

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ (GENEL KİMYA)
ANABİLİM DALI

BİYOLOJİK ÖRNEKLERDE ELEKTROTERMAL ATOMİK ABSORPSİYON
SPEKTROSKOPİSİ İLE KURŞUN TAYİNİNDE NİTRİK ASİTİN VE BAZI
ORTAM DÜZENLEYİCİLERİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Ramazan DUMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd.Doç.Dr. F.Nazlı DİNÇER KAYA

Bu çalışma Mersin Üniversitesi BAP-SBE TEB(RD) 2007-1 YL numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

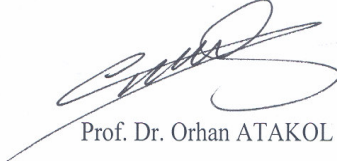
Tez No:.....

MERSİN-2009

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Temel Eczacılık Bilimleri (Genel Kimya) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “**Biyolojik Örneklerde Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile Kurşun Tayininde Nitrik Asitin ve Bazı Ortam Düzenleyicilerin Etkisinin İncelenmesi**” başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/01/2009



Prof. Dr. Orhan ATAKOL

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi

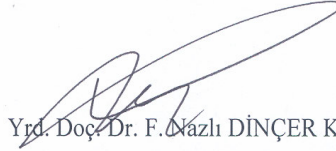
Jüri Başkanı



Prof. Dr. H. Ali DÖNDAŞ

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Jüri Üyesi



Yrd. Doç. Dr. F. Nazlı DİNÇER KAYA

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulu...../2008 tarih vesayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam sırasında en başından itibaren desteğini gördüğüm, tezin hazırlanmasında bilgi, tecrübe ve yardımlarından sürekli olarak faydalandığım hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. F.Nazlı DİNÇER KAYA'a öncelikle teşekkür etmek isterim.

Yüksek Lisans eğitimim süresince ilgi ve teşvikleriyle yanımda olan hocalarım Prof. Dr.H.Ali DÖNDAŞ, Doç Dr. Hakan ARSLAN'a ve yardım desteklerinden dolayı ve araştırma görevlisi Selda DOĞAN'a teşekkür ederim.

Deneylerin yapılmasına olanak sağlayan Antalya Kriminal Polis Laboratuvar kurumuna, Laboratuvar Müdürümüz Sayın Ahmet ÜNSAL'a ve Şube Müdürümüz Sayın Serdar NEŐE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tecrübeleri ve yardımlarından faydalandığım Antalya İl Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğünde görevli Kimyager Halim ReŐit ŐENER, Antalya Kriminal Polis Laboratuvarıda görevli Kimyager Osman AKBAŐ ve Kimya Mühendisi Emel TÜMTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca maddi manevi desteği ile her an yanımda olan sevgili aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİ.....	3
2.1. Kurşunla İlgili Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. Kurşunun Genel Özellikleri.....	3
2.1.2. Kurşunun Metabolizması ve Toksik Etkisi	4
2.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS).....	6
2.2.1. Tarihçe.....	6
2.3. Atomik Spektral Hatlar.....	7
2.3.1. Tabii Genişleme.....	7
2.3.2. Doppler Genişlemesi.....	9
2.3.3. Basınç Genişlemesi (Lorentz genişlemesi).....	9
2.4. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometri.....	9
2.4.1. Absorpsiyon Esasları.....	10
2.4.2 Işık Kaynakları.....	11
2.4.2.1 Oyuk Katot Lambaları.....	11
2.4.2.2 Elektrotsuz Boşalım Lambaları.....	13
2.4.3. Atomlaştırıcılar.....	13
2.4.3.1 Alevli Atomlaştırıcılar.....	13
2.4.3.2 Alevsiz (Elektrotermal) Atomlaştırıcılar.....	14
2.4.4. Monokromatör	16
2.4.5. Alıcılar (Dedektörler).....	16

2. 5. Atomik Absorpsiyon Spektroskopide Girişimler.....	16
2.5.1. Kimyasal Girişimler	17
2.5.2 Fiziksel Girişimler.....	17
2.5.3 İyonlaşma Girişimleri.....	18
2.5.4. Spektral Girişimler.....	18
2.5.5. Zemin Girişimi.....	19
2.6. Zemin Girişimleri Önlemek İçin Geliştirilen Yöntemler.....	20
2.6.1. Çift Hat Yöntemi.....	20
2.6.2. Sürekli Kaynak Kullanılması Yöntemi.....	21
2.6.3. Smith-Hiefje Yöntemi.....	21
2.6.4. Zeeman Yöntemi	22
2.7. ETASS ile Analizde Optimizasyonu Çalışmaları.....	23
2.7.1. Piroliz Basamağının Optimizasyonu.....	23
2.7.2. Atomlaşma Basamağının Optimizasyonu	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Cihazlar.....	25
3.1.1. Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrisi.....	25
3.1.2 Su Saflaştırma Sistemi.....	26
3.1.3. Mikro Dalga Örnek Çözücü.....	26
3.2.1. Kimyasal Maddeler.....	26
3.2.2. Standart Referans Maddeler (SRM).....	26
3.3.1. Analiz Örneklerin Hazırlanması.....	27
3.2.3. Ortam Düzenleyicilerin Hazırlanması.....	27
3.2.4. Kullanılan Cam ve Plastik Malzemelerin Temizlenmesi.....	27
4. BULGULAR.....	28
4.1 Nitrik Asit Derişimin Etkisi.....	28
4.2. Nitrik Asit Ortamında Optimizasyon.....	29
4.2.1. Piroliz Sıcaklığının Optimizasyonu.....	29
4.2.2. Atomlaşma Sıcaklığının Optimizasyonu.....	30
4.3. Nitrik Asit ve $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ Ortamında Optimizasyon.....	31
4.3.1 Piroliz Sıcaklığının Optimizasyonu.....	31
4.3.2. Atomlaşma Sıcaklığının Optimizasyonu.....	31

4.4. Nitrik Asit ve Pd + Mg(NO ₃) ₂ Ortamında Optimizasyon.....	32
4.4.1 Piroliz Sıcaklığının Optimizasyonu.....	32
4.4.2. Atomlaşma Sıcaklığının Optimizasyonu.....	33
4.5. Nitrik asit ve Pt + Pd Ortamında Optimizasyon.....	34
4.5.1 Piroliz Sıcaklığının Optimizasyonu.....	34
4.5.2. Atomlaşma Sıcaklığının Optimizasyonu.....	34
4.6. Standart Referans Maddelerin Analizi.....	35
4.6.1. CRM BCR-397 İnsan Saçı Standart Referans Maddesinin Analizi.....	35
4.6.2. NIST 2976 Midye Dokusu Standart Referans Maddesinin Analizi.....	37
4.6.3. HIGH EP-H-1 İçme Suyu Standart Referans Maddesinin Analizi... ..	39
4.5.4. Doğrusal Çalışma Aralığının Belirlenmesi.....	40
4.6.5. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırının (LOQ) Belirlenmesi.....	41
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	46
7. KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil 2.1	Oyuk Katot Lambasının Şematik Görünüşü.....	12
Şekil 2.2	Messmann Tipi Grafit Tüp.....	14
Şekil 3.1	Perkin Elmer AAnalyst 600 model Elektrotermal Zeeman Etkili Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi	25
Şekil 4.1	50 ng/mL Kurşun Üzerine Nitrik Asit Derişiminin Etkisi.....	29
Şekil 4. 2.	50 ng/mL Kurşunun Farklı Nitrik Asit Derişimlerinde 1600 °C Atomlaşma Sıcaklığında Piroliz Sıcaklığı Eğrileri.....	30
Şekil 4. 3	50 ng/ml Kurşunun Farklı Nitrik Asit Derişimlerinde 600 °C Piroliz Sıcaklığında Atomlaşma Sıcaklığı Eğrileri.....	30
Şekil 4.4	50 ng/mL Kurşunun NH ₄ H ₂ PO ₄ + Mg(NO ₃) Ortam Düzenleyici Eklenecek Farklı Nitrik Asit Derişimlerinde 1600°C Atomlaşma Sıcaklığında Piroliz Sıcaklığı Eğrileri.....	31
Şekil 4.5	50 ng/mL Kurşunun NH ₄ H ₂ PO ₄ + Mg(NO ₃) Ortam Düzenleyici Eklenecek Farklı Nitrik Asit Derişimlerinde 900°C Piroliz Sıcaklığında Atomlaşma Sıcaklığı Eğrileri	32
Şekil 4.6	50 ng/mL Kurşunun Pd + Mg(NO ₃) ₂ , Ortam Düzenleyici Eklenecek Farklı Nitrik Asit Derişimlerinde 1600°C Atomlaşma Sıcaklığında Piroliz Sıcaklığı Eğrileri.....	33

Şekil 4.7	50 ng/mL Kurşunun Pd + Mg(NO ₃) ₂ Ortam Düzenleyici Eklenecek Farklı Nitrik Asit Derişimlerinde 900°C Piroliz Sıcaklığında Atomlaşma Sıcaklığı Eğrileri.....	33
Şekil 4.8	50 ng/mL Kurşunun Pt + Pd, Ortam Düzenleyici Eklenecek Farklı Nitrik Asit Derişimlerinde 1600°C Atomlaşma Sıcaklığında Piroliz Sıcaklığı Eğrileri.....	34
Şekil 4.9	50 ng/mL Kurşunun Pt + Pd Ortam Düzenleyici Eklenecek Farklı Nitrik Asit Derişimlerinde 900°C Piroliz Sıcaklığında Atomlaşma Sıcaklığı Eğrileri.....	35
Şekil 4.10	CRM BCR-397 İnsan Saçı Standart Referans Maddesi İçin Farklı Ortamlarda Yapılan 20 Ölçümün Ortalamalarının Dağılımı.....	36
Şekil 4.11	İnsan Saçı CRM BCR-397 Standart Referans Maddesi İçin Farklı Ortamlarda Yapılan 20 Ölçümün Dağılımı.....	37
Şekil 4.12	NIST 2976 Midye Dokusu Standart Referans Maddesi İçin Farklı Ortamlarda Yapılan 20 Ölçümün Ortalamalarının Dağılımı.....	38
Şekil 4.13	NIST 2976 Midye Dokusu Standart Referans Maddesi için Farklı ortamlarda Yapılan 20 ölçümün Dağılımı.....	38
Şekil 4.14	HIGH EP-H-1 İçme Suyu Standart Referans Maddesi İçin Farklı Ortamlarda Yapılan 20 Ölçümün Ortalamalarının Dağılımı.....	39
Şekil 4.15	HIGH EP-H-1 İçme Suyu Standart Referans Maddesi İçin Farklı Ortamlarda Yapılan 20 Ölçümün Dağılımı.....	40
Şekil 4.16	Doğrusal Çalışma Aralığı.....	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1	Atomik Absorbsiyon Çalışma Koşulları.....	28
Çizelge 4.2	Elektrotermal Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinin Sıcaklık Programı.....	28
Çizelge 4.3	CRM BCR-397 İnsan Saçı Standart Referans Maddesinin Kurşun Derişimleri.....	36
Çizelge 4.4	NIST 2976 2 Midye Dokusu Standart Referans Maddesinin Kurşun Derişimleri.....	37
Çizelge 4.5	HIGH EP-H-1 İçme Suyu Standart Referans Maddesinin Kurşun Derişimleri.....	39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A : Absorbans

AAS : Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

b : Işın Yolu

c : Işık Hızı

C : Konsantrasyon

E : Enerji

EPA : The U.S. Environmental Protection Agency (Amerika çevresel koruma kurumu)

E_j : Uyarılma Enerjisi

ETAAS: Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

HGAAS: Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

g : Gram

k : Boltzman Sabiti

m : Kütle

mA : Miliamper

mg : Miligram

ml : Mililitre

ppm : Milyonda Bir Kısım

ppb: Milyarda Bir Kısım

SRM: Standart Referans Madde

OKL: Oyuk Katot Lambası

T : Geçirgenlik

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

λ : Dalga Boyu

ν : Frekans

Φ : Gerekli Minimum Enerji

ϵ : Molar Absorpsiyon Katsayısı

μ l : Mikrolitre

% : Yüzde

ÖZET

Biyolojik Örneklerde Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi İle Kurşun Tayininde Nitrik Asitin ve Bazı Ortam Düzenleyicilerin Etkisinin İncelenmesi

Bu çalışmada, elektrotermal atomik absorpsiyonla biyolojik örneklerde kurşun tayininde nitrik asit ve bazı ortam düzenleyicilerin etkileri incelendi. Farklı nitrik asit derişimleri kullanılarak Pt + Pd, Pd + Mg(NO₃)₂ ve NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ ortamlarında piroliz ve atomlaşma sıcaklığı optimizasyon çalışmaları yapıldı. % 10 HNO₃ + NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ ortamı en uygun ortam olarak belirlendi. Yöntemin doğruluğu CRM BCR-397 insan saçı, NIST 2976 midye dokusu ve HIGH EP-H-1 içme suyu standart referans maddeleri ile kontrol edildi. Ölçülen değerlerin sertifika değerlerinden sapmasını göstermek için bağıl hata hesaplandı. Belirlenen ortamda üç standart referans madde için de bağıl hata % 10'un altında bulundu.

Yöntemin analitik performansı ile ilgili olarak belirlenen koşullarda kurşunun gözlenebilme (LOD) sınırı değeri % 98,3 güven seviyesi için 1.0 µg/L, tayin sınırı (LOQ) 3.0 µg/L, % 92,1 güven seviyesi için gözlenebilme sınırı 0,67 µg/L, tayin sınırıda 2,01 µg/L olarak hesaplandı.

Anahtar kelimeler: Kurşun, nitrik asit, elektrotermal atomik absorpsiyon, ortam düzenleyici, piroliz, atomlaşma.

ABSTRACT

Investigation of Effect of Nitric Acid and Various Matrix Modifier on Determination of Lead in Biological Materials by Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy

In this study, determination of lead in biological materials by electrothermal atomic absorption spectroscopy was investigated. Pyrolysis and atomization temperatures were optimized in Pt + Pd, Pd + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ve $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ mixtures using various nitric acid concentrations. % 10 HNO_3 + $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ mixtures was designated as the best conditions. The accuracy of the method was tested by certificated reference standard materials, CRM BCR-397 humna hair, NIST 2976 mussel tissue ve HIGH EP-H-1 drinking water. Relative errors were less than 10 % for all of the certificated reference standard materials.

Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were calculated for testing of analytical performance of the method. LODs were 1.0 and 0,67 $\mu\text{g}/\text{L}$ LOQs were 3,0 and 2,01 $\mu\text{g}/\text{L}$ in 98,3 % and 92,1 confidence levels respectively.

Key Words : Lead, nitric acid, electrothermal atomic absorption spectroscopy, matrix modifier, pyrolysis, atomization.

1.GİRİŞ

Hızlı kentleşme, gelişen teknoloji ile değişen çevre koşulları ve daha modern bir yaşam sağlamak amacı ile sürdürülen çalışmaların doğal sonucu olarak ortaya çıkan kimyasal çevre kirlenmelerinin neden olduğu sağlık sorunları ve ekonomik kayıplar, günümüzde giderek artan bir sorun olarak önemini korumakta ve toplum sağlığını tehdit eden en önemli unsurlardan birini oluşturmaktadır. Söz konusu kimyasal kirleticilerden biri de en toksik elementlerden biri olan, çevrede ve canlı organizmasında birikebilmesi nedeniyle birincil kirleticilerden sayılan kurşundur (1,2).

Kurşunla kontamine olmuş yiyecekler, içme-kullanma suları ve atmosfer, alkol, tütün ve kurşunla sırlanmış çanak-çömlekler ve mesleki koşullar nedeniyle insan da da kolaylıkla biriken kurşunun, enzimatik aktivite azalmasına, böbrek fonksiyonlarında ve santral sinir sisteminde bozulmalara yol açtığı rapor edilmiştir (3). Ayrıca bu metal EPA (The U.S. Environmental Protection Agency) tarafından yapılan sınıflandırmada olası B2 Grubu kanserojen maddeler arasında yer alır (4).

Çevreyi ve insan sağlığını tehdit eden böylesi bir zehirin biyolojik olarak izlenmesi önemlidir. Doğal materyaller içinde çok düşük derişimlerde bulunan bu elementin ölçülebilmesi için günümüzde en çok kullanılan yöntem elektrotermal atomik absorpsiyon spektroskopisidir (ETAAS) (4-10).

Elektrotermal atomlaştırıcılar, küçük örnek hacimleri kullanılabilmesi (5-50 µl), viskoz sıvıların da kolaylıkla çalışılabilir olması, sinyal/gürültü (S/N) oranını artırarak daha iyi gözlenebilme sınırı değerlerine ulaşılabilir olması (11) , atomik buharın kimyasal ve ısısal çevresinin denetlenebilmesi ile atomlaşma verimlerinin artması ve sınırlı da olsa katı örneklerin doğrudan analizi mümkün olması gibi özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir

ETAAS, antimon, bizmut, kalay, indiyum ve kurşun gibi ucucu elementleri nanogram seviyesinde ölçebilecek duyarlığa sahip, hızlı ve rutin analize uygulanabilen metodlardan birisidir. Tayin sınırı Zeeman zemin düzeltilmesi ile daha da düşürülebilir (12).

Ancak, uçucu elementler 300°C'un üzerinde buharlaşmaya başladıklarından atomlaşma sıcaklıklarında kütle kayıpları ve dolayısıyla analizlerde hatalar meydana gelir.

ETAAS ile uçucu elementleri içeren örneklerde girişimleri azaltmak veya yok etmek için metodlar araştırılmış ve kimyasal ortam düzenleyicilerin standartlara ve örneklere eklenerek kullanımı ortak yaklaşım olmuştur. Uçuculuğun dışında, girişimleri yok etmek veya azaltmak için de kimyasal ortam düzenleyiciler kullanılır. Ortam düzenlemenin amacı, tayin elementinin termal kararlılığını küll etme sıcaklığına kadar artırarak ortamda girişim oluşturan moleküllerin, radikallerin veya bileşenlerin giderilmesini sağlamak ve atomlaşma basamağında tayin elementinin kütle kaybını önlemektir (13,14). Genellikle ortam düzenleyiciler olarak inorganik tuzlar ve soy metaller tercih edilmektedir Pd, Pt, Mg (NO₃)₂, W, Ir, NH₄H₂PO₄, Triton X-100, Sc ve Ru kullanılan ortam düzenleyicilere örneklerdir (12,15).

Nitrik asit ise, atomik absorpsiyon spektroskopisiyle yapılan hemen her çalışmada örneklerin çözünürleştirilmesi gerekliliği nedeniyle ortamda bulunabilen bir maddedir. Özellikle son yıllarda mikrodalga ile çözünürleştirme işlemleri çeşitli üstünlükleri nedeniyle çok tercih edilmektedir. Bu işlemlerde en çok tercih edilen asit de nitrik asittir (16, 17). Ortamda bulunan nitrik asit miktarı analiz örneğinin miktarı ve ölçülecek elementin derişimi ile doğrudan ilişkilidir. Analiz örneği veya ölçülecek element derişimi küçükse çözünürleştirilmiş örneği her zaman seyreltmek mümkün olmayabilir ve ortamın nitrik asit derişimi yüksek olabilir. Bu da tayin elementi üzerinde olumlu veya olumsuz bir etkiye neden olabilir. Bu nedenle ortamın nitrik asit derişiminin etkisinin incelenmesi gerekir. Ancak çözünürleştirme amacı ile kullanılan nitrik asit derişiminin etkisinin incelendiği veya ortam düzenleyici olarak nitrik asitin kullanıldığı çalışmalar literatürde yok denecek kadar azdır (18, 19).

Yukarıda açıklanan bilgiler ışığında bu çalışma planlandı ve çalışmada biyolojik örneklerde ETAAS ile kurşun tayini için farklı ortam düzenleyicilerin ve nitrik asitin etkisi incelendi. Termal kararlıklarını arttırmak ve atomlaşma sıcaklığında kütle kayıplarını önlemek için ortam düzenleyici olarak Pd + Mg(NO₃)₂, NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂, Pt + Pd kullanıldı. Bu ortam düzenleyicilerle nitrik asitin farklı derişimlerinde piroliz sıcaklığı ve atomlaşma sıcaklığı optimizasyon çalışmaları yapıldı. Belirlenen en uygun koşullarda CRM BCR-397 insan saçı, NIST 2976 midye dokusu ve HIGH EP-H-1 içme suyu standart referans maddelerinde kurşun tayin edilerek metodun doğruluğu araştırıldı.

2.GENEL BİLGİ

2.1. Kurşunla İlgili Genel Bilgiler

2.1.1. Kurşunun Genel Özellikleri:

Doğada az miktarda ancak yaygın olarak bulunan kurşun, yumuşak, tava gelen, şekil verilmeye müsait ve bulunduğu yerden itilip çıkarılabilme özellikleri nedeniyle sanayide 150'den fazla iş kolunda kullanılan bir ağır metaldir (20). Mavimsi-gri renkte bir metal olan kurşunun atom ağırlığı 207,2 g/mol, erime noktası 327,46 °C ve buharlaşma noktası 550 °C'dir. Kurşun, nitrik asitte iyi çözünen, fosforik asit, hidroklorik asit ve sülfürik asit ile çözünemeyen tuzları oluşturan, klor ve hidroklorik aside dayanıklı ve elektrik iletkenliği düşük olan, iki ve dört değerli bir metaldir. Antimon veya diğer metallerle alaşımları oluşturularak sertlik değeri arttırılabilir (15, 21).

Kurşun tarihin çok eski devirlerinden beri bilinmekte ve kullanılmaktadır. M.Ö. 3000 yıllarında Sümerler ilk kurşun heykelini yapmışlardır. Daha sonraları kurşun oksit ve kurşun sülfür makyaj malzemesi olarak kullanmışlardır. Romalılar ise su dağıtımında kurşun borular kullanmışlar, ayrıca lezet vermesi için şarabı kurşun kaplarda bekletmişlerdir. Manahan (1984)'a göre 500 yıldan fazla dünya tarihinde rol oynayan bu büyük imparatorluğunun yöneticilerin ve aristokratlarının davranış bozuklukları ve bazı hastalıklarda kurşun yemek ve şarap kaplarından neden olduğu kronik kurşun zehirlenmesine bağlanabilir (22).

Günümüzde ise, kurşun ve bileşikleri başlıca endüstri imalathanelerde, boya, akümülatör, seramik, porselen, vulkanize kauçuk, metal alaşımları, kurşun borularında, lastik, lehim, çatı yapımında, pillerde ve mermi çekirdeklerin yapımında kullanılmaktadır (2).

İnorganik ve organik bileşikleri (alkil kurşun) olan kurşun, doğada en çok kurşun sülfür (PbS, galena filizi) halinde bulunur. Kurşunun yüksek sıcaklıklarda (600–800 °C) tütsü (füme) adı verilen buhar formu oluşur. Sanayide yaygın olarak kullanılan inorganik kurşun bileşikleri arasında kurşun monoksit (PbO, litarj) kurşun tetraoksit (Pb₃O₄, kırmızı kurşun, sülyen), kurşun karbonat (PbCO₃, beyaz kurşun, üstübeç), kurşun silikat (PbSiO₅),

kurşun sülfür (PbS, galena filizi) (23,24), kurşun arsenat (PbHAsO₄) ve kurşun kromat (PbCrO₄) sayılabilir. Organik kurşun bileşiklerinden tetraetil kurşun (Pb(C₂H₅)₄), ve tetrametil kurşun (Pb(CH₃)₄) benzin içine oktan arttırıcı olarak katılmaktadır (20,13).

2.1.2 Kurşunun Metabolizması ve Toksik Etkisi

İnorganik kurşun bileşikleri solunum ve sindirim yoluyla, organik kurşun bileşikleri ise solunum, sindirim ve deri yoluyla vücuda alınır (25). Kurşunun vücuda alınmasındaki en önemli yol solunum sistemidir. Solunum yolu ile kurşunun 10-50 µg emildiği gösterilmiştir (26). Solunum sistemi yüzeyinin çok geniş olması nedeniyle absorpsiyonun fazla ve çabuk olması, çok az miktarlarda dahi alınan kurşunun neden olduğu akut zehirlenmeleri açıklayabilir. Solunum ile vücuda alınan kurşun dioksit partiküllerinin yaklaşık %40'ı alveollerden absorbe olur. Atmosferdeki kurşun konsantrasyonu, günlük solunan hava hacmi, kurşunun katı veya buhar formda olması ve kurşun içeren partiküllerin çapı ve dağılım hacmi absorpsiyonu etkileyen önemli faktörlerdendir. Kurşunla kontamine ellerin ağıza götürülmesi ile vücuda alınan kurşunun yaklaşık %8-10'u ince barsaklardan emilir (3). Sık aralıklarla yemek yeme kurşun emilimini azaltan bir faktördür. Açlık halinde veya kalsiyum, demir, fosfor ve çinko yönünden eksik beslenmede kurşunun barsaklardan emilimi artar (27). Organik kurşun bileşiklerinin az miktarda da olsa deri yolu ile doğrudan vücuda alınması söz konusudur (14). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) içme sularında kurşunun en fazla 10 µg/L olması gerektiği belirtmiştir (28).

Kan dolaşımına geçen kurşunun %90'dan fazlası eritrositlerde yer alır. Kurşun, eritrositlerde hemoglobin ve hücre zarında yerleşir (3). Normal şartlar altında kurşun miktarı açısından plazma ile eritrositler arasında var olan denge, kan kurşun düzeyinin 50 µg/dL'den daha yüksek olması halinde plazma yönünde bozulur. Plazmadaki kurşun, plazma proteinine bağlı (kurşun albuminat) ve serbest halde bulunur. Serbest haldeki kurşun, vücut kurşun yükünün metabolik aktivite merkezidir (14, 15). Vücuttaki kurşunun yaklaşık % 92'si kemiklerde, % 8'i ise yumuşak dokularda depolanır. Karaciğer ve böbrekler başta olmak üzere tüm yumuşak dokularda da depolanabilir. Kurşunun yarılanma ömrü yumuşak dokularda 28-36 gün iken, kemiklerde 20 yıldan daha fazladır (3). Kemiklerde depolanmış olan kurşunun tekrar dolaşıma geçmesi olayına kurşun akısı adı verilir. Bu olayın, kurşun zehirlenmesinde önemli bir rolü vardır (25).

Kurşun albuminatın ağız boşluğunda bulunan Hidrojen sülfür (HS) ile reaksiyonu sonucu zor çözünen kurşun sülfür (PbS) oluşur. Kurşun sülfürün diş eti mukozasında birikmesiyle “Burton çizgisi” olarak bilinen, dişleri yaka gibi saran gri-mor renge ve kalınlığı 1 mm ile 1 cm arasında değişen bir şerit oluşur. Bu şerit, alt çene kesici ve çürük dişlerde daha barizdir. Ağız içi mukozalarında görülen kurşun çöküntülerine ise “Gübler lekeleri” adı verilir. Burton çizgisi ve Gübler lekeleri nadir görülmekle beraber kurşun zehirlenmesi için tipik bir bulgudur (25).

Kurşunun beyin ve sinir hücreleri üzerine biyokimyasal etkisinin nasıl olduğu çok iyi bilinmemekte ve halen araştırılmaktadır. Ancak kurşun zehirlenmesinde ortaya çıkan belirtiler yorgunluk, konvulziyona (çarpıntı ve sara nöbeti) bağlı baş ağrısı, beyin felci, körlük ve zeka geriliği şeklinde kendini göstermektedir. Böbreklerde etkisi ise; idrarla atılımından önce böbrekler tarafından absorplanan glukoz, fosfat ve amino asitlerin metabolik prosesini inhibe etmek şeklindedir. Kurşunun merkezi sinir sistemi üzerine etkisi yaşa ve kurşunla zehirlenmenin şekline bağlıdır. (22).

Kurşun vücuttan büyük oranda böbreklerle, daha az oranda ise; feçes, tükürük, safra, saç ve tırnak ile atılır. Süt ve diğer vücut sıvıları ile de atılımın olduğu bildirilmektedir (25,29).

Kurşun absorpsiyonu ve kurşundan etkilenmenin tanısında en iyi kriter kan kurşun tayinidir. Vücutta toplanan kurşun birikimin yaklaşık % 2'si kanda bulunur. Bunun % 90'ı eritrositlerde toplanmıştır Centers for Disease Control (CDC) çocukların izlenmeleri sonucunda toksik kan kurşun düzeyi sınırını 1975'de 40 µg/dL'den, 30 µg/dL'ye, 1985'de 25 µg/dL'ye ve 1991'de 10 µg/dL'ye indirmiştir (30, 31). Ancak bu düzeyin altında bile olumsuz etkiler yapabileceği unutulmamalı o nedenle olanak olduğunca kan kurşununu ölçülemeyecek düzeyde, hatta sıfıra indirilmesine çalışmalıdır. Çünkü Dünya Sağlık Örgütü'nün son yıllarda önerdiği normal kan kurşun düzeyi "0" dır (32, 33).

2.2. ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ (AAS)

2.2.1. Tarihçe

Modern spektroskopinin temeli Newton'un 1666 yılında bir cam prizmadan geçirdiği güneş ışığının renklere ayrılmasını gözlemesi ile atılmıştır. Atomik absorpsiyon kavramı ise ilk defa 1802 yılında Wollaston tarafından Newton'un yaptığı deneyleri tekrarlayarak güneş spektrumunun bazı siyah hatlarını gözlemesi ile doğmuştur. Daha sonra, optik malzeme ve astronomideki gelişmelerin yardımı ile 1814 yılında Joseph Fraunhofer en basit spektroskopu oluşturarak, güneş spektrumunda kendi adı ile anılan pek çok hattı gözlemledi. Kirchhoff ve Bunsen, alkali ve toprak alkali metallerin spektrumları üzerinde yaptıkları sistematik çalışmalar sonucu, absorpsiyon olayının prensiplerini ortaya koymuşlardır. Alev ortamında sodyum tuzlarından yayılan tipik sarı ışığın, güneş spektrumundaki siyah D çizgisi ile aynı olduğunu ispatlamışlardır (24). Kirchhoff, emisyon ve absorpsiyon arasındaki ilişkiyi incelemiş ve "herhangi bir madde hangi dalga boyunda ışınlar yayarsa, aynı dalga boyundaki ışınları absorplar" şeklinde ifade edilen ve kendi adıyla bilinen kuralı ortaya koymuştur. 1900 yılında Planck, atomların belirli miktarlarda enerji absorplayarak veya yayarak sadece belirli dalga boylarında absorpsiyon veya emisyon yaptıklarını kanıtlamış ve bununla kuantum yasasının esasını ortaya koymuştur. Kirchhoff'un çalışmalarından sonra atomik absorpsiyondan yararlanılarak bazı çalışmalar yapıldıysa da, atomik absorpsiyon spektrometresinin gerçek anlamda kullanımı 1955 yılında başlamıştır. Walsh, Alkemade ve Milatz, birbirinden bağımsız olarak yürüttükleri çalışmalar neticesinde 1955 yılında yaptıkları yayınlarda atomik absorpsiyon spektroskopisinin temel bir analitik yöntem olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bu çalışmalarda, tayin edilecek olan elementin bir çözeltisi alev püskürtülmüş ve aynı elementin spektrumunu yayan bir ışık kaynağı kullanılarak başlangıçtaki ışık şiddeti ile absorbe edilmeyen ışık şiddetleri arasındaki oran ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar standart çözeltilerin sonuçları ile karşılaştırılmış ve elementin bilinmeyen derişimi belirlenmiştir.

İlk ticari AAS cihazı, 1960 yılında piyasaya çıkarılmış ve bugüne kadar değişik markalarda pek çok modeli geliştirilmiştir. Alevli atomik absorpsiyon spektrometrelerinin tayin sınırlarının eser elementlerin tayini için yeterli olmaması ve alevli atomlaştırıcıların bazı yetersizliklerinin olması üzerine L'vov ve Massmann'ın çalışmaları neticesi grafit fırınlı atomlaştırıcılar, Holak tarafından da hidrür oluşturmali atomlaştırıcılar geliştirilmiştir. Günümüzde kullanılan cihazların çoğunda alevli, grafit fırınlı ve hidrür oluşturmali atomlaştırıcılar birlikte bulunmakta ve analiz edilecek örneğin özelliklerine ve analiz elementinin derişimine bağılı olarak atomlaştırıcı seçilmektedir.

2.3. Atomik Spektral Hatlar

Atomdaki her elektronun konumuna, bir veya birden fazla spektroskopik enerji seviyesi (terim sembolleri) karşılık gelir. Her bir atom veya iyonun spektrumu o maddeye özgü olup bir kısmı çok az sayıda hattan oluşurken (Mg, Be, Ca, B gibi), bir kısım elementlerin sepektrumları binlerce (Fe, Zr gibi) ve hatta yüz binlerce hattan (U gibi) oluşur. Temel ve bir üst uyarılmış enerji arasında geçiş ihtimali en büyük olduğundan bu geçişlere karşılık gelen spektral hatlar daha şiddetlidir. Bunlar rezonans hatları olarak isimlendirilir.

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde genellikle rezonans hatlarla çalışır. Rezonans hatlar, şiddetlerinin büyük olması ve diğer hatlara göre spektral girişimlerden en az etkilenmeleri nedeniyle tercih edilirler. Bir atom veya iyona ait spektral hatlar monokromatik değildir ve tam anlamıyla çizgisel olmayıp belirli bir hat genişliğine sahiptir. Atomik absorpsiyon hatlarının genişliğine etki eden faktörlerden en önemlileri, tabii genişleme, Doppler genişlemesi ve basınç genişlemesidir (34,35).

2.3.1. Tabii Genişleme

Kuantum mekaniğine göre bir atomun enerji seviyeleri belirli değerler olmayıp ΔE_1 ve ΔE_2 gibi sınırlı enerji genişliğine sahiptir. $E_1 \rightarrow E_0$ geçişine ait sonsuz derecede dar (yani tek bir enerji değerinde) hat elde edilemez. Buna karşılık iki enerji teriminin genişliğinin (ΔE_1 ve ΔE_2) toplamı mertebesinde bir enerji dağılımı söz konusudur.

Heisenberg'in belirsizlik kuralına göre E_1 ve E_0 seviyelerindeki belirsizliklere karşı gelen ΔE_1 ve ΔE_2 değerleri, atomları ΔE_1 ve ΔE_2 seviyelerindeki ortalama alıkonma süreleri olan ve ΔE_1 ve ΔE_2 ye

$$\Delta E_1 \cdot \Delta t_1 = h / 2\pi$$

$$\Delta E_2 \cdot \Delta t_2 = h / 2\pi$$

Eşitliklerine göre bağlanabilir. Enerji seviyelerindeki alıkonma sürelerinin belirsizlikleri çarpımı sabittir. E_1 ve E_2 enerji seviyeleri arasında bir geçiş için söz konusu belirsizlik, tabii hat genişliğidir ve ΔE_1 ve ΔE_2 nin toplamına eşittir.

Buna göre

$$\Delta E = (1/\Delta t_1 + 1/\Delta t_2) h / 2\pi$$

veya

$$\Delta v = (1/\Delta t_1 + 1/\Delta t_2) 1 / 2\pi$$

Şeklinde verilebilir. Atomik absorpsiyonda alt enerji seviyesi genellikle temel seviye olup kararludur ve alıkonma süresi, Δt_1 , sonsuzdur. Bu durumda;

$$\Delta v = (1/\Delta t_2) 1 / 2\pi$$

Olur. Bu eşitliğe göre $E_1 \rightarrow E_2$ geçişi için hesaplanan hat genişliği yaklaşık 10^{-5} nm civarındadır ve hat genişlemesine neden olan bu faktörler yanında çok küçüktür.

2.3.2. Doppler Genişlemesi

Doppler genişlemesi, gaz halindeki atomların serbest hareketlerinden doğar. Işık kaynağının bulunduğu bir ortamda serbest atomlar kaynağa doğru hareket ediyorsa daha kısa dalga boylu ışığı, aksi yönde hareket ediyorsa daha uzun dalga boylu ışığı absorplarlar. Absorpsiyon ortamında her yöne hareket eden atom bulunacağından ve bunların hız dağılımı Maxwell eğrisine uyduğundan absorpsiyon hatlarında simetrik bir genişleme olur. Buna Doppler genişlemesi denir ve atomik hat genişlemesine etki eden en önemli faktörlerden birisidir. Işık kaynağına göre hareketi olmayan atomlar Doppler genişlemesine neden olmazlar.

Sıcaklığın artmasıyla orantılı olarak atomlar daha hızlı hareket ederler ve dolayısıyla Doppler genişlemesi de artar. Doppler genişlemesi atom kütesine, sıcaklığa ve çalışan hattın dalga boyuna bağlıdır. Doppler yarı genişliği;

$$\Delta\lambda_{1/2} = (2/c) \cdot (2RT/M)^{1/2}$$

Eşitliği verilir. Burada $(2RT/M)$ atomların hızı, M atomik kütle, c ışık hızı, λ da absorpsiyon dalga boyudur.

2.3.3. Basınç Genişlemesi (Lorentz genişlemesi)

Absorpsiyon hatlarının genişlemesinin nedenlerinden birisi de ışını absorplayarak uyarılan atomların ortamdaki yabancı gaz atomları veya molekülleriyle çarpışmasıdır. Atomlar bu çarpışma sonucunda enerjilerini yitirir, uyarılmış halin ömrü kısalmış ve absorpsiyon hatlarının genişlemesine neden olur. Basınç genişlemesi, absorpsiyon yapan atomun kütesine, gaz ortamının basıncına yabancı gaz moleküllerini kütesine ve ortamın sıcaklığına bağlıdır. Pratikte oyuk katot lambalarındaki basınç genişlemesi önemsizdir (36).

2.4. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometreleri

Atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinde atomlaştırılan tayin elementi üzerine onun absorplayacağı ışın gönderilerek, atomlaştırıcıya gelen ve geçen ışın şiddetinin oranı

ölçülür. Bu işlemler için kullanılan bütün atomik absorpsiyon spektrofotometreler temelde aynı bileşenlere sahiptirler ve en önemli bileşenleri element atomlarının absorplayacağı ışığı yayan ışık kaynağı, elementlerin nötr atomlarının oluşturduğu atomlaştırıcı, tayin elementine özgü rezonans hattı dalga boyunu diğerlerinden ayırabilene monokromatör ve ışık enerjisi sinyalinin elektrik sinyaline dönüştüren ışık şiddetinin ölçüldüğü dedektörlerdir.

2.4.1. Absorpsiyonun Esasları

Kuantum mekanik kuramına göre $h\nu$ enerjili bir foton atom tarafından absorplanırsa atomun temel seviyesindeki elektronlar uyarılır ve enerjisi daha büyük olan kararsız uyarılmış enerji seviyesine geçerler. Elektronik seviyeler arasındaki enerji farkı veya geçiş enerjisi Planck eşitliği ile verilir.

$$E_i - E_0 = h\nu = hc/\lambda$$

Burada E_i ve E_0 sırasıyla uyarılmış ve temel seviyelerin enerjisi, h Planck sabiti, c ışık hızı ν ve λ sırasıyla absorplanan ışığın frekansı ve dalga boyudur.

AAS ile kantitatif analiz, Lambert-Beer kanununa dayanır. Numune ortamına gelen ışık şiddetinin I , ortamdan çıkan ışık şiddetine, I_0 , oranının logaritması olarak tanımlanan absorbans, A , ışığın geçtiği tabakanın kalınlığı ve absorplayan elementin derişimiyle orantılıdır. Kanunu bu gün kullanılan şekline göre;

$$A \equiv \log(I_0/I) = kbC$$

Burada k absorpsiyon katsayısıdır ve dalga boyuna ve absorplayan elementin cinsine bağlıdır. Derişim molarite olarak alındığında molar absorpsiyon katsayısı (ϵ) adını alır. b ışığın geçtiği tabakanın kalınlığı, C ise ışığı absorplayan elementin derişimidir.

Absorpsiyon miktarı belirli bir geçiş için temel enerji seviyesindeki atom sayısına bağlıdır. Termal dengede bulunan bir sistemde uyarılmış enerji seviyesindeki atom

sayısının temel seviyedeki atom sayısına oranı Maxwell Boltzmann kanununa göre belirlenir (37).

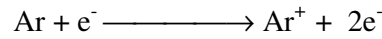
$$N_i/N_0 = g_i/g_0 e^{-E_i/kT}$$

Buradaki N ve N₀ sırasıyla uyarılmış ve temel seviyedeki atom sayısı, g ve g₀ sırasıyla uyarılmış ve temel seviyelerin istatistiksel ağırlıkları (g=2j+1), k Boltzmann sabiti, T mutlak sıcaklık, E_i ise, E₀ = 0 varsayımına göre uyarılma enerjisidir. 3000 K'dan düşük sıcaklıklarda ve 500 nm den daha düşük dalga boylarında uyarılmış seviyedeki atom sayısı, temel seviyedeki atom sayısı yanında ihmal edilebilir değerlerdedir. Bu nedenle temel seviyedeki atom sayısı ortamdaki toplam atom sayısına eşit alınabilir (35).

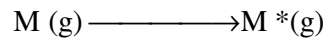
2.4.2. Işık Kaynakları

2.4.2.1 Oyuk katot lambaları

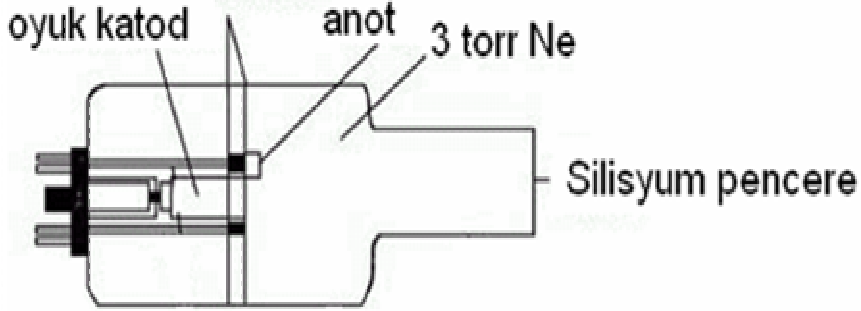
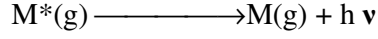
Atomik absorpsiyon ölçmelerinde en yaygın olarak kullanılan ışın kaynağı, cam tüp içine yerleştirilmiş bir tungsten anot ve silindirik bir katottan oluşan oyuk katot lambalarıdır (Sekil 2.1). Cam tüpün içi 1-5 mm Hg basıncında argon veya neon gazıyla doldurulmuş, katot ise tayini yapılacak elementin metal veya alaşımından yapılmıştır. Elektrotlar arasına, 300 V civarında gerilim ve 5-15mA arasında akım uygulandığında ortamda asal gazlara ait iyonlar oluşur.



Ar⁺ iyonları gerilim altında hızlanarak katoda çarpar ve katot metalinden serbest gaz atomlarını oluştururlar. Böylece, lamba içinde bir atomik bulut oluşur. Atomik buluttaki metal atomlarının bir kısmı, iyon ve elektronlarla çarpışarak uyarılırlar.



Uyarılmış atomlar temel seviyeye dönerlerken karakteristik (rezonans) ışınlarını yayarlar. Katottan ayrılan metal atomları tekrar katot yüzeyine veya cam yüzeyine dönerler.



Şekil 2.1 Oyuk katot lambasının şematik görünüşü

Katodun silindirik ve oyuk şeklinde olmasının nedeni, uyarılmış düzeydeki atom sayısını artırmak için ışımının yoğun bir şekilde tüpün belirli bir bölgesinde olmasını ve aynı zamanda atomik buluttaki metal atomlarının tekrar katot yüzeyine toplanmasını sağlamaktır.

Oyuk katot lambasının etkinliği geometrisine ve çalıştırılma şartlarına bağlıdır. Yüksek gerilim ve bunun sonucu yüksek akımlar ışın şiddetinin artmasını sağlar. Bu üstünlük emisyon hatlarının Doppler genişlemesi ile sınırlıdır. Yüksek akımlar, atomik buluttaki uyarılmış atomların sayısını artırır ancak Doppler genişlemesi de artar. Bunun sonucu olarak uyarılmamış atomlar, uyarılan atomların temel hale dönerlerken verdikleri ışınları absorplarlar ki buna self absorpsiyon denir. Self absorpsiyondan dolayı emisyon hattının merkezinde ışın şiddetinde azalma olur. Düşük akımda çalışmakla self absorpsiyon önenebilir, fakat bu da lambanın kararlılığını bozar. Akımın artırılması ise hem self absorpsiyonu artırır hem de lambanın ömrünü kısaltır.

2.4.2.2. Elektrotsuz Boşalım Lambaları

Elektrotsuz boşalım lambaları, düşük basınç altında 1-2 mg analiz elementi ve inert bir gaz (Ar) içeren kuvars veya cam tüpten meydana gelmiştir. Tüp yüksek frekans altında yerleştirilir. Alan etkisiyle asal gazda boşalım sağlanır. Boşalımla oluşan elektronlar element atomlarıyla çarpışarak uyarma gerçekleşir. Bu tür lambaların emisyon şiddetlerinin yüksek ve Doppler genişlemesinin küçük olması, ayrıca, kararlı boşalım vermesi ve vakum UV bölgede kullanılabilmesi gibi bazı üstünlükleri vardır.

2.4.3. Atomlaştırıcılar

AAS'de analizin başarısı, tayin elementinin atomlaşma verimine bağlı olduğundan en önemli bileşen atomlaştırıcıdır. Atomlaştırıcının en önemli görevi, örnekteki tayin elementini iyonlarından ve/veya moleküllerinden termal yolla parçalayıp temel düzeydeki atomlarına indirgeyerek atom bulutu oluşturmak ve OKL'dan gelen ışın yoluna dağıtmaktır. Bu şekilde oluşturulan atom bulutu üzerine, ışık kaynağından gelen tayin elementinin uygun dalga boylu ışını gönderilerek absorpsiyon ölçülür. Analizin başarılı ve başarısız olması atomlaşmanın etkinliğine bağlıdır. Tayinin duyarlılığı da analizi yapılan elementin atomlaşma derecesine doğrudan bağlıdır. Atomlaştırıcıda serbest atomların sayısı, örnekteki analiz elementi derişimine doğrudan bağlıdır. Genel olarak AAS'de kullanılan atomlaştırıcılar alevli ve alevsiz (elektotermal) atomlaştırıcılar olmak üzere iki sınıf altında incelenir.

2.4.3.1. Alevli Atomlaştırıcılar

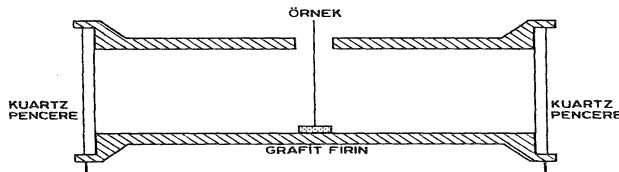
Örneği atomlaştırmak için uygun alev başlıklarıyla çeşitli yakıcı ve yanıcı gazların yakılmasıyla elde edilen alevin kullanıldığı atomlaştırıcılardır. Alevli atomlaştırıcılarda örnek çözeltisi aleve havalı sisleştirici yardımı ile püskürtülür. Çözelti aleve püskürtüldüğü zaman ilk önce damlacıklar kuruyarak çözücü buharlaşır ve örnek kurur. Buharlaşma hızı, damlacıkların büyüklüğüne ve çözücü türüne bağlıdır. Oluşan katı tanecikler alev sıcaklığının etkisi ile değişikliğe uğrar, organik maddeler uçar, inorganik maddeler birbirleriyle veya alevdeki gazlar ile tepkimeye girebilirler.

Örnek çözeltisi alevli atomlaştırıcıya sürekli gönderilir ve her analiz için 0,3- 1 mL çözelti kullanılır. $\mu\text{g/mL}$ seviyesinde analiz yapılır. Alevli atomlaştırıcıda büyük miktarda örnek çözeltisi akışı vardır ve tam atomlaşma olmamaktadır. Optik yolda element atomların alıkonma süresi çok kısadır (yaklaşık 10^{-3} saniye). Alevin kendisi 200 nm civarında absorpsiyon yaptığından bu bölgede rezonans hattına sahip elementlerin alevli atomlaştırıcılarla analizi zordur.

2.4.3.2. Alevsiz (Elektrotermal) Atomlaştırıcılar

Alevli atomlaştırıcıların dezavantajlarını gidermek ng/mL mertebesinde tayinler yapmak ve daha iyi gözlenebilirlik sınırı sağlamak için geliştirilen yöntemlerin en önemlisi elektrotermal atomlaştırıcılardır. Elektrotermal atomlaştırıcılardan en yaygın kullanılanı grafit fırınlardır. Grafit fırınlar numunenin verileceği küçük bir deliğin bulunduğu 20-30 mm uzunluğunda ve 5-10 mm çapında karbon veya grafitten yapılmış tüplerdir. Bu tüpler uçlarından uygulanan yüksek elektrik akımı ile (birkaç yüz amper) çok hızlı ısıtılarak örnekdeki tayin elementinin atomlaşması sağlanır.

AAS'de en çok kullanılan elektrotermal atomlaştırıcı türü Messmann tipi grafit fırındır (Şekil 2.2). Bu sistemde de fırın içinden ve dışından sürekli inert gaz (azot veya argon) geçirilerek oksijenin yakma etkisi engellenmiştir. Tepkime vermemesi ve UV ışınını absorplamaması nedeniyle argon daha çok tercih edilir. Yüzey absorpsiyonunu önlemek için grafit tüpler prolize bir tabakayla kaplanmış olabilirler. Grafit fırın atomlaştırıcı tekniğini ve kimyasal tepkimeye bağlı atomlaşma mekanizmasını geliştirmek için araştırmalar yapıldığı açıklanmıştır (29).



Şekil 2.2 Messmann tipi grafit tüp

Grafit fırınlar, ısıtılmalı için ayrı bir güç kaynağı gerektirirler ve bu yüzden pahalıdır. Ancak bazı üstünlükleri vardır.

1. Grafit fırınlarda çok az örnek hacimleri (5-50 μ l) yeterlidir ve püskürtülmesi zor olan viskoziteleri yüksek sıvılar grafit fırınla analiz edilebilir.
2. Örnek hacimleri çok az olan rutin analizlere uygulanabilir.
3. Grafit fırın sistemi kapalı olup atom buharlarının OKL emisyon ışığı yolunda kalma süreleri fazladır (35). Bu sebeple ng/mL mertebesinde elementler tayin edilebilir.
4. Grafit fırınlarda atomik buharın kimyasal ve termal çevresi daha iyi kontrol edilir
5. Sinyal / gürültü oranı yüksek olduğundan gözlenebilme sınırı daha düşüktür (36).
6. Grafit fırınlarda katı örneklerin doğrudan analizleri yapılabilir, fakat tekrarlanabilirlik iyi değildir.
7. İyi bir sıcaklık programlaması ile grafit fırında bazen uzun ve yorucu kiletme işlemlerinden kurtulmak mümkün olabilir (38).
8. İşletme masrafları daha ucuzdur. Alevdeki alev gazları tüketimi ile karşılaştırıldığında daha az argon, grafit tüp ve elektrik tüketimi vardır (38).
9. Emniyetli işletme şartları mevcuttur. Çünkü patlayan alev gazları yoktur ve daha küçük numune hacimleri kullanıldığından daha az toksik dumanlar çıkar (38).
10. Otomatik örnek verme sistemi kullanılması ile sürekli ve kesintisiz analiz yapılabilir (38).

Grafit fırın atomlaştırıcılarda çok sayıda elementin (yaklaşık 70) yüksek duyarlılıkla, doğrulukla, hızlı ve basit olarak tayinin mümkün olması, kolay çalışabilmesi, ETAAS yöntemini jeolojik, biyolojik, çevre ve benzeri örneklerde uçucu eser elementlerin analizinde ideal hale getirmiştir.

Bunların yanı sıra grafit fırınının dezavantajları da vardır (39). Bunlar;

1. Analiz süresi uzundur. Tipik bir grafit fırın ısıtma programı süresi yaklaşık 2 dakika sürerken alevde 15 saniyedir.

2. Kesinlik zayıftır. Özellikle elle numune verme durumunda tekrarlanabilirlik iyi değildir.
3. Zemin absorpsiyonu yüksek ve girişim daha çoktur. Kül etme sırasında tayin elementi kaybı olabilir.

2.4.4. Monokromatörler

Monokromatör; tayin elementinin hattını diğer dalga boylarındaki ışınlardan ayırmak üzere kullanılan prizma veya optik ağlardır. Monokromatörler genel olarak ışığın girdiği bir yarık, toplayıcı mercek ve aynalar, dalga boylarına ayıran prizma ya da şebekeler (optik ağ), odaklayıcı mercek veya aynalar ve bir çıkış yarığına sahiptirler.

2.4.5. Alıcılar (Dedektörler)

Atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinde ışık sinyalini elektrik sinyaline çevirmek için fotoçoğaltıcı kullanılır. Fotoçoğaltıcı tüpler, ışığa duyarlı bir katot (fotokatot), oluşan gerilimi artıran bir çok emisyon katotlarından (dinotlar) ve anottan ibaret bir vakum fotoseldir. Fotoçoğaltıcılar, Cs-Sb veya Cs₂O dinotlardan oluşur. Bir katottan başlayarak dinotlarda çoğalan ışık enerjisi anotta elektrik sinyaline çevrilir. Bir kaydedici yardımıyla sonuç abrorbans veya derişim olarak kaydedilir.

2.5. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler

Alevli ve grafit fırınlı AAS yöntemlerinde ve diğer yöntemlerde olduğu gibi analizi yapılacak örnekler, standartlar ile karşılaştırıldığında örnek ve standartların özelliklerine göre atomlaşma ortamında farklı davranmaları sonucu girişimler ile karşılaşılır. Girişimin derecesi; girişimi oluşturan bileşenin çeşidine ve derişimine, analiz elementinin çeşidine ve derişimine, atomlaştırıcıya ve atomlaşma metoduna bağlıdır. Örnek ortamı bileşenlerine bağlı önemli girişimler (matriks girişimleri) kimyasal, fiziksel, iyonlaşma, spektral ve zemin girişimleri olarak sınıflandırılabilir.

2.5.1. Kimyasal Girişimler

Kimyasal girişimler, atomlaştırıcının yüzeyindeki katı fazda ve elementin atomlaşma esnasında buhar fazında absorpsiyon değerini değiştiren çeşitli kimyasal tepkimelerin oluşması ile meydana gelir. Alevli atomlaştırıcılarda, tayin elementinin oksijen ile tepkimeye girerek kararlı oksit oluşturması absorpsiyon değerini gerekenden küçük olmasına neden olur.

Kimyasal girişimlerin iki nedeni vardır. Birincisi tayin elementinin moleküler halde buharlaşması veya zor eriyen, zor buharlaşan tuz oluşumudur. İkincisi ise oluşan element atomlarının ortamındaki diğer atomlarla ve radikallerle tepkimeye girerek absorpsiyon ortamında kolay buharlaşan uçucu bileşik oluşması sonucu ortamda uzun süre kalmaması ve atomlaşma veriminin düşmesidir.

Elektrotermal atomlaştırıcılarda kimyasal girişimler başlıca, uçucu bir bileşik oluşumu ve kararlı bir bileşik oluşumundan kaynaklanır.

Grafit fırının kül etme basamağında organik matriksi parçalayabilmek için bazen yüksek sıcaklıklar kullanılabilir. Bu da analiz elementinin kaybına neden olur. Bu kayıplar kül etme sıcaklığına uygulandığında örneğin veya matriks elamanları ve çözücüleri nedeni ile uçucu bir bileşik haline gelmesinden kaynaklanır.

Uçucu element oluşumunu engellemek için çözücü olarak halojen asitleri yerine oksitleyici asitler tercih edilir. Oluşan asitler kül etme basamağında madde kaybına neden olmayacağı gibi atomlaşma basamağının başlarında da kolayca parçalanabilirler. Kül etme basamağındaki kayıpları engellemek için, örneğin daha zor atomlaşan, daha kararlı bir bileşiği oluşturarak ve matriks örnek elementinden daha uçucu bir hale getirilerek giderilir.

2.5.2. Fiziksel Girişimler

Fiziksel girişimler, örnek ve standart çözeltiler arasında viskozite, yüzey gerilimi ve yoğunluk gibi fiziksel özelliklerin farklı olması nedeniyle ortaya çıkar. Çözücü ve çözeltilerin fiziksel özelliklerinin farklı olması alevde sisleştirme işlemini etkiler fiziksel girişimler alevli sistemlerde püskürtme sırasında, grafit fırında ise örneğin enjekte edilmesi

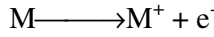
sırasında ortaya çıkar. Grafit fırında örnek 5-50 µl arasında enjekte edildiğinden fiziksel girişim az görülür.

Fiziksel girişimler, örnek ve standart çözeltilerin fiziksel özellikleri birbirine benzetilerek azaltılabilir. Bu ya örneğin seyreltilmesiyle veya standart çözeltiyi de aynı matriks de hazırlayarak sağlanır ya da analiz elementi akstraksiyon, iyon değiştirme, çöktürme gibi yöntemlerle ayrılarak fiziksel özellikleri standartlarına benzeyen bir ortama alınır ve tamamıyla fiziksel girişimlerden kurtarılır. Fiziksel girişimleri yok etmek için en önemli yöntemlerden birisi de standart ekleme yöntemidir.

2.5.3. İyonlaşma Girişimleri

Atomlaştırıcılarda elementler sıcaklığa ve iyonlaşma gerilimine bağlı olarak iyonlaşabilirler. İyonlaşma sonucu temel seviyedeki atom sayısı azalacağından tayin elementinin sinyali beklenen değerden küçük çıkar.

İyonlaşma girişimlerini yok etmek için geliştirilen yöntemlerden en uygunu



Şeklinde gösterilebilen iyonlaşma dengesini sola kaydırmak için örneğe ve standart çözeltilere aşırı miktarda daha kolay iyonlaşan bir element eklenmesidir. Böylece meydana gelen aşırı miktardaki elektron, dengenin sola kaymasını sağlar ve tayin elementinin iyonlaşması azalır.

2.5.4. Spektral Girişimler

Spektral girişim, tayin elementi hattının diğer elementlerin hatları ile çakışması sonucu ortaya çıkan bir girişimdir. AAS'de iki nedenden dolayı spektral girişim görülebilir. Birincisi çok elementli oyuk katot lambaları kullanıldığında, uygun yarık genişliğinde çalışılmazsa birden fazla elementin rezonans hattının aynı anda alıcıya (dedektöre) ulaşmasından kaynaklanır. İkincisi ise tayin elementi absorpsiyon hattının örnekdeki girişim oluşturan bileşenin veya başka bir elementin hattı ile çakışması sonucu

oluşur (35,36). Bu durumda beklenenden daha fazla absorpsiyon okunur ve analizde pozitif hatalara yol açar. Spektral girişimleri önlemek için ya girişim yapan element ortamdan uzaklaştırılır ya da hassasiyetin azalmasına rağmen analiz elementinin başka bir hattı kullanılır.

2.5.5. Zemin Girişimi

Atomik absorpsiyon analizlerinde en önemli hata kaynaklarından birisi de atomlaşma hücresinde tayin elementinin absorpsiyon hattında, girişim oluşturan moleküllerin ve radikallerin absorpsiyon yapması ile OKL ışının atomlaştırıcıdaki küçük partiküller tarafından saçılmasıdır. Bu durum alevli ve grafit fırınlı atomlaştırıcılarda önüne geçilmesi için özel yöntemler gerektiren zemin girişimidir. Sonuçta tayin elementinin absorpsiyon sinyali beklenenden daha büyük olup, yanlış sonuçlara sebep olur.

Işık kaynağından gelen ışın, atomlaşma ortamında element atomları ile birlikte ayrılmayan moleküller ve radikaller tarafından da absorplanabilir. Hatta bazen absorplayıcı moleküller, atomlardan daha fazla olabilir. Dolayısı ile absorpsiyon etkileri daha büyük olur.

Alevli atomlaştırıcılarda, buharlaşma ve tam olmayan yanmadan dolayı oluşan partiküllerin varlığında ışık saçılması ortaya çıkar. Bu daha çok yüksek tuz derişimlerinde önemlidir. Işığın saçılması ile dedektöre ulaşan daha az ışık absorpsiyonda artış gibi görülür.

Grafit fırınlı atomlaştırıcı da analiz elementi yanında girişim oluşturan bileşiklerin moleküler haldeki buharları, radikalleri ile yüksek yoğunlukta duman oluşur. Bu moleküller, radikaller veya duman OKL ışınına absorplarlar, keserler veya ışın saçılmasına sebep olarak absorpsiyon değerlerinde değişikliklere yol açarlar. Grafit fırın duvarından kopan karbon parçacıklarının ışığı saçması bu değişiklikleri daha da artırır. Girişim oluşturan bileşiklerin derişimi yüksek olduğunda bu özellik çok belirgin olarak ortaya çıkar. Moleküllerin absorpsiyon dalga boyları tayin elementininki ile çakıştığı zaman absorpsiyon sinyali beklenen değerden daha büyük olur. Bu özellik moleküler absorpsiyon olarak adlandırılır. Gerçekte, ışık saçılması ve moleküler absorpsiyon birbirinden ayrılmaz, bileşik absorpsiyon sinyali oluşturur ve bu absorpsiyon, atomik absorpsiyon spektroskopisinde “zemin absorpsiyon” olarak adlandırılır.

Grafit fırınlı atomlaştırma metodunda ışın saçılması ve moleküler absorpsiyon, grafit fırın ısıtma programının kületme basamağı sıcaklığına çok bağlıdır. Kületme sıcaklığı yüksek değere ayarlandığı zaman, girişim oluşturan organik bileşikler buharlaşarak uçar ve atomlaşma basamağında zemin absorpsiyonu düşer. Analiz elementinin buharlaşma sıcaklığı girişim oluşturan maddeninkinden çok farklı olmadığı zaman bu çeşit girişim herhangi bir grafit fırın ısıtma programı ile tamamen yok edilemez.

Örnek çözeltisine süblimleştirici madde eklenmesiyle tayin elementinin kületme ve atomlaşma sıcaklıkları düşürebildiği gibi kararlaştırıcı maddenin eklenmesiyle tayin elementi termal olarak kararlı oksidine veya inter metalik (alaşım) bileşiğine dönüştürülerek kületme sıcaklığı artırılabilir.

Zemin girişimlerini düzeltmek için geliştirilen yöntemler; çift hat yöntemi, sürekli kaynak kullanılması (Döteryum lambası yöntemi), Smith – Hiefje (ışık kaynağında sehl absorpsiyon) ve Zeeman etkisi (Zeeman hat yarılmaları) yöntemleridir.

2.6. Zemin Girişimleri Düzeltmek İçin Geliştirilen Yöntemler

2.6.1. Çift Hat Yöntemi

Bu yöntem, absorpsiyonun iki farklı dalga boyunda ölçülmesi ilkesine dayanır. Bunlardan birisi tayin elementinin absorpsiyon hattı, diğeri de bu hatta çok yakın bir dalga boyudur. Birinci ölçüm tayin elementinin absorpsiyonu ile zemin absorpsiyonunun toplamını, ikinci ölçüm ise sadece zemin absorpsiyonunu verir. Bu değerler birbirinden çıkarıldığında sadece tayin elementin absorpsiyonu elde edilir.

Çift hat yönteminde, moleküler absorpsiyonun sürekli ve geniş bir dalga boyu aralığına sahip olduğu düşünülerek zemin absorpsiyonunun her iki dalga boyunda da eşit olduğu kabul edilir.

2.6.2 Sürekli Kaynak Kullanılması Yöntemi

Bu yöntemde çok dar bir hat genişliğinde (yaklaşık 0,002 nm) emisyon yapan oyuk katot lambası yanında sürekli ışık kaynağı olarak daha geniş aralıkta emisyon yapan döteryum lambası kullanılır. Döteryum lambasında uyarılmış döteryum moleküllerini yaydığı ışık 190-400 nm aralığında olup, zemin düzeltmek için yeterli şiddete sahiptir. Sisteme yerleştirilen ve dönen bir ışık dilici vasıtasıyla bir oyuk katot lambasından gelen ışık, bir döteryum lambasından gelen ışık atomlaşma hücresinden alternatif olarak geçer oyuk katot lambasından gelen ışın hem tayin elementi atomları hem de zemin tarafından absorplanır. Döteryum lambasının ışını ise sadece zemin tarafından absorplandığı kabul edilir. Çünkü geniş dalga boyu aralığına sahip döteryum lambası ışığının absopsiyonuna, atomların etkisi çok azdır ve ihmal edilebilir ölçülerdedir. Fakat dar bir aralıkta atomik absorpsiyona zemin absorpsiyonunun etkisi büyüktür. Monokromatörden geçen her iki ışın aynı dedektöre düşer ve daha sonra elektronik olarak düzeltilmiş atomik absorpsiyon sinyalleri elde edilir. Yani döteryum ile ölçülen zemin absorpsiyonu, oyuk katot lambası ile ölçülen toplam absorpsiyondan çıkarılarak sadece tayin elementinin absorpsiyonu elde edilir çok keskin piklere sahip zemin sinyalleri varken atomik absorpsiyonun olduğu dalga boyunda bir moleküler absorpsiyon yok ise negatif sonuçlar vermesi ve sadece UV bölgedeki hatlar için düzeltme yapabilmesi döteryum lambası zemin düzeltme yöntemini eksik yanlarıdır. Ayrıca döteryum lambasından ve oyuk katot lambasından gelen ışınların aynı yolu izlemelerini sağlamak da zordur.

2.6.3. Smith –Hiefje Yöntemi

Bu yöntemde tek ışık kaynağı kullanılarak zemin absorpsiyonu ölçülür (36,38). Lamba alternatif olarak düşük ve yüksek akımlarda çalıştırılır. Düşük akımlı oyuk katot lambasının hattı dardır. Yüksek akımda ise self absorpsiyon nedeniyle hat genişler ve hemen hemen ikiye yarılar. Böylece düşük akımda toplam absorpsiyon, yüksek akım uygulandığında da zemin absorpsiyonu ölçülür. Aradaki fark tayin elementinin absorpsiyonunu verir.

Bu yöntemde gerekli elektronik değişimlerin spektrofotometrelere uygulanması zordur ve yüksek akım uygulanması nedeniyle lambanın ömrünün azalmasına neden olur.

2.6.4. Zeeman Yöntemi

Bir atomik buhar kuvvetli manyetik alana tutulduğu zaman, atomların elektronik enerji seviyelerinde her bir elektronik geçişte birçok absorpsiyon çizgisinin oluşumuna yol açan bir yarıma gözlenir. Oluşan yeni çizgilerin absorbansları toplamı, onların oluştuğu orijinal çizginin absorbansına tam olarak eşit olmak üzere, bu çizgiler biri diğerinden 0.01 mm'ye kadar ayrılır. Bu durum genel olarak bütün atomik spektrumlarda Zeeman etkisi olarak tanımlanır

1975'li yıllardan sonra Zeeman etkisinden yararlanmada gelişme olmuş ve ilk defa ticari aletlere uygulanmıştır. Günümüzde çoğu ticari aletlerde bu sistemler bulunmaktadır. Zeeman etkisinin ana ilkesi şöyledir. Mağnetik alan etkisine konulan bir atomun kuantum hallerinde değişim olur ve spektral hatlar üç veya daha fazla hatta ayrılır. Bunlardan orta alanı π bileşeni, bunun iki yanında simetrik $\sigma+$ ve $\sigma-$ bileşenleri olarak bilinir. Lamba ile atomlaştıracı arasında bir polarizör konur ve belirli frekansta lambadan bir π bileşeni (toplam absorbansını ölçer) ve birde σ bileşeni (zemin absorbansını ölçer) π ve σ bileşenleri ile ölçülen absorbanslar farkı düzeltilmiş atomik absorbansdır.

Zeeman etkili cihazlar, zemin için daha önce belirtilen yöntemlerden daha doğru düzeltme oluşturur. Bu cihazlar özellikle elektrotermal atomlaştıracılar için yararlı olup, idrar ve kan numunelerindeki elementlerin doğrudan tayinlerine izin verir.

Zeeman zemin düzeltme yönteminin döteryum boşalım lambası zemin düzeltme yöntemine üstünlükleri şöyle sıralanabilir. Polarize Zeeman yönteminde;

- a- Rezonans absorpsiyon pikinin dalga boyunda zemin absorpsiyonu doğru şekilde düzeltilir.
- b- Döteryum boşalım lambasının optik düzlemindeki her iki ışık kaynağından yayılan ışın yolunun ayarlanması gibi işlemlere ihtiyaç duyulmaz.

- c- AAS ile ölçülen bütün elementler için zemin düzeltilmesi yapılabilir.
- d- Düzeltme döteryum lambası yöntemi ile elde edilenden daha iyidir.

2.7. ETAAS ile Analizde Optimizasyonu Çalışmaları

2.7.1. Piroliz Basamağının Optimizasyonu

Atomlaşma basamağında, tayin elementi yanında düşük kaynama noktasına sahip organik veya inorganik bileşenlerin buharlaşması ile oluşan girişimleri ve zemin absorbansını azaltmak ve yok etmek için örnek kül edilir. ETAAS’da analizin duyarlılığı kül etme sıcaklığına bağlıdır. Yüksek piroliz sıcaklığı seçildiği zaman atomlaşma basamağında girişimler ve zemin absorbansı düşer ve duyarlılık artabilir. Ancak bu durumda tayin elementi de buharlaşabilir ve atomlaşma basamağında kütle kaybı olur. Bu nedenle kül etme basamağının sıcaklığı önemlidir.

Tayin elementinin piroliz sıcaklığı, elementin kimyasal bileşimine ve ortamdaki diğer bileşenlere bağlıdır (40). Tayin elementinin kaynama sıcaklığı girişim oluşturan bileşenlerinkinden çok farklı değilse, piroliz sıcaklığında tayin elementini kaybetmeden girişim oluşturan bileşenleri uzaklaştırmak güçtür. Özellikle ortamdaki girişim oluşturan ve zor buharlaşan inorganik bileşenleri uzaklaştırmak zordur.

Bu durumda, tayin elementi kaybedilmeden girişim oluşturan bileşenler süblimleştirilerek veya kül etme sıcaklığı artırılarak uzaklaştırılabilir. Kül etme sıcaklığının artırılabilmesi HNO_3 , H_2O_2 vb. ilavesiyle tayin elementinin kararlı oksidi haline yükseltgenmesiyle mümkündür. Ancak yükseltgenin derişimi yüksek olduğu zaman duyarlılık düşebilir (40). Ayrıca bazı elementlerin oksitleri de uçucu olabilir.

Kül etme sıcaklıklarında uçucu elementlerin kütle kayıplarını önlemek için bu elementleri termal olarak kararlı inter – metalik bileşiklerine dönüştüren ortam düzenleyiciler kullanılır.

- Yüksek sıcaklıktaki piroliz basamağında uçucu matriks bileşeneri uzaklaştırılmasını kolaylaştırır.
- Girişim yapan türlerin hidrolizene termal olarak yardımcı olur.
- Daha yüksek sıcaklıklara kadar atomlaşma geçiktirirli ve daha Izoterm şartlar sağlanır.
- Tayin elementi ve zemin absorpsiyon sinyalleri daha iyi ayrılır.
- Atomlaşma sıcaklığı ile piroliz sıcaklığı arasındaki fark azalır böylece atomlaşma daha iyiolur.

2.7.2. Atomlaşma Basamağının Optimizasyonu

Analitik doğruluk tayin elementinin atomlaşma sıcaklığına doğrudan bağlıdır. Tayin elementinin tam atomlaşmasını sağlamak ve hassasiyeti artırmak için atomlaşma basamağı optimizasyonu gereklidir. Atomlaşma basamağında genel olarak sıcaklık belirli bir süre sabit tutulur. Ancak zemin absorbansının yüksek olduğu durumlarda aşağıdaki faktörlere bağlı olarak sıcaklığın sabit hızla artırıldığı sıcaklık programının kullanılması uygundur.

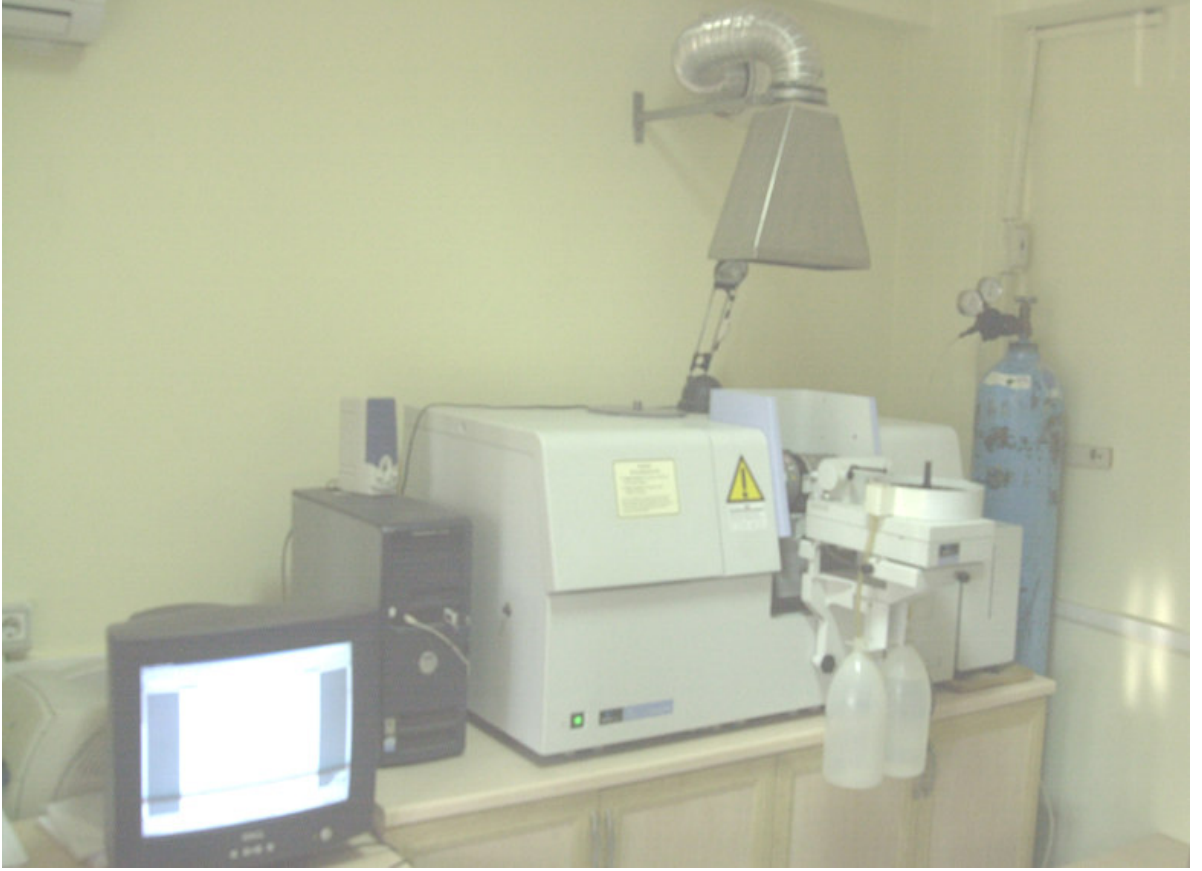
- Tayin elementi ile girişim oluşturan bileşenin kaynama sıcaklıkları çok farklı değilse,
- Girişim oluşturan bileşenin kaynama sıcaklığı tayin elementininkinden yüksek ise,
- Girişim oluşturan bileşenin buharlaştığı sıcaklıkta tayin elementinin kütle kaybı oluyorsa.
- Her tayin elementinin optimum atomlaşma sıcaklığı ve zaman ayarlanmalıdır.
- Yüksek atomlaşma sıcaklığı seçildiği zaman tayin elementlerinin atomlaşmaları artar, atomik buharın grafit fırında tutunma süresi azalır ve kalibrasyon eğrisinin lineerliği düşer (40).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Cihazlar

3.1.1 Elektrotermal Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi

Ölçümler Perkin Elmer AAnalyst 600 model Elektrotermal Zeeman etkili atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Şekil 3.1) ile yapıldı. Örneklerin atomlaştırıcıya enjeksiyonu için AS800 oto örnekleyici kullanıldı.



Şekil 3.1 Perkin Elmer AAnalyst 600 model Elektrotermal Zeeman etkili Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi

3.1.2 Su Saflaştırma Sistemi

Deneyleerde, $18,2 \text{ M}\Omega/\text{cm}^{-1}$ direncinde su üretebilen, $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ 'lik süzgeci olan MILLIPORE Marka Milli-Q Plus-185 Model saf su cihazı kullanıldı.

3.1.3 Mikrodalga Örnek Çözücü

CRM BCR-397 insan saçı ve NIST 2976 midye dokusu standart referans maddeleri CEM MARS 5 mikrodalga örnek çözücü sistemi kullanılarak çözünürleştirildi.

3.2.1 Kimyasal Maddeler

Pb Stok Çözeltisi : Merck (107362) 1000 mg/L'lık stok standart çözeltisi.

HNO₃ : Fluka (84385) % 69 saflıkta (eser analiz için uygun)

H₂O₂ : Merck (108597) % 30

Mg(NO₃)₂ stok çözeltisi: Merck (105813) maganezyum modifier $c(\text{Mg})=10.0\pm 0,2$ g/l (Mg(NO₃)₂ 6H₂O 17% HNO₃ içinde)

NH₄H₂PO₄ stok çözeltisi: Merck (101440) % 99,99

Pt stok çözeltisi : Merck (1.70219.0500) 1000 mg/l H₂PtCl₆, platin 2 mol/l HCl içinde

Pd stok çözeltisi : Merck (107289) paladyum modifier $c(\text{Pd})=10.0\pm 0,2$ g/l (Pd(NO₃)₂ 15% HNO₃ içinde)

3.2.2. Standart Referans Maddeler (SRM)

İnsan Saçı (CRM BCR-397 İnsan saçı European Commission DG Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM): Yaklaşık 1,0 g insan saçı SRM örneği sertifikasında belirtildiği şekilde, etüvde 90 °C sabit sıcaklıkta 16 saat süre ile bekletildi ve sabit tartıma getirilerek kurutuldu. Daha sonra 0,20 g civarında tartılan SRM örneği çözünürleştirme işlemi için mikrodalga örnek çözücünün teflon kabına alınarak üzerine 4 ml HNO₃ ve 1ml H₂O₂ eklenerek

mikro dalga örnek çözücünde çönlürleştirildi. Gerekli seyreltmeler yapılarak analize hazırlandı.

Midye Dokusu NIST 2976 : 0,10 g civarında tartılan SRM örneği çönlürleştirme işlemi için mikrodalga örnek çözücünün teflon kabına alınarak üzerine 4ml HNO₃ ve 1ml H₂O₂ eklenerek çönlürleştirme işlemi gerçekleştirildi. Gerekli seyreltmeler yapılarak analize hazırlandı

İçme Suyu HIGH EP-H-1 (140-025-032) SCP SCIENCE: Herhangi bir işlem uygulanmadan gerekli seyreltmeler yapılarak analize hazırlandı.

3.2.3 Ortam Düzenleyicilerin Hazırlanması

5 µg Pd + 3 µg Mg(NO₃)₂ Ortam Düzenleyicinin Hazırlanması:

Bölüm 3.2.1 de açıklanan Pd stok çözeltilisinden 1 mL ve Mg(NO₃)₂ stok çözeltilisinden 0.1 mL alınarak 18 MΩ'lık deiyonize su ile 10mL'ye seyreltildi.

50 µg NH₄H₂PO₄ + 3 µg Mg(NO₃)₂ Ortam Düzenleyicinin Hazırlanması:

Bölüm 3.2.1 de açıklanan stok çözeltilisinden 1 mL NH₄H₂PO₄ ve 0.1 mL Mg(NO₃)₂ alınarak 18 MΩ'lık deiyonize su ile 10mL'ye seyreltildi.

10 µg Pt + 4 µg Pd Ortam Düzenleyicinin Hazırlanması

Bölüm 3.2.1 de açıklanan Pd stok çözeltilisinden 0.8 mL ve Pt stok çözeltilisinden 0.33 mL alınarak 18 MΩ'lık deiyonize su ile 10 mL 'ye seyreltildi.

3.2.4.Kullanılan Cam ve Plastik Malzemelerin Temizlenmesi

Kirli cam ve plastik malzemelerin ayrı ayrı temizlenmesi amacıyla plastik küvetlere asit banyosu olarak kullanılmak üzere (1+4) (v/v)'lik HNO₃ çözeltilisi hazırlandı. Kirli malzemeler önce damıtık su ile bolca çalkalanıp, iki gün süresince asit banyosunda bekletildi. Asit banyosundan çıkarılan malzemeler saf su ile en az beş kez çalkalanarak kurumaya bırakıldı

4. BULGULAR

Bu bölümde yapılan çalışmaların tamamı Çizelge 4.1 ve 4.2’de verilen koşullarda yapıldı.

Çizelge 4.1 Atomik Absorbsiyon Çalışma Koşulları

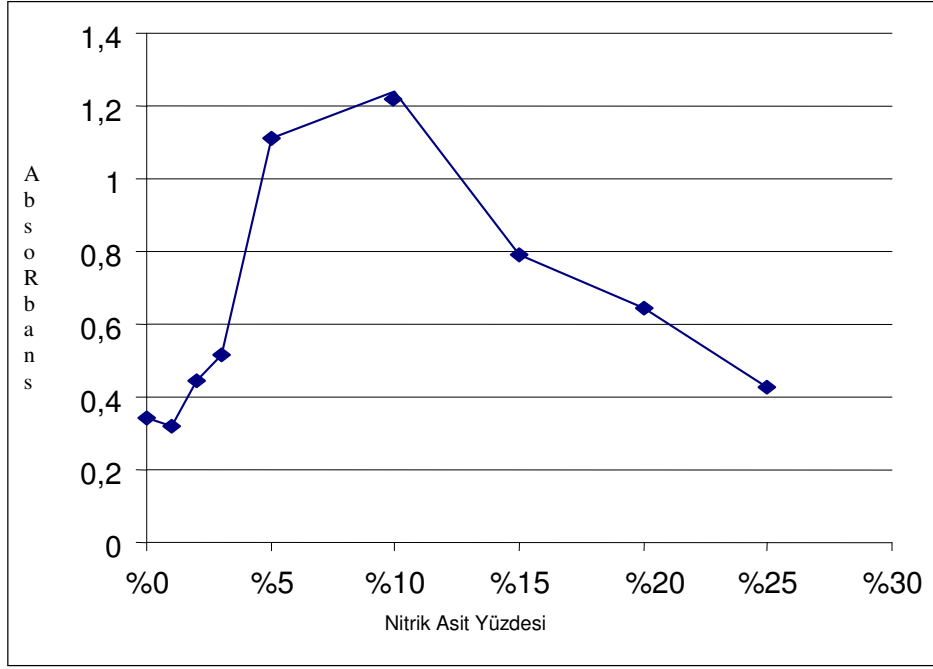
Dalga boyu	283.3 nm
Lamba akımı	20 mA
Yarık aralığı	0.7 nm
Taşıyıcı Gaz	Argon
Örnek hacmi	20 µL

Çizelge 4.2 Elektrotermal Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinin Sıcaklık Programı

Basamak	Sıcaklık (°C)	Hızlanma Zamanı (s)	Bekleme Zamanı (s)	Gaz akışı (mL/ dak.)
Kurutma-1	110	1	30	250
Kurutma-2	130	15	30	250
Piroliz	Değişken	10	20	250
Atomlaşma	Değişken	0	5	0
Temizleme	2450	1	3	250

4.1 Nitrik Asit Derişiminin Etkisi

Ortamda bulunan nitrik asit miktarının etkisini incelemek üzere % 0, %1, %2, %3, % 5, % 10, % 15, % 20 ve % 25 nitrik asit ortamında, 600 °C piroliz ve 1600°C atomlaşma sıcaklığında 50 ng/mL kurşunun absorbans değerleri ölçüldü. En yüksek absorbans değerinin %10’luk nitrik asit ortamında elde edildiği gözlemlendi (Şekil 4.1).

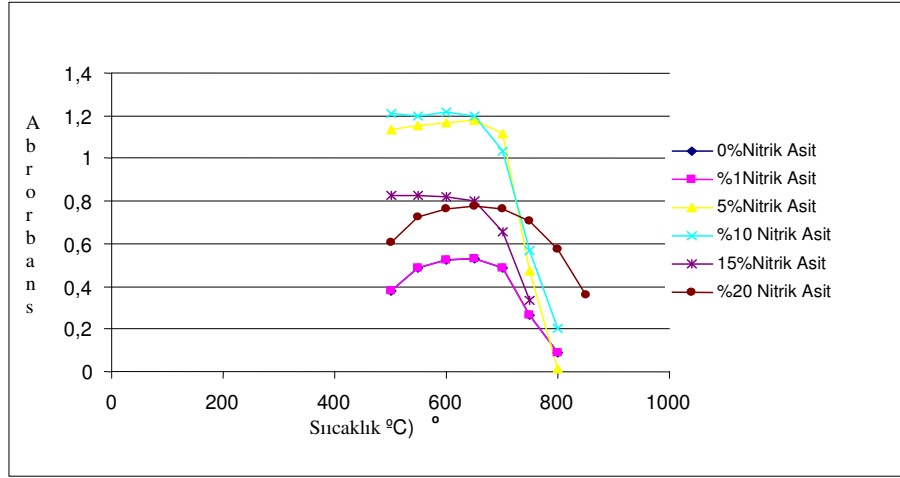


Şekil 4.1 50 ng/mL kurşun üzerine nitrik asit derişiminin etkisi

4.2. Nitrik Asit Ortamında Optimizasyon

4.2.1 Piroliz Sıcaklığının Optimizasyonu

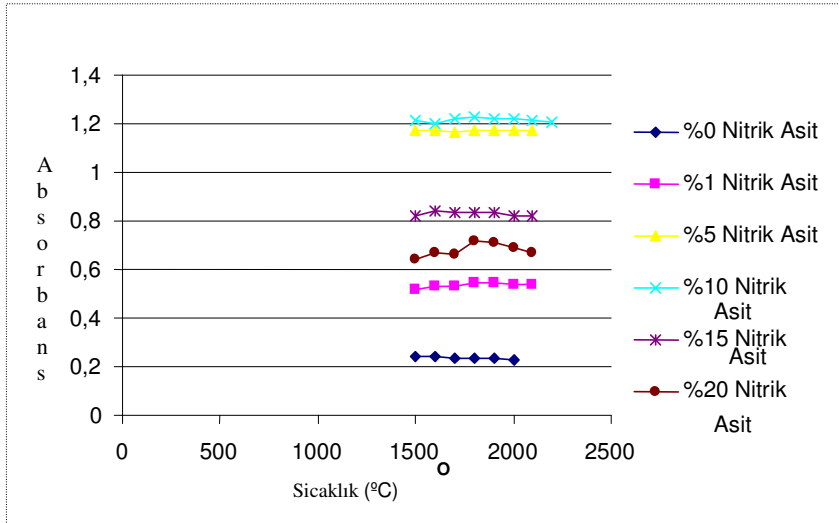
Atomlaşma sıcaklığı 1600°C’de sabit, piroliz sıcaklığı değiştirilerek yapılan çalışmada Şekil 4.2’de görülen grafik elde edildi. Ortamda nitrik asit dışında başka bir ortam düzenleyici yoktu. Değişik nitrik asit derişimlerinde yapılan ölçümler sonucunda % 10 nitrik asit ortamında elde edilen absorbans değerlerinin diğerlerinden daha yüksek olduğu açıkça görülmektedir. Ayrıca 600°C’nin üzerindeki sıcaklıklarda absorbansın düşmesi ortamdaki kurşunun buharlaşarak uzaklaşmış olduğunu gösterir.



Şekil 4.2 50 ng/mL kurşunun farklı nitrik asit derişimlerinde 1600 °C atomlaşma sıcaklığında piroliz sıcaklığı eğrileri

4.2.2. Atomlaşma Sıcaklığının Optimizasyonu

Çalışmanın bu bölümünde piroliz sıcaklığı sabit tutularak atomlaşma sıcaklığı değiştirildi ve atomlaşma sıcaklığındaki değişim izlendi. Burada 4.2' de elde edilen sonuçlara dayanarak piroliz sıcaklığı 600 °C'de sabit tutuldu. Grafikten de (Şekil 4.3) izlendiği gibi nitrik asit derişimi %10 olduğu durumda en yüksek absorbans elde edildi. Absorbans değerinin 2000 °C atomlaşma sıcaklığına kadar hemen hemen sabit kaldığı gözlemlendi.

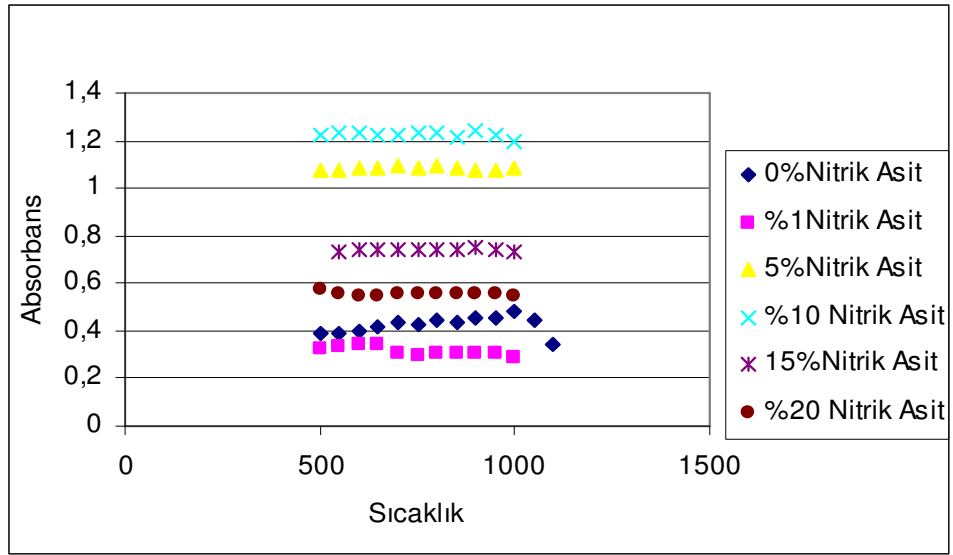


Şekil 4. 3 50 ng/mL kurşunun farklı nitrik asit derişimlerinde 600°C piroliz sıcaklığında atomlaşma sıcaklığı eğrileri

4.3. Nitrik Asit ve $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ Ortamında Optimizasyon

4.3.1 Piroliz Sıcaklığının Optimizasyonu

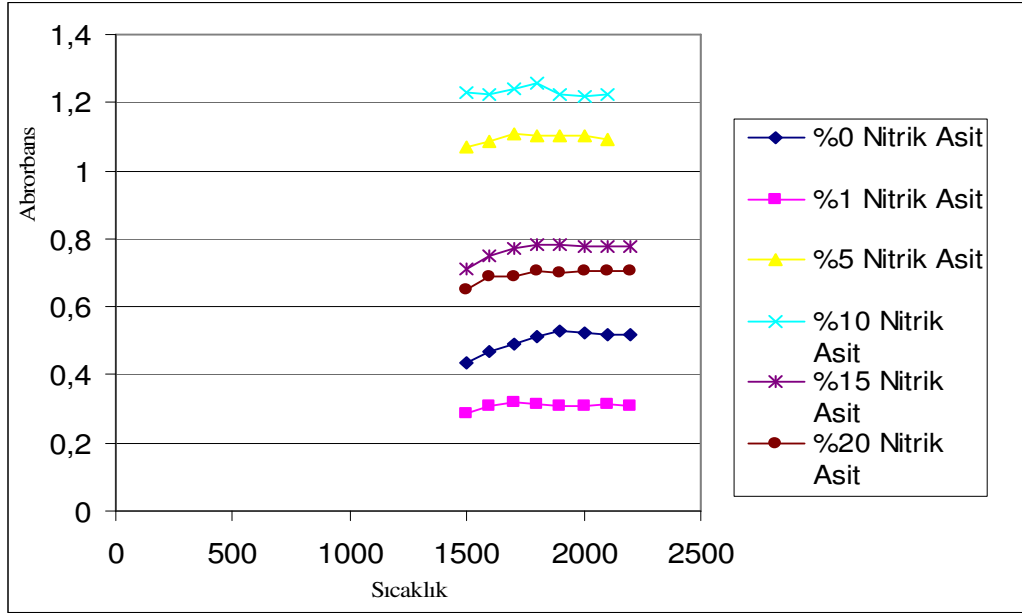
Atomlaşma sıcaklığı 1600°C 'de sabit, piroliz sıcaklığı değiştirilerek yapılan çalışmada Şekil 4.4'de görülen grafik elde edildi. Burada da değişik nitrik asit derişimlerinde yapılan ölçümler sonucunda % 10 nitrik asit ortamında elde edilen absorbands değerleri diğerlerinden daha yüksek bulundu. Ayrıca 1000°C civarına kadar absorbandsda çarpıcı bir düşme gözlemlenmedi.



Şekil 4.4 50 ng/mL kurşunun $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ortam düzenleyici eklenerek farklı nitrik asit derişimlerinde 1600°C atomlaşma sıcaklığında piroliz sıcaklığı eğrileri

4.3.2. Atomlaşma Sıcaklığının Optimizasyonu

Çalışmanın bu bölümünde piroliz sıcaklığı sabit tutularak atomlaşma sıcaklığı değiştirildi ve atomlaşma sıcaklığındaki değişim izlendi. Burada 4.4' de elde edilen sonuçlara dayanarak piroliz sıcaklığı 900°C 'de sabit tutuldu. Grafikten de (Şekil 4.5) izlendiği gibi nitrik asit derişimi %10 olduğu durumda en yüksek absorbands elde edildi. Absorbans değerinin 2200°C atomlaşma sıcaklığına kadar hemen hemen sabit kaldığı gözlemlendi.

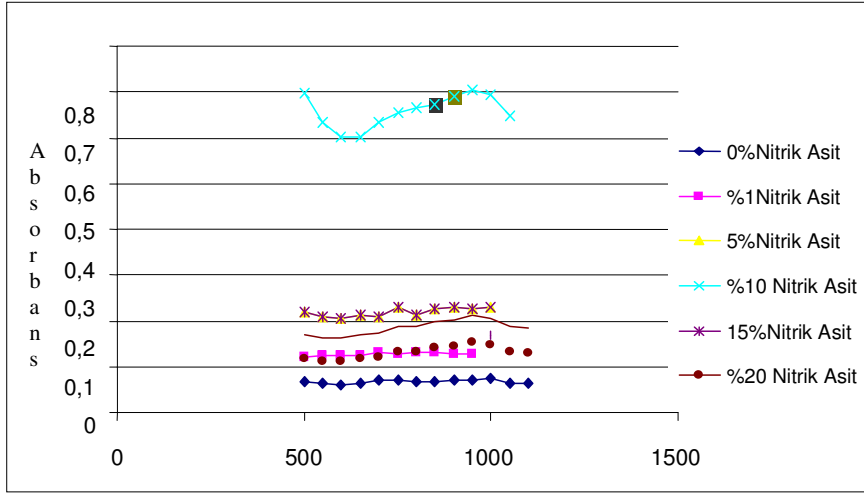


Şekil 4.5. 50 ng/mL kurşunun $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ortam düzenleyici eklenerek farklı nitrik asit derişimlerinde 900°C piroliz sıcaklığında atomlaşma sıcaklığı eğrileri

4.4. Nitrik Asit ve $\text{Pd} + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ Ortamında Optimizasyon

4.4.1 Piroliz Sıcaklığının Optimizasyonu

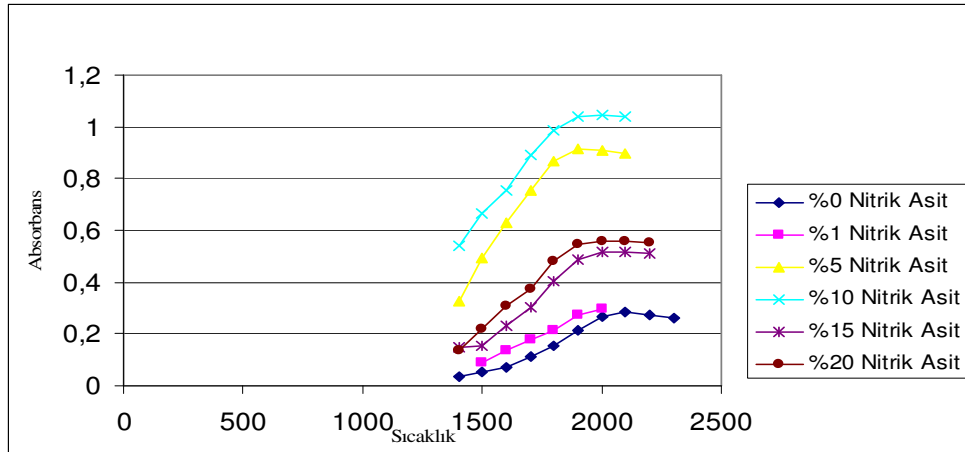
Atomlaşma sıcaklığı 1600°C’de sabit, piroliz sıcaklığı değiştirilerek yapılan çalışmada Şekil 4.6’de görülen grafik elde edildi. Burada da değişik nitrik asit derişimlerinde yapılan ölçümler sonucunda % 10 nitrik asit ortamında elde edilen absorbans değerleri diğerlerinden daha yüksek bulundu. Ayrıca 1000 °C ‘yi aşan sıcaklıklara kadar absorbansda fazla bir düşme gözlemlenmedi. Bu grafikteki en çarpıcı sonuç 4.4’de kullanılan ortama göre absorbans değerinde kayda değer bir düşme gözlenmesidir.



Şekil 4.6 50 ng/mL kurşunun Pd + Mg(NO₃)₂ ortam düzenleyici eklenerek farklı nitrik asit derişimlerinde 1600°C atomlaşma sıcaklığında piroliz sıcaklığı eğrileri

4.4.2. Atomlaşma Sıcaklığının Optimizasyonu

Çalışmanın bu bölümünde piroliz sıcaklığı sabit tutularak atomlaşma sıcaklığı değiştirildi ve atomlaşma sıcaklığındaki değişim izlendi. Burada 4.6' de elde edilen sonuçlara dayanarak piroliz sıcaklığı 900°C'de sabit tutuldu. Grafikten de (Şekil 4.7) izlendiği gibi nitrik asit derişimi %10 olduğu durumda en yüksek absorbans elde edildi. Absorbans değerinin burada da 2000 °C atomlaşma sıcaklığının oldukça üstünde hemen hemen sabit kaldığı gözlemlendi.

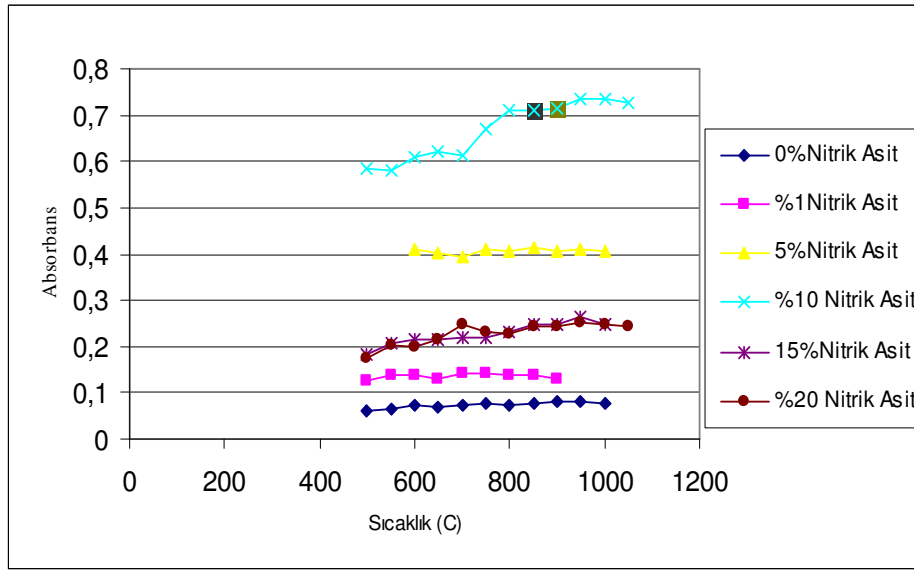


Şekil 4.7. 50 ng/mL kurşunun Pd + Mg(NO₃)₂ ortam düzenleyici eklenerek farklı nitrik asit derişimlerinde 900°C piroliz sıcaklığında atomlaşma sıcaklığı eğrileri

4.5. Nitrik Asit ve Pt + Pd Ortamında Optimizasyon

4.5.1 Piroliz Sıcaklığının Optimizasyonu

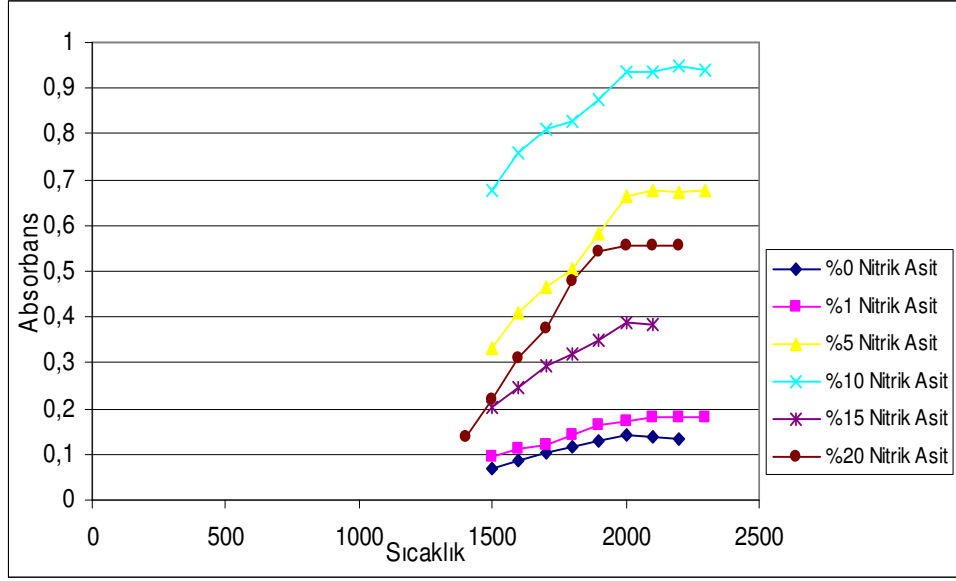
Atomlaşma sıcaklığı 1600°C'de sabit, piroliz sıcaklığı değiştirilerek yapılan çalışmada Şekil 4.8'de görülen grafik elde edildi. Burada da değişik nitrik asit derişimlerinde yapılan ölçümler sonucunda % 10 nitrik asit ortamında elde edilen absorbans değerleri diğerlerinden daha yüksek bulundu. Ayrıca Şekil 4.4'de gözlenen benzer şekilde 1000°C civarına kadar absorbansda çarpıcı bir düşme gözlemlenmedi.



Şekil 4. 8 50 ng/mL kurşunun Pt + Pd, ortam düzenleyici eklenerek farklı nitrik asit derişimlerinde 1600°C atomlaşma sıcaklığında piroliz sıcaklığı eğrileri

4.5.2. Atomlaşma Sıcaklığının Optimizasyonu

Çalışmanın bu bölümünde piroliz sıcaklığı sabit tutularak atomlaşma sıcaklığı değiştirildi ve atomlaşma sıcaklığındaki değişim izlendi. Burada Şekil 4.8'de elde edilen sonuçlara dayanarak piroliz sıcaklığı 900 °C'de sabit tutuldu. Grafikten de (Şekil 4.9) izlendiği gibi nitrik asit derişimi %10 olduğu durumda en yüksek absorbans elde edildi. Absorbans değerinin 2000- 2200 °C atomlaşma sıcaklığı aralığında en yüksek olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.9 50 ng/mL kurşunun Pt + Pd ortam düzenleyici eklenerek farklı nitrik asit derişimlerinde 900°C piroliz sıcaklığında atomlaşma sıcaklığı eğrileri

4.6. Standart Referans Maddelerin Analizi

Bölüm 4.1'den 4.5' e kadar çeşitli ortam düzenleyiciler ve nitrik asitin farklı derişimlerinde optimizasyon çalışmaları yapıldı. Standart referans maddelerin analizi için en uygun koşulların % 10 Nitrik Asit ve $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ortamı olduğuna karar verildi. Standart referans maddelerin kurşun derişimleri bu koşullarda ölçüldü. Diğer ortam düzenleyicilerle karşılaştırmak amacıyla bunların bulunduğu koşullarda da SRM'lerin kurşun derişimleri ölçüldü.

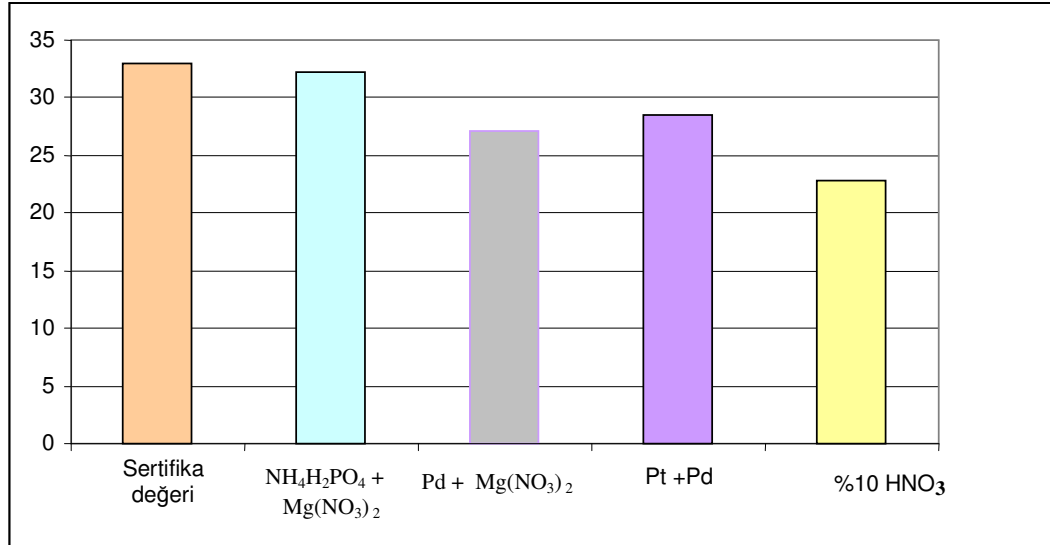
4.6.1. CRM BCR-397 İnsan Saçı Standart Referans Maddesinin Analizi

Belirlenen koşullarda insan Saçı CRM BCR-397 Standart Referans Maddesine ait kurşun derişimi ve diğer ortam düzenleyicilerle yapılan ölçümler Çizelge 4.3'de verilmektedir. Şekil 4.10 ve 4.11' de de sırasıyla her ortam için yapılan ölçümlerde elde edilen derişimlerin dağılımı ve ortalamalarının dağılım grafikleri görülmektedir.

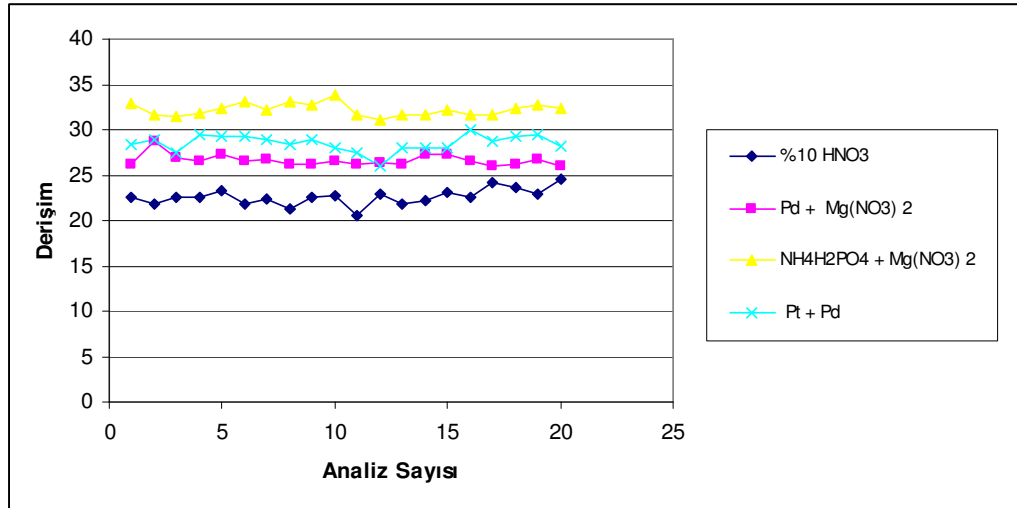
Çizelge 4.3 CRM BCR-397 İnsan Saçı Standart Referans maddesinin kurşun derişimleri

Ortam Düzenleyici	Bulunan derişim ($\mu\text{g/g}$)*	Sertifika Değeri ($\mu\text{g/g}$)	% Hata
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	32.2 ± 0.3	33	2,4
Pd + $\text{Mg}(\text{NO}_2)_2$	27.2 ± 0.92	33	17,6
%10 HNO_3	22.8 ± 0.47	33	30.9
Pt +Pd	28.6 ± 0.19	33	13,3

Sonuçlar % 95 güven seviyesi ile 20 ölçümün ortalamasıdır ($\bar{x} \pm t.s/\sqrt{N}$)



Şekil 4.10 CRM BCR-397 insan saçı standart referans maddesi için farklı ortamlarda yapılan 20 ölçümün ortalamalarının dağılımı



Şekil 4.11 CRM BCR-397 insan saçı standart referans maddesi için farklı ortamlarda yapılan 20 ölçümün dağılımı

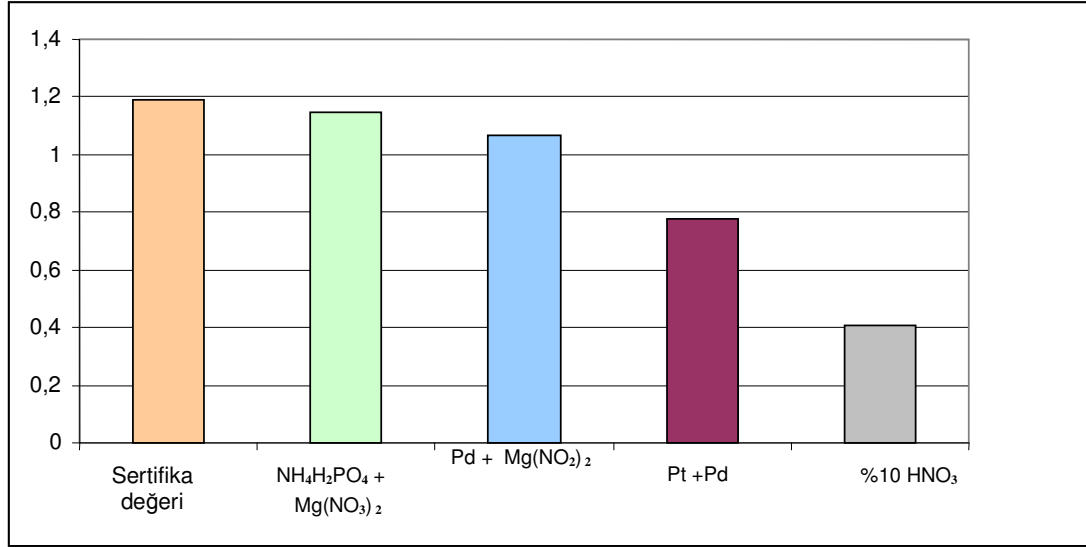
4.6.2. NIST 2976 Midye Dokusu Standart Referans Maddesinin Analizi

Belirlenen koşullarda Midye Dokusu NIST 2976 Standart Referans Maddesine ait kurşun derişimi ve diğer ortam düzenleyicilerle yapılan ölçümler Çizelge 4.4’de verilmektedir. Şekil 4.12 ve 4.13’ de de sırasıyla her ortam için yapılan ölçümlerde elde edilen derişimlerin dağılımı ve ortalamalarının dağılım grafikleri görülmektedir.

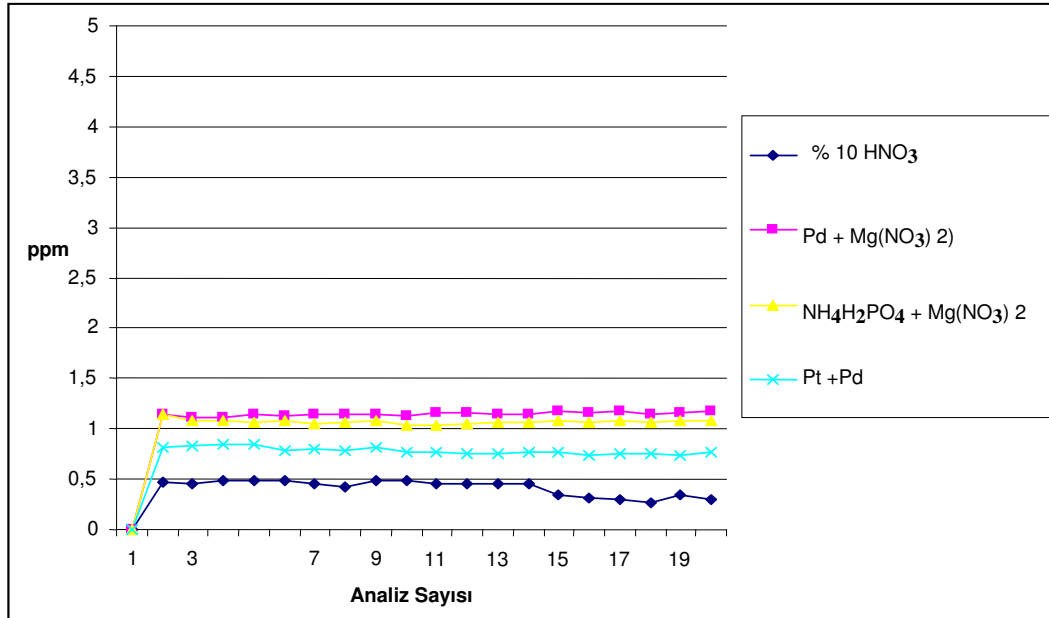
Çizelge 4.4 NIST 2976 midye dokusu standart referans maddesinin kurşun derişimleri

Ortam Düzenleyici	Bulunan derişim (mg/kg)*	Sertifika Değeri (mg/kg)	% Hata
NH ₄ H ₂ PO ₄ + Mg(NO ₃) ₂	1.15±0.09	1,19	3,4
Pd + Mg(NO ₃) ₂	1.07±0.1	1,19	10,1
%10 HNO ₃	0.41±0.34	1,19	65,5
Pt +Pd	0.78±0.16	1,19	34,4

Sonuçlar % 95 güven seviyesi ile 20 ölçümün ortalamasıdır ($\bar{x} \pm ts/\sqrt{N}$)



Şekil 4.12 NIST 2976 mide dokusu standart referans maddesi için farklı ortamlarda yapılan 20 ölçümün ortalamalarının dağılımı



Şekil 4.13 NIST 2976 mide dokusu standart referans maddesi için farklı ortamlarda yapılan 20 ölçümün dağılımı

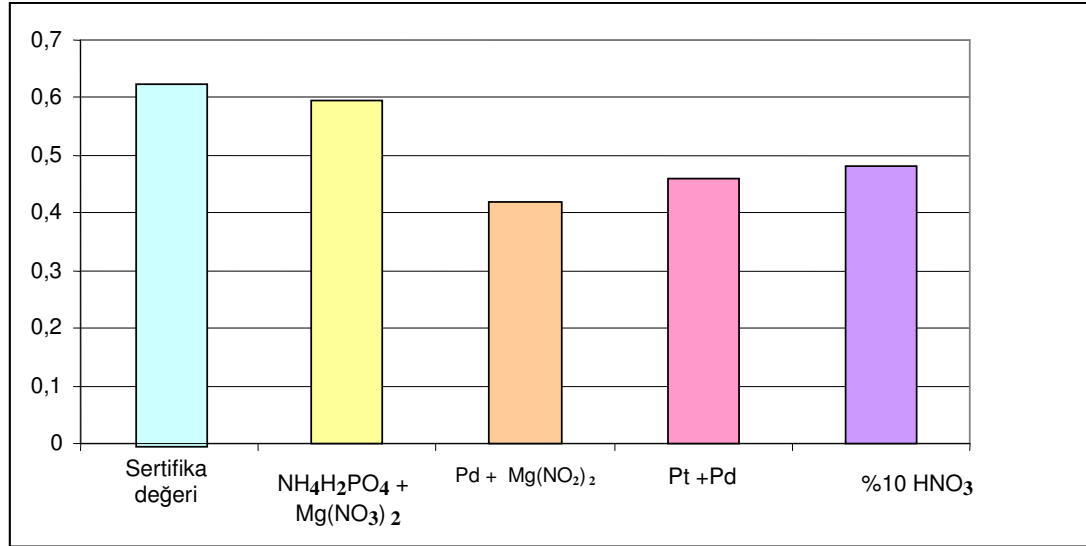
4.6.3. HIGH EP-H-1 İçme Suyu Standart Referans Maddesinin Analizi

Belirlenen koşullarda İçme Suyu HIGH EP-H-1 Standart Referans Maddesine ait kurşun derişimi ve diğer ortam düzenleyicilerle yapılan ölçümler Çizelge 4.5’de verilmektedir. Şekil 4.14 ve 4.15’ de de sırasıyla her ortam için yapılan ölçümlerde elde edilen derişimlerin dağılımı ve ortalamalarının dağılım grafikleri görülmektedir.

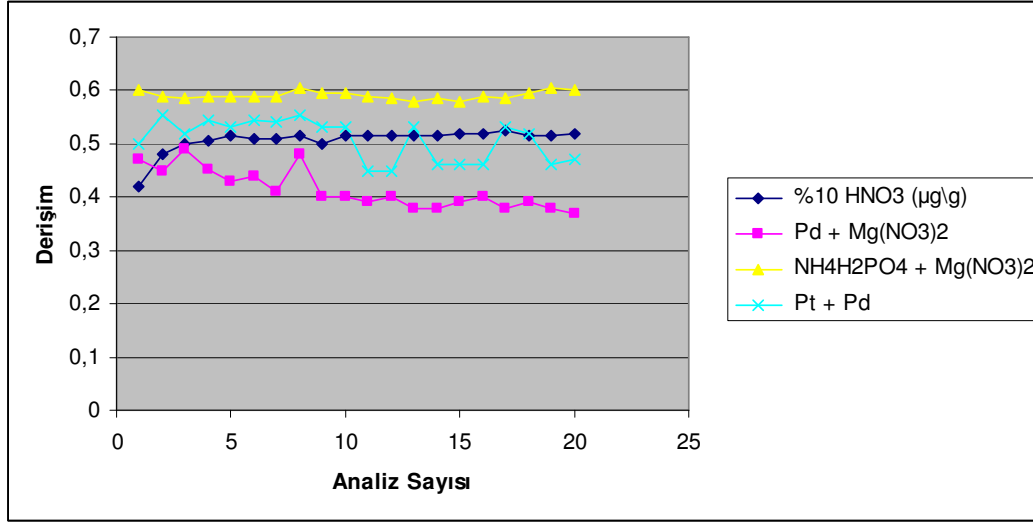
Çizelge 4.5 HIGH EP-H-1 içme suyu standart referans maddesinin kurşun derişimleri

Ortam Düzenleyici	Bulunan derişim (mg/L)*	Sertifika Değeri (mg/L)	% Hata
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	0.595±0.07	0.63	5,5
Pd + Mg(NO₃)₂	0.42±0.18	0,63	33,3
%10 HNO₃	0.48±0.05	0.63	23,8
Pt +Pd	0.46±0.43	0,63	27

Sonuçlar % 95 güven seviyesi ile 20 ölçümün ortalamasıdır ($\bar{x} \pm ts/\sqrt{N}$)



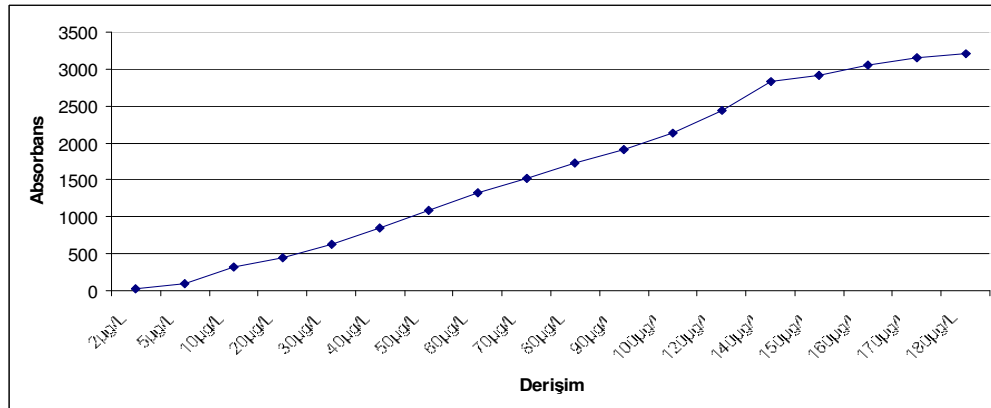
Şekil 4.14. HIGH EP-H-1 içme suyustandart referans maddesi için farklı ortamlarda yapılan 20 ölçümün ortalamalarının dağılımı



Şekil 4.15. HIGH EP-H-1 içme suyu standart referans maddesi için farklı ortamlarda yapılan 20 ölçümün dağılımı

4.6.4. Doğrusal Çalışma Aralığının Belirlenmesi

2 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 20 µg/L, 30 µg/L, 40 µg/L, 50 µg/L, 60 µg/L, 70 µg/L, 80µg/L, 90 µg/L, 100µg/L, 120 µg/L, 140 µg/L, 150 µg/L, 160 µg/L, 170 µg/L, ve 180 µg/L kurşun standartları ile % 10 HNO₃ + NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ ortam düzenleyici kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiği 140 µg/L'ye kadar kadar doğrusal bir değişim gösterdi (Şekil 4.16).



Şekil 4.16 Doğrusal Çalışma Aralığı

4.6.5. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırının (LOQ) Belirlenmesi

Gözlenebilme sınırı, belli bir güven seviyesinde rapor edilebilir en küçük derişimdir. Her analitik tekniğinin bir gözlenebilme sınırı vardır. Kalibrasyon grafiğı kullanan yöntemlerde, gözlene bilme sınırı “tanık çözeltilinin standart sapmasından (S_b) daha yüksek bir güvenirlilik katsayısına (k) sahip sinyal veren en küçük derişim” şeklinde tanımlanır. Çoğı zaman, k katsayısı 2 veya 3 olarak seçilir Bu katsayı 2 iken güven seviyesi % 92,1: 3 iken % 98,3 dür (41).

Numune yerine su alınarak hazırlanan tanık çözeltili için 20 kez absorbans okundu. Tanık çözeltili için elde edilen ortalama absorbans değerleri ve hesaplanan standart sapma değerleri kullanılarak LOD ve LOQ değerleri aşağıdaki bağıntı ile hesaplandı.

$$C_{LOD} = kS_b / m$$

$$C_{LOQ} = 3C_{LOD}$$

% 10 HNO₃ + NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ ortam düzenleyici ortamı için, 20 okumanın pik yükseklik ortalaması 0,0036, standart sapması 0,001 olarak bulundu. Kalibrasyon grafiğinin doğru denkleminde (y= 0.003x+0,0002; r = 0,997981) eğim değeri tespit edilerek Kurşunun % 98,3 güven seviyesi için gözlenebilme sınırı 1.0 µg/L, tayin sınırı da (LOQ = 3.LOD) 3.0 µg/L, % 92,1 güven seviyesi için gözlenebilme sınırı 0,67 µg/L, tayin sınırıda 2,01 olarak hesaplandı.

5. TARTIŞMA

ETAAS, nanogram seviyesine ölçebilecek kadar yüksek duyarlılıkta, hızlı, rutine uygulanabilir olması sebebiyle uçucu elementlerin tayininde yaygın olarak kullanılan metodlardan biridir. Tayin sınırı Zeeman zemin düzeltmesiyle daha da düşürülebilir (12). ETAAS, küçük örnek hacimlerinin kullanılabilmesi, viskoz sıvılarla da kolaylıkla çalışılabilir olması (11), atomik buharın kimyasal ve ısısal çevresinin denetlenebilmesi ile atomlaşma verimlerinin artması ve sinyal/gürültü (S/N) oranını arttırarak daha iyi gözlenebilme sınırına ulaşabilmesi gibi özelliklerinden dolayı alevli ve hidrür sistemli atomik absorpsiyon spektrofotometrelerine üstünlüğe sahip olduğundan uçucu elementlerin tayini için uygundur (39,42). Ancak, uçucu elementler 300°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda buharlaşmaya başladıklarından kütle kayıpları, dolayısıyla analizlerde hatalar meydana gelebilir.

Tayin elementi kaybedilmeden girişim yapan bileşenlerin ortamdan uzaklaştırılabilmesi için tayin elementinin uçucu olmayan bileşiklere çevrilmesi kullanılan tekniklerden biridir (13). Bu da örnek çözeltiye ve standart çözeltiye “Ortam Düzenleyici” adı verilen maddeler eklenmesi ile sağlanır. Uçuculuğun dışında, girişimleri yok etmek veya azaltmak için de ortam düzenleyiciler eklenir. Ortam düzenlemenin amacı, tayin elementinin termal kararlılığını piroliz sıcaklığına kadar artırarak ortamda girişim oluşturan moleküllerin, radikallerin veya bileşenlerinin giderilmesini sağlamak ve atomlaşma basamağında tayin elementinin kütle kaybını önlemektir (12).

Ortam düzenleyici maddeden beklenen özellik hassasiyeti düşürmeden piroliz sıcaklığını mümkün olduğu kadar yükseltmektir. Bu nedenle ortam düzenleyici ilavesiyle elementin absorbansında azalma olmamasıdır. Hem yüksek piroliz sıcaklığı hem de yeterli absorbans değeri oluşturan optimum piroliz sıcaklığının belirlenmesi önemlidir. Genellikle ortam düzenleyiciler olarak inorganik tuzlar ve soy metaller tercih edilmektedir Pd, Pt, Mg (NO₃)₂, W, Ir, NH₄H₂PO₄, Sc, Ru, Triton X-100 ve ve HNO₃ kullanılan ortam düzenleyicilere örneklerdir (12,15, 18).

Uygun ortam düzenleyiciler, tayin elementi ile kararlı bileşik oluşturarak piroliz sıcaklığını yükseltmeli ve ortamda girişim oluşturan bileşenlerin uçurulmasını sağlamalıdır, aynı zamanda grafit yüzeyi ile tepkimeye girmemelidir. Çok sayıda tayin elementine uygulanabilir olmalı, çok saf olmalı, tayin elementi veya girişim oluşturan bileşenleri içermemelidir, grafit tüpün ömrünü düşürmemeli ve aşındırıcı özeliği olmamalıdır, tayin elementinin absorplandığı dalga boyunda veya yakınında zemin aborbansı oluşturmamalı, tayin elementi ortam düzenleyici içinde homojen dağılmalıdır (43).

Atomlaşma basamağında oluşabilecek, tayin elementi yanında düşük kaynama noktasına sahip organik veya inorganik bileşenlerin buharlaşması ile oluşan girişimleri ve zemin absorbansını azaltmak veya yok etmek için piroliz basamağının sıcaklığı önemlidir. Analizi duyarlılığı piroliz basamağına bağlıdır.

