

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



**KATILAŞTIRILMIŞ YÜZEN ORGANİK DAMLA DİSPERSİYONUNUN
SIVI-SIVI MİKROEKSTRAKSİYONU İLE İNDOMETAZİN'İN
ÖNDERİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NESRİN TOPAÇ

BALIKESİR, OCAK - 2016

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



**KATILAŞTIRILMIŞ YÜZEN ORGANİK DAMLA DİSPERSİYON
SIVI-SIVI MİKROEKSTRAKSİYONU İLE İNDOMETAZİN'İN
ÖNDERİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NESRİN TOPAÇ

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Derya KARA FISHER (Tez Danışmanı)

Prof. Dr. Nalan TEKİN

Doç. Dr. Cennet KARADAŞ

BALIKESİR, OCAK - 2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

NESRİN TOPAÇ tarafından hazırlanan “KATILAŞTIRILMIŞ YÜZEN ORGANİK DAMLA DİSPERSİF SIVI-SIVI MİKROEKSTRAKSİYONU İLE İNDOMETAZİN’İN ÖNDERİŞTİRİLMESİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 18.01.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


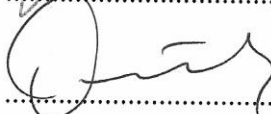
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Derya KARA FISHER

Üye
Prof. Dr. Nalan TEKİN

Üye
Doç.Dr. Cennet KARADAŞ


.....

.....

.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2015/198 nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

**KATILAŞTIRILMIŞ YÜZEN ORGANİK DAMLA DİSPERSİF SIVI-SIVI
MİKROEKSTRAKSİYONU İLE İNDOMETAZİN'İN
ÖNDERİŞTİRİLMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
NESRİN TOPAÇ
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. DERYA KARA FISHER)

BALIKESİR, OCAK - 2016

İndometazin ilacının önderiştirilmesi amacı ile katılaştırılmış yüzen organik damla dispersif SIVI-SIVI mikroekstraksiyonu yönteminin seçilmesinde; uygulama kolaylığı, düşük maliyet, yüksek önderiştirme faktörü sağlaması ve yüksek geri kazanım sunması etkili olmuştur.

Bu çalışmanın amacı; ekstraksiyon çözücüsü olan 1-undekanol kullanılarak dere suyu, çeşme suyu ve idrar örneklerinde indometazin ilacının önderiştirilmesi ve tayini amacı ile katılan organik damla dispersif SIVI-SIVI ekstraksiyonu yönteminin geliştirilmesidir. İyi bir ekstraksiyon verimi elde edilebilmek için ilk olarak; pH, dispersif çözücü olan etanol hacmi, ekstraksiyon çözücüsü olan 1-undekanol hacmi ve NaCl derişiminin etkisi gibi farklı parametrelerin etkileri optimize edildi. Ayrıca analitin geri kazanımı üzerine yabancı iyonların etkileri incelenmiştir. Optimize şartlar altında geliştirilen yöntemin çeşme suyu, dere suyu gibi doğal su örneklerinde ve idrar örneğinde uygulanabilirliği araştırıldı.

Yöntemin gözlenebilme sınırı önderiştirmesiz $17,9 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulundu. 2 mg L^{-1} indometazin katılan örneklerdeki geri kazanım değerleri önderiştirmesiz yapılan deneylerle çeşme suyu için % 103,4, dere suyu için % 94,7, idrar örneği için % 98.5 olarak bulundu.

ANAHTAR KELİMELELER: İndometazin, katılaştırılmış yüzen organik damla, dispersif SIVI-SIVI mikroekstraksiyonu, önderiştirme, UV-görünür bölge spektrofotometresi.

ABSTRACT

PRECONCENTRATION OF INDOMETHACIN USING DISPERSIVE LIQUID-LIQUID EXTRACTION BASED ON SOLIDIFICATION OF FLOATING ORGANIC DROPLET METHOD

MSC THESIS

NESRİN TOPAÇ

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
CHEMISTRY

(SUPERVISOR: PROF. DR. DERYA KARA FISHER)

BALIKESİR, JANUARY 2016

A dispersive liquid-liquid extraction method based on solidification of a floating organic droplet for the preconcentration of the drug Indomethacin was selected because this method provides ease of application, low cost, high preconcentration factor and a high recovery yield.

The purpose of this study is to develop a preconcentration method to determine Indomethacin in river water, tap water and urine samples using a dispersive liquid-liquid extraction method based on the solidification of a floating organic droplet. To obtain good extraction efficiency, experimental parameters such as pH, the volumes of dispersive solvent and extraction solvent and the concentration of NaCl were optimized. The applicability of the method was investigated under the optimized conditions for river water, tap water and urine.

The limit of detection of Indomethacin was found to be $17.9 \mu\text{g L}^{-1}$ under the optimized experimental conditions without preconcentration. The average recovery values of Indomethacin were 103.4% for the tap water, 94.7% for the river water and 98.5% for urine samples when spiked with 2 mg L^{-1} without preconcentration.

KEYWORDS: Indomethacin, solidification of floating organic drop, dispersive liquid-liquid microextraction, preconcentration, UV-Visible spectrophotometer.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vi
SEMBOL LİSTESİ.....	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. İNDOMETAZİN	3
3. 1-UNDEKANOL	5
4. ÖNDERİŞTİRME	6
4.1 Birlikte Çöktürme	7
4.2 Buharlaştırma	7
4.3 Adsorpsiyon	7
4.4 Ekstraksiyon	8
4.4.1 Sıvı - Sıvı Ekstraksiyonu	8
4.4.2 Katılaştıran Organik Damla Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu (SFODME).....	9
4.4.2.1 Ekstraksiyon Verimini Etkileyen Parametreler	11
4.4.2.1.4 Dispersif Çözücünün Seçimi	12
4.4.2.1.5 Dispersif Çözücünün Hacminin Etkisi.....	12
4.4.2.1.6 Ekstraksiyon Süresinin Etkisi.....	12
4.4.2.1.7 Tuz İlavesinin Etkisi	13
5. ULTRAVİOLE-GÖRÜNÜR BÖLGE (UV-GB) SPEKTROSKOPİSİ ..	14
6. ÇALIŞMANIN AMACI	18
7. MATERYAL VE METOT.....	19
7.1 Materyal	19
7.1.1 Deneylerde Kullanılan Araç ve Gereçler.....	19
7.1.2 Deneylerde Kullanılan Reaktifler.....	20
7.1.3 Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışı	22
7.1.3.1 İndometazin Çalışma Çözeltisi.....	22
7.1.3.2 Tampon Çözeltilerin Hazırlanılmasında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı	22
7.1.3.3 Tampon Çözeltileri	23
7.2 Yöntem.....	24
7.2.1 Optimum Ekstraksiyon Şartlarının Belirlenmesi	24
7.2.1.1 pH Etkisi.....	24
7.2.1.2 Organik Sıvı (1-Undekanol) Hacminin Etkisi.....	25
7.2.1.3 Dispersif Çözücü Hacminin Etkisi	25
7.2.1.4 NaCl Derişiminin Etkisi	26
7.2.1.5 Çalkalama Süresinin Etkisi	27
7.2.1.6 Santrifüj Süresinin Etkisi	27

7.3	Yabancı İyon Etkisi	28
7.4	Önderiştirme Deneyleri.....	29
7.5	Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması	30
7.6	Geliştirilen Yöntemin Analitik Özellikleri.....	30
7.7	Örnek Analizleri	31
7.7.1	Dere Suyu Analizi	31
7.7.2	Çeşme Suyu Analizi	31
7.7.3	İdrar Analizi	32
8.	BULGULAR.....	33
8.1	Optimum Şartların Belirlenmesi.....	33
8.1.1	pH Etkisi	33
8.1.2	Ekstraksiyon Çözücüsünün Hacminin Etkisi.....	34
8.1.3	Dispersif Çözücü Hacminin Etkisi	35
8.1.4	NaCl Derişiminin Etkisi	36
8.1.5	Çalkalama Süresinin Etkisi	37
8.1.6	Santrifüj Süresinin Etkisi	38
8.2	Yabancı İyon Etkisi	39
8.3	Önderiştirme Deneyleri.....	40
8.4	Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması	40
8.5	Geliştirilen Yöntemin Analitik Özellikleri.....	41
8.6	Örnek Analizleri	42
8.6.1	Dere Suyu Analizi	42
8.6.2	Çeşme Suyu Analizi	42
8.6.3	İdrar Örneği Analizi	43
9.	SONUÇLAR.....	44
9.1	Optimum Ekstraksiyon Şartlarının Belirlenmesi.....	44
9.1.1	pH Etkisi	44
9.1.2	Organik Sıvı Hacminin Etkisi	44
9.1.3	Dispersif Çözücü Hacminin Etkisi	44
9.1.4	NaCl Derişiminin Etkisi	45
9.1.5	Çalkalama Süresinin Etkisi	45
9.1.6	Santrifüj Süresinin Etkisi	45
9.2	Yabancı İyon Etkisi	45
9.3	Önderiştirme Deneyleri.....	46
9.4	Geliştirilen Yöntemin Örneklere Uygulanması.....	46
9.4.1	Dere Suyu Analizi	46
9.4.2	Çeşme Suyu Analizi	46
9.4.3	İdrar Analizi	47
10.	SONUÇ VE ÖNERİLER	48
11.	KAYNAKLAR	50

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: İndometazin'in yapısı	4
Şekil 4.1: SFODME'nin temel basamakları	10
Şekil 5.1: Elektromanyetik radyasyonun spektral alanları	14
Şekil 5.2: Çift ışın yollu UV-GB spektrofotometrenin şeması	15
Şekil 8.1: İndometazin'in pH 4'deki spektrumu	33
Şekil 8.2: İndometazin'in ekstraksiyon verimi üzerine pH etkisi	34
Şekil 8.3: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine 1-Undekanol hacminin etkisi	35
Şekil 8.4: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine dispersif çözücü hacminin etkisi	36
Şekil 8.5: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine NaCl derişiminin etkisi	37
Şekil 8.6: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine çalkalama süresinin etkisi	38
Şekil 8.7: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine santrifüj süresinin etkisi	39
Şekil 8.8: İndometazin için kalibrasyon grafiği	41

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1: 1-Undekanol'un kimyasal özellikleri	5
Tablo 7.1: Metal iyonları ve markaları	20
Tablo 7.2: Anyonlar ve markaları.....	20
Tablo 7.3: Organik maddeler ve markaları	21
Tablo 7.4: Tampon çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler.....	21
Tablo 7.5: İnorganik asit ve bazlar	21
Tablo 7.6: Önderiştirme için örnek hazırlama.....	29
Tablo 8.1: pH etkisi.....	34
Tablo 8.2: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine 1-undekanol hacminin etkisi.....	35
Tablo 8.3: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine üzerine dispersif çözücü hacminin etkisi	35
Tablo 8.4: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine NaCl derişiminin etkisi.....	36
Tablo 8.5: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine çalkalama süresinin etkisi	37
Tablo 8.6: İndometazin ilacının önderiştirilmesi üzerine santrifüj süresinin etkisi.....	38
Tablo 8.7: Yabancı iyon etkisi.....	39
Tablo 8.8: Önderiştirme deneyleri	40
Tablo 8.9: İndometazin için kalibrasyon grafiği verileri	40
Tablo 8.10: Dere suyu örneği için elde edilen sonuçlar (N=3)	42
Tablo 8.11: Çeşme suyu örneği için elde edilen sonuçlar (N=3)	43
Tablo 8.12: İdrar örneği için elde edilen sonuçlar	43

SEMBOL LİSTESİ

R : Geri kazanım

% R : Yüzde geri kazanım

LOD : Gözlenebilme sınırı (Limit of detection)

LOQ : Tayin sınırı (Limit of quantification)

m : Kalibrasyon grafiğinin eğimi

R² : Korelasyon katsayısının karesi

%RSD : Yüzde bağıl standart sapma

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimi aldığım süre boyunca araştırmalarım ve çalışmalarım sırasında büyük ilgi ve anlayış gösteren, karşılaştığım her sorunda, engin bilgi birikimi ve anlayışı sayesinde önümü görmemi sağlayan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum çok değerli tez danışmanım Prof. Dr. Derya KARA FISHER'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve Yüksek Lisans sürecim boyunca tanıdığım en bilgili ve en pratik hocalarımdan biri olan ve katkıları için her zaman borçlu hissedeceğim çok değerli hocam Doç. Dr. Cennet KARADAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelebilmem için üzerimden hiçbir zaman ve hiçbir şekilde desteklerini esirgemedikleri gibi moralimi ve azmimi ayakta tutabilmem için ultra destek sağlayan canım annem ve babam Fatma TOPAÇ ve Yunus TOPAÇ'a, sırtımı her zaman güvenle dayadığım kardeşlerim Nilgün TOPAÇ ve Alparslan TOPAÇ'a gönülden sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım.

Beraber eğitim görmüş olduğum, tanıdığım en cesur insana, güzel arkadaşım Deniz UYSAL'a içten teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Analitik çalışmaların genelinde örnek hazırlama basamağı, kaçınılması neredeyse imkansız bir basamak olup analizin hassasiyet, doğruluk ve hızını doğrudan etkiler. Bu nedenle, doğru, hızlı ve uygulaması kolay örnek hazırlama yöntemlerinin geliştirilmesi analitik çalışmaların verimi açısından büyük önem taşır.

Çevresel kaynaklarda çok düşük derişimlerde inorganik ya da organik bileşiklerin nicel analiz öncesinde analizde kullanılacak aletin tayin sınırlarına çekilmeleri gerekir. Bu amaçla yaygın olarak ekstraksiyon yaklaşımı kullanılmakta olup son yıllarda daha sağlıklı ve güvenli yöntemlere ilgi artmış, bunun sonucunda mikroekstraksiyon terimi ortaya çıkmıştır. Mikroekstraksiyon; hedef iyoların karmaşık matriksten ayrılması ve önderiştirilmesi yoluyla analit derişiminin analiz tekniğinin ölçüm sınırları içine çekilmesini ifade eder. Ekstraksiyonda kullanılan tehlikeli çözücü kullanımının azaltılması ve sistemin minyatürleştirme yoluyla basitleştirilmesi, mikroekstraksiyon yaklaşımının temel prensibidir. Analitik kimya alanında mikroekstraksiyon üzerine geliştirilmiş pek çok yöntem mevcuttur. Ancak var olan yöntemlerin her örneğe uygulanamaması, ekonomik sıkıntıları ve uygulamalarındaki zorluklar nedeniyle bu konuda yeni yöntemler geliştirilmeye devam edilmektedir.

Eser elementlerin ve eser türlerin ayrılmasında ve önderiştirilmesinde yaygın olarak kullanılan önderiştirme yöntemlerinin hepsinin temel prensibi, analitin sulu fazdan ikinci bir faza geçirilmesini esas alır. Dispersif çözücü, organik çözücü ve numune fazı olmak üzere üç kısımdan oluşan katılaşılan organik damla mikroekstraksiyonu (SFODME) hızlı, pratik ve zenginleştirme faktörü yüksek bir yöntemdir. Dispersif çözücü olarak etanol, dietil eter gibi hem ekstraksiyon çözücüsü hem de dispersif çözücü ile karışabilen sıvılar kullanılırken; ekstraksiyon çözücüsü olarak, 1-undekanol, 1-dodekanol gibi yoğunlukları sulu fazdan daha düşük olan ve su içinde çözünmeyen sıvılar kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, doğal örneklerde bulunabilecek İndometazin'in önderiştirilmesi ve UV-GB spektrofotometresi ile tayini için yeni, hızlı ve basit bir

yöntem olan katılaşan organik damla mikroekstraksiyonu (SFODME) yönteminin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Sulu ortamda bulunan indometazinin 1-undekanol içine ekstraksiyonu için, örnek pH'ı, organik çözücü ve dipersif çözücü hacimleri, tuz etkisi gibi analitik parametrelerin ekstraksiyon verimi üzerine etkileri incelenerek en uygun çalışma koşulları belirlenmiştir. Belirlenen uygun koşullar altında çeşitli iyonların girişim etkileri çalışılmış ve geliştirilen yöntemin analitik özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca geliştirilen yöntem çeşme suyu, nehir suyu ve idrar gibi örneklerde indometazin'in önderiştirilmesi ve UV-GB spektrofotometresi ile tayini için uygulanmıştır.

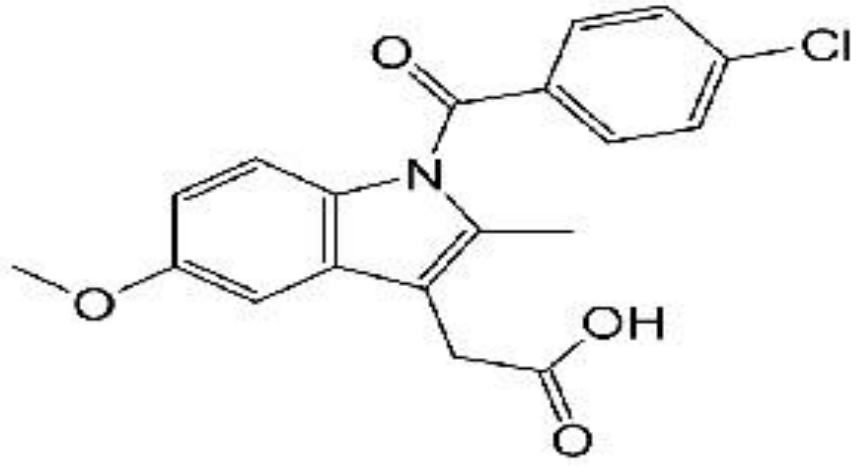
2. İNDOMETAZİN

Kapalı formülü $C_{19}H_{15}ClN_1O_4$, sistematik adı 1-(4-klorobenzoil)-5-metoksi-2-metil-3-indolasetik asit olan indometazin; ağrı kesici, ateş düşürücü ve iltihap azaltıcı etkisi olan bir ilaçtır. İndometazin'in açık yapısı Şekil 2.1'de verilmiştir. Ağızdan alınan 50 mg indometazin, 600 mg aspirin ile aşağı yukarı eşit derecede ağrı kesici etki yapar. İltihap azaltıcı etkisi naproksen'inkine eşit veya daha fazladır.

Yan etkilerinin fazlalılığı nedeniyle sadece akut gut artritinde ve bursit, tendinit ve travmatik sinovit gibi durumlarda, ankilozan-spondilit, osteo-artrit ve romatoid-artrit gibi romatizmal hastalıklarda kullanılması tavsiye edilmektedir. Çünkü eklemlerdeki iltihabı, şişlikleri, yanma hissini ve ağrıyı ortadan kaldırarak eklem hareketlerinin artmasını sağlar. Romatoid artrit vakalarının, yaklaşık olarak üçte birinde etkili olan bir ilaçtır. İlacın, vazokonstriktör yani damarları daraltan bir etkisi de vardır [1].

İndometazin'in çeşitli yan etkileri bulunmaktadır. Sık olarak baş ağrısı, baş dönmesi ve mide bozuklukları yapar. Sindirim yolundaki tahriş edici etkisi nedeniyle yaptığı etkiler arasında bulantı, kusma, karın ağrısı ve ishal vardır. Baş dönmesi, bilinç bulanıklığı, uyuşukluk, hallüsinasyonlar ve şuur kaybı yapabilir. İndometazin ile tedavi sırasında, santral sinir sisteminde de sık sık yan etkiler görülür. Konvülsiyonlara ve epilepsilerde nöbetlere neden olabilir. Gastrit, gizli kanama ve mide ülseri meydana getirebilmektedir. Korneada retina bozukluğu yapabilir. Böbrek fonksiyonunu bozabilir; bu durum ödem yapabilir. Kan üre azotunda ve kreatinin düzeyinde geçici artma yapar. Sık görülmesine de toksik hepatit yaptığı bildirilmiştir. Çocuklarda indometazinin enfeksiyonlara karşı bağıışıklığı bozabildiği ve ani ölüme yol açabildiği bildirilmiştir ve bunun üzerine çocuklarda bu ilacın kullanılmasından vazgeçilmiştir [1].

İndometazin, sindirim yolunda yan etki oluşturmada en tehlikeli ilaçların başında gelmektedir ve bu nedenle mide hasarı oluşturulmasında, deney hayvanlarında tercihen kullanılmaktadır [2].



Şekil 2.1: İndometazin'in yapısı.

3. 1-UNDEKANOL

Hafif kokulu ve su gibi renksiz bir sıvıdır. Sudaki çözünürlüğü çok düşüktür. Çevreye yayılması konusunda acil önlemler alınması gerekmektedir çünkü deniz kirliliğine neden olduğu düşünülmektedir. Bir sıvı olarak 1-undekanol yer altı su kaynaklarına ve toprağa kolaylıkla yayılabilir ve çevre kirliliğine neden olabilir. Ayrıca göz ve ciltte hafif şiddette tahrişe neden olabildiği bilinmektedir [3].

Undekanol bir alkoldür. Yanıcı ve zehirli gazlar, alkali metaller, nitritler ve kuvvetli indirgenlerle alkollerin birleşmesi sonucu meydana gelirler. Bunlar sulu ester oluşturmak amacı ile oksijenli asitler ve karboksilli asitlerle reaksiyona girerler. Oksitleyiciler bunları aldehit ve ketonlara dönüştürürler. Alkoller hem zayıf asit hem de zayıf baz davranışı gösterirler. Ayrıca izosiyonat ve epoksitlerin polimerizasyonunu başlatabilirler [4].

1-undekanol, erime noktası 13-16 °C olan ve suda çözünmeyen sıvıdır. 1-undekanol'un kimyasal özellikleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Çiçekli turuncgillerle benzer kokuya sahip olup yağlı bir tada sahiptir. Doğal olarak elma, muz gibi birçok meyvede, yağda ve yumurtada bulunur.

Tablo 3.1: 1-Undekanol'un kimyasal özellikleri.

Diğer adlar	Undekanol, undesil alkol, alkol C-11, 1-hendekanol, hendesil alkol
Molekül formülü	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ OH
Görünüm	Renksiz sıvı
Erime noktası	13-16° C
Kaynama noktası	146° C (30 mm Hg)
Yoğunluk	0,83 g/ cm ³
Molekül ağırlığı	172,31 g/mol
Çözünme	Etanol ve dietil eterde çözünür, suda çözünmez.

4. ÖNDERİŞTİRME

Önderiştirme, tayinden önce numuneye uygulanan bir numune hazırlama işlemidir. Eser miktarda bulunan bileşenin miktarının makro miktardaki bileşenin miktarına göre oranının artırılmasıdır. Eser veya ultra eser miktardaki elementlerin tayinlerinin direkt olarak yapılabilmesi imkansız olduğundan, tayinlerinin yapılabilmesi için önderiştirme yapılmalıdır.

Önderiştirme işleminde bileşenlerin konsantrasyonları birbirinden önemli derecede farklıdır. Yaygın olarak uygulanan yöntemlere örnek olarak ekstraksiyon, adsorpsiyon, birlikte çöktürme, buharlaştırma gibi yöntemler verilebilir. Önderiştirme, makro ve eser miktardaki elementlerin kimyasal ve fiziksel özelliklerindeki farklar esas alınarak yapılır. Eser derişimdeki analitlerin bir aletli teknik ile sinyallerinin ölçümünden önce önderiştirme işleminin yapıldığı sık görülür [5].

Eser elementlerin önderiştirme işlemlerinde önderiştirmenin verimliliğini saptamak için geri kazanım hesabı yapılır. Geri kazanım (R), eser elementin birinci ortamdan ayrılmasının bir ölçüsü olup, ikinci ortama çekilen miktarının numunedeki başlangıç miktarına oranıdır.

Eşitlik olarak; $R = q_c/q_s$ şeklinde ifade edilir.

q_c : eser elementin ikinci ortamdaki miktarı

q_s : eser elementin numunedeki miktarı

İdeal bir ayırmada R, % 100 olmalıdır, fakat uygulamada % 99'dan daha büyük geri kazanma verimine ulaşmak zordur. Düşük derişimlerle çalışıldığında, % 90 veya % 95' lik geri kazanma verimleri yeterlidir [6].

Yüzde geri kazanım ise; $\% R = (q_c/q_s) \cdot 100$ şeklinde ifade edilir.

Önderiştirme eser elementi ayırarak veya matriksi uzaklaştırarak yapılır. Hangi yöntemin seçileceği numunenin yapısına ve önderiştirme yöntemine bağlıdır. Matriksin yapısı basitse yani asıl bileşen olarak bir ya da iki element içeriyorsa matriks uzaklaştırılır. Eğer matriks mineraller, alaşımlar ve topraklar gibi çok fazla element içeriyorsa eser elementler önderiştirilir. Çöktürme gibi bazı önderiştirme yöntemleri ise eser elementlerin zenginleştirilmesi için daha uygundur. Çünkü matriks çöktürmesi yapıldığında bir miktar eser element de matriksle beraber çökebilir ve bu eser elementin sulu fazda kalan konsantrasyonunu azaltarak hataya neden olur [7].

4.1 Birlikte Çöktürme

Birlikte çöktürme yöntemi, kollektör ya da taşıyıcı adı verilen bir metal iyonunun uygun bir reaktif ile az çözünen bileşiği şeklinde çöktürülürken çözeltideki iyonların bu bileşikler üzerine tutunması esasına dayanır. Birlikte çöktürme, gerçekte çözünebilir bileşiklerinin çökelek oluşumu sırasında çözeltiden uzaklaştırılmasıdır [8].

4.2 Buharlaştırma

En yaygın zenginleştirme yöntemlerinden biridir. Bazı çözeltilerdeki metaller çözeltinin kaynatılarak çözücüsünün uzaklaştırılması yoluyla deriştirilirler. Bu yöntem, uçuculuğu yüksek olmayan metallere uygulanır. Yöntemin kötü tarafı metallerle birlikte ortamda bulunan diğer maddelerin de zenginleştirilmiş olması ve uçucu metallere uygulanamamasıdır [9].

4.3 Adsorpsiyon

Bir yüzey veya ara kesit üzerinde bir maddenin birikmesi ve derişiminin artması olarak tanımlanmaktadır [10]. Ara yüzey bir sıvı ile bir gaz, katı veya başka bir sıvı arasındaki temas yüzeyi olabilir.

Bu yöntemde analit, uygun bir reaktifle uygun bir bileşik haline dönüştürülür ve katı madde üzerine tutunması sağlanır. Bunlar naftalin, aktif karbon veya başka adsorbanlar olabilir.

Çözünmüş bir bileşiğin aktif karbon tarafından adsorpsiyonu üç adımda gerçekleştiği bilinmektedir [11].

- a) Adsorbanın dış yüzeyine adsorplanan maddenin taşınması,
- b) Dış yüzeyde oluşan adsorpsiyonun küçük miktarı hariç, karbonun gözeneklerine adsorplanan maddenin difüzyonu ve
- c) Adsorbanın iç yüzeylerinde çözeltinin adsorpsiyonudur.

4.4 Ekstraksiyon

Ekstraksiyon işlemi, bir çözültideki katı veya sıvı bir bileşenin, bulunduğu karışımdan solvent olarak adlandırılan başka bir sıvı ile çalkalanarak alınması işlemidir. Bu işlemde fazlardan biri katı diğeri sıvı olabilir veya her iki faz da sıvı olabilir. Ayrılacak bileşenlerin çözünürlük farkına dayandırılarak yapılır [28, 29].

4.4.1 Sıvı - Sıvı Ekstraksiyonu

Sıvı - sıvı ekstraksiyonu, iki veya daha fazla bileşen içeren bir sıvı karışımın bileşenlerinin uygun bir solvent kullanılarak birbirinden ayrılmasını sağlayan ayırma işlemidir.

Sıvı - sıvı ekstraksiyonu ayrılmak istenen ortam, ayrılmak istenen bileşen ve solvent olmak üzere üç bileşenden oluşur. Ayrılmak istenen ortamda çözünmüş halde bulunan maddeye solute, ekstraksiyon işlemi sonunda ekstrakte edilmek istenen madde bakımından zenginleşen faza ekstrakt faz, ekstrakte edilmek istenen madde bakımından fakirleşen faza rafinat faz denir.

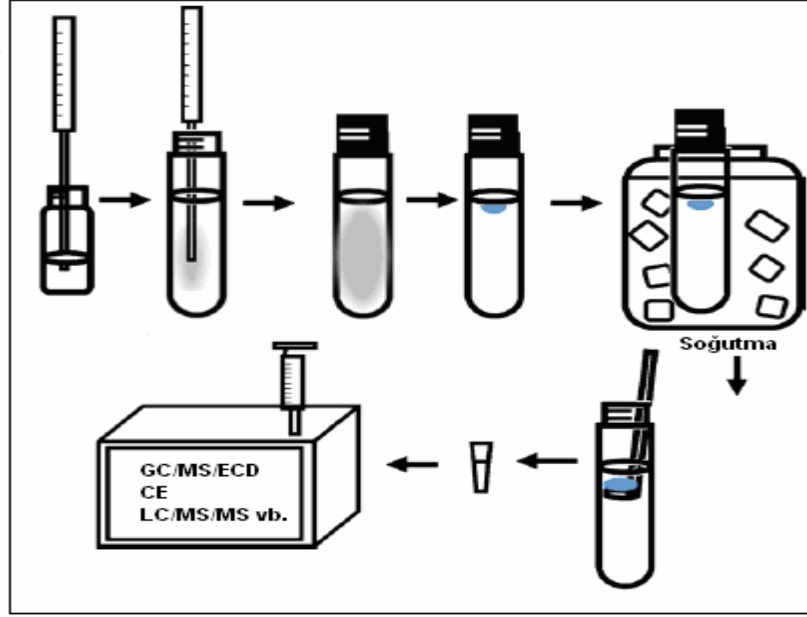
Sıvı - sıvı ekstraksiyonu ayrılmak istenen karışımın solvent ile işleme sokulması, faz ayrımı oluşması, ekstrakt fazdan ayrılmak istenen bileşenin ayrılması ve ekstrakt ve rafinat fazlardan solventin geri kazanılması basamaklarıyla gerçekleşir.

Sıvı - sıvı ekstraksiyonunun gerçekleşebilmesi için bileşenlerin solvent içinde seçimli bir dağılım davranışı göstermesi gerekir. Karışım ve solvent fazlar birbiri içinde çözünmemelidir [12,13].

Sıvı - sıvı ekstraksiyonu solvent seçimi konusunda olanak sağladığı için ayırma işleminin yapılacağı sıcaklık da seçilebilir. Ekstraksiyon işleminin yapılacağı sıcaklık ayrılmak istenen maddenin, ayrılmak istenen ortamın ve kullanılacak solventin kaynama ve donma noktaları göz önünde bulundurularak seçilmelidir [12,13].

4.4.2 Katılaşılan Organik Damla Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu (SFODME)

Katılaşılan organik damla dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu (SFODME) yönteminde, sulu örnek içeren çözeltinin üzerine yoğunluğu suyun yoğunluğundan daha düşük olan ve su ile karışmayan 1-dekanol ve 1-undekanol gibi ekstraksiyon çözücüsü bir damla şeklinde bırakılır. Karışma sırasında su fazındaki analit bu ekstraksiyon fazına ekstrakte olur. Ekstraksiyon işleminin ardından buz banyosunda soğutulan sistemde kısa zamanda donarak katılaşılan mikrodamla, bir spatül yardımıyla alınır, uygun çözücüyle çözülür ve analitik cihazla analiz edilir [15]. Yöntemin temel basamakları Şekil 4.1'de şematik olarak verilmiştir.



Şekil 4.1: SFODME'nin temel basamakları [14].

Yöntemde ekstraksiyon çözücüsünün seçimi ve kullanılan organik faz hacminin etkisi önemli rol oynar. Kullanılacak organik fazın yapısı, ekstraksiyon verimini doğrudan etkiler. Seçilecek olan ekstraksiyon çözücüsü şu kriterleri taşımalıdır [30] ;

- Suda çözünmemeli ya da sudaki çözünürlüğü çok düşük olmalı
- Yoğunluğu sudan daha düşük olmalı
- Uçuculuğu az olmalı
- Hedef kompleks açısından ekstraksiyon verimi yüksek olmalı
- Oda sıcaklığına yakın bir erime noktasına (10-30 °C arası) sahip olmalı
- Toksik etkileri olabildiğince az olmalı
- Santrifüj sonrası tamamen toplanabilmeli
- Kullanılan analitik yöntemde sinyali olumsuz etkilememeli
- Ekonomik yönden uygun olmalı

Yöntem diğer sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında uygulamanın kolay olması, düşük miktarda toksik çözücü kullanımı, iyi tekrarlanabilirlik ve kesinlik, yüksek önderiştirme faktörleri elde edilmesi ve

karmaşık matriclere sahip örneklerin analizi için uygun olması gibi avantajlara sahiptir. Dezavantajları ise; kriterlere uygun çözücü çeşitlerinin oldukça sınırlı olması ve damlanın su fazında dağılmadan kalabilmesini sağlamaktır [15].

4.4.2.1 Ekstraksiyon Verimini Etkileyen Parametreler

Organik faz ile sulu faz arasındaki analitin dağılımı; uygun pH değerindeki tampon çözelti seçimi, uygun ekstraksiyon çözücüsü seçimi, uygun dispersif çözücü seçimi, ekstraksiyon çözücüsünün hacmi, dispersif çözücünün hacmi, ekstraksiyon zamanı ve tuz ilavesi gibi parametrelere bağlıdır [16].

4.4.2.1.1 pH Etkisi

pH etkisi, analit üzerine ekstraksiyon veriminin incelenmesinde en önemli basamaktır. Yöntemin uygulanması sırasında, dispersif çözücü, su ve ekstraksiyon çözücüsünün analit ile daha iyi etkileşip ekstrakte olabilmesi için uygun tampon çözeltiler kullanılarak optimum bir pH değeri belirlenmelidir.

4.4.2.1.2 Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi

SFODME yönteminde ekstraksiyon çözücüsünün seçilmesi çok önemli bir parametredir. Kullanılacak ekstraksiyon çözücüsünün;

- Yoğunluğu sudan daha az olmalıdır. Çünkü santrifüj işleminden sonra sulu fazın üstünde kalmalıdır.
- Donma noktası oda sıcaklığına yakın olmalıdır (10-30 °C).
- Düşük uçuculuğa sahip olmalıdır.
- Suda çözünmemelidir.
- Toksikitesi az bir organik madde olmalıdır.

Bu doğrultuda genellikle 1-dekanol ve 1-undekanol gibi ekstraksiyon çözücüleri seçilmektedir [17].

4.4.2.1.3 Ekstraksiyon Çözücüsünün Hacminin Etkisi

Ekstraksiyon çözücüsünün hacminin, öderiştirme faktörü üzerinde etkisi çok büyüktür. Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi arttıkça santrifüjden sonra elde edilen organik faz da artar ve organik fazın içerisindeki analitin derişimi azalır. Bunun sonucunda hedef bileşiklerin belirlenmesindeki duyarlılık azalır. Bundan dolayı hem yüksek zenginleştirme faktörü hem de santrifüj sonrasında maddenin tayinine yetecek kadar hacim kalması gerektiği için ekstraksiyon çözücüsü optimum hacim değerinde seçilmek zorundadır. Genellikle 5-100 µL arasında bir hacimde ekstraksiyon çözücüsü seçilir [18,19].

4.4.2.1.4 Dispersif Çözücünün Seçimi

Dispersif çözücü, ekstraksiyon çözücüsünde çözünebilmeli ve su ile karışabilmelidir. Dispersif çözücü, ekstraksiyon çözücüsünün içerisinde çözünür ve ekstraksiyon reaktifini güzel damlalar halinde disperse eder. Dispersiyon çözücüsü olarak genelde etanol ve dietil eter kullanılır [19].

4.4.2.1.5 Dispersif Çözücünün Hacminin Etkisi

Dispersif çözücü hacmi, bulanık çözelti oluşumu ile doğrudan ilişkilidir. Sulu faz içerisindeki ekstraksiyon çözücüsünün dispersiyon derecesi ekstraksiyon verimini etkiler. Genellikle 0,5–1,5 mL hacim aralığında dispersif çözücü kullanılmaktadır [19].

4.4.2.1.6 Ekstraksiyon Süresinin Etkisi

Ekstraksiyon süresinin, ekstraksiyon verimliliği üzerinde etkisinin az olmasının nedeni, bulutlu çözeltinin oluşumundan sonra ekstraksiyon çözücüsünün eşit bir şekilde dağılıyor olabilmesidir. Ekstraksiyon fazına sulu fazdan analitin transferi çok hızlı olabilir ve denge durumuna çok hızlı bir şekilde ulaşılabilir. Bu

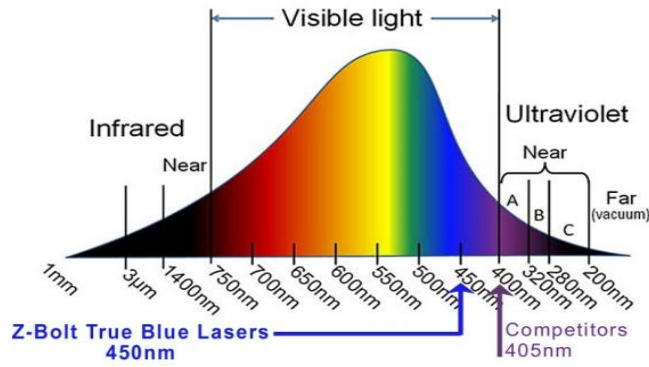
durumda çok kısa bir zamana ihtiyaç vardır. Kısa ekstraksiyon zamanı önemli bir avantajdır [19,20].

4.4.2.1.7 Tuz İlavesinin Etkisi

İyonik kuvvetin artması ile hedef analitin sulu fazda çözünürlüğü azalır ve analitin ekstraksiyon verimi artar. Tuz ilavesi, yüksek geri kazanım elde edebilmek için oldukça elverişlidir. Ortama tuz ilavesi yapılarak önderiştirme faktörü artırılabilir ve buda daha düşük derişimlerdeki analitin analizinin yapılmasına olanak sağlar [18, 19].

5. ULTRAVİYOLE-GÖRÜNÜR BÖLGE (UV-GB) SPEKTROSKOPİSİ

Görünür ışık insan gözü tarafından renk olarak algılanır ve elektromanyetik radyasyonun çok küçük bir bölümüdür (400-800 nm). 400 nm olan alt ucunda mor renk görülür ve burası (100-400 nm) UV bölgesidir. 800 nm olan üst ucunda ise kırmızı renk görülür ve burası (800 nm-25 Pm) IR bölgesidir [21].

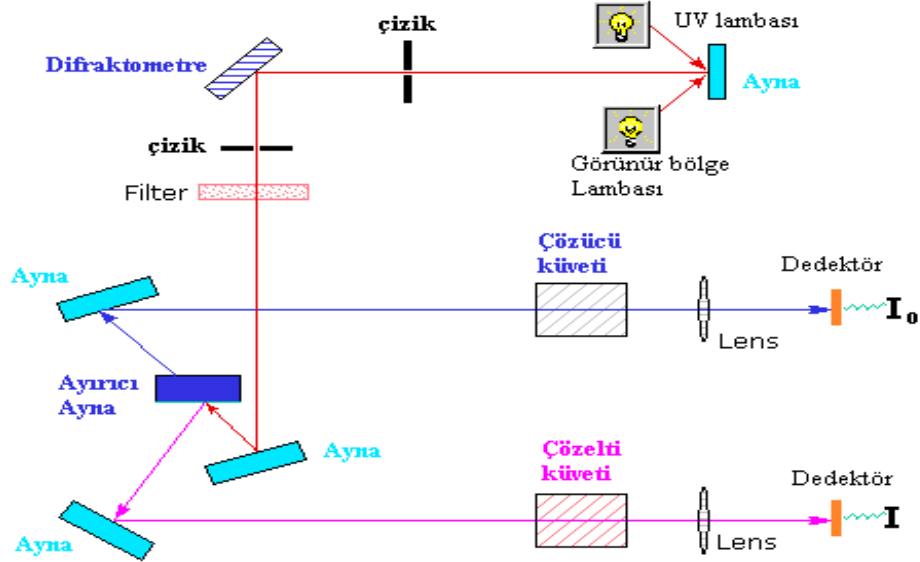


Şekil 5.1: Elektromanyetik radyasyonun spektral alanları.

Moleküllerin elektromanyetik dalgalarla uyarılması sonucu meydana gelen absorpsiyondan, molekül hakkında nitel ve nicel bilgi edinmek mümkündür. UV-GB absorpsiyon teknikleri, maddelerin yaklaşık 190-900 nm dalga boyları aralığında ışık absorplaması ölçümlerine dayanan analitik yöntemleri kapsar [22].

UV-GB spektrometrisi; çevresel, farmakolojik, biyolojik örneklerdeki kromofor yapıdaki organik bileşenlerin kalitatif ve kantitatif tayinlerinde kullanılan maliyeti düşük, yıkıcı olmayan, kolay, kesinliği yüksek bir tekniktir. Ayrıca yöntemin kolay veri elde etmede fark edilir bir üstünlüğü vardır. Son gelişmelerle 10^{-6} - 10^{-7} M civarına kadar duyarlı olması bu yöntemi çekici hale getirmektedir. Kantitatif analizlerde çok sayıda organik bileşiklerin derişimleri, metal ve ametal iyon derişimleri belirlenebilmektedir. Kalitatif tanımlamalar ise, kromofor yapı içeren analitlerin vermiş oldukları absorpsiyon spektrumlarının referans spektrumlarla karşılaştırılması ile yapılmaktadır [23, 24].

Piyasada tek ışın yollu ve çift ışın yollu spektrofotometreler bulunmaktadır [25]. Şekil 5.2’de uzayda birbirinden ayrılan çift ışın yollu bir UV-GB spektrofotometresinin şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 5.2: Çift ışın yollu UV-GB spektrofotometrenin şeması.

Spektrofotometre hem UV hem de GB’de çalıştığından iki farklı ışın kaynağı kullanılır. Işın demetleri bir prizmadan geçirilerek içerdiği dalga boylarına ayrılır. Her bir monokromatik (tek dalga boyu) ışın bir ayna ile eşit iki parçaya ayrılır. Bu demetlerden biri sadece çözücü içeren (kör çözelti) küvetten geçerek dedektöre ulaşır ve ikinci ışında aynı anda numune çözeltisinden geçerek ikinci bir eşdeğer dedektöre ulaşır. Kör içeren küvetten geçen ışın şiddetine I_0 numunenin olduğu küvetten geçen ışık şiddeti ise I diye adlandırılır. Her ikisi de elektronik dedektörlerce okunarak değerlendirilir. Bu işlem hem UV (200-400 nm) hem de görünür bölge (400-800 nm) ışınları için taranır.

Eğer numune herhangi bir dalga boyunda ışın absorplamaya başlarsa I ve I_0 arasında farklılık ortaya çıkar ve bu fark dalga boyuna karşı grafik edilir. I ve I_0 arasındaki fark kullanılan lamba, cihaz ya da başka etkilerden dolayı yer, durum ve cihaza bağlı olarak da değişiklik gösterebileceğinden, yüzde

geçirgenlik "Transmitans" ya da absorbans kullanmak mantıklı olur. Işığın geçme miktarı ($T = I/I_0$) ve absorplama miktarı ise ($A = \log I_0/I$) olarak verilir. Geçen ışığın rahat gözlenmesi ve dedektör tarafından rahat okunması önemlidir. Bunun için oldukça seyreltik çözeltilerde spektrum alınır [25].

Moleküllerin seçilen dalga boyundaki ışımayı absorplaması sonucu ortaya çıkan azalma Lambert-Beer eşitliği ile verilir.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c = \log I_0/I$$

I_0 : Örnek kabına giren ışık şiddeti

I : Örnek kabını terk eden ışık şiddeti

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı (L/mol.cm)

b : Örnek kabının kalınlığı (cm)

c : Derişim (mol/L)

Örnek hücreni terk eden ve hücreye giren ışık şiddetleri arasındaki orana "geçirgenlik" (T) adı verilmektedir.

$$T = I / I_0$$

Absorbans ile geçirgenlik arasında,

$A = -\log T$ ilişkisi vardır ve yüzde geçirgenlik (% T) adını alır [26,27].

Beer yasası şu şekilde açıklanabilir; absorplayıcı bir madde bloku (katı, sıvı, gaz), I_0 şiddetinde monokromatik bir ışın demeti blok yüzeyine dik olarak düşerse; n tane absorplayıcı atom, iyon veya molekül içeren b uzunluğundaki maddeden geçerken absorpsiyon sonucu ışın şiddeti I değerine düşer. Absorpsiyon miktarı, absorplayıcı atom miktarıyla doğru orantılıdır.

Bazı durumlarda bu yasadaki sapmalar vardır. Absorbans ışın yolu ile doğrusal değişir, bunun çok az istisnası vardır. Diğer taraftan, b sabit tutulurken, derişim ile ölçülen absorbans arasındaki ilişkiden sapmalarla sık sık karşılaşılır. Bu sapmaların bazıları olayın doğasından ileri gelir ve Beer yasasının gerçek sınırlamalarını gösterir. Diğerleri absorpsiyon ölçümlerinin yapılış tarzı veya derişim değıştikçe oluşan kimyasal değışim sonucu oluşmaktadır. Son ikisi bazen sıra ile aletsel ve kimyasal sapmalar olarak adlandırılırlar.

UV-GB tekniğinde döteryum, tungsten, hidrojen, civa buhar, ksenon ark lambası gibi sürekli ışık kaynakları kullanılmaktadır.

UV-GB moleküler absorpsiyon spektrometrisinin önemli avantajları ise aşağıda verilmiştir.

- Hem organik hem de inorganik sistemlere yaygın uygulanabilirlik
- 10^{-6} M' a kadar değişen tipik duyarlık değerleri
- İyi bir doğruluk
- Veri toplama kolaylığı ve elverişliliği

Her analitik teknikte olduğu gibi UV-GB moleküler absorpsiyon tekniğinin de sınırlamaları vardır. Bunlar şu şekilde sıralanabilir;

- Genellikle absorbans değeri 2'nin altında ve derişimi 0,01 M'dan az olan örneklerle çalışılmaktadır.
- Işığa duyarlı örneklerin tayininde zorluklar bulunmaktadır.
- Örnekten veya kullanılan hücreden kaynaklanan saçılmalar ölçüm kesinliğini olumsuz etkileyebilmektedir.
- Kompleks karışımlarda absorpsiyon bantlarının çakışması sonucunda kesinlik yine olumsuz etkilenmektedir.
- Floresans ve kemilüminesans tekniklerine göre tayin sınırı daha yüksektir.
- Analiz sonuçlarının güvenilirliği ile ilgili kavramlar literatürde ayrıntılı olarak verilmiştir [26, 27].

6. ÇALIŞMANIN AMACI

Analitik kimyanın önemli çalışma alanlarından birisi, çevresel örneklerdeki organik bileşiklerin eser miktarlarının belirlenmesi amacıyla pratik ve güvenilir yöntemler geliştirmektir. Eser tayinlerde ya örneklerin doğrudan analizine imkan sunan hassas ölçüm teknikleri kullanılır ya da bir önderiştirme işlemi uygulanarak analit derişimi yükseltilir. Tayin sınırı analitik kimya için çok önemli bir kavramdır.

Günümüzde dere suyu, çeşme suyu gibi birçok doğal örnek ilaç bileşikleri ile çevre kirliliğinin bir sonucu olarak kirlenebilir. Bu bileşiklerin bu doğal örneklerdeki derişimleri klasik yöntemlerle tayin edilemeyecek kadar düşüktür. Düşük derişimdeki analitleri mevcut yöntemlerle veya daha basit ölçülebilir hale getirmek için önderiştirme şarttır.

Katılaşan organik damla mikroekstraksiyonu, önderiştirme yöntemleri arasında kolay, yüksek önderiştirme faktörü sağlayan, düşük maliyetli, iyi bir kesinlik ve doğruluk sağlayan bir yöntemdir.

Bu çalışmada ekstraksiyon çözücüsü olarak 1-undekanol kullanılarak katılaşan organik damla ekstraksiyonu yöntemiyle indometazin'in önderiştirilmesi ve UV-GB spektrofotometresi ile tayini amaçlanmıştır. İndometazin'in organik faza ekstraksiyonu için; pH, organik çözücü ve dispersif çözücü hacimleri, NaCl derişimi, ekstraksiyon ve santrifüj süresi gibi parametrelerin ekstraksiyon verimi üzerine etkileri incelenerek ekstraksiyon veriminin en iyi olduğu koşullar belirlenmiştir. Belirlenen çalışma koşullarında çeşitli metal iyonlarının ve bazı anyonların yöntem girişim etkileri incelenmiştir. Ayrıca yöntemin analitik özellikleri belirlenerek geliştirilen yöntem çeşme suyu, dere suyu ve idrar örneklerindeki indometazin'in önderiştirilmesi ve UV-GB spektrofotometresi ile tayini için uygulanmıştır.

7. MATERYAL VE METOT

7.1 Materyal

7.1.1 Deneylerde Kullanılan Araç ve Gereçler

Tüm reaktifler ve çözeltiler 18.2 MΩ dirence sahip deiyonize su ile hazırlandı. Bu amaçla AQUA Reverse Osmosis System marka saf su cihazı kullanıldı.

Kütle ölçümleri için Kern ALS model 0,1 mg hassasiyetli analitik terazi kullanıldı.

İstenilen hacimlerde çözücü ve çözelti aktarımı için Transfer Pipette serisi 10-100 µL ve 500-5000 µL otomatik pipetler kullanıldı.

pH ölçümleri Hanna Instruments marka HI 221 Microprocessor model pH metre ile yapıldı.

Çalkalayıcı işlemlerinde (Heidolph, Vibramax 110) marka titreşimli çalkalayıcı kullanıldı.

UV-GB spektrofotometresinde ölçüm alabilmek için ISOLAB, Cuvettes “spectrophotometer-quartz-micro“ Q-274 marka kuvars küvetler kullanıldı.

İndometazin ilacının tayini (Perkin Elmer marka, T80 UV/VIS Spectrometer, UK) UV-GB cihazı ile gerçekleştirildi.

Bulanık çözeltilerde organik fazın sulu fazdan ayrılması için (Hettich Zentrifgen, Rotofix 32 A) markalı santrifüj cihazı kullanıldı.

7.1.2 Deneylerde Kullanılan Reaktifler

Deneylerde kullanılan indometazin, metal standartları ve tampon çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasalların tümü analitik saflıktadır.

Deneyler süresince kullanılan katyon ve anyon çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan bileşikler ve markaları Tablo 7.1 ve Tablo 7.2’de verilmiştir;

Tablo 7.1: Metal iyonları ve markaları.

Metal İyonları	Metal Tuzları	Markası
Cu(II)	Cu (NO ₃) ₂ . 3 H ₂ O	Riel de Haen
Ca(II)	Ca (NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	Merck
Sr(II)	Sr (NO ₃) ₂	Riel de Haen
Ba(II)	Ba (NO ₃) ₂	Fluka
Cr(III)	Cr (NO ₃) ₃ . 9 H ₂ O	Fluka
Mn(II)	Mn (NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	Merck
Fe(III)	Fe (NO ₃) ₃ . 9 H ₂ O	Merck
Ni(II)	Ni (NO ₃) ₂ . 6 H ₂ O	Fluka
Pb(II)	Pb (NO ₃) ₂	Merck
Cd(II)	Cd (NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	Merck
Co(II)	CoCl ₂ . 6 H ₂ O	Merck
Mg(II)	Mg (NO ₃) ₂ . 6 H ₂ O	Fluka

Tablo 7.2: Anyonlar ve markaları.

Anyonlar	Anyon Tuzları	Markaları
Cl ⁻	NaCl	Riel de Haen
PO ₄ ³⁻	Na ₃ PO ₄	Fluka
CO ₃ ²⁻	Na ₂ CO ₃	Fluka

Deneyler süresince kullanılan organik bileşiklerin çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan bileşikler ve markaları Tablo 7.3’te verilmiştir;

Tablo 7.3: Organik maddeler ve markaları.

Organik Madde	Markası
İndometazin	Sigma Aldrich
Hümik asit	Sigma Aldrich

pH'nin ekstraksiyon verimi üzerine etkisini belirlemek için yapılan çalışmalarda pH 2-9 arasındaki tampon çözeltiler hazırlandı ve çalışmalarda kullanıldı. Tampon çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasalların markaları Tablo 7.4'te verilmiştir.

Tablo 7.4: Tampon çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler.

Kullanılan Kimyasallar	Bileşik Formülleri	Markaları
Sodyum dihidrojen fosfat monohidrat	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Merck
Sodyum asetat trihidrat	$\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Merck
Amonyum klorür	NH_4Cl	Merck
Potasyum hidrojen ftalat	$\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$	Merck

Tampon çözeltilerin pH'ları istenilen değere ayarlanırken Tablo 7.5'te verilen inorganik asit ve bazlar kullanıldı.

Tablo 7.5: İnorganik asit ve bazlar.

Kimyasal Madde	Markası
HCl	Sigma- Aldrich
NaOH	Fluka
HNO_3	Sigma- Aldrich

7.1.3 Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışı

7.1.3.1 İndometazin Çalışma Çözeltisi

İndometazin ilacının 0,5 gramı 100 mL metanol içerisinde çözüldü ve bu stok sürekli buzdolabında saklandı. Çalışmalarda; 1 mL stok çözeltisinin üzerine 0,5 mL pH 7 tampon çözeltisi eklenip 100 mL'ye saf su ile tamamlanarak hazırlanan çözelti kullanıldı. Çalışmalarda kullanılan indometazin ilaç çözeltisinin derişimi 50 mg L⁻¹'dir.

7.1.3.2 Tampon Çözeltilerin Hazırlanılmasında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

a) 0,1 M Hidroklorik asit çözeltisi

50 mL'lik bir balon joje içerisinde bir miktar saf su konuldu. Üzerine 0,42 mL % 37'lik hidroklorik asit eklendi. Daha sonra son hacim 50 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı.

b) 0,1 M Sodyum hidroksit çözeltisi

10 mL'lik bir balon joje içerisinde bir miktar saf su alındı, içerisinde 0,04 gram katı sodyum hidroksit eklendi. Daha sonra son hacim 10 mL olacak şekilde saf su ilave edildi.

7.1.3.3 Tampon Çözeltileri

Sulu fazın pH değerlerinin ayarlanması için farklı tampon çözeltiler hazırlandı.

a) 0,2 M pH= 2-3-6-7-8 tampon çözeltileri

1,5601 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılıp suda çözüldü ve pH metre ile HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak çözeltilerin pH'ı istenilen değere ayarlandı. Çözeltilerin hacmi 50 mL'ye tamamlanarak çözeltilerin son pH değerleri pH metre ile kontrol edildi.

b) 0,5 M pH= 4 tampon çözeltisi

14,29 mL % 100'lük CH_3COOH belirli miktar saf su içerisine alındı ve pH metre ile HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak çözeltinin pH'ı 4'e ayarlandı. Çözeltinin son hacmi 500 mL'ye tamamlanarak çözeltinin son pH değeri pH metre ile kontrol edildi.

c) 0,5 M pH= 5 tampon çözeltisi

6,805 gr $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ tartılıp suda çözüldü. pH metre ile HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak çözeltilerin pH'ı 5'e ayarlandı. Çözeltinin son hacmi 100 mL'ye tamamlanarak çözeltinin son pH değeri pH metre ile kontrol edildi.

d) 0,1 M pH=9 tampon çözeltisi

0,2675 gram NH_4Cl tartılıp suda çözüldü. pH metre ile HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak çözeltilerin pH'ı 9'a ayarlandı. Çözeltinin son hacmi 50 mL'ye tamamlanarak çözeltinin son pH değeri pH metre ile kontrol edildi.

7.2 Yöntem

7.2.1 Optimum Ekstraksiyon Şartlarının Belirlenmesi

İndometazin'in organik faza ekstraksiyonu için; pH, organik çözücü ve dispersif çözücü hacimleri, NaCl derişimi, ekstraksiyon süresi, santrifüj süresi gibi analitik parametrelerin ekstraksiyon verimi üzerine etkileri incelendi. Ekstraksiyon veriminin en iyi olduğu koşulları belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar üç paralel olarak yapıldı.

7.2.1.1 pH Etkisi

İndometazin'in ekstraksiyon verimi üzerine pH'nın etkisi pH 2-9 arasında incelenmiştir. Bu amaçla 15 mL'lik falkon tüplerin içerisine; 0,5 mL 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisi, 1 mL tampon çözeltisi, 0,5 mL dispersif çözücü olan etanol eklendi ve son hacimleri saf su ile 5 mL'ye tamamlandı. Her bir tüpe ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 80 µL eklendi. Her bir pH için örnek çözeltilerle aynı şekilde hazırlanan ama indometazin içermeyen ayrı bir kör çözelti hazırlandı. Daha sonra bu örnek çözeltiler titreşimli çalkalama cihazında 10 dakika boyunca çalkalandı. Çalkalama işlemi sonrasında 4000 devir/dakika hızda 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan organik fazın donması için örnek tüpleri 20 dakika buz banyosunda bekletildi. 20 dakika sonunda tamamen donduğu gözlenen organik faz ile sulu fazın ayrılması dekantasyonla sağlandı. Tüpte kalan organik fazın üzerine son hacim 5 mL olacak şekilde % 99,8'lik etanol eklendi. Aynı şekilde hazırlanan ama indometazin içermeyen kör çözeltiler UV-GB spektrofotometrede kör düzeltmesi amacıyla kullanıldı. UV-GB spektrofotometresi ile indometazin ilacına ait sinyal değerleri maksimum absorbansın gözleendiği 209 nm'de ölçüldü. Sinyalin en yüksek gözleendiği optimum pH değeri belirlendi.

