ± 1,73	98,71 ± 8,67
18	20	19,75 ± 6,22	98,74 ± 31,10	20	19,78 ± 2,62	98,88 ± 13,10
19	20	19,77 ± 4,35	98,86 ± 21,75	20	19,25 ± 3,86	98,81 ± 19,30
20	20	19,77 ± 2,68	98,86 ± 13,41	20	19,16 ± 2,07	98,82 ± 10,39

Çizelge 3.16 Ni ve Zn metallerinin SRM'den geri kazanım değerleri

Deney	Ni			Zn		
	SRM Ni (mg/kg)	Bulunan Ni (mg/kg)	% Geri Kazanım	SRM Zn (mg/kg)	Bulunan Zn (mg/kg)	% Geri Kazanım
1	20	19,81 ± 1,03	99,08 ± 5,18	20	19,79 ± 2,24	98,96 ± 11,24
2	20	19,60 ± 1,41	98,04 ± 7,08	20	19,51 ± 1,58	97,58 ± 7,91
3	20	19,72 ± 1,66	98,61 ± 8,34	20	19,85 ± 2,69	99,26 ± 13,45
4	20	19,41 ± 1,79	97,06 ± 8,96	20	19,73 ± 1,82	98,65 ± 9,10
5	20	19,46 ± 1,71	97,34 ± 8,56	20	19,10 ± 2,39	95,52 ± 11,96
6	20	18,97 ± 2,36	94,86 ± 11,81	20	17,74 ± 1,93	88,72 ± 9,67
7	20	19,86 ± 3,49	99,34 ± 17,47	20	19,80 ± 2,53	99,04 ± 12,67
8	20	19,76 ± 2,06	98,80 ± 10,32	20	19,61 ± 2,16	98,07 ± 10,82
9	20	19,88 ± 3,80	99,44 ± 19,02	20	19,77 ± 2,22	98,85 ± 11,13
10	20	19,78 ± 5,03	98,93 ± 25,15	20	19,71 ± 3,88	98,55 ± 19,43
11	20	18,68 ± 1,29	93,43 ± 6,45	20	19,13 ± 0,53	95,65 ± 2,67
12	20	18,91 ± 2,03	94,59 ± 10,15	20	17,63 ± 1,50	88,16 ± 7,50
13	20	19,63 ± 2,60	98,15 ± 13,01	20	18,04 ± 1,73	90,23 ± 8,69
14	20	18,91 ± 3,67	94,58 ± 18,39	20	18,06 ± 4,41	90,32 ± 22,05
15	20	18,78 ± 2,00	93,93 ± 10,02	20	19,78 ± 3,52	98,91 ± 17,63
16	20	19,89 ± 1,98	99,45 ± 9,90	20	19,79 ± 1,57	98,99 ± 7,89
17	20	19,89 ± 2,37	99,45 ± 11,85	20	19,75 ± 1,61	98,79 ± 8,05
18	20	19,89 ± 3,04	99,46 ± 15,23	20	19,76 ± 1,79	98,83 ± 8,98
19	20	19,86 ± 2,43	99,33 ± 12,17	20	19,76 ± 1,23	98,80 ± 6,15
20	20	19,88 ± 2,20	99,08 ± 5,18	20	19,78 ± 2,20	98,91 ± 11,03

Merkezi kompozit dizayn yönteminde, yanıt değerlerinin oluşturulmasında geri kazanım testlerinin sonuçlarından yararlanılmıştır. Yanıt değerleri (y);

$$y = 1 / (100 - \%Geri\ kazanım) \quad (3.6)$$

eşitliği ile hesaplanmıştır.

Merkezi kompozit dizayn deneyleri sonucunda ekstraktlara ait yanıt değerlerin işlenmesi bir dizi işleminin sonucunda önce b değerleri (Çizelge 3.18) bulunmuş ve bu değerlerin işlenmesi sonucunda denklemler elde edilmiş (Çizelge 3.19) ve bu

denklemlerin DERİVE 6 matematiksel programı ile çözülmesi sonucunda X_1 , X_2 , X_3 kod değerleri bulunmuştur (Çizelge 3.20).

Çizelge 3.17 Denemeler sonucunda bulunan yanıt değerler

DENEY	Cu	Fe	Ni	Zn
1	1,388	0,531	1,086	0,961
2	1,562	0,617	0,511	0,413
3	0,467	2,595	0,720	1,351
4	0,254	2,915	0,340	0,742
5	1,351	0,657	0,375	0,223
6	1,271	0,328	0,194	0,088
7	0,105	1,012	1,515	1,041
8	0,189	1,094	0,833	0,519
9	0,671	0,819	1,785	0,869
10	0,091	0,993	0,935	0,691
11	1,688	0,152	0,152	0,229
12	0,793	0,934	0,184	0,084
13	0,114	1,204	0,540	0,102
14	0,097	0,098	0,184	0,103
15	0,819	0,160	0,164	0,917
16	0,854	0,892	1,818	0,990
17	0,854	0,775	1,818	0,826
18	0,793	0,892	1,851	0,854
19	0,877	0,840	1,492	0,833
20	0,877	0,847	1,694	0,917

Çizelge 3.18 Hesaplamalar sonunda bulunan b değerleri

	Cu	Fe	Ni	Zn
b1	-0,20098	0,062878	-0,21663	-0,17441
b2	0,121036	-0,23545	-0,05424	-0,10466
b3	-0,14028	-0,087	0,268445	-0,01019
b11	0,225087	0,306704	0,090364	0,061727
b22	0,02916	0,112735	0,037818	0,182559
b33	0,264435	0,384315	0,787877	0,367686
b12	-0,10293	-0,15152	-0,13768	0,040857
b13	-0,04433	-0,01961	-0,33367	-0,07097
b23	-0,11184	0,127761	0,0343	0,179924
b123	-0,11043	-0,05882	-0,1842	-0,123

Çizelge 3.19 Oluşturulan y denklemleri ve her bir değişkene göre y denkleminin türevleri

Metal	Denklemler
Cu	$y = -0,20098 x_1 + 0,121036 x_2 - 0,14028 x_3 + 0,225087 (x_1)^2 + 0,02916 (x_2)^2 + 0,264435 (x_3)^2 - 0,10293 x_1 x_2 - 0,04433x_1 x_3 - 0,11184 x_2 x_3 - 0,11043 x_1 x_2 x_3$
	$dy/dx_1 = - 0,20098 + 0,450174 x_1 - 0,10293 x_2 - 0,04433 x_3 - 0,11043 x_2 x_3 = 0$
	$dy/dx_2 = 0,121036 + 0,05832 x_2 - 0,10293 x_1 - 0,11184 x_3 - 0,11043 x_1 x_3 = 0$
	$dy/dx_3 = - 0,14028 + 0,52887 x_3 - 0,04433 x_1 - 0,11184 x_2 - 0,11043 x_1 x_2 = 0$
Fe	$y = 0,062878 x_1 - 0,23545 x_2 - 0,087 x_3 + 0,306704 (x_1)^2 + 0,112735 (x_2)^2 + 0,384315 (x_3)^2 - 0,15152 x_1 x_2 - 0,01961 x_1 x_3 + 0,127761 x_2 x_3 - 0,05882 x_1 x_2 x_3$
	$dy/dx_1 = 0,062878 + 0,613408 x_1 - 0,15152 x_2 - 0,01961 x_3 - 0,05882 x_2 x_3$
	$dy/dx_2 = - 0,23545 + 0,22547 x_2 - 0,15152 x_1 + 0,127761 x_3 - 0,05882 x_1 x_3$
	$dy/dx_3 = -0,087 + 0,76863 x_3 - 0,01961 x_1 + 0,127761 x_2 - 0,05882 x_1 x_2$
Ni	$y = - 0,21663 x_1 - 0,05424 x_2 + 0,268445 x_3 + 0,090364 (x_1)^2 + 0,037818 (x_2)^2 + 0,787877 (x_3)^2 - 0,13768 x_1 x_2 - 0,33367 x_1 x_3 + 0,0343 x_2 x_3 - 0,1842 x_1 x_2 x_3$
	$dy/dx_1 = -0,21663 + 0,180728 x_1 - 0,13768 x_2 - 0,33367 x_3 - 0,1842 x_2 x_3 = 0$
	$dy/dx_2 = - 0,05424 + 0,075636 x_2 - 0,13768 x_1 + 0,0343 x_3 - 0,1842 x_1 x_3 = 0$
	$dy/dx_3 = 0,268445 + 1,575754 x_3 - 0,33367 x_1 + 0,0343 x_2 - 0,1842 x_1 x_2 = 0$
Zn	$y = - 0,17441 x_1 - 0,10466 x_2 - 0,01019 x_3 + 0,061727 (x_1)^2 + 0,182559 (x_2)^2 + 0,367686 (x_3)^2 + 0,040857x_1 x_2 - 0,07097 x_1 x_3 + 0,179924 x_2 x_3 - 0,123 x_1 x_2 x_3$
	$dy/dx_1 = - 0,17441 + 0,123454 x_1 + 0,040857 x_2 - 0,07097x_3 - 0,123 x_2 x_3 = 0$
	$dy/dx_2 = - 0,10466 + 0,365118 x_2 + 0,040857x_1 + 0,179924 x_3 - 0,123 x_1 x_3 = 0$
	$dy/dx_3 = - 0,01019 + 0,735372 x_3 - 0,07097 x_1 + 0,179924 x_2 - 0,123x_1 x_2 x_3 = 0$

Çizelge 3.20 Denklemlerin Derive 6 programı ile çözülmesi sonucu bulunan X_1 , X_2 , X_3 kod değerleri

	X_1	X_2	X_3
Cu	0,0217	0,1098	1,7351
Fe	-0,0377	1,9745	1,1354
Ni	0,054	0,9121	1,9347
Zn	-0,0135	2,2351	1,6492

$X(\text{kodlanmış}) = [x(\text{gerçek}) - \text{orta değer}] / \text{orta değerle yakın değer arasındaki fark}$ (3.7)

X_1 , X_2 , X_3 değerleri kodlanmış değerlerdir. Gerçek değerler optimum değerleri ifade etmektedir. Bu kodlanmış değerlerin yerine konulması ile optimum değerler edilmiştir.

Çizelge 3.21 Metallerin yağdan ekstraksiyonu için bulunan optimum değerler

	Schiff baz/Z.Yağ (v/w) oranı	Süre (dakika)	Sıcaklık (°C)
Cu	1,021	33,294	27,351
Fe	1,092	89,235	21,354
Ni	1,054	57,364	29,347
Zn	0,986	97,052	26,492

3.4 Standart Referans Madde Kullanılarak Metallerin Yağdan Ekstraksiyonları

Standart referans madde ile hazırlanan temsili yağ örneklerinden her bir metal için ekstraktlar elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktlardaki metal miktarları en uygun FAAS koşullarında, standart katma kalibrasyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Çizelge 3.22 SRM'den ekstrakte edilen metaller

	SRM (mg/kg)	Bulunan Cu (mg/kg)	Bulunan Fe (mg/kg)	Bulunan Ni (mg/kg)	Bulunan Zn (mg/kg)
1	20	19,874	19,874	20,267	19,013
2	20	18,989	20,127	19,354	19,528
3	20	19,269	19,486	20,153	18,772
4	20	19,876	19,087	19,359	20,537
5	20	19,078	19,725	19,772	19,187
6	20	20,045	19,651	19,023	20,318
7	20	19,218	20,843	20,208	19,108
8	20	20,224	19,152	18,769	19,434
9	20	-	19,361	19,643	20,483
10	20	20,188	20,452	20,249	18,904
Ortalama		19,640	19,776	19,68	19,528
% Geri kazanım		98,201	98,879	98,399	97,642
Std. sap.		0,496	0,5644	0,5428	0,6735
% BSS		2,482	2,822	2,7139	3,3673

T testi

T testi ise iki ölçüm takımının sonuçlarını karşılaştırmak veya gerçek değer ile ölçülen değer sonucunu karşılaştırmak için yapılır.

$$\mu-x = \pm t s / N^{1/2} \quad (3.8)$$

den t değeri hesaplanır.

μ = SRM'nin gerçek derişimi

x = SRM'nin deneysel derişimi

s = deneylerin standart sapması

N = serbestlik derecesi

Bulunan t değerlerinin, t_{tablo} değerinden küçük olduğu durumlarda, teorik değer ile ölçülen değer arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı, yani bu değerler arasındaki farklılığının sadece rastgele hatalardan kaynaklandığı kabul edilir. % 95 güven seviyesinde tablodan bulunan t_t değeri 2.26'dır.

Çizelge 3.23 Deneysel t değerleri

	Cu	Fe	Ni	Zn
t_{deneysel}	2,18	1,25	1,86	2,22

Her bir metal için çizelge belirtilen t_{deneysel} değerleri, t_t değerinden küçük olduğu için % 95 güven seviyesinde , teorik değer ile ölçülen değer arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı, yani bu değerler arasındaki farklılığının sadece rastgele hatalardan kaynaklandığı göstermektedir.

3.5 Yağ Örneklerinden Metal Ekstraksiyonu

Merkezi kompozit dizayn ile belirlenen, optimum ekstraksiyon koşullarında yağ örneklerinden ekstrakte edilen metallerin miktarları, alevli atomikabsorpsiyon spektroskopisi (FAAS) ile standart katma yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Zeytin yağı örneklerinde bulunan Cu, Fe, Ni, Zn miktarları Çizelge 3.25'te verilmektedir.

Çizelge 3.24 Zeytinyağı ekstraktlarından Cu, Fe, Ni ve Zn tayinleri

Element	Konsantrasyon (mg / kg)	s	% BSS
Cu	1,13	0,12	10,62
Fe	0,43	0,06	13,95
Ni	0,37	0,03	8,11
Zn	0,41	0,04	9,76

4 SONUÇ VE TARTIŞMA

4.1 MSPA'nin Yapısal Analizi

1. ^1H NMR spektrumları incelendiğinde, 8.35 ppm de gözlenen pik imin protonuna ait olduğundan imin yapısının oluştuğu, ^{13}C NMR spektrumları incelendiğinde, 165.6 ppm de gözlenen pik imin karbonuna ait olduğundan imin yapısının oluştuğu, FT-IR sepektrumları incelendiğinde 1659 cm^{-1} deki pikin 1622 cm^{-1} kayması LC-MS spektrumu incelendiğinde 343,1 g gelen pikin oluşması giriş maddeleri olan 4-metoksi-2-hidroksibezaldehit ile 1,3 diamin propanın tepkimesi sonucunda MSPA'nin oluştuğunu düşündürmektedir. Elementel analiz sonuçları da oluştuğu düşünülen MSPA yapısını desteklemektedir. Elementel analiz sonucu elde edilen veriler ile sentezlenmesi planlanan ligandın teorik elemental analiz değerleri Çizelge 3.1'de, sentezlendiği düşünülen ligandın yapısı Şekil 3.1' de verilmiştir.

2. Schiff bazların suda çözünürlüğünün düşük olması sulu çözeltilerde kullanımında önemli bir sorun oluşturmaktadır. Çalışmamızda sentezlemiş olduğumuz MSPA % 12 (v/v) etilalkol-su karışımında çözülmüştür [6,73,74]. Kurtaran ve arkadaşlarının sentezleyip yapısı aydınlattığı LDM shiff bazı %88 etil (v/v) etilalkol-su karışımında çözülmüştür. LDM'nin ve MSPA yapıları karşılaştırıldığında benzen halkasına bağlanmış olan metoksi grubunun molekülün polaritesini arttırdığı ve bunun da sudaki çözünürlüğü arttırdığı söylenebilir.

Şekil 4.1 N,N'-bis(salisiliden)-2,2'-dimetil-1,3-propandiamin (LDM)

4.2 Kompleks Oluşumu

1. Her bir pH değerindeki spektrumlar incelenirken kompleksin absorbansının ligandın absorbansından yüksek olmasına ve ilgili metalin absorbansının düşük olmasına dikkat edilmiştir. pH absorbans spektrumlarının incelenmesi sonucunda Cu^{2+} iyonu için pH=6'de ve 280 nm dalga boyunda, Fe^{+3} iyonu için pH=8'de ve 281

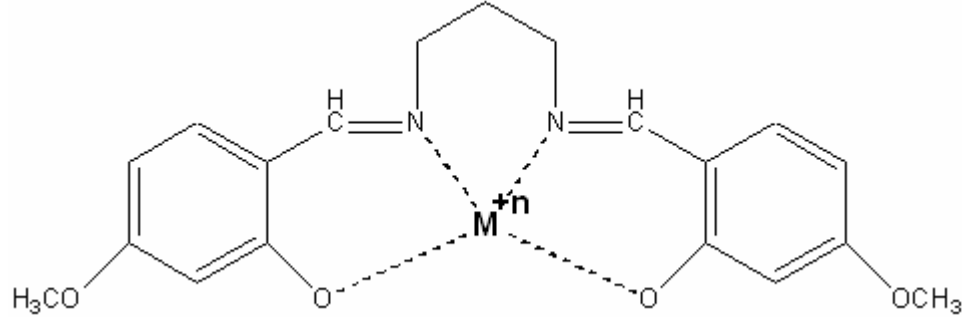
nm dalga boyunda, Ni^{+2} iyonu için $pH=7$ 'de ve 280 nm dalga boyunda, Zn^{+2} iyonu için $pH=7$ 'de ve 280 nm dalga boyunda çalışılması kararlaştırılmıştır.

2. Komplekslerin absorbanlarının zamanlama değişimini incelendiğinde kompleks oluşumları için bekleme süreleri; Cu-MSPA kompleksi için 10 dakika, Fe-MSPA kompleksi için 90 dakika, Ni-MSPA kompleksi için 60 dakika, Zn-MSPA kompleksi için 60 dakika olarak belirlenmiştir.

3. Mol oranları metodunda ligand derişimi sabit tutulup metal derişimin değiştirildiğinde 1:1 metal-ligand mol oranından sonra kompleksin absorban miktarında çok büyük bir değişim olmadığı, metal derişimin sabit tutulup, ligand derişimin değiştirildiğinde elde edilen doğruların ekstrapolasyonu sonucunda metal-ligand mol oranında yaklaşık olarak 1:1'de kesiştiği gözlenmektedir. ligand derişimi sabit tutulup metal derişimin değiştirildiği durumlarda Cu-MSPA'nin 1:1 mol oranından Fe-MSPA'nin, Ni-MSPA'nin ve Zn-MSPA'nin de metal/ligand oranının 1:1 olduğu düşünülmektedir. Metal derişiminin sabit tutulup, ligand derişiminin değiştirildiği grafiklerde oluşturulan doğruların ekstrapolasyonu sonucunda metal-ligand oranları; Cu-MSPA kompleksi için $x=0,81$, Fe-MSPA kompleksi için $x=0,86$, Ni-MSPA kompleksi için $x=1,18$, Zn-MSPA kompleksi oranı $x=1,06$ olarak belirlenmiştir. Sonucun daha net olması için Job metodu ile de metal/ligand oranının belirlenmesine ihtiyaç duyulmuştur.

4. Job metodu ile mol oranları metodu sonucunda metal-ligand oranlarının 1:1 olabileceği tahmininin doğruluğu test edilmiştir. Değişen hacim oranlarında hazırlanan metal-ligand kompleks çözeltilerinde, metal-ligand oranlarının 1:1 olması durumunda artacağı düşünülen bileşenin teorik absorban değeri, deneysel absorban değerlerinden çıkarılarak elde edilen $A_{düzeltilmiş}$ değerleri. Hacim kesirlerine karşı absorban değişimi grafiklerinde oluşturulan doğruların kesiştirilmesi sonucunda Cu-MSPA kompleksinin Cu:MSPA oranı $x=0,99$; Fe-MSPA kompleksinin Fe:MSPA oranı $x=1,14$; Ni-MSPA kompleksinin Ni:MSPA oranı $x=0,99$; Zn-MSPA kompleksinin Zn:MSPA oranı $x=0,97$ olarak belirlenmiştir.

Job metodu ve mol oranları metodunun verileri incelendiğinde metal/ligand oranının 1:1 olduğu görülmektedir. Aşağıdaki şekilde, yapılan çalışmalar sonucunda oluşan komplekslerin tahmin edilen yapısı gösterilmektedir.



Şekil 4.2 MSPA-metal Komplekslerinin olası yapısı

Jeong ve grubu Schiff bazlar ile Ni(II) kompleksleri sentezlemişler ve komplekslerinin yapılarını spektroskopik çalışmalarla aydınlatmışlardır. komplekslerdeki Schiff bazı-Ni metal mol oranının 1:1 olduğunu tespit etmişlerdir [93]. Zhou ve çalışma grubu çalışmalarında Schiff baz ile Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) metallerinin komplekslerini sentezlemiş ve Schiff baz-metal mol oranını 1:1 olduğunu belirtmişlerdir [94]. Garrido ve Reyes, Schiff baz ile Ni(II) ve Cu(II) kompleksleri elde ettikleri komplekslerdeki metal:ligand oranlarının 1:1 olarak belirlemişlerdir [95]. Kurtaran, Schiff baz ile Cu(II) ve Ni(II) kompleksleri sentezlemiştir. Yapılarını aydınlattığı Cu-LDM komplekslerinde Cu²⁺:LDM oranı 1:1 ve 1:2 olarak belirlemiş, Ni-LDM kompleksi için Ni²⁺:LDM oranının 1:1 olduğunu belirtmiştir [72,74]. Baran çalışmasında, Kurtaran'ın sentezleyip, Cu ve Ni ile oluşturduğu komplekslerinin yapılarını aydınlattığı Schiff bazı ile çalışmıştır. UV-VİS spektroskopisi ile Schiff bazının Cu, Fe, Mn, Ni ve Zn metalleri ile komplekslerini spektroskopik davranışlarını incelemiştir. Job metodu ile Cu²⁺:LDM oranlarının 1:1 olarak belirlemiştir. Yine Job metodu ile Fe³⁺:LDM birleşme oranları 1:1 olarak belirlemiştir. Ni-LDM kompleksi nin Mol oranı metodu ile incelemi sonucu Ni²⁺:LDM birleşme oranını 1:1 olarak tespit etmiştir. Zn-LDM kompleksinde metal:ligand oranlarını, Job metodu ile 2:1; mol oranı metodu ile 1:1 olarak belirlemiştir [6].

5. Her bir metal-ligand kompleksi için 7 metalin (Potasyum , mangan, kalsiyum, magnezyum, çinko, demir, nikel ve bakır) girişim etkisi incelenmiştir.

Cu-MSPA kompleksinin absorbansına özellikle Fe^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} iyonlarının pozitif yönde yüksek bir girişim etkisini gösterirken, Ca^{2+} , K^+ iyonunun Cu^{2+} 'nin 10 katlık bir derişime kadar negatif girişim etkisi gösterdiği, daha yüksek derişimlerde ise pozitif girişim etkisi yaptıkları belirlenmiştir. Mg^{2+} iyonunun derişimi Cu^{2+} 'nin derişimine eşit olduğu durumlarda pozitif girişim etkisi gösterirken daha yüksek derişimlerde negatif girişim etkisi gösterdiği gözlenmiştir. Mn^{2+} iyonu başlangıçta küçük şiddette negatif girişim etkisinde bulunurken, Cu^{2+} 'nin derişiminin 5 katı derişimde pozitif girişim yapmaktadır. Daha yüksek derişimlerde ise negatif girişim etkisi göstermektedirler.

Fe-MSPA kompleksinin absorbansına Mg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} ve Ca^{2+} iyonları negatif girişim etkisi göstermektedir. Mn^{2+} iyonu ise Fe^{3+} 'nin derişiminin 10 kat derişimine kadar negatif girişim etkisi gösterirken artan derişimlerde pozitif girişim etkisi göstermektedir. K^+ pozitif girişim etkisi göstermektedir.

Ni-MSPA kompleks absorbansına Mn^{2+} çok düşük bir girişim etkisi vardır. Ca^{2+} iyonu Ni^{2+} 5 kat derişimine kadar pozitif girişim etkisi gösterirken, artan derişimlerde negatif girişim etkisi göstermektedir. $K^+ > Ca^{2+} > Cu^{2+} > Mg^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{3+}$ iyonları sırasına göre negatif girişim etkisi göstermektedirler.

Zn-MSPA kompleks absorbansına $Mn^{2+} > Ni^{2+} > Fe^{3+} > Mg^{2+}$ iyonları pozitif girişim etkisinde bulunmaktadır. K^+ ve Ca^{2+} iyonları Zn^{2+} iyon derişiminin 5 kat derişimine kadar pozitif girişim etkisi gösterirken, artan derişimlerde negatif girişim etkisi göstermektedirler. Cu^{2+} iyonu ise negatif girişim etkisi göstermektedir.

Cu-MSPA kompleksinin absorbansına Zn^{2+} ve Fe^{3+} derişimi Cu^{2+} 'in derişimine eşit olduğu derişim sınırından sonra ölçümü etkileyebilecek şiddette pozitif girişim etkisi göstermektedir. Mn^{2+} ve Mg^{2+} iyonlarının derişimi, Cu^{2+} 'in derişiminin 5 katından küçük olduğu derişimlerde çözelti absorbansına yaptığı negatif girişim gözardı edilebilir seviyededir. K^+ ve Ca^{2+} iyonları Cu^{2+} 'in

derişiminin 100 katından küçük olduğu derişimlerde çözelti absorbasına yapmış oldukları girişimler de gözardı edilebilecek seviyededir. Ni^{2+} iyonunun derişimi Cu^{2+} 'ın derişiminin 10 katından büyük olduğu derişimlerde, çözelti absorbasına ciddi bir girişim etkisi göstermektedir.

Ni^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarının derişimi Fe^{3+} iyon derişimine eşit olduğu derişim değerinden büyük derişimlerde, Fe-MSPA kompleksinin absorbasına yüksek bir girişim etkisi göstermektedir. K^+ iyon derişimi Fe^{3+} iyon derişiminin 5 katından büyük olduğu derişim değerinde, Fe-MSPA kompleksinin absorbasına gözardı edilemeyecek bir girişim etkisine sahiptir. Mn^{2+} iyon derişimi, Fe^{3+} iyon derişiminin 10 katından küçük olduğu derişim değerine kadar Fe-MSPA kompleksinin absorbasına yapmış olduğu girişim etkisi gözardı edilebilir.

Cu^{2+} , Ca^{2+} , K^+ iyonlarının derişimi Ni^{2+} derişiminin 5 katından küçük olduğu derişimlerde; Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} iyon derişimleri 10 katından küçük olduğu derişimlerde Ni-MSPA kompleks absorbasına yapmış oldukları girişim gözardı edilebilir. Mn^{2+} iyonun Ni-MSPA kompleks absorbasına ciddi bir girişim etkisi yoktur.

Mg^{2+} ve Mn^{2+} iyonlarının, derişimleri Zn^{2+} iyon derişimine eşit olduğu derişimden küçük değerlerde Zn-MSPA kompleks absorbasına yaptıkları girişim ihmal edilebilir düzeydedir. Fe^{3+} , Ni^{2+} , Ca^{2+} , K^+ iyonları, derişimleri Zn^{2+} iyon derişiminin 5 katından küçük olduğu derişim değerlerinde Zn-MSPA kompleks absorbasına ihmal edilebilir düzeyde girişim etkilerine sahiptirler. Cu^{2+} iyonunun Zn-MSPA kompleks absorbasına yapmış olduğu girişim, derişimi Zn^{2+} iyon derişiminin 10 katından küçük olduğu derişim değerlerinde gözardı edilebilir.

6. Cu-MSPA'nın kompleks oluşum sabiti $1.37 \times 10^8 \pm 2.23 \times 10^7$, Fe-MSPA'nın kompleks oluşum sabiti $2.94 \times 10^9 \pm 2.80 \times 10^8$, Ni-MSPA'nın kompleks oluşum sabiti $6,36 \times 10^9 \pm 1,16 \times 10^9$, Zn-MSPA'nın kompleks oluşum sabiti $7.17 \times 10^{10} \pm 4.09 \times 10^9$ olarak hesaplanmıştır. Baran çalışmasında yapısı MSPA'ya benzerlik gösteren LDM'nin bazı metaller ile oluşturduğu komplekslerin oluşum sabitlerini belirlemiştir [6]. Belirlemiş olduğu kompleks oluşum sabitleri Çizelge 4.1

verilmektedir. MSPA-metal komplekslerinin oluşum sabitlerinin LDM-metal komplekslerinin oluşum sabitlerinden daha büyük olmasının sebebi, benzen yapısında bulunan metoksi grupları halkanın ve dolayısı ile MSPA'nın elektron yoğunluğunu arttırmıştır. Artan elektron yoğunluğu, MSPA'nın nükleofilik karakterini artırmış ve bunun sonucunda daha kararlı kompleksler oluşturmasını sağlamıştır.

Çizelge 4.1 LDM'nin bazı metallerle oluşturduğu komplekslerin oluşum sabitleri

Kompleks	Kol	s
Cu-LDM	$6,8 \times 10^5$	$0,6 \times 10^5$
Zn-LDM	$2,0 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$
Fe-LDM	$2,0 \times 10^6$	$0,1 \times 10^6$
Ni-LDM	$2,7 \times 10^7$	$0,5 \times 10^7$

7. Merkezi kompozit dizayn deneyleri sonucunda ekstraktlara ait yanıt değerlerin işlenmesi bir dizi Microsoft Excel işleminin sonucunda önce b değerleri bulunmuş ve bu değerlerin işlenmesi sonucunda denlemler elde edilmiş ve bu denklemlerin DERİVE 6 matematiksel programı ile çözülmesi sonucunda X_1 , X_2 , X_3 kod değerleri, bu değerlerden de MSPA-metal (Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) komplekslerinin oluşumunda kullanılacak optimum değerler elde edilmiştir. Kompleklerin oluşu için optimum koşullar Cu-MSPA, Fe-MSPA, Ni-MSPA, Zn-MSPA kompleksi için Schiff baz/Z.Yağ (v/w) oranı sırası ile 1,021, 1,092, 1,054, 0,986; karıştırma süresi 33,294 dakika, 89,235 dakika, 57,364 dakika, 97,052 dakika; sıcaklık 27,351 °C, 21,354 °C, 29,347 °C, 26,492 °C olarak belirlenmiştir.

4.3 Yöntemin Doğruluğu ve Kesinliği

Merkezi kompozit dizayn ile belirlenen optimum koşullarda standart referans madde ile hazırlanan temsili yağ örneklerinden ekstrakte edilen metallerin analizi, alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi (FAAS) ile standart katma kalibrasyon yöntemi yapılmıştır. Standart referans madde ile yapılan geri kazanım deneyleri sonucunda Cu'nun geri kazanımının $98,20 \pm 2,48$, Fe'nin geri kazanımının $98,88 \pm 2,83$, Ni'nin geri kazanımının $98,40 \pm 2,72$ ve Zn'nun geri kazanımının $97,64 \pm 3,37$ olduğu belirlenmiştir.

Analiz sonuçlarının istatistiksel olarak incelemesi sonucu, Cu, Fe, Ni, ve Zn metallerinin MSPA ile yağ örneklerinden ekstrakte edilerek FAAS ile tayininde, teorik değer ile ölçülen değerlerin kesinlikleri ve değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığını yani bu değerler arasındaki farklılığının sadece rastgele hatalardan kaynaklandığı göstermiştir.

4.4 Zeytinyağı Örneklerinden Metal Ekstraksiyonu

Merkezi kompozit dizayn deneyleri sonucunda, belirlenen optimum koşullarda SRM ile geri kazanım çalışmaları yapılmış ve geri kazanım değerleri yöntemin uygulanabilirliğini göstermiştir. Yöntemin, doğal yağ örneklerine de uygulanabilirliğinin test edilmesi amacı ile zeytin yağından metal ekstraksiyon deneyleri yapılmıştır. Deneyler sonucunda uygulamada (ekstraksiyonda, yağ ile etilalkol-su karışımının fazlarının ayırımında) bir sorun ile karşılaşılmamıştır. Sonuç olarak yöntem, zeytinyağından metallerin ekstrakte ederek miktarlarının belirlenmesinde uygulanabilirliği kolay, pratik bir yöntemdir.

Zeytinyağı örneklerinden ekstrakte edilen metallerin miktarı alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi ile standart katma yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Analiz sonucunda, zeytin yağındaki Cu, Fe, Ni ve Zn miktarlarının, sırası ile $1,13 \pm 0,12$ mg / kg, $0,43 \pm 0,06$ mg / kg, $0,37 \pm 0,03$ mg / kg, $0,41 \pm 0,04$ mg / kg olduğu belirlenmiştir. Literatürde, yağ örneği içinde 0,1 – 65 ppm Fe, 0,7-1,2 ppm Cu,

2,65-3,00 ppm Zn, ~0,3 ppm Ni olduğu yer almaktadır [7,11,12]. Toplam metal analiz sonuçları literatürde verilen değerlerden çok farklılık göstermemekte ve genel anlamda örtüşmektedir.

5. KAYNAKLAR

- [1] Viola, P. ve Audisio, M., "Olive Oil and Health. International Olive Oil Council", (1987), 34.
- [2] Anonymous, From The Olive Tree To Olive Oil..., International Olive Oil Council, (1992), 48.
- [3] Gerber, M., "Olive Oil, Monounsaturated Fatty Acid and Cancer", *Cancer Letters*, (1997), 114, 91-92
- [4] Yaşar, S.B., Zeytin ve Zeytinyağında Magnezyumun Fraksiyonlama Çalışmaları, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2001)
- [5] Yaşar, S.B., Güçer, Ş, "Fractionation Analysis of Magnesium in Olive Products by Atomic Absorption Spectrometry" *Analitica Chimica Acta*, (2004), 505, 43-49.
- [6] Baran, E.K., [N,N'-Bis(Salisiliden)-2,2'-Dimetil-1,3-Propandiamin] Komplekslerinden Yararlanılarak Zeytinyağında Metal Analizleri, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2006)
- [7] Anonim, "Mucizevi Sıvı Zeytinyağı", *GıdaTech Gıda Teknolojisi ve Tarım Dergisi*, (1998), 1/1.
- [8] Kiritsakis ve Min, Flavor Chemistry of Olive Oil. 11:196-221. AOCS, Champaign IL, USA, (1989).
- [9] Özdemir, Y., Yağların İşlenmesi Sırasında Meydana Gelen Değişikler, (Bitkisel Yağlar ve Sorunları Semineri TÜBİTAK-BUTAL Bursa-2002)
- [10] Anonim, Characteristics of The Composition of Olive Oil, (1981), IOOC T.15/Doc.28.
- [11] <http://www.zae.gov.tr/zeytinyagi/5.asp>

- [12] Çetin, M., Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Bursa, Bitkisel Yağlar ve Bileşimleri, (Bitkisel Yağlar ve Sorunları Semineri TÜBİTAK-BUTAL Bursa-2002)
- [13] Çetin, M., “Bitkisel Yağlar ve Bileşimleri”, U.Ü. Kimya Bölümü, BURSA
- [14] Ataman, P., “ Dengeli Beslenmede Zeytin yağının Önemi”, 1.Uluslararası Altınoluk “Antandros” Zeytincilik sempozyumu Kitabı, Atlantis İletişim Tasarımı, Ankara, (2000), 9-20.
- [15] Quigley, M.N., “The Chemistry of Olive Oil”, *Journal of Chemical Education*, (1992), 69, 4, 332-335
- [16] <http://www.agri.ankara.edu.tr/bahce/pratikbilgiler/meyve/zeytin/literatur.htm>
- [17] <http://www.netpaylasim.net/archive/index.php/t-8660.html>
- [18] Lipton S.A., Rosenberg P.A., “Excitatory aminoacids as a final common pathway for neurological disorders”, *N Eng J Med*, 1994, 330, 613–622,
- [19] Choi D.W., “Excitotoxic cell death”, *J Neurobiol* (1992), 23, 1261–1276,
- [20] Agrawal S.K., Fehling M.G., “Role of NMDA and non-NMDA inotropic reseptors in traumatic spinal cord axonal injury”, *J Neurosci*, (1997), 7, 1055–1063,
- [21] Arvelakisa, S., Gehrmanb H., Beckmannc, M., Koukio, E.G., “Agglomeration problems during fluidized bed gasification of olive-oil residue: evaluation of fractionation and leaching as pre-treatmentsq” , *Fuel*, (2003), 1261–1270
- [22] McCord J., “Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury”, *N Eng J Med*, (1985), 312, 159-163
- [23] Miguel J., Fleming J., “Antioxidation ,metabolic rate,and aging in Drosophila”, *Arch Geron Geriatr*, (1982), 1-159
- [24] Rastelli, R., Amati, A., “Spettrofotometria di assorbimento atomico. Pirincipi e tecniche di applicazione all’analisi delle sostanze grasse”, *La Rivista Italiana Delle Soostanze Grasse*, 2, (1969), 62-65.
- [25] Calapaj, R., Chiricosta, S., Saija, G., Bruno, E., “Method for the Determination of Heavy Metals in Vegetable Oils by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy”, *Atomic Spectroscopy*, (1988), 9, 4, 107-109.

- [26] Slikkerveer, F.J., Braad, A.A., Hendrikse, P. W., “Determination of Phosphorus in Edible Oils by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy”, *Atomic Spectroscopy*, (1980), 1, 1, 30-32.
- [27] Dalen, V.G., “Determination of Cadmium in Edible Oils and Fats by Direct Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry”, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, (1996), 11, 1087-1092.
- [28] Moffet, J. H., Brodie, K.G., “The Determination of Trace Metals in Palm Oil Using the GTA-96 Graphite Tube Atomizer”, *Varian Atomic Absorption*, AA-55, (1985), 1-3.
- [29] Kowalewska, Z., “Chemical Modification in Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry Determination of Nickel And Vanadium in Organic Solutions of Oil Petroleum Fractions, Research Development Center For Refinery Industry, Chemikow st.5, 09_411 PŁock, Poland.
- [30] Kowalewska, Z., Bulska, E., Hulanicki, A., “Organic Palladium and Palladium-Magnesium Chemical Modifiers in Direct Determination Lead in Fractions from Distillation of Crude Oil by Electrothermal Atomic Absorption Analysis”, *Spectrochimica Acta Part B*, (1999), 54, 835-843.
- [31] Guillaumin, R., “Determination of Calcium and Magnesium in Vegetable Oils and Fats by Atomic Absorption Spectrophotometry”, *Atomic Absorption Newsletter*, (1966), 5, 2, 19-21
- [32] Vioque, A., Albi, T., Albi, M.A., “Elementos Trazas En Grasas Comestibles. XI. Desmetalización Directa de Aceites de Oliva, Mediante Resinas Intercambiadoras de Cationes”, *Grasas y Aceites*, (1964), 8-12 .
- [33] Albi, M.A., Vioque, A., Albi, T., “Elementos Trazas En Grasas Comestibles. XIV. Aplicación de La Desmetalización a aceites de Oliva Refinables”, *Grasas y Aceites*, (1968), 19, 3, 81-88.
- [34] Albi, M.A., Vioque, A., Albi, T., “Elementos Trazas En Grasas Comestibles. XV. Empleo de Resinas Intercambiadoras En El Analisis de Trazas Metalicas”, *Grasas y Aceites*, (1974), 25, 5, 292-296.
- [35] Castillo, J.R., Jimenez, M.S., Ebdon, L., “Semi-quantitative Simultaneous Determination of Metals in Olive Oil Using Direct Emulsion Nebulization”, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, (1999), 14, 1515-1518.
- [36] Cichelli, A., Oddone, M., Specchiarello, M., “Sul Contenuto Di Metalli in Tracce in Alcuni Oli Alimentari”, *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, (1992), LXIX, 401-407.

- [37] Serrat, F.B., Cosin, M.F.Z., Pascual, P.R.C., "Determination of Fat in Foods by Compleximeric Back-Titration with Ethylenediaminetetraacetic Acid", *Analyst*, (1989), 114, 485-487.
- [38] Marguez-Ruiz, G., Jorge, N., Martin-Polvillo, M., Dobarganes, M.C., "Rapid Quantitative Determination of Polar Compounds in Fats and Oils by Solid-phase Extraction and Size Exclusion Chromatography Using Monostearin As Internal Standard", *Journal of Chromatography A*, (1996), 749, 55-60
- [39] Toschi, T.G., Christie, L.S., Conte, L.S., "Capillary Gas Chromatography Combined with High Performance Liquid Chromatography for the Structural Analysis of Olive Oil Triacylglycerols", *Journal of High Resolution Chromatography*, (1993), 16, 725-730.
- [40] Chiricosta, S., Saija, G., Calapaj, R., Bruno, E., "Rappresentazione Tridimensionale di Parametri Spettrofotometrici Derivativi di Secondo Ordine di Oli Vegetali", *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, (1993), LXX, 549-552.
- [41] Nouros, P.G., Georgiou, C.A., Polissiou, M.G., "Determination of Olive Oil 2-thiobarbituric Acid Reactive Substance by Parallel Flow Injection", *Analitica Chimica Acta*, (2000), 417, 119-124.
- [42] Anthemidis, A.N., Arvanitidis, V., Stratis, J.A. "On-Line Emulsion Formation of Edible Oils and Multielement Analysis by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES)", 4th Aegean Analytical Chemistry Days, Kuşadası/Aydın- TURKEY, (2004), 475.
- [43] Prevot, A., "Determination of Sodium and Potassium in Oils and Fats." *Atomic Absorption Newsletter*, (1966), 5, 2, 13-16
- [44] Solinas, M., Angerosa, F., Cichelli, A., "Determinazione Del Contenuto Di Metalli Negli Oli Vergini Di Oliva Prodotti Con Diverse Tecniche", *Amm. Ist. Sper Elaiot*, (1984), 87
- [45] Lelievre, C., Hennequin, D., Lequerler, J. F., Barillier, D., "A Rapid Method for the Direct Determination of Copper and Iron in Butter by GFAAS", *Atomic Spectroscopy*, (2000), 21(1), 23-29
- [46] House, W.A., *Field Crops Reserch*, (1999), 60, 115-141
- [47] www.sealvit.com

- [48] Diaz , M. L. N., Elorriaga,R., Canteros, A., Andý'a, J.B.C., *Nephrol Dial Transplant*, (1998), 13, 23-28.
- [49] <http://tr.wikipedia.org>
- [50] Los Alamos National Laboratory
- [51] Peereboom C. J. W, *The Science of The Total Environment*, (1985), 42, 1-27.
- [52] <http://www.lenntech.com/periodic-chart.htm>
- [53] www.atsdr
- [54] Addemir O., Açma E., Arslan C., Çinko, Sistem Yayıncılık, İstanbul, 1994.
- [55] Gray S.L., Hanlon J.T., Landerman L.R., Artz M., Schmader K.E., Fillenbaum G.G., Is antioxidant use protective of cognitive function in the community-dwelling elderly? *The American Journal of Geriatric pharmacotherapy*, (2003), 3-10
- [56] Tural, H., *Analitik Kimya*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir, (2004).
- [57] Skoog, G.A., West, D.M.,Holler, F.J., *Fundamentals of Analytical Chemistry*, Sounders College Publishing, USA, (1992).
- [58] Fiefield, F.W., Kealey, D., *Principles and Practice of Analytical Chemistry*, International Textbook company, LONDON, (1983)
- [59] Perrin, D. D., *Organic Complexing Reagens: Structure, Behavior, and Application to Inorganic Analysis*, Interscience Publishers, NEW YORK, (1964)
- [60] Kaneko, E., Hoshino, H., Yotsuyanagi, T., “A New Preconcentration Method for Metal Chelates with Micro Volume of Water Miscible Solvent and Its Application to the Determination of Cobalt by Reserved-Phase High-Performance Liquid Chromatograph”, *Chemistry Letters*, (1992), 955-958.
- [61] Tani, H., Kamidate, T., Watanabe, H., “Micelle-mediated Extraction”, *journal of Chromatography A*, (1997), 780, 229-241.
- [62] Cordero, B.M., Pavon, J.L.P., Pinto, C.G., Laespada, M.E.F., “Cloud pint Methodology: A New approach for Preconcentration and Separation in Hydrodynamic Systems of Analysis”, (1993), 11, 1703-1710.

[63] Cesur, H., “Solid-Phase Extractions with Freshly Precipitated Metal-Diethyldithiocarbamates and Spectrophotometric Determination of Copper”, 4th Aegean Analytical Chemistry Days, Kuşadası/Aydın- TURKEY, (2004), 131.

[64] Bakırcıoğlu, Y., Bakırcıoğlu, D., Tokman, N., “A New Preconcentration/Separation Method for Determination of Cobalt, Iron and Lead Using Chromosorb-103 Resin by Flame Atomic Absorption Spectrometry”, 4th Aegean Analytical Chemistry Days, Kuşadası/Aydın- TURKEY, (2004), 161.

[65] Gündüz, T., Kızılkılıç, N., IV Bilim Kongresi, 5-6 Kasım 1973

[66] Kurtaran, R., Aldehit anyonu yardımı ile çok çekirdekli koordinasyon bileşiklerinin hazırlanması ve analitik amaçla kullanılabilirliklerinin araştırılması, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara, (2002).

[67] Niasari, M.s., Amiri, A., “Synthesis and characterization of alumina-supported Mn(II), Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes of bis(salicylaldiminato)hydrazone as catalysts for oxidation of cyclohexene with tert-butylhydroperoxide”, *Applied Catalysis A*, (2005), 290, 46–53.

[68] Karvembu, R., Natarajan, K., “Synthesis, characterization and catalytic studies of ruthenium(II) Schiff base complexes”, *Transition Metal Chemistry*, (2005), 30, 330–333.

[69] Sallam, S.A., “Synthesis, characterization and thermal decomposition of copper(II), nickel(II) and cobalt(II) complexes of 3-amino-5-methylpyrazole Schiff-bases”, *Transition Metal Chemistry*, (2005), 30, 341–351

[70] Vasil’chenko, I.S., Kuz’menko, T.A., Shestakova, T.E., Borisenko, R.N., Divaeva, L.N., Burlov, A.S., Borisenko, N.I., Uflyand, I.E., Garnovskii, A.D., “New Ambidentate Ligands—Azomethin Derivatives of 1-Amino-3-methylbenzimidazole-2-thion”, *Russian Journal of Coordination Chemistry*, (2005), 31, 747–751.

[71] Gudasi, K.B., Patil, S.A., Vadavi, R.S., Shenoy R.V., Patil M.S., “Synthesis and spectral characterization of some transition metal complexes containing pentadentate SNNNS donor heterocyclic Schiff base ligands”, *Transition Metal Chemistry*, (2005), 30, 10-14

[72] Tatar, L., Nazır, H., Gümüşer, M., Kale, C., Atakol, O., “Synthesis, Crystal Structure and Electrochemical Behaviour of Water Soluable Schiff Bases”, *Z.Kristallorg*, (2005), 220, 639-642

- [73] Arıcı, C., Ercan, F., Kurtaran, R., Atakol, O., [N,N' - Bis(salicylidene) - 2,2 – dimethyl-1,3-propanediaminato] nickel(II) and [N,N'-Bis(salicylidene)-2,2-dimethyl-1,3-propanediaminato]copper(II), *Acta Crystallographica section C*, (2001), C 57, 812-814.
- [74] Arıcı, C., Ercan, F., Kurtaran, R., Atakol, O., Tahir, M.N., Ülkü, D., “Crystal Structure of Bis- $\{(\mu\text{-nitrato})\text{-}[\mu\text{-N,N}'\text{-Bis(salicylidene)-1,3-propanedi-aminato}]\text{-bis(dimethylformamide)nickel(II)}\}$ nickel(II). Dimethyl Formamide Solvate, *Analytical Sciences*, (1999), 15, 933-934.
- [75] Mahajan, R.K., Kaur, I.V, Sharma, V., Kumar, M., “Sensor for Silver (I) Ion Based on Schiff-base-p-tert-butylcalix[4]arene” *Sensor*, (2002), 2, 417-423.
- [76] Shamspur, T., Mashhadizadeh, M.H., Sheikhshoae, I., “Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Silver Ion After Preconcentration on Octadecyl Silica Membrane Disk Modified with Bis[5-((4-nitrophenyl)azosalicylaldehyde)] As a New Schiff Base Ligand”, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, (2003), 18, 1407-1410.
- [77] Tantarü, G., DOrneau, V., Stan, M., ”Schiff Bis Bases :Analytical Reagents. II : Spectrophotometric Determination Of Manganese From Pharmaceutical Forms”, *Journal of Pharmaceutical And Biomedical Analysis* , (2002), 27, 5 , 827-832.
- [78] Oshima, S., Hirayama, s., Kubono, K., Kokusen, H., Honjo, T., ”Ion-pair Extraction of Divalent Metal Cations Using Neutral Di-Schiff Base Ligands Having Pendant Arms” *Analytical Sciences*, (2001), 17, 1287-1290.
- [79] Mashaly, M., Bayoumi, H.A., Taha, A., “Metal Complexes of Triazine Schiff Bases Spectroscopic and Thermodynamic Studies of Complexation of Some Divalent Metal Ions with 3-[2-(1-acetylthylidene)hydrazino]-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine”, *Chemistry Papers*, (1999), 5, 299-308.
- [80] Seleem, H. S., El-Shetary, B. A., Khalil, S. M. E., Shebl, M., “Potentiometric and spectrophotometric Studies of the Complexation of Schiff-base Hydrazones Containing the Pyrimidine Moiety” *J. Serb. Chem. Soc.*, (2003), 68(10), 279-748.
- [81] Erçağ, A., Canlıca, M., Turak, F., Özgür, M., Koç, E., Bozdoğan, A., “Potentiometric Determination of Protonation and Stability Constants of New Schiff Base (HNAT) and Its Metal Complexes”, 4th Aegean Analytical Chemistry Days, Kuşadası/Aydın- TURKEY, (2004), 521.
- [82] Turak, F., Özgür, M. Ü., Erçağ, A., Koç, E., Bozdoğan, A., “Temperature and Medium Effect on the Protonation Constants of Schiff Base (Ise) Derived from 4-Ethylaniline – Isatin and the Stability Constants of Its Metal (Cu^{2+} , Ni^{2+}) Complexes”, 4th Aegean Analytical Chemistry Days, Kuşadası/Aydın- TURKEY, (2004), 496.

- [83] Erden, İ., Demirhan, N., Avcıata, U., “Potatiometric Studies of Copper(II), Nickel(II) and Cobalt(II) Complexes of Schiff Base Ligand Derived from Benzo-15-Crown-5”, 4th Aegean Analytical Chemistry Days, Kuşadası/Aydın- TURKEY, (2004), 478.
- [84] Karaoğlan, G. K., Avcıata, U., Demirhan, N., “Potatiometric Studies of Copper(II), Nickel(II) and Cobalt(II) Complexes of Complexes of the 5,6-Bis (Salisilideneneiminostearat)-1,10-phenanthroline”, 4th Aegean Analytical Chemistry Days, Kuşadası/Aydın- TURKEY, (2004), 457.
- [85] Kara, D., Bazı Metal Katyonlarının N, N'-Bis (2-Hidroksi-5-Bromo-Benzil)1,2-Diaminopropan ile Çözücü Exstaksiyonu ve Uygulamaları, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir,(2001).
- [86] Liu, G-D., Liao, J-P., Huang, S-S., Shen, G-L., Yu, R-Q., “Fluorescence Spectral Study of Interaction of Water-soluble Metal Complexes of Schiff-base and DNA”, *Analytical Sciences*, (2001), 17, 1031-1036.
- [87] Pessoa, J.C., Cavaco, I., Correia, I., Duarte, M.T., Gillard, R.D., Henriques, R.T., Higes,F.J., Madeira, C., Tomaz, I., “Preparation and characterisation of new oxovanadium(IV) Schiff base complexes derived from amino acids and aromatic o-hydroxyaldehydes”, *Inorganic Chemica Acta*, 1999, 293, 1-11
- [88] Chandra, S., Gupta, L. K., “Modern Spektroskopik Techniques in the Characterization of Schiff Base Macrocyclic Ligand and Its Complexes with Transition Metals”, *Spectrochimica Acta*, (2005), A-62, 307-312.
- [89] Otto, M., *Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry*, Weinheim, NEW YORK, (1999).
- [90] Demir, C., *Kemometri Semineri Ders Notları*, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, BALIKESİR, (2004)
- [91] Morgan, E., *Chemometrics: Experimental Design*, Jhon Wiley & Sons Ltd, CHICHESTER, (1991).
- [92] Perkampus, H.H., *UV-VIS Spectroscopy And Its Applications*, Springer Verlag, (1992)
- [93] Jeong, B-G., Rim, C-P., Kook, S-K., Chjo, K-H., Choi, Y-K., “Synthesis and Electrochemical Studies of Ni(II) Complexes with Tetradentate Schiff Base Ligands”, *Korean Chemical Society*, (1996), 17, 173-179.

[94] ZhouY-M., Ye, X-R., Xin, F-B., Xin, X-Q., "Solid State Self-Assembly Synthesis of Cobalt(II), Nickel(II), Copper(II) and Zinc(II) Complexes with A Bis-Schiff Base", *Transition Metal Chemistry*, (1999), 24, 118-120.

[95] Soto-Garrido, G., Salas-Reyes, V., "Salen and Tetrahydrosalen Nickel(II) and Copper(II) Complexes", *Transition Metal Chemistry*, (2000), 25, 192-195.

6. EKLER

EK-1 MSPA'nın ^1H NMR spektrumu (0-18 ppm)

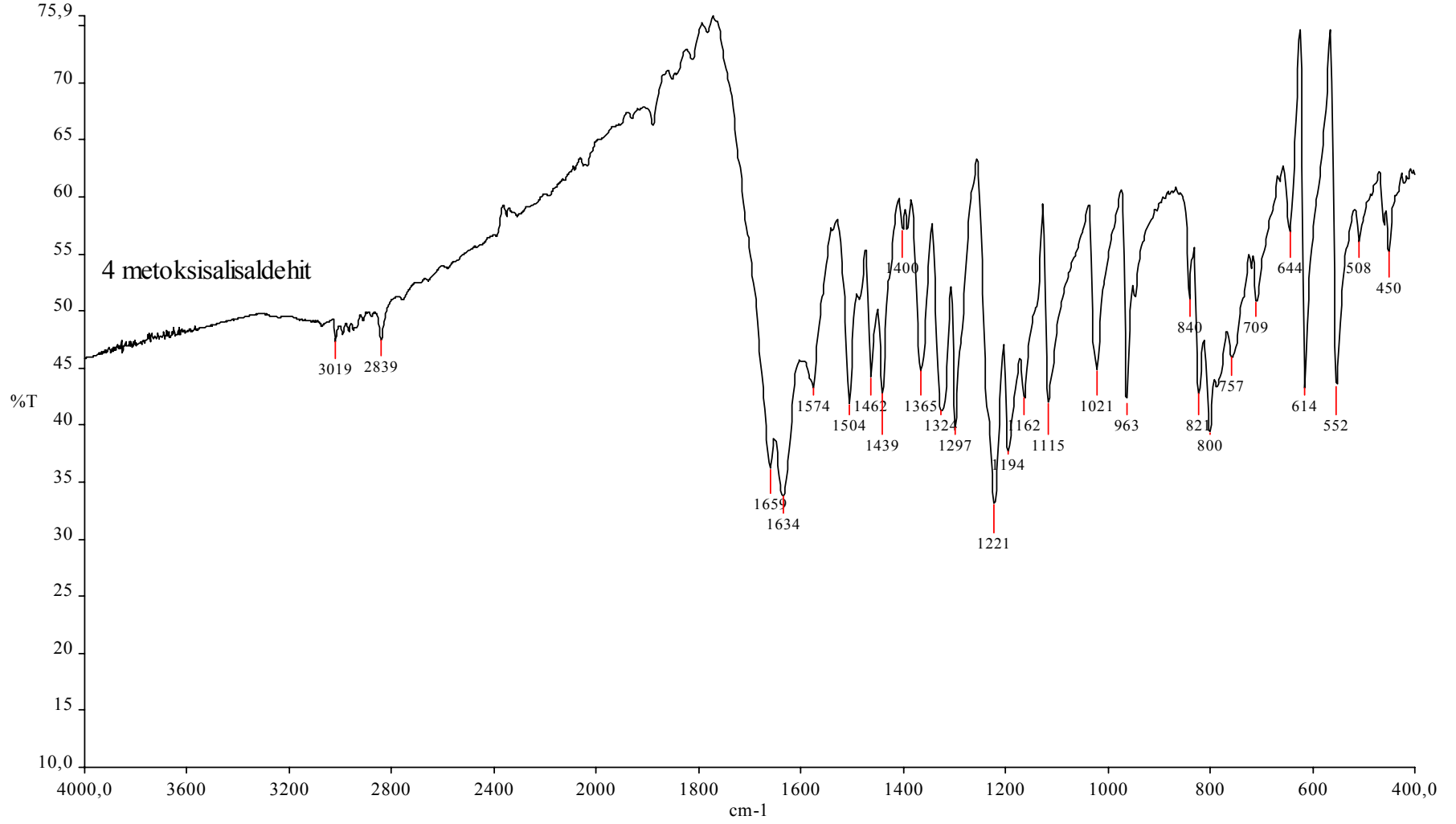
EK-2 MSPA'nın ^1H NMR spektrumu (7.6-8.8 ppm)

EK-3 MSPA'nın ^1H NMR spektrumu (2-6 ppm)

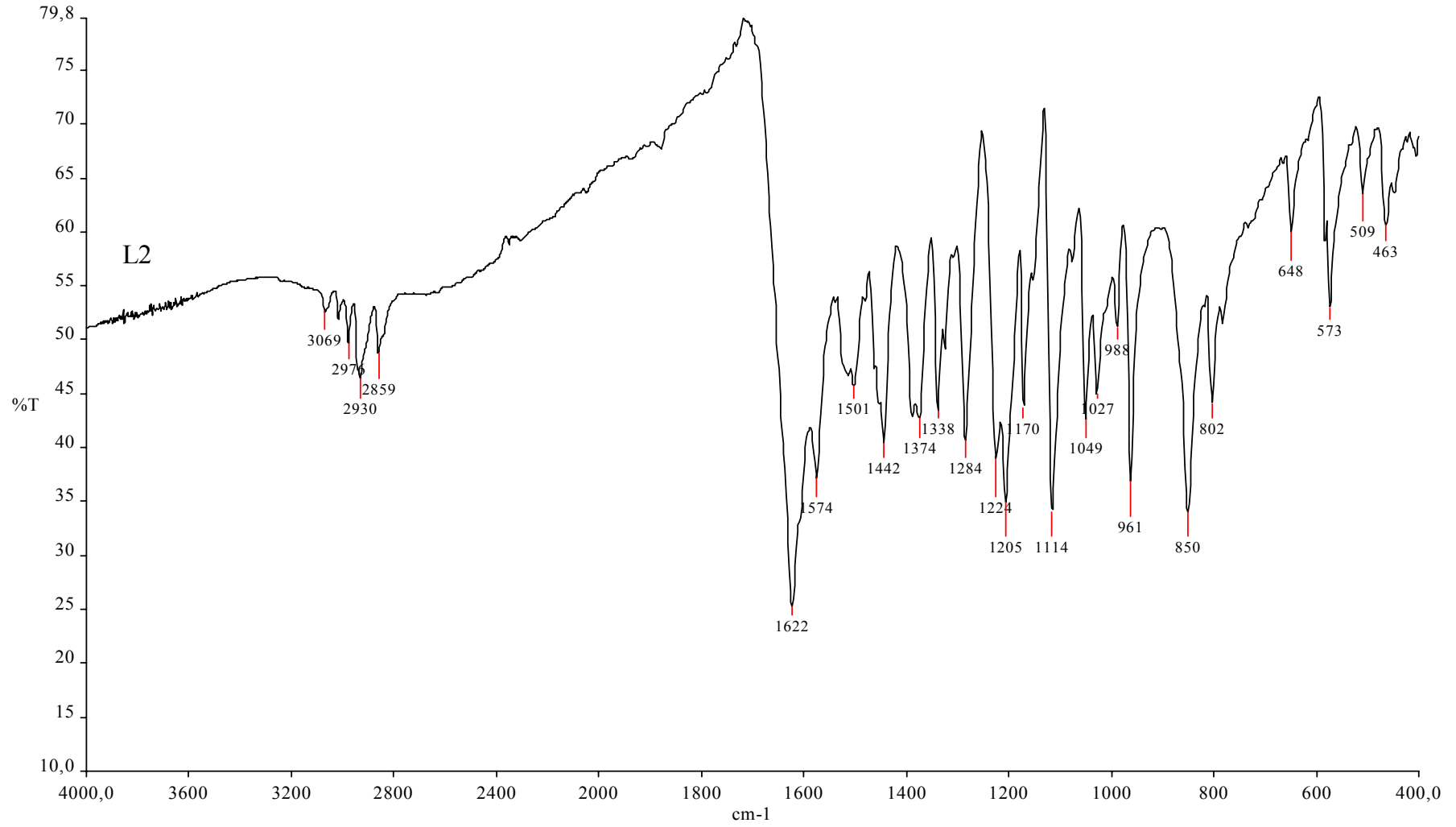
EK-4 MSPA'nin ^{13}C NMR spektrumu (0-200 ppm)

EK-5 MSPA'nin ^{13}C NMR spektrumu (90-170 ppm)

EK-6 MSPA'nın giriş maddelerinden 2-hidroksi-4-metoksibenzaldehit (4-metoksisalisilaldehit)'nin FT-IR spektrumu



EK-7 MSPA'nın FT-IR spektrumu



EK-8 MSPA'nın LC-MS spektrumu