Kimyasal girişim oluşturan türlerin etkisi iyi bir grafit fırın ısıtma programı ile azaltılabilir. ETAAS'de en önemli basamak piroliz basamağıdır. Piroliz basamağı aynı zamanda elementin termal kararlılığının da göstergesidir. Piroliz sıcaklığında girişim oluşturan maddeler ortamdaki uzaklaştırılabilirse atomlaşma basamağında olabilecek girişimler de en aza indirgenir. Piroliz sıcaklığı olarak tayin elementinde kütle kaybı olmaksızın ulaşılacak sıcaklıklar esas alınabilir. Uygun sıcaklık programı ile zemin abropsiyonu en aza indirilebilir. Ancak tayin elementinin uçucu olması durumunda bu iş çok zordur. Piroliz sıcaklığının yüksek tutularak girişim yapan bileşenlerin atomlaşma basamağından önce uçurulması sırasında uçucu tayin elementi de kaybedilebilir, sıcaklık düşük tutulursa kimyasal ve zemin girişimleri artar.

Analitik doğruluk tayin elementinin atomlaşma sıcaklığına doğrudan bağlıdır. Tayin elementinin tam atomlaşmasını sağlamak ve hassasiyetini artırmak için atomlaşma basamağının da optimizasyonu gereklidir. Her tayin elementinin en uygun atomlaşma sıcaklığı ayarlanmalıdır.

Yukarı da da açıklandığı gibi ETAAS eser element analizlerinde pek çok üstünlükleri olan bir yöntemdir. Ancak analiz koşullarının mutlaka belirlenmesini, piroliz ve atomlaşma sıcaklıkları için optimizasyon çalışması yapılmasını gerektirir. Özellikle biyolojik örnekler söz konusu olduğunda, karmaşık matrislerinden dolayı çeşitli ortam düzenleyicilerle optimizasyon çalışmaları daha da önem kazanır.

Biyolojik örneklerde eser element analizleri daha çok tıp, çevre bilimleri gibi alanlarda çalışan araştırmacılar tarafından yapılmıştır ve analitik kimyacılar konuya uzak kalmışlardır. Bu nedenle de biyolojik örneklerde eser element çalışmaları için analitik metot geliştirmeye yönelik çalışmalar gecikmiştir ve günümüzde de devam etmektedir. Literatürde son yıllarda yapılan birçok çalışma örneği vardır.

Farklı şeker içerikleri olan şarap örneklerinde yapılan bir çalışmada paladyum ve magnezyum nitrat ortam düzenleyici için optimizasyon çalışması yaparak 600 °C piroliz ve 2200 °C atomlaşma sıcaklığında kurşun için gözlenebilir sınırnın 0,8 µg/L bulunduğu bildirilmiştir (44).

Planktonlarda kurşun birikimini incelemek üzere yapılan bir başka çalışmada da, $\text{Ir}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ve $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ortam düzenleyicilerinin etkileri incelenmiştir (45).

Farinas ve ark. (46), bir alkollü içkide yine uçucu bir element olan kadmiyum tayini için farklı ortam düzenleyicilerin etkilerini incelemiştir.

Dökülen insan dişlerinde kurşun, bakır ve mangan tayininde lantan, paladyum ve sitrik asit karışımının ortam düzenleyici olarak kullanıldığı Acar ve ark. (47) tarafından bildirilmiştir.

Silveira ve ark. (48) bir çalışmalarında antihipertansif ilaçlarda mangan tayini için nitrik asit ortamında başka bir ortam düzenleyiciye gereksinim olmadan geliştirdikleri sıcaklık programında elde ettikleri sonuçları bildirmişlerdir.

Yine bir başka çalışmada şarapta kurşun tayini için yapılan bir çalışmada ortam düzenleyici olan ve olmayan ortamdaki ölçüm sonuçları karşılaştırılmıştır (49).

Bu tez kapsamında da uçucu bir element olan kurşunun biyolojik örneklerde tayini için bir optimizasyon çalışması yapıldı. Bunun için ortam düzenleyici olarak

% 10 HNO_3

% 10 HNO_3 + Pt + Pd,

% 10 HNO_3 + Pd + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ve

% 10 HNO_3 + $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ + $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

kullanıldı.

Nitrik asit derişiminin seçilmesi özellikle önemliydi. Farklı nitrik asit derişimleri kullnılarak yapılan çalışmada elde edilen veriler (Şekil 4.1) nitrik asit

derişiminin ortamda % 10'dan daha az ve fazla olduğu durumlarda kurşunun absorpsiyonunun azaldığını gösterdi. Bu durum tüm ortamlar için aynı şekilde gözlemlendi (Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9) .

Uygun nitrik asit derişimi seçildikten sonra yukardaki ortamlarda piroliz ve atomlaşma için en uygun sıcaklıklar ve ortam düzenleyici karışımı olarak % 10 HNO₃ + NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ belirlendi. Belirlenen koşullarda standart referans maddelerde kurşun derişimleri tayin edildi. Aradaki farkı gözleyebilmek amacı ile ayrıca her bir referans madde için diğer ortamlarda da kurşun derişimi tayin edildi.

CRM BCR-397 insan saçında yapılan analizlerde % 10 HNO₃ + NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ ortamında belgeli değere göre hata oranı % 2,42 bulundu. Diğer ortamlar için ise hata oranları % 10'un üzerinde idi (Çizelge 4.3).

NIST 2976 midye dokusunda yapılan analizlerde % 10 HNO₃ + NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ ortamında belgeli değere göre hata oranı % 3,36 bulundu. Diğer ortamlar için ise hata oranları % 10'un üzerinde idi (Çizelge 4.4).

HIGH EP-H-1 içme suyunda yapılan analizlerde % 10 HNO₃ + NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ ortamında belgeli değere göre hata oranı % 5,50 bulundu. Diğer ortamlar için ise hata oranları % 10'un üzerinde idi (Çizelge 4.5).

ETTAS'de kurşun tayini için optimizasyon çalışmaları ile belirlenen yöntemin doğruluğu yukarıdaki standart referans maddelerin analizi ile kontrol edildi. Hesaplanan hata oranları tayin yönteminin doğruluğunun oldukça iyi olduğunu göstermektedir.

Yöntemin analitik performansı ile ilgili olarak belirlenen koşullarda kurşunun gözlenebilme sınırı değeri % 98,3 güven seviyesi için 1.0 µg/L, tayin sınırı da (LOQ = 3.LOD) 3.0 µg/L, % 92,1 güven seviyesi için gözlenebilme sınırı 0,67 µg/L, tayin sınırında 2,01 µg/L olarak hesaplandı. Ayrıca elde edilen kalibrasyon grafiğinin denklemi $y = 0.003x + 0.0002$, $r = 0,997981$ idi ve 140 µg/L'ye kadar dogrusal bir degisim gösterdi.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada elektrotermal atomik absorpsiyonla kurşun tayini üzerine nitrik asit konsantrasyonunun ve bazı ortam düzenleyicilerin etkisi incelendi. Literatürde bu konuda çeşitli ortam düzenleyicilerle ilgili çok sayıda çalışma bulunduğu bilinmektedir. Ancak ortamın nitrik asit derişimi ile ilgili olarak yapılan çalışma sayısı literatürde yok denecek kadar azdı. Çalışmada elde edilen sonuçlar ise, ortamda bulunan nitrik asit miktarının analiz sonuçlarını doğrudan etkilediğini açıkça gösterdi. Ancak nitrik asit tek başına ortam düzenleyici olarak iyi sonuç vermedi.

Nitrik asit, atomik absorpsiyon spektroskopisiyle yapılan hemen her çalışmada örneklerin çözünürleştirilmesi gerekliliği nedeniyle ortamda bulunabilen bir maddedir. Özellikle son yıllarda mikrodalga ile çözünürleştirme işlemleri çeşitli üstünlükleri nedeniyle çok tercih edilmektedir. Bu işlemlerde de en çok tercih edilen asit nitrik asittir. Ortamda bulunan nitrik asit miktarı analiz örneğinin miktarı ve ölçülecek elementin derişimi ile doğrudan ilişkilidir. Analiz örneği veya ölçülecek element derişimi küçükse çözünürleştirilmiş örneği her zaman seyreltmek mümkün olmayabilir ve ortamın nitrik asit derişimi yüksek olabilir. Bu da tayin elementi üzerinde olumlu veya olumsuz bir etkiye neden olabilir. Bu da nitrik asit ortamında çözünürleştirme yapılan her örnek ve analizi yapılan her element için en uygun nitrik asit derişimin seçilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, elektrotermal atomik absorpsiyonla yapılan çalışmalarda analiz koşullarının iyileştirilmesi çalışmaları sadece ortam düzenleyiciler bakımından değil, aynı zamanda analiz örneğinin hazırlanması aşamasında kullanılan ve ortamda çok miktarda bulunan nitrik asit bakımından da yapılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. **Chena J, Xiao S, X Wu, K Fang, Liu W.** Determination of lead in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. *Talanta*, 2005; (67): 992-996.
2. **Yüksel L.** Kurşun ve Çocuk. *İst Çocuk Klinik Dergisi*, 1996; (31): 218 - 227.
3. **Comitrea A L D, Reis B F.** Atanomic flow procedure based on multic ammutation exploiting liquid-liquid extraction for spectrophotometric lead determination in plant material. *Talanta*, 2005; (65): 846-852.
4. **Naseri M T, Reza M.** Rapid determination of lead in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 2008; (75): 56-62.
5. **Biasino J, Domínguez J, Alvarado J.** Hydrogen peroxide in basic media for whole blood sample dissolution for determination of its lead content by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 2007; (73): 962-964.
6. **Baysal A, Akman S, Calışır F.** A novel slurry sampling analysis of lead in different water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after coprecipitated with cobalt/pyrrolidine dithiocarbamate complex. *Journal of Hazardous Materials*, 2008; (158): 454 - 459.
7. **Fang B, Zhufeng F.** Flow injection micelle-mediated methodology for determination of lead by electrothermal atomic absorption spectrometry. Springer-Verlag, 2007.
8. **Dias S, Walter N, dos Santos Antonio L, Costal C S, Bernhard W, Maria G, Vale R, Sergio L.** Application of multivariate techniques for optimization of direct method for determination of lead in naphtha and petroleum condensate by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Microchim Acta*, 2007; (158): 321-326.
9. **Sales A.** The effect of different propolis harvest methods on its lead contents determined by ETAAS and UV-vis. *Journal of Hazardous Materials*, 2006; (A137): 1352-1356.
10. **Maranhao T A, Daniel G I, Borgesa T.** Cloud point extraction for the determination of cadmium and lead in biological samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, 2005; (60): 667-672.
11. **Wagner K A, Batchelor J D, Jones B T.** A Rowland Circle, Multielement Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometer. *Spectrochim. Acta Part B*, 1998; (53): 1805.

12. **Acar O.** Bizmut, İndiyum, Kurşun ve Antimon ETAAS Tayinlerinde Uygun Ortam Düzenleyici Madde Sisteminin Araştırılması. Doktora Tezi; Gazi Üniversitesi, Ankara, 1996.
13. **Kara H.** Toplum sağlığı yönünden kurşun zehirlenmesi. 2007, Erişim :<http://www.saglik sorunlari.com/kursun zehirlenmesi.php>
14. **Silbergeld E K , Schwartz J, Mahaffey K.** Lead and osteoporosis mobilization Of lead from bone in postmenopausal women. Environ Res, 1988; 47(1): 79–94.
15. **Kaya F N, Atakol O, Dinçer S L.** Comparison of hydride generation atomic absorption and electrothermal atomic absorption techniques for determination of lead in blood. Trace Elem Electroly, 2007; 24(1): 19-23.
16. **Curros B, Maria G, Barciela C, A. Mari, Villar D B, Vazquez E. P, Hermelo P. H. , Bermejo-Barrera P.** Study of a microwave digestion method for total arsenic determination in marine mussels by electrothermal atomic absorption spectrometry. application to samples from the Ria de Arousa, Eur Food Res Technol, 2008; (227): 1165–1172
17. **Kazi T G , Memon A R , Afridi H I , Jamali M K , Arain M B , Jalbani N, Sarfraz R A.** Determination of cadmium in whole blood and scalp hair samples of Pakistani male lung cancer patients by electrothermal atomic absorption spectrometer. Science of the total Alenvironment, 2008; (389): 270-276
18. **Scancar J, Milagic R, Falnoga I, Cemazar M, Bukovec P.** Use of nitric acid in sample pretreatment for determination of trace elements in various biological samples by ETAAS. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2000; (22): 993–1002
19. **Otero A, Perez J, Fernandez J M, Romero J M C.** Experimental Designs in the Optimization of a Microwave Acid Digestion Procedure for the Determination of Metals in Paper and Board Samples by Atomic Absorption Spectrometry. Analytical Letters, 2008; (41): 2503-2524
20. **Tunçbilek A.** Kurşun Zehirlenmesi (Saturnism). Halk Sağlığı, Ankara: Antıp AS Yayınları, 1998; 453–62.
21. **Dimiter LT, Dimitrov A T, Mandjukov P B.** Study of Vanadium as a chemical modiler in electrothermal atomisation atomic absorpton spectrometry. J. Anal. At. Spectrom. 1990; (5): 189-194.
22. **Dinçer F N.** İnsan Doku ve Sıvılarında Hidrürü oluşturabilen Bazı elementlerin AAS ile Hidrür Oluşturmalı Yöntem ve Zeeman Etkili ETAAS Yöntemlerin karşılaştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü, Ankara, 1999.

23. **Piomelli S.** Childhood lead poisoning. *Pediatr Clin North Am*, 2002; (49): 1285 - 304.
24. **Şanlı Cihat, Hızal S, Albayrak M.** Kurşun ve Çocuk Sağlığı. 2005; 4 (14), 70.
25. **Velicangil S.** Koruyucu ve sosyal tıp. istanbul: Filiz Kitabevi, 2. Baskı; 1980.
26. **Gülçin Y, Can G, Şahin Ü.** Çocuklarda asemptomatik kurşun zehirlenmesi. 2002; (33): 197-204
27. **Manton W I, Cook J D.** High accuracy (stable isotope dilution) measurements of lead in serum and cerebrospinal fluid. *Br J Ind Med*. 1984; 41 (3): 313.
28. World Health Organization, Health Criteria and Other Supporting Information, vol. 2, 2nd ed., WHO, Geneva, 1996, p. 973.
29. **Grandjean P.** Health significance of metalslead. Maxcy Rosenau Last Public Health and Preventive Medicine. Ed. Last JM, Wallace RB. 1992; (13), 389 - 391.
30. **Hayes E B, McElvaine M D, Orbach H G, Fernandez A M, Lyne S, Matte T D.** Long Oeterm trends in blood lead levels among children in Chicago. Relationship to air lead levels, *Pediatr* 1994; (93): 195-200.
31. **Baron M E, Boyle R M.** Are pediatricians readyfor the new guidelines on lead. *Talanta*, 2003; (45): 56-63.
32. **Koller K, Brown T, Spurgeon A, Levv V.** Recent developments in low-level lead exposure and intellectual impairment in children. *Environ Health Perspect*, 2004; (112): 987-994.
33. **Richard L, Charles R, Henderson J R, Deborah H, Christopher C, Bruce P.** Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 µg per deciliter. *N Engl J Med*, 2003; (34): 1517-1525.
34. **Akman S.** Atomik absorpsion spektroskopisinde grafit fırında atomlaşma mekanizmasının incelenmesi. Doktora Tezi, H.Ü Mühendislik Fakültesi, Ankara, 1980.

35. **Şendil O.** Alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi ile mobilden tayininde bazı iyonların girişimlerinin sistematik olarak incelenmesi ve girişimlerinin bastırılması. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1994.
36. **Marunouchi, C K.** Instruction manual for polarized Zeeman atomic absorption spectrometry. Part No: 1983; 180, Tokyo.
37. **Marunouchi C K.,** Atomic absorption and emission spectroscopy. Prichard F.E Acol, London, 1978
38. **Ebdon L.** An introduction to atomic absorption spectroscopy. Heyden London, 1982; 94 p.
39. **Smith S B, Hieftje G M.** A new background- correction method for atomic spectrometry. Appl. Spectrosc, 1983; (37): 419-424.
40. **Skoog D A, West, D M, Holler F J.** Principles of instrumental analysis. Third ed., Saunders College, Philadelphia, 1998; p.272-273.
41. **Skoog D A, West D M, Holler F J, Crouch S. N.** Bölüm 8, Analitik Kimya Temel İlkeleri, 8. Baskı, Ankara: Bilim Yayıncılık; 2008: Sayfa No 175-224.
42. **Chakraborti C L.** Progress in Analytical Atomic Spectroscopy. 1,1 1973.
43. **Schlammer G, Welz B.** Palladium and magnesium nitrates, a more universal modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry. Spectrochim Acta, 1986; 41 B (11): 1157-1165,
44. **Zsolt A, Norbert S, Suska K, Gyo K, Bencs L.** Direct sample introduction of wines in graphite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous determination of arsenic, cadmium, copper and lead content. Talanta, 2008; (76): 627-634.
45. **Arslan Z, Tyson J F.** Slurry sampling for determination of lead in marine plankton by electrothermal atomic absorption spectrometry. Microchemical Journal, 2007; (86):227-234.
46. **Vilar Farinas M, García J B, Martín G, Crecente R P, Latorre C H.** Direct determination of cadmium in Orujo spirit samples by electrothermal atomic absorption spectrometry: Comparative study of different chemical modifiers. Analytica Chimica Acta, 2007; (591): 231-238.

- 47. Acar O, Ilim M, Kiliç Z, Türker A R.** Cadmium, lead, copper and manganese determination in human deciduous teeth by electrothermal atomic absorption spectrometry using a lanthanum, palladium and citric acid mixture as chemical modifier. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 15 October 2008; (Vol. 88): No. 12 , 869–878.
- 48. Silveira J N, Lara P.C, Dias M B.** A Simple and Fast Method for Manganese Determination in Antihypertensive Drugs by Slurry Sampling Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *Analytical Letters*, 2007; (40): 1736–1749.
- 49. Karadjova I, Cvetković J, Trajčec S, Arpadjan S.** On the determination of lead in wine by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Versita Cejc*, 2007; 5(3): 73–74.

ÖZGEÇMİŞ

Ramazan DUMAN, 1977 yılında Mersin’de dünyaya geldi. Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 2002 yılında mezun oldu. 2005 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Eczacılık Bilimleri (Genel Kimya) Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı. Halen Antalya Kriminal Polis Laboratuvarı Kimyasal Şube Müdürlüğünde Asistan Kimyager olarak çalışmaktadır.