7.2.1.2 Organik Sıvı (1-Undekanol) Hacminin Etkisi

Ekstraksiyon çözücüsünün ekstraksiyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla farklı hacimlerde ekstraksiyon çözücüsü (1-undekanol) içeren örnekler hazırlandı. Bu amaçla 15 mL'lik falkon tüplere; 0,50 mL 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisi, 1 mL pH 4 tampon çözelti, 0,5 mL dispersif çözücü olan etanol eklendi ve son hacimleri 5 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Üzerlerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 40-60-80-100-125 µL hacimlerinde eklendi. Her biri için indometazin içermeyen ayrı bir kör çözeltisi hazırlandı.

Örnek çözeltiler hazırlandıktan sonra titreşimli çalkalama cihazında 10 dakika boyunca çalkalandı. Çalkalama işleminden sonra örnekler 4000 devir/dakika hızda 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan organik fazın donması için örnek tüpleri 20 dakika buz banyosunda bekletildi. 20 dakika sonunda tamamen donduğu gözlenen organik faz ile sulu fazın ayrılması için tüp dekante edilerek sulu faz döküldü ve organik faz ile sulu faz ayrılmış oldu. Tüpte kalan organik fazın üzerine son hacim 5 mL olacak şekilde % 99,8'lik etanol eklendi. Örneklerin absorbansı, kör çözeltilere karşı 209 nm'de UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü. Sinyalin en yüksek gözleendiği 1-undekanol hacmi optimum ekstraksiyon çözücüsü hacmi olarak alındı.

7.2.1.3 Dispersif Çözücü Hacminin Etkisi

Dispersif çözücü hacminin ekstraksiyon verimine olan etkisini incelemek amacıyla farklı hacimlerde etanol kullanılarak örnekler hazırlandı. Bu amaçla 15 mL'lik falkon tüplere; 0,5 mL 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisi, 1 mL pH 4 tampon çözelti, dispersif çözücü olarak kullanılan etanolden falkon tüplere sırasıyla 0,1 ; 0,25 ; 0,50 ; 0,75 ; 1,00 mL hacimlerde eklendi ve son hacim saf su ile 5 mL'ye tamamlandı. Her birinin üzerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 80 µL eklendi. Her bir etanol miktarı için örnek çözeltilerle aynı şekilde hazırlanan ama indometazin içermeyen ayrı bir kör çözelti hazırlandı.

Örnek çözeltiler hazırlandıktan sonra titreşimli çalkalama cihazında 10 dakika boyunca çalkalandı. Çalkalama işleminden sonra örnekler 4000 devir/dakika hızda

10 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan organik fazın donması için örnek tüpleri 20 dakika buz banyosunda bekletildi. 20 dakika sonunda tamamen donduğu gözlenen organik faz ile sulu fazın ayrılması için tüp dekante edilerek sulu faz döküldü ve organik faz ile sulu faz ayrılmış oldu. Tüpte kalan organik fazın üzerine son hacim 5 mL olacak şekilde % 99,8'lik etanol eklendi. Örneklerin absorbansı, kör çözeltilere karşı 209 nm'de UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü. Sinyalin en yüksek gözlendiği etanol hacmi optimum dispersif çözücü hacmi olarak alındı.

7.2.1.4 NaCl Derişiminin Etkisi

Ekstraksiyon verimine NaCl çözeltisi derişiminin etkisini incelemek için NaCl çözeltisi bulunmayan ve farklı derişimlerde NaCl çözeltisi bulunan örnekler hazırlandı. Bu amaçla 15 mL'lik falkon tüplere; 0,5 mL 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisi, 1 mL pH 4 tampon çözeltisi, 0,25 mL dispersif çözücü olan etanol, 2 M NaCl çözeltisinden her bir falkon tüpe sırasıyla 0 mL ; 0,025 mL ; 0,125 mL ; 0,250 mL ; 0,625 mL ; 1,25 mL hacimlerinde eklendi ve son hacim 5 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı. Bu şekilde tüplerdeki NaCl derişimleri sırasıyla 0 M ; 0,01 M ; 0,05 M ; 0,1 M ; 0,25 M ; 0,50 M oldu. Her birinin üzerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 80 µL eklendi. Her biri için ayrı ayrı olmak üzere indometazin içermeyen kör çözeltiler hazırlandı. Örnekler, 15 mL'lik falkon tüplerde hazırlandı.

Örnek çözeltiler hazırlandıktan sonra titreşimli çalkalama cihazında 10 dakika boyunca çalkalandı. Çalkalama işleminden sonra örnekler 4000 devir/dakika hızda 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan organik fazın donması için örnek tüpleri 20 dakika buz banyosunda bekletildi. 20 dakika sonunda tamamen donduğu gözlenen organik faz ile sulu fazın ayrılması için tüp dekante edilerek sulu faz döküldü ve organik faz ile sulu faz ayrılmış oldu. Tüpte kalan organik fazın üzerine son hacim 5 mL olacak şekilde % 99,8'lik etanol eklendi. Örneklerin absorbansı, kör çözeltilere karşı 209 nm'de UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü. Sinyalin en yüksek olduğu NaCl derişimi optimum NaCl derişimi olarak kabul edildi.

7.2.1.5 alkalama Süresinin Etkisi

Ekstraksiyon verimine çalkalama süresinin etkisini incelemek için farklı çalkalama sürelerinde çalışılarak ekstraksiyon veriminin en iyi olduğu çalkalama süresi belirlendi. Bu amaçla 15 mL'lik falkon tüplere; 0,5 mL 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisi, 1 mL pH 4 tampon çözeltisi, 0,25 mL dispersif çözücü olarak kullanılan etanol, 2 M NaCl çözeltisinden 0,25 mL eklendi ve son hacimler saf su ile 5 mL'ye tamamlandı. Her birinin üzerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 80 µL eklendi. Her biri için ayrı ayrı olmak üzere indometazin içermeyen kör çözelti hazırlandı.

Örnek özelti hazırlandıktan sonra titreşimli çalkalama cihazında sırasıyla 2 ; 5 ; 7,5 ; 10 ve 15 dakika sürelerinde çalkalandı. alkalama işleminden sonra örnekler 4000 devir/dakika hızda 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan organik fazın donması için örnek tüpleri 20 dakika buz banyosunda bekletildi. 20 dakika sonunda tamamen donduğu gözlenen organik faz ile sulu fazın ayrılması için tüp dekante edilerek sulu faz döküldü ve organik faz ile sulu faz ayrılmış oldu. Tüpte kalan organik fazın üzerine son hacim 5 mL olacak şekilde % 99,8'lik etanol eklendi. Örneklerin absorbansı, kör çözeltilere karşı 209 nm'de UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü. Sinyalin en yüksek olduğu çalkalama süresi optimum çalkalama süresi olarak kabul edildi.

7.2.1.6 Santrifüj Süresinin Etkisi

Santrifüj süresinin sulu ve organik fazın ayrılmasındaki etkinliği araştırmak için, santrifüj süresi 2-15 dakika arasında tutularak yöntem uygulandı. Bu amaçla 15 mL'lik falkon tüplere; 0,5 mL 50 mg L⁻¹ indometazin çalışma çözeltisi, 1 mL pH 4 tampon çözeltisi, 0,25 mL dispersif çözücü olarak kullanılan etanol, 2 M NaCl çözeltisinden 0,25 mL eklendi ve son hacimler saf su ile 5 mL'ye tamamlandı. Her birinin üzerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 80 µL eklendi. Her biri için ayrı ayrı olmak üzere indometazin içermeyen kör çözelti hazırlandı.

Örnek çözeltiler hazırlandıktan sonra titreşimli çalkalama cihazında 7,5 dakika çalkalandı. Çalkalama işleminden sonra örnekler 4000 devir/dakika hızda sırasıyla 2, 5, 10 ve 15 dakika sürelerinde santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan organik fazın donması için örnek tüpleri 20 dakika buz banyosunda bekletildi. 20 dakika sonunda tamamen donduğu gözlenen organik faz ile sulu fazın ayrılması için tüp dekante edilerek sulu faz döküldü ve organik faz ile sulu faz ayrılmış oldu. Tüpte kalan organik fazın üzerine son hacim 5 mL olacak şekilde % 99,8'lik etanol eklendi. Örneklerin absorpsiyonu, kör çözeltilere karşı 209 nm'de UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü. Sinyalin en yüksek olduğu santrifüj süresi optimum santrifüj süresi olarak kabul edildi.

7.3 Yabancı İyon Etkisi

İndometazin'in tayini ve önderiştirilmesi amacı ile geliştirilen yöntem üzerine yabancı anyonların, katyonların ve hümik asidin etkisi incelendi. Her bir yabancı anyondan (Cl^- ; PO_4^{3-} ; CO_3^{2-} ; SO_4^{2-}) ve her bir yabancı katyondan (Fe^{3+} ; Cr^{3+} ; Mn^{2+} ; Ba^{2+} ; Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; Co^{2+} ; Pb^{2+} ; Ni^{2+} ; Cd^{2+} ; Sr^{2+}) 1000 mg L⁻¹ ve 100 mg L⁻¹ stok çözeltiler hazırlandı. Bunların dışında 0,01 g hümik asit alınıp 100 mL'ye saf su ile tamamlanarak 100 mg L⁻¹'lik hümik asit çözeltisi hazırlandı. 15 mL'lik farklı falkon tüplere her bir anyon ve katyon stok çözeltilerinden ve hümik asit çözeltisinden farklı hacimlerde eklendi.

Her bir tüpe ayrı ayrı belirtilen miktarlarda yabancı iyon çözeltisi ve belirtilen miktarlarda 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisi, 1 mL pH 4 tampon çözeltisi, 0,25 mL dispersif çözücü olarak kullanılan etanol, 2 M NaCl çözeltisinden 0,25 mL eklendi ve son hacimler saf su ile 5 mL'ye tamamlandı. Her birinin üzerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 80 µL eklendi. Her iyon çalışmasında, iyonun etkisini görmek için yabancı iyon içermeyen 3 paralel örnek de hazırlandı. Hepsi için ilaç içermeyen tek bir kör çözeltisi kullanıldı. Yabancı iyon içermeyen çözelti ve yabancı iyon içeren çözeltiler titreşimli çalkalama cihazında 7,5 dakika çalkalandı. Çalkalama işleminden sonra örnekler 4000 devir/dakika hızda 5 dakika santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan organik fazın donması için örnek tüpleri 20 dakika buz banyosunda bekletildi. 20 dakika sonunda tamamen donduğu gözlenen organik faz ile sulu fazın ayrılması için tüp dekante edilerek sulu

faz döküldü ve organik faz ile sulu faz ayrılmış oldu. Tüpte kalan organik fazın üzerine 0,3 mL indometazin çalışma çözeltisinden alınan örneklerin son hacmi 3 mL ve 0,5 mL indometazin çalışma çözeltisinden alınan örneklerin son hacim 5 mL olacak şekilde % 99,8'lik etanol eklendi. Örneklerin absorbanı, kör çözeltilere karşı 209 nm'de UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü.

7.4 Önderiştirme Deneyleri

5 farklı önderiştirme deneyi yapıldı ve çalışılan yöntemin önderiştirme için uygunluğu incelendi. Her bir denemede kullanılan çözeltiler Tablo 7.6'da verilmiştir.

Tablo 7.6: Önderiştirme için örnek hazırlama.

Örnek No	50 mg L ⁻¹ indometazin çözeltisi (mL)	Tampon çözelti (mL)	Etanol (mL)	2 M NaCl (mL)	Örnek çözelti (mL)	1-undekanol (µL)
1	0,25	1	0,25	0,25	5	80
2	0,25	2	0,50	0,50	10	160
3	0,25	4	1,00	1,00	20	320
4	0,25	6	1,50	1,50	30	480
5	0,25	8	2,00	2,00	40	640

1. ve 2. örnekler 15 mL'lik falkon tüplerde, 3, 4 ve 5. örnekler ise 50 mL'lik falkon tüplerde hazırlandı. Ayrıca her biri için ayrı ayrı olmak üzere indometazin içermeyen kör çözeltiler hazırlandı. Çalışmalar optimize edilen şartlarda yapıldı. 15 mL'lik falkon tüpte bulunan çözeltiler titreşimli çalkalama cihazında 7,5 dakika çalkalandı. 50 mL'lik falkon tüpte bulunan çözeltiler ise elde 10 dakika çalkalandı. Çalkalama işleminden sonra örnekler 4000 devir/dakika hızda 5 dakika santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan organik fazın donması için örnek tüpleri 20 dakika buz banyosunda bekletildi. 20 dakika sonunda tamamen donduğu gözlenen organik faz ile sulu fazın ayrılması için tüp dekante edilerek sulu faz döküldü ve organik faz ile sulu faz ayrılmış oldu. Tüpte kalan organik fazın üzerine son hacim 2,5 mL olacak şekilde % 99,8'lik etanol eklendi. Örneklerin absorbanı, kör çözeltilere karşı 209 nm'de UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü.

7.5 Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması

İndometazin çalışma çözeltisi kalibrasyon eğrisinin oluşturulması amacıyla kullanılmıştır. 5 farklı 15 mL'lik falkon tüplere 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisinden sırasıyla 0 mL, 0,1 mL, 0,2 mL, 0,4 mL ve 0,6 mL alınarak üzerlerine 1 mL pH 4 tampon çözeltisi, 0,25 mL dispersif çözücü olarak kullanılan etanol, 2 M NaCl çözeltisinden 0,25 mL eklendi ve son hacimler saf su ile 5 mL'ye tamamlandı. Her birinin üzerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 80 µL eklendi. Ayrıca indometazin içermeyen bir kör çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan her bir çözelti titreşimli çalkalama cihazında 7,5 dakika çalkalandıktan sonra 4000 devir/dakika hızda 5 dakika santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan organik fazın donması için örnek tüpleri 20 dakika buz banyosunda bekletildi. 20 dakika sonunda tamamen donduğu gözlenen organik faz ile sulu fazın ayrılması için tüp dekante edilerek sulu faz döküldü ve organik faz ile sulu faz ayrılmış oldu. Tüpte kalan organik fazın üzerine son hacim 5 mL olacak şekilde % 99,8'lik etanol eklenerek absorbansları kör çözeltiliye karşı 209 nm'de UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü. Çözeltideki indometazin'in derişimine karşı absorbans sinyalleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi çizildi.

7.6 Geliştirilen Yöntemin Analitik Özellikleri

Geliştirilen yöntemin tayin sınırı ve gözlenebilme sınırının belirlenmesi için yapılan deneylerde 20 adet farklı kör örneğe geliştirilen önderiştirme yöntemi uygulanarak çözeltilerin absorbans sinyalleri 209 nm'de UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü. Gözlenebilme sınırı kör sinyallerinin (N=20) standart sapmasının üç katının kalibrasyon eğrisinin eğimine bölümü ($3S_{bl}/m$), tayin sınırı ise kör sinyallerinin (N=20) standart sapmasının on katının kalibrasyon eğrisinin eğimine bölümü ($10S_{bl}/m$) ile hesaplandı.

7.7 Örnek Analizleri

7.7.1 Dere Suyu Analizi

Katılaşan organik damla dispersif sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminin dere suyu örneği için uygulanabilirliği incelendi. Yapılan çalışmalar için Balıkesir Küçük Bostancı Deresi'nden örnek alındı. Örneğin analize uygun hale gelmesi için önce Whatman süzgeç kağıdı ile süzöldü daha sonra ise 0,45 µm gözenek boyutuna sahip selöloz asetat membran filtre kağıdı ile süzöldü. Süzme işleminde sonra polietilen kaba aktarılıp dolapta 4 °C'de saklandı.

Analize hazırlanan dere suyu örneğinden 5 mL alındı ve üzerine 1 mL pH 4 tampon çözeltilisi, 0,25 mL dispersif çözücü olarak kullanılan etanol, 2 M NaCl çözeltilisinden 0,25 mL eklendi ve son hacimler saf su ile 5 mL'ye tamamlandı. Her birinin üzerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 80 µL eklenerek geliştirilen yöntem uygulandı. Ayrıca yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliğinin kontrolü için, bu su örneğinin 5 mL' lik hacimlerine bilinen miktarda (50 mg L⁻¹ indometazin çözeltilisinden 0,2 mL) indometazin eklenerek geliştirilen yöntem uygulandı.

7.7.2 Çeşme Suyu Analizi

Katılaşan organik damla dispersif sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminin çeşme suyu örneği için uygulanabilirliği incelendi. Yapılan çalışmalar için laboratuvarında bulunan çeşmeden bir beher içerisine yeterli miktarda çeşme suyu alındı.

Çeşme suyu örneğinden 5 mL alındı ve üzerine 1 mL pH 4 tampon çözeltilisi, 0,25 mL etanol, 0,25 mL 2 M NaCl çözeltilisi eklendi ve son hacimler saf su ile 5 mL'ye tamamlandı. Her birinin üzerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 80 µL eklenerek geliştirilen yöntem uygulandı. Ayrıca yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliğinin kontrolü için, çeşme suyu örneğinin 5 mL' lik hacimlerine bilinen miktarda (50 mg L⁻¹ indometazin çözeltilisinden 0,2 mL) indometazin eklenerek geliştirilen yöntem uygulandı.

7.7.3 İdrar Analizi

Geliştirilen katılaşan organik damla dispersif sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminin idrar örneği üzerinde uygulanabilirliğini incelemek amacıyla Banu KANITÜRK'ten alınan idrar örneği kullanıldı. Örneğin analize uygun hale getirilebilmesi için önce 50 mL hacimli falkon tüpe alınan idrar örneği 4000 devir/dakika hızda 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüj sonrası falkon tüpün dibinde tortu gözlemlendi. Falkon tüpün üstündeki süzüntü kısmı tortudan ayrılarak başka bir falkon tüpe aktarıldı. Alınan süzüntü kısmı önce whatman süzgeç kağıdı ile süzöldü daha sonra ise 0,45 µm gözenek boyutuna sahip selöloz asetat membran filtre kağıdı ile süzöldü. Süzme işleminin ardından 50 mL'lik bir falkon tüpe idrar örneğinden 4 mL eklenip 40 mL'ye saf su ile seyreltildi. Seyreltilmiş örnek idrar analizlerinde kullanıldı.

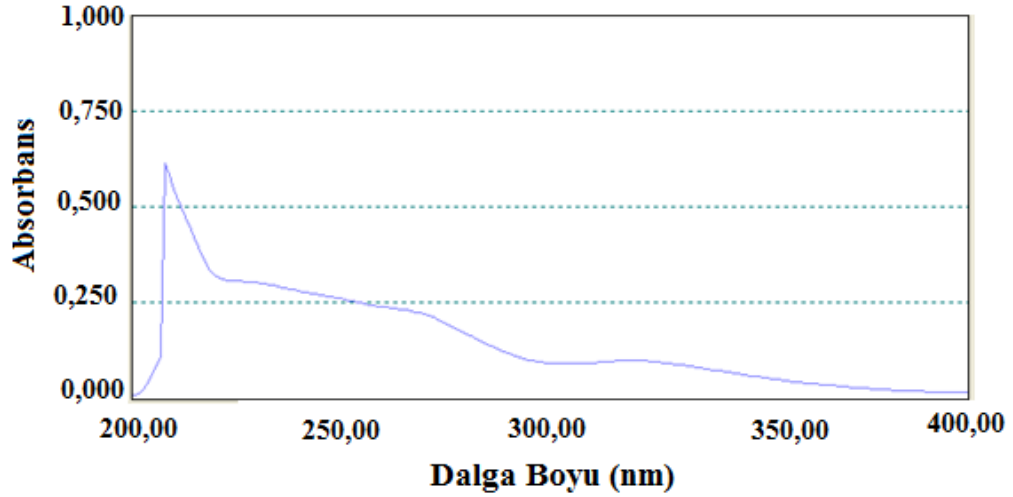
Seyreltilmiş idrar örneğinden 5 mL alındı ve üzerine 1 mL pH 4 tampon çözeltisi, 0,25 mL etanol, 0,25 mL 2 M NaCl çözeltisi eklenerek son hacimler saf su ile 5 mL'ye tamamlandı. Her birinin üzerine ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan 1-undekanol'den 80 µL eklenerek geliştirilen yöntem uygulandı. Ayrıca yöntemin doğruluğunun kontrolü için, idrar örneğinin 5 mL'lik hacimlerine 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisinden 0,2 mL eklenerek geliştirilen yöntem uygulandı.

8. BULGULAR

8.1 Optimum Şartların Belirlenmesi

8.1.1 pH Etkisi

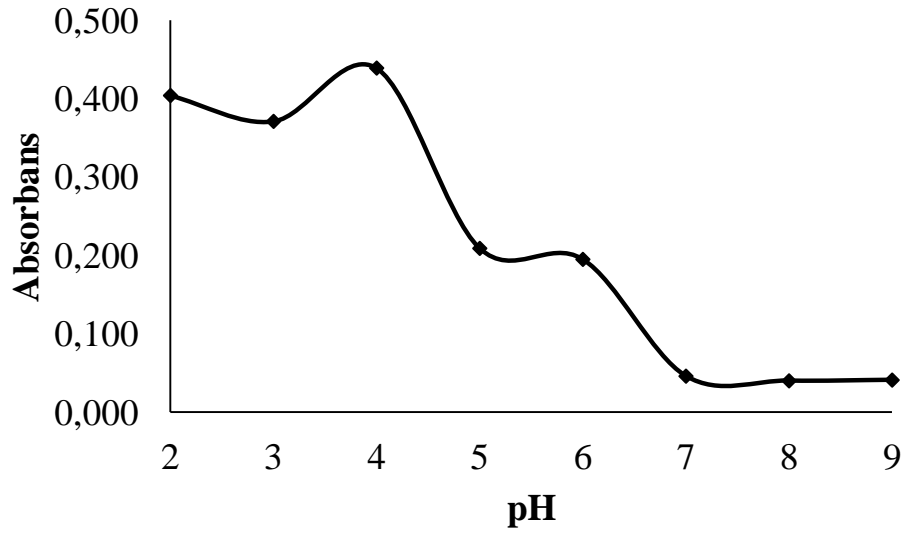
İndometazin ilacının ekstraksiyonu üzerine pH'ın etkisinin incelenmesi amacıyla örnek çözeltilerin pH'ı 2-9 aralığında değiştirilerek çalışmalar yapıldı. Ortamın pH'ını çalışılan pH değerinde sabit tutabilmek için uygun tampon çözeltiler kullanıldı. Maksimum absorbans sinyali 209 nm'de pH 4'te yapılan çalışmada gözlemlendi. pH 4'te ilaça ait UV-GB spektrumu Şekil 8.1'de verildi. Çalışılan tüm pH'larda elde edilen sonuçlar Tablo 8.1 ve Şekil 8.2'de verildi.



Şekil 8.1: İndometazin'in pH 4'deki spektrumu.

Tablo 8.1: pH etkisi.

pH	Absorbans
2	0,404
3	0,371
4	0,616
5	0,209
6	0,195
7	0,046
8	0,040
9	0,041



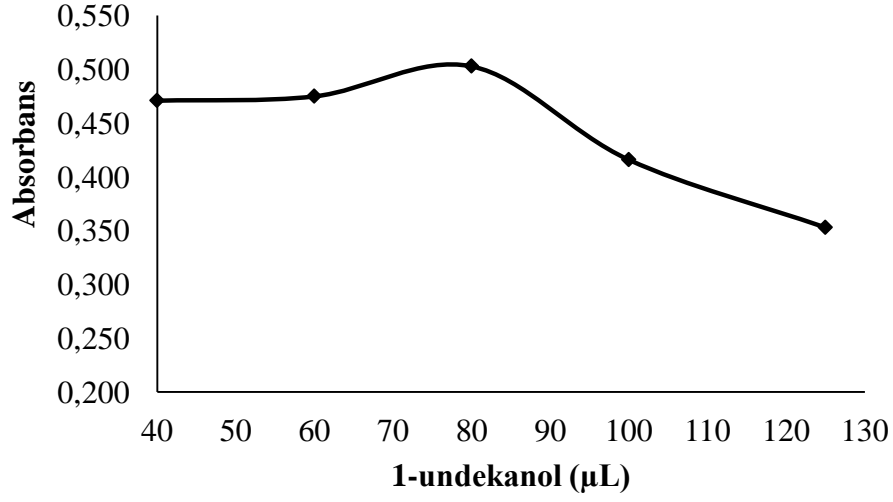
Şekil 8.2: İndometazin'in ekstraksiyon verimi üzerine pH etkisi.

8.1.2 Ekstraksiyon Çözücüsünün Hacminin Etkisi

Geliştirilen yöntemin uygulanması süresince çalışılacak ortamda, ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılacak 1-undekanol hacminin ekstraksiyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla farklı hacimlerde 1-undekanol içeren çözeltiler kullanıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 8.2 ve Şekil 8.3'te verildi.

Tablo 8.2: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine 1-undekanol hacminin etkisi.

1-undekanol (µL)	40	60	80	100	125
Absorbans	0,471	0,475	0,503	0,416	0,353



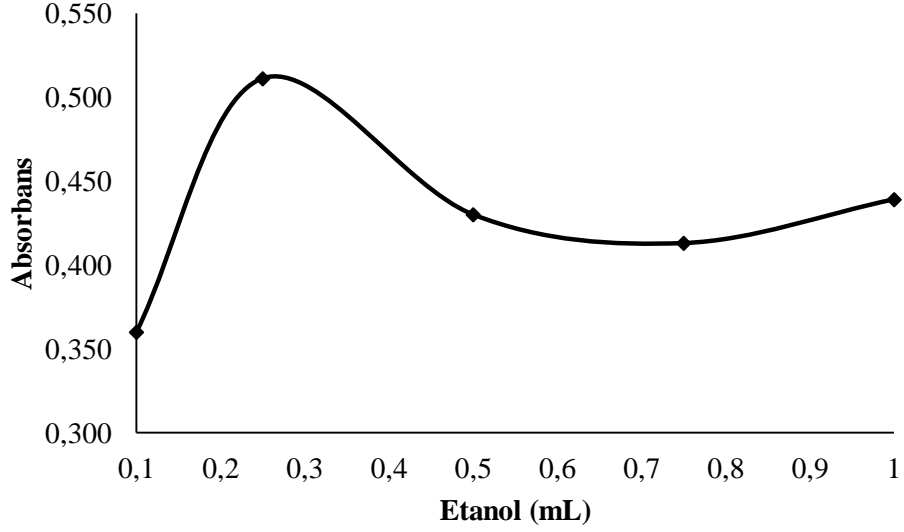
Şekil 8.3: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine 1-undekanol hacminin etkisi.

8.1.3 Dispersif Çözücü Hacminin Etkisi

Ekstraksiyon verimi üzerine dispersif çözücü (etanol) hacminin etkisi 0,1-1,0 mL hacimleri arasında incelendi. Bulunan sonuçlar Tablo 8.3 ve Şekil 8.4'te verildi.

Tablo 8.3: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine üzerine dispersif çözücü hacminin etkisi.

Etanol (mL)	0,10	0,25	0,50	0,75	1,0
Absorbans	0,360	0,511	0,430	0,413	0,439



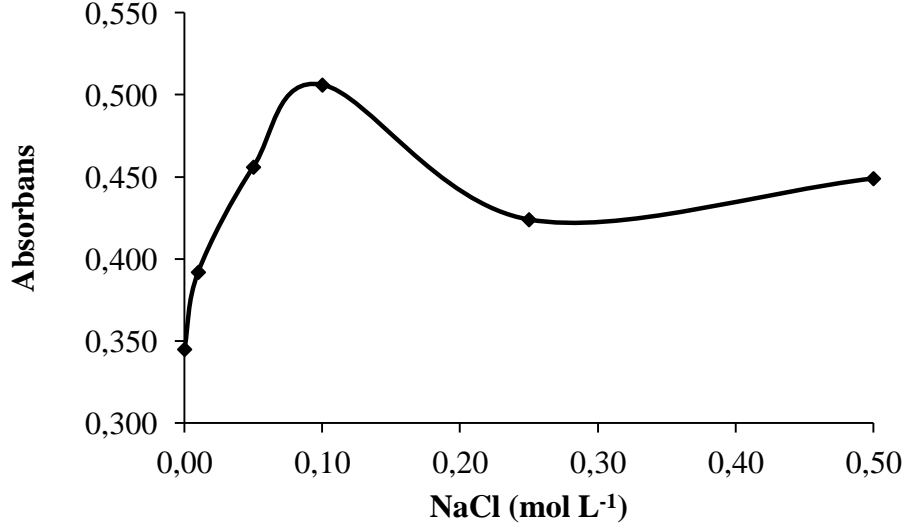
Şekil 8.4: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine dispersif çözücü hacminin etkisi.

8.1.4 NaCl Derişiminin Etkisi

NaCl derişiminin indometazin'in ekstraksiyon verimi üzerine etkisi 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,25 ve 0,5 mol L⁻¹ NaCl çözeltileri kullanılarak incelendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 8.4 ve Şekil 8.5'te verildi.

Tablo 8.4: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine NaCl derişiminin etkisi.

NaCl (mol L ⁻¹)	0	0,01	0,05	0,10	0,25	0,50
Absorbans	0,345	0,392	0,456	0,506	0,424	0,449



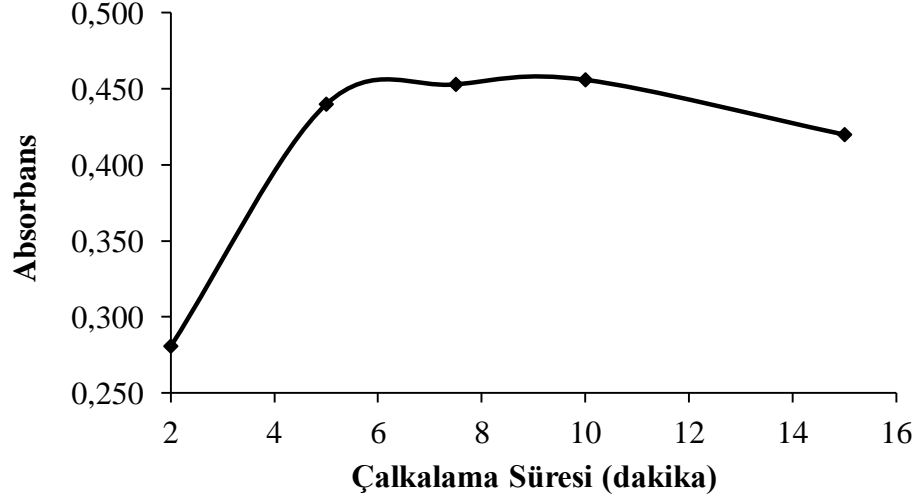
Şekil 8.5: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine NaCl derişiminin etkisi.

8.1.5 Çalkalama Süresinin Etkisi

Çalkalama süresinin ekstraksiyon verimine etkisi 2; 5; 7,5; 10 ve 15 dakika çalkalama sürelerinde incelendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 8.5 ve Şekil 8.6'da verildi.

Tablo 8.5: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine çalkalama süresinin etkisi.

Çalkalama Süresi (dakika)	2	5	7,5	10	15
Absorbans	0,281	0,440	0,453	0,456	0,420



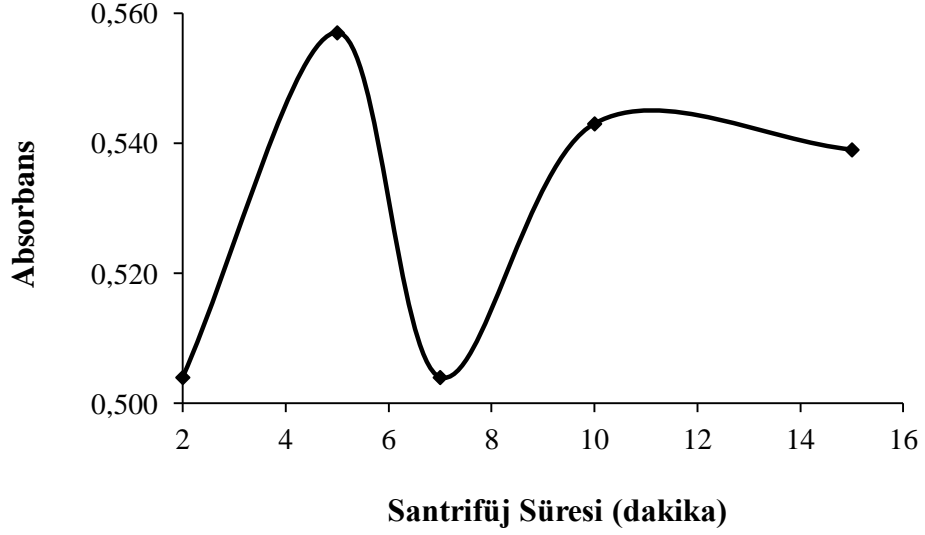
Şekil 8.6: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine çalkalama süresinin etkisi.

8.1.6 Santrifüj Süresinin Etkisi

Santrifüj süresinin sulu ve organik fazın ayrılmasındaki etkinliği, santrifüj süresi 2-15 dakika arasında tutularak incelendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 8.6 ve Şekil 8.7'de verildi.

Tablo 8.6: İndometazin ilacının önderiştirilmesi üzerine santrifüj süresinin etkisi.

Santrifüj süresi (dakika)	2	5	7	10	15
Absorbans	0,504	0,557	0,504	0,543	0,539



Şekil 8.7: İndometazin'in ekstraksiyonu üzerine santrifüj süresinin etkisi.

8.2 Yabancı İyon Etkisi

İndometazin ilacına ait sinyaller üzerine girişimcilerin etkilerini belirlemek amacıyla örneklerde sıkça rastlanan iyon türlerinin etkileri incelendi. Elde edilen % geri kazanım değerleri Tablo 8.7'de verildi.

Tablo 8.7: Yabancı iyon etkisi.

Yabancı İyon yada Bileşik	Yabancı İyon ya da Bileşiğin Derişimi (mg L ⁻¹)	Eklenen İndometazin (mg L ⁻¹)	Bulunan İndometazin (mg L ⁻¹)	% Geri Kazanım
PO ₄ ³⁻	100	3	3,10 ± 0,07	103,3
CO ₃ ²⁻	100	3	3,09 ± 0,06	103,2
Ca ²⁺	100	5	5,03 ± 0,02	100,7
Sr ²⁺	10	3	3,09 ± 0,06	103,1
Hümik Asit	10	3	3,23 ± 0,16	107,9
Cr ³⁺	1	5	5,48 ± 0,33	109,6
Mn ²⁺	1	5	5,15 ± 0,11	103,1
Fe ³⁺	1	5	5,88 ± 0,62	117,6
Cu ²⁺	1	5	5,47 ± 0,33	109,5
Ba ²⁺	1	5	5,50 ± 0,35	110,1
Mg ²⁺	1	5	5,28 ± 0,20	105,7
Co ²⁺	1	5	5,59 ± 0,42	111,9
Pb ²⁺	1	5	5,48 ± 0,34	109,6
Ni ²⁺	1	5	4,98 ± 0,01	99,6
Cd ²⁺	1	5	4,97 ± 0,02	99,4

8.3 Önderiştirme Deneyleri

5 farklı önderiştirme çalışması yapılarak çalışılan yöntemin önderiştirme için uygunluğu incelendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 8.8’de verildi.

Tablo 8.8: Önderiştirme deneyleri.

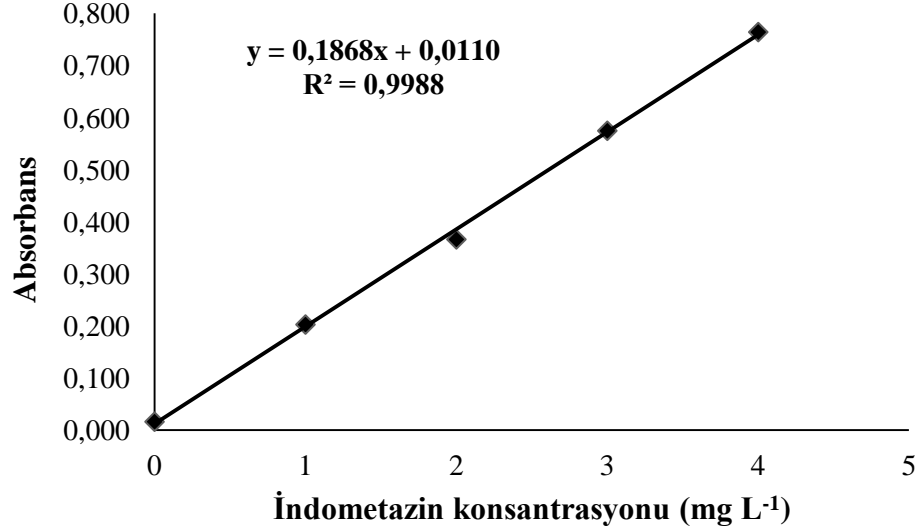
Örnek Hacmi (mL)	Eklenen İndometazin (µg)	Bulunan İndometazin (µg)	Geri Kazanım (% R)
5	25	25,27 ± 0,42	101,1
10	25	25,23 ± 0,39	100,9
20	25	21,31 ± 1,85	85,2
30	25	18,32 ± 3,91	73,3
40	25	14,94 ± 5,83	59,8

8.4 Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması

Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması amacıyla indometazin’in farklı derişimdeki çözeltileri kullanılarak geliştirilen yöntem uygulandı. İndometazin derişimine karşı absorbands sinyalleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi çizildi. Elde edilen sonuçlar Tablo 8.9 ve Şekil 8.8’de verildi.

Tablo 8.9: İndometazin için kalibrasyon grafiği verileri.

İndometazin derişimi (mg L⁻¹)	Absorbans
0	0,013
1	0,203
2	0,360
3	0,575
4	0,764



Şekil 8.8: İndometazin için kalibrasyon grafiği.

8.5 Geliştirilen Yöntemin Analitik Özellikleri

Geliştirilen yöntemin tayin sınırı ve gözlenebilme sınırının belirlenmesi için, 20 tane farklı kör örneğe geliştirilen yöntem uygulanarak sinyalleri UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü. Ayrıca farklı derişimlerde indometazin içeren çözeltiler hazırlanarak geliştirilen yöntem uygulandı ve çözeltilerin absorbans sinyalleri UV-GB spektrofotometresi ile okutulurak kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Gözlenebilme sınırı kör sinyallerinin (N=20) standart sapmasının üç katının kalibrasyon eğrisinin eğimine bölümü ($3S_{bl}/m$), tayin sınırı ise kör sinyallerinin (N=20) standart sapmasının on katının kalibrasyon eğrisinin eğimine bölümü ($10S_{bl}/m$) ile hesaplandı. Elde edilen sonuçlardan gözlenebilme sınırı önderiştirmesiz $17,9 \mu\text{g L}^{-1}$ ve tayin sınırı ise $59,9 \mu\text{g L}^{-1}$ indometazin olarak bulundu. Yukarıda Bölüm 8.3'de de görüldüğü gibi 10 mL örnek hacminde çalışılıp son hacim etanol ile 1 mL ye tamamlandığında 10 katlık bir önderiştirme yapılabilir bu durumda gözlenebilme sınırında yaklaşık 10 katlık bir iyileşme elde edilebilir.

8.6 Örnek Analizleri

8.6.1 Dere Suyu Analizi

Geliştirilen yöntem Küçük Bostancı deresinden alınan dere suyu örneğine uygulandı. Su örneğinden 5 mL alınarak geliştirilen önderiştirme yöntemi uygulandı. Analiz sonucunda su örneğinde indometazin için gözlenebilme sınırının üzerinde sinyal elde edilmedi. Ayrıca yöntemin doğruluğunun kontrolü için bu su örneğinin 5 mL'lik hacmine 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisinden 0,2 mL eklenerek geri kazanım çalışması yapıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 8.10'da verildi.

Tablo 8.10: Dere suyu örneği için elde edilen sonuçlar (N=3).

Eklenen (mg L⁻¹)	Bulunan (mg L⁻¹)	% Geri kazanım
-	< LOD*	-
2	1,89 ± 0,01	94,7

< LOD* : Gözlenebilme sınırının altında

8.6.2 Çeşme Suyu Analizi

Geliştirilen yöntem laboratuvarından alınan çeşme suyu örneğinin 5 mL'sine uygulandı. Analiz sonucunda su örneğinde indometazin için gözlenebilme sınırının üzerinde sinyal elde edilmedi. Ayrıca yöntemin doğruluğunun kontrolü için bu su örneğinin 5 mL'lik hacmine 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisinden 0,2 mL eklenerek geri kazanım çalışması yapıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 8.11'de verildi.

Tablo 8.11: Çeşme suyu örneği için elde edilen sonuçlar (N=3).

Eklenen (mg L⁻¹)	Bulunan (mg L⁻¹)	% Geri kazanım
-	< LOD*	-
2	2,06 ±0,07	103,4

< LOD* : Gözlenebilme sınırının altında

8.6.3 İdrar Örneği Analizi

Geliştirilen yöntem idrar örneğine uygulandı. 10 kat seyreltilmiş olan idrar örneğinden 5 mL alınarak geliştirilen önderiştirme yöntemi uygulandı. Ayrıca yöntemin doğruluğunun ve tekrarlanabilirliğinin kontrolü için idrar örneğinin 5 mL'lik hacmine 50 mg L⁻¹ indometazin çözeltisinden 0,2 mL eklenerek geri kazanım çalışması yapıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 8.12'de verildi.

Tablo 8.12: İdrar örneği için elde edilen sonuçlar.

Eklenen (mg L⁻¹)	Bulunan (mg L⁻¹)	% Geri kazanım
-	2,87 ± 0,46	-
2	4,84 ± 0,01	98,5

9. SONUÇLAR

9.1 Optimum Ekstraksiyon Şartlarının Belirlenmesi

9.1.1 pH Etkisi

Geliştirilen yöntemde, ekstraksiyon verimi üzerine pH'ın etkisinin incelenmesi Bölüm 7.2.1.1'de belirtilen şartlarda yapıldı. Tablo 8.1'de görüldüğü gibi indometazin'in 1-undekanol içine ekstraksiyon verimi pH 4'te maksimumdur.

Geliştirilen yöntemin asidik ortamda maksimum absorbands vermiş olması yöntemin önemli avantajlarından. Çünkü asidik pH, yabancı iyon etkisini en aza indiren pH değeridir. Bu da doğada çok gözlenen anyon ve kationların indometazin'in absorbands sinyallerine girişim yapmasını engeller.

9.1.2 Organik Sıvı Hacminin Etkisi

Geliştirilen yöntemde, ekstraksiyon verimi üzerine 1-undekanol hacminin etkisinin incelenmesi Bölüm 7.2.1.2'de belirtilen şartlarda yapıldı. Tablo 8.2'de görüldüğü gibi 1-undekanol miktarı arttıkça ekstraksiyon verimi arttı ve 80 µL'de en yüksek değere ulaştı. Bu bulgular ışığında optimum 1-undekanol hacmi 80 µL olarak belirlendi.

9.1.3 Dispersif Çözücü Hacminin Etkisi

Geliştirilen yöntemde, ekstraksiyon verimi üzerine etanol hacminin etkisinin incelenmesi Bölüm 7.2.1.3'de belirtilen şartlarda yapıldı. Tablo 8.3'de görüldüğü gibi maksimum absorbands 0,25 mL etanol hacminde elde edildi ve 0,25 mL etanol hacminden daha yüksek etanol hacimlerinde sinyallerin biraz azaldığı gözlemlendi. Bu bulgular ışığında optimum etanol hacmi 0,25 mL olarak belirlendi.

9.1.4 NaCl Derişiminin Etkisi

Geliştirilen yöntemde ekstraksiyon üzerine NaCl derişiminin etkisinin incelenmesi Bölüm 7.2.1.4'de belirtilen şartlarda yapıldı. Tablo 8.4'de görüldüğü gibi 0,10 M NaCl derişim değerine kadar ekstraksiyon veriminde artış gözlemlendi. Bu bulgular ışığında maksimum ekstraksiyon veriminin gözlemlendiği 0,10 M derişim değeri optimum NaCl derişimi olarak seçildi.

9.1.5 Çalkalama Süresinin Etkisi

Geliştirilen yöntemde ekstraksiyon üzerine çalkalama süresinin etkisinin incelenmesi Bölüm 7.2.1.5'de belirtilen şartlarda yapıldı. Tablo 8.5'te görüldüğü gibi 7,5 dakika çalkalama süresinin ekstraksiyon için yeterli olduğu görülmektedir. Bu nedenle optimum çalkalama süresi 7,5 dakika olarak seçildi.

9.1.6 Santrifüj Süresinin Etkisi

Geliştirilen yöntemde santrifüj süresinin sulu ve organik fazın ayrılmasındaki etkinliğinin incelenmesi Bölüm 7.2.1.6'de belirtilen şartlarda yapıldı. Tablo 8.6'da görüldüğü gibi 5 dakika santrifüj süresinin sulu ve organik fazın ayrılması için yeterli olduğu görülmektedir. Bu nedenle optimum santrifüj süresi 5 dakika olarak seçildi.

9.2 Yabancı İyon Etkisi

Dere suyu, çeşme suyu ve idrar örneklerinde yapılan çalışmalar için yabancı iyonların girişim etkilerini incelemek çok önemlidir. Bu amaçla doğal örneklerde sıkça karşılaşılan iyon türlerinin geliştirilen yöntem üzerine etkisi Bölüm 7.3'de belirtilen şartlarda çalışıldı. Çalışmalarda Tablo 8.7'de görüldüğü gibi PO_4^{3-} , CO_3^{2-} ve Ca^{2+} iyonlarının 100 mg L^{-1} 'e kadar, Sr^{2+} ve hümik asitin 10 mg L^{-1} 'e kadar, Cr^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Co^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} ve Cd^{2+} iyonlarının ise 1 mg L^{-1} 'e kadar girişim etkisi yapmadığı görülmüştür. Girişim etkisi ortaya çıkan derişimlerin doğal su örneklerinde ve idrar örneğindeki bu türlerin derişimlerden çok büyük olması nedeni

ile bu türlerin indometazinin tayinine girişim etkisi yapmayacakları anlaşılmaktadır. Elde edilen sonuçlar geliştirilen yöntemin doğal su ve idrar örneklerine uygulanabileceğini göstermiştir.

9.3 Önderiştirme Deneyleri

Önderiştirme işlemlerinin eser çalışmalardaki önemi, günümüzde kullanılan tayin cihazlarının pek azının ölçme alt sınırının düşük konsantrasyonlarda çalışmaya olanak vermesi ile açıklanabilir. Geliştirdiğimiz yöntemin önderiştirme faktörünün belirlenmesi çalışmaları Bölüm 7.4'de belirtildiği şekilde yapıldı. Tablo 8.8'de değişik önderiştirme faktörleri ve bu önderiştirme faktörleri ile yapılan çalışmalarda elde edilen geri kazanımlar verildi. 5 ve 10 mL örnek hacimleri için geri kazanım değeri sırasıyla % 101,1 ve % 100,9 olarak bulunmuştur. Sonuçlar yöntemin 5 ve 10 mL örnek hacimlerinde uygulanabileceğini göstermektedir.

9.4 Geliştirilen Yöntemin Örneklerle Uygulanması

9.4.1 Dere Suyu Analizi

Geliştirilen yöntem Küçük Bostancı deresinden alınan dere suyu örneğine uygulandı. Ayrıca yöntemin doğruluğu bu su örneğine bilinen miktarda indometazin eklenerek geri kazanım çalışması ile kontrol edildi. Elde edilen geri kazanım değeri % 94.7 olarak bulunmuştur (Tablo 8.10). Bu sonuç geliştirilen yöntemin dere suyu örneklerine uygulanabileceğini göstermektedir.

9.4.2 Çeşme Suyu Analizi

Geliştirilen yöntem laboratuardan alınan çeşme suyu örneğine uygulandı. Ayrıca yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği bu su örneğine bilinen miktarda indometazin eklenerek geri kazanım çalışması ile kontrol edildi. Elde edilen geri

kazanım değeri % 103,4 olarak bulunmuştur (Tablo 8.11). Bu sonuç geliştirilen yöntemin çeşme suyu örneklerinde indometazin tayini için kullanılabileceğini göstermektedir.

9.4.3 İdrar Analizi

Geliştirilen yöntem idrar örneğine uygulandı. Ayrıca yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği idrar örneğine bilinen miktarda indometazin eklenerek geri kazanım çalışması ile kontrol edildi. Elde edilen geri kazanım değeri % 98,2 olarak bulundu (Tablo 8.12). Tablo 8.12 de verilen sonuçlarda da görüldüğü gibi indometazin katılmayan idrar örneğinde de belirli miktar absorbans sinyali gözleendiği için bu absorbans sinyaline karşılık kalibrasyon eğrisinden hesaplanan indometazin derişimi verildi. Bu örnek için elde edilen absorbans sinyali idrar örneği içinde bulunan ve 209 nm'de absorbans yapan diğer organik bileşiklerden de kaynaklanabilir. Çünkü UV-Görünür bölge spektrofotometresinin aynı dalga boyunda absorbans yapan türler için seçimliliği çok düşüktür. Bu nedenle idrar örneklerinden elde edilen ekstraktların içindeki organik bileşiklerin ayrılmasını ve tayinini içeren HPLC, LC-MS gibi kromatografik tekniklerle analiz edilmesi gerekir. Fakat 2 mg L⁻¹ indometazin katılan örneğin geri kazanımının iyi olması geliştirilen önderiştirme yönteminin indometazini başarılı olarak örnek ortamından ayırıp önderiştirdiğini göstermektedir. Bu sonuç geliştirilen yöntemin idrar örneklerinde indometazinin önderiştirilmesi için kullanılabileceğini yalnız UV-Görünür bölge spektrofotometresinin tayin aşamasında uygun olmadığını daha ileri kromatografik tekniklere ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

10. SONUÇ VE ÖNERİLER

Önderiştirme yöntemlerinin temel amacı; analit dışında ortamda bulunan bozucu etkileri ortadan kaldırmak ve çok düşük düzeylerdeki analit derişimlerinin tayin edilebilirliğine imkan sunmaktır. Yani ölçülemeyecek düzeyde bulunan analit miktarının ölçülebilecek seviyeye getirilmesini sağlar. Önerilen yöntemin bu gereksinimleri sağladığı görülmektedir.

Bu çalışmada, katılaşan organik damla dispersif sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile indometazin ilacının önderiştirilmesi ve UV-GB spektrofotometresi ile tayini için bir yöntem geliştirildi. Bu bağlamda, pH, dispersif çözücü hacmi, ekstraksiyon çözücüsü hacmi, NaCl derişimi, ekstraksiyon süresi gibi farklı parametrelerin ekstraksiyon verimi üzerine etkileri incelenerek en uygun çalışma koşulları belirlendi.

Katılaşan organik damla dispersif sıvı-sıvı ekstraksiyonu yöntemleri damlanın spatül ile alınıp sulu fazdan ayrılması ile gerçekleştirilir. Geliştirilen katılaşan organik damla dispersif sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminde ekstraksiyon işlemi sonunda sulu faz ile organik fazın ayrımı dekantasyon işlemi ile sağlandı ve tüpte kalan analit içeren donmuş organik faz üzerine etanol eklenerek doğrudan UV-GB spektrofotometresi ile tayin edildi. Bu şekilde geliştirilen yöntem literatürde var olan yöntemlere göre uygulamada daha pratiktir ve daha kısa zaman diliminde analizlerin gerçekleşmesini sağlar.

Geliştirilen yönteminin birçok avantajı vardır. Bu avantajlar; yöntemin kolay uygulanabilmesi, minimum hacimde toksik organik çözücü tüketimi, yüksek geri kazanım elde edilmesi, hızlı bir şekilde analiz imkanı, ligand kullanımına gerek olmaması, düşük örnek hacimleriyle çalışılması, çevre dostu bir yöntem olması, damla alımının çok kolaylaşmış olması ve düşük maliyet olarak sıralanabilir.

Yöntemin tayin sınırının düşük olması ve matrikslere karşı toleransının yüksek olması önerilen metodun uygulanabilirliğini göstermektedir.

Geliştirilen yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği dere suyu, çeşme suyu, gibi çeşitli doğal su örneklerinde ve idrar örneğinde yapılan analizler ile gösterilmiştir. Yapılan analizler sonucunda tatmin edici analitik sonuçlara

ulaşılmıştır. Elde edilen deneysel sonuçlar geliştirilen yöntemin çeşitli doğal su örneklerinde indometazin'in önderiştirilmesi ve tayininde uygulanabileceğini göstermektedir. İdrar örnekleri için ise, geliştirilen yöntemin idrar örneklerinde indometazinin önderiştirilmesi için kullanılabilceğini yalnız UV-Görünür bölge spektrofotometresinin tayin aşamasında uygun olmadığını daha ileri kromatografik tekniklere ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

11. KAYNAKLAR

- [1] Kayaalp, O., *Rasyonel tanı ve tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*, Hacettepe Taş, Ankara, (2005).
- [2] Salam, O.A., Szolcsanyi, J., Mozsik, G., “The indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats effect of gastric acid, acid inhibition, capsaicin-type agents and prostacyclin”, *Journal of Physiology-Paris*, 91, 7-19, (1997).
- [3] Gündoğdu, T., “Su-Karboksilik Asit-Çözücü (Metil Tersiyer Bütil Eter, 1-Undekanol ve Dietil Maleat) Sıvı Sistemleri Faz Dengeleri”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, 34-35, (2009).
- [4] Undecanol, <http://en.wikipedia.org/wiki/Undecanol> [Ziyaret Tarihi 25 Haziran 2009].
- [5] Çadıroğlu, D., “Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu ile Metal İyonlarının Önderiştirilmesinde Fenol-Amin Tipindeki Üç ve Dört Dişli Ligandların Verimliliklerinin Karşılaştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Ankara, 24-25, (2008).
- [6] Zolotov, Yu. A., “Preconcentration in inorganic trace analysis”, *Pure & Appl. Chem.*, p. 129-148, (1978).
- [7] Mizuike, A., “*Enrichment techniques for inorganic trace analysis*”, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, (1983).
- [8] Holler, S.W., *Analitik Kimya*, Ankara, (1999).
- [9] Aydın, H., *Ayrırma Metotları*, Ankara, (1999).

- [10] Aksu, Ç., “Yeni Çöktürülmüş Ditiyokarbamat Bileşiklerinin Eser Metallerin FAAS ile Tayininde Önderiştirme İşlemlerinde Kullanabilirliğinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Samsun, 23-24, (2005).
- [11] Morris, J. C., Weber, W. J., “Removal of Biologically Resistant Pollutants from Wastewaters by Adsorption”, First Internatiol Conference on Water Pollution, (1962).
- [12] Treybal, R.E., *Liquid Extraction*, McGraw-Hill Book Co., New York, (1951).
- [13] Gönül, N., “Çok Fazlı Sistemler I Yüzey Kimyası ve Kolloidler”, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, (2000).
- [14] Leong MI, Huang SD., “Dispersive liquid–liquid microextraction method based on solidification of floating organic drop for extraction of organochlorine pesticides in water samples”, *J Chromatogr A*, 1216: 7645-7650, (2009).
- [15] Kenanoğlu, Ö., “Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi Kullanarak Su Örneklerinde Eser Miktardaki Hg(II) İyonlarının Tayini İçin Katılaştırılmış Yüzen Organik Damla ile Ultrason-Destekli Emülsifikasyon Mikroekstraksiyonunun Uygulanması”, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 21-22 (2014).
- [16] Wen, X., Yang, Q., Yan, Z. and Deng, Q., “Determination of cadmium and copper in water and food samples by dispersive liquid–liquid microextraction combined with UV–vis spectrophotometry”, *Microchem. J.*, 97, 249–254, (2011).
- [17] Han, D., Row, K. H., “Trends in liquid-phase microextraction, and its application to environmental and biological samples”, *Microchimica Acta*, 234-248, (2012).

- [18] Rezaee, M., Yamini, Y. and Faraji, M., "Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method", *J. Chromatogr. A*, 1217: 2342-2357, (2010).
- [19] Zang, X.-H., Wu, Q.-H., Zhang, M.-Y., Xi G.-H. and Wang, Z., "Developments of dispersive liquid-liquid microextraction technique", *Chinese J. Anal. Chem.*, 37(2): 161-168, (2009).
- [20] Wen, X., Yang, Q., Yan, Z. and Deng, Q., "Determination of cadmium and copper in water and food samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with UV-vis spectrophotometry", *Microchem. J.*, 97, 249-254, (2011).
- [21] Harris, D.C., *Quantitative Chemical Analysis, USA: W.H. Freeman and Company*, (1982).
- [22] Yıldız, A., Genc, O., Bektas, S., *Enstrumental Analiz Yontemleri*, Hacettepe Universitesi Basımevi, Ankara, (1997).
- [23] Howel, J.A., Hargis, L.G, "Ultraviolet and light absorbtion spectrometry". *Analytical Chemistry*, (1994).
- [24] F.A. Settle, "Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry", *Prentice Hall, New Jersey*, 481-500, (1997).
- [25] Namlı, H., <http://w3.balikesir.edu.tr/~hnamli/oya/uvvis/cihazcalisma.php>
- [26] Feinberg, M., "Validation of analytical methods based on accuracy profiles", *Journal of Chromatography A*, 1158 174-183, (2007).
- [27] Başgel, S., "Petrol Kökenli Yakıtlarda Önemli Ağır Metallerin Analizi ve Profirine Bağlı Vanadyum Türünün Tayini", Doktora Tezi, *İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Malatya, 56-58, (2012).

- [28] Seader, J.D., Henley, E. J., Roper. K., 2011, Separation Principles Process, John Wiley&Sons, Inc, USA, 0-470-48183-7.
- [29] Wankat, C. P., 2011, Separation Process Engineering 3rd Edition, Prentice Hall, USA, 978-0-13-275723-2.
- [30] Atakan, D., “Pet Şişelerden İçme Suyuna Geçen Antimon Miktarının Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Ankara, 46-48, (2014).