

3725

T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALKALOİTLERİN ATOMİK
ABSORBSİYON SPEKTRFOTOMETRESİ
İLE DOLAYLI MİKTAR TAYİNLERİ

Analitik Kimya Programı
DOKTORA TEZİ

Uzm. Ecz. SEDEF KIR

Rehber Öğretim Üyesi: Doç. Dr. AYTEKİN TEMİZER

ANKARA-1987

T.C.
Sağlık Öğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	2
II.1. Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi (AAS)	2
II.1.1. Absorbsiyonun Temel İlkeleri	2
II.1.2. Atomik Çizgilerin Şiddeti	3
II.1.2.1. Atomik Absorbsiyon Katsayısı	3
II.1.2.2. Uyarılmış Atomların Sayısı	6
II.1.2.3. Uyarılmış Atomların Sayısına Sı- caklık Etkisi	7
II.1.3. Atomik Çizgilerin Genişliği	8
II.1.3.1. Doğal Genişleme	9
II.1.3.2. Doppler Genişlemesi	10
II.1.3.3. Lorentz Genişlemesi	11
II.1.3.4. Holtsmark Genişlemesi	12
II.1.3.5. Söndürme Genişlemesi	12
II.1.3.6. Alan Genişlemesi	12
II.1.3.7. Self Absorbsiyon ve Tersine Çe- virme Genişlemeleri	13
II.1.4. Atomik Absorbsiyon Spektrofotometreleri.	15
II.1.4.1. Işık Kaynakları	18
II.1.4.1.1. Dyuk Katot Lambaları .	18
a) Yüksek Şiddetli Dyuk Katot Lambaları	20

b) Çok Elementli Dyuk	
Katot Lambaları	20
c) Kolayca Takılıp Çıka-	
rılan Dyuk K. Lambala.	21
II.1.4.1.2. Elēktrōtsuz Boşalım	
Lambaları	21
II.1.4.1.3. Sıcaklık Gradient Kont-	
rollü Lambalar	23
II.1.4.1.4. Buhar Boşalım Lambaları.	25
II.1.4.2. Atomlaştırma Yöntemleri	25
II.1.4.2.1. Alevli Atomlaştırıcılar	
ile	25
II.1.4.2.1.1. Alev Tipleri	25
II.1.4.2.1.2. Yakıcılar .	28
a) Laminar Yakıcılar.	28
b) Turbulan Yakıcılar.	30
II.1.4.2.2. Alevsiz Atomlaştırıcılar	
ile	31
II.1.4.2.3. Hidrür Tekniği	35
II.1.4.2.4. Soğuk Buhar Tekniği ..	36
II.1.4.2.5. Plazma Tekniği	36
II.1.4.2.6. Ark Tekniği	37
II.1.4.3. Monokromatörler	37
II.1.4.4. Alıcılar	38
II.1.5. Ölçüm Yöntemleri	40
II.1.5.1. Standart Eğri Yöntemi	40

II.1.5.2. Faktör Yöntemi	42
II.1.5.3. Standart Aralık (Bracketing) Yöntemi	42
II.1.5.4. Standart Eklème Yöntemi	43
II.1.5.5. Analit Seyreltme Yöntemi	44
II.1.5.6. İç Standart Yöntemi	44
II.1.5.7. Absorbsiyon İnhibisyon Titrasyon Yöntemi	45
II.1.6. Girişim Çeşitleri ve Kontrolleri	46
II.1.6.1. Fiziksel Girişimler	46
II.1.6.2. Kimyasal Girişimler	48
II.1.6.3. İyonlaşma Girişimleri	49
II.1.6.4. Spektral Girişimler	49
II.1.6.5. Zemin Girişimleri	50
II.1.7. Organik Reaktiflerin Kullanımı	57
II.1.8. Yöntemlerin Uygulanması	59
II.1.8.1. Doğrudan Yöntemler	59
II.1.8.2. Dolaylı Tepkimelere Bağlı Yöntemler	59
II.1.8.3. Absorbsiyonun Baskılanma veya Art- tırılmasına Bağlı Yöntemler	61
II.1.8.4. Metal Buharlaşmasına Bağlı Yönteml.	61
II.1.9. Duyarlık ve Gözlenebilme Sınırı	62
II.2. Alkaloitler	64
II.2.1. Atropin	64
II.2.2. Pilocarpin	65

II.3. Organik Maddelerin AAS ile Analizleri	66
III. DENEYSEL KISIM	73
III.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	73
III.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	74
III.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	76
III.4. Deneyin Yapılışı	78
IV. BULGULAR	80
V. TARTIŞMA VE SONUÇ	94
ÖZET - Türkçe	105
ÖZET - İngilizce	106
KAYNAKLAR	107
EKLER	116

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: Atomik Absorbsiyon Spektrometresinin Şeması .	3
Şekil 2: Absorbsiyon Hattı Profili ve Yarı Genişliği .	9
Şekil 3: Doppler ve Lorentz Genişlemeleri	10
Şekil 4: Self-Absorbsiyona Bağlı Olarak Çizgi Profili- nin Değişimi.....	14
Şekil 5: (A) Tek Işın Yollu, (B) Çift Işın Yollu Ato- mik Absorbsiyon Spektrofotometreleri.....	16
Şekil 6: İki Lambalı Atomik Absorbsiyon Spektrofoto- metresi.....	17
Şekil 7: Oyuk Katot Lambası.....	18
Şekil 8: Oyuk Katot Lamba Akımının Fonksiyonu Olarak Bakır Spektral Hatlarının Şiddeti.....	19
Şekil 9: Elektrotsuz Boşalım Lambaları.....	22
Şekil 10: Sıcaklık Gradient Kontrollu Lambaların Şema- tik Gösterimi.....	24
Şekil 11: Çeşitli Alev Tiplerinin Absorbsiyon Değerle- rinde Dalga Boyuna Bağlı Değişimler.....	26
Şekil 12: Cam Boncuk Sisleştircisi Taşıyan Laminar Yakıcı Sistem.....	29

Şekil 13: Akış Bozucu Tipi Sisleştirici Taşıyan Laminar Yakıcı Sistemi.....	29
Şekil 14: Turbulan Yakıcılar.....	31
Şekil 15: Grafit Atomlaştırıcısının Ara Kesiti.....	33
Şekil 16: Massman Grafit Atomlaştırıcısı.....	34
Şekil 17: Plazmanın Oluşturulduğu Kuvars Tüp.....	36
Şekil 18: Rezonans Alıcısı.....	38
Şekil 19: Işığın (A) Mekaniksel, (B) Elektriksel Olarak Ölçüm Değişimleri.....	39
Şekil 20: Standart Eğri Yöntemi.....	41
Şekil 21: Standart Ekleme Yöntemi.....	43
Şekil 22: a) 2.0, b) 4.0, c) 6.0 g/ml Sülfat İle 50g/ml Magnezyum Çözeltisinin Titrasyon Eğrileri....	45
Şekil 23: Otomatik Geri Zemin Düzeltiminin Şematik Gösterimi	51
Şekil 24: Magnezyum İçin Normal Zeeman Etkisi	53
Şekil 25: Paralel ve Dik Polarize Işık Demetleri ile Absorbsiyon Çizgileri Arasındaki İlişki	55
Şekil 26: Alevli Zeeman AAS' de Çift Değerli Kalibrasyon Eğrileri	56
Şekil 27: Gürültü Sinyali ve Gerçek Sinyalin Ölçülmesi .	63
Şekil 28: Atropinin Kimyasal Yapısı	64
Şekil 29: Pilocarpinin Kimyasal Yapısı	65

Şekil 30: Alkaloitlerin $Ni(SCN)_4^{-2}$ Kompleksi ile İyon Çifti Oluşturdukları Çalışmalarda pH Etkisi .	83
Şekil 31: Alkaloitlerin $Co(SCN)_4^{-2}$ Kompleksi ile İyon Çifti Oluşturdukları Çalışmalarda pH Etkisi .	83
Şekil 32: Alkaloitlerin $Ni(SCN)_4^{-2}$ Kompleksi ile İyon Çifti Verdikleri Çalışmalarda $Ni(SCN)_4^{-2}$ Değişiminin Etkisi	84
Şekil 33: Alkaloitlerin $Co(SCN)_4^{-2}$ Kompleksi ile İyon Çifti Verdikleri Çalışmalarda $Co(SCN)_4^{-2}$ Değişiminin Etkisi	84
Şekil 34: Alkaloitlerin $Ni(SCN)_4^{-2}$ Kompleksi ile İyon Çifti Oluşturdukları Çalışmalarda Çalkalama Süresinin Etkisi	85
Şekil 35: Alkaloitlerin $Co(SCN)_4^{-2}$ Kompleksi ile İyon Çifti Oluşturdukları Çalışmalarda Çalkalama Süresinin Etkisi	85
Şekil 36: Alkaloitlerin $Ni(SCN)_4^{-2}$ Kompleksi ile Oluşturdukları İyon Çiftlerinin Dayanıklılık Test Sonuçları	86
Şekil 37: Alkaloitlerin $Co(SCN)_4^{-2}$ Kompleksi ile Oluşturdukları İyon Çiftlerinin Dayanıklılık Test Sonuçları	86

- Şekil 38: Atropin Sülfat İçin Oluşturulan Standart Eğri
($\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleks Yapıcı Olarak Kullanıldığında) 88
- Şekil 39: Pilokarpin Hidroklorür İçin Oluşturulan Standart Eğri ($\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleks Yapıcı Olarak Kullanıldığında) 88
- Şekil 40: Atropin Sülfat İçin Standart Eğri ($\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleks Yapıcı Olarak Kullanıldığında)..... 89
- Şekil 41: Pilokarpin Hidroklorür İçin Standart Eğri
($\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleks Yapıcı Olarak Kullanıldı). 89
- Şekil 42 : Saf Atropin Sülfat ve $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleksi
ile Oluşturduğu İyon Çiftinin IR Spektrumları. 96
- Şekil 43: Saf Pilokarpin Hidroklorür ve $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleksi ile Oluşturduğu İyon Çiftinin IR Spektrumları 97

TABLOLARIN LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Çalışılan Alkaloitleri İçeren Müstahzarlar .	74
Tablo 2: Perkin-Elmer 2380 Alevli AAS'de Kullanılan Parametreler	79
Tablo 3: Çalışmalarımızda Sağlanan En İyi Deney Koşul- ları	87
Tablo 4: Atrosol ^(R) Göz Damlası İçin $Ni(SCN)_4^{-2}$ Komp- leksinin Kullanılması ile Elde Edilen Analiz Bulguları	90
Tablo 5: Atropin Sülfat Enjeksiyonluk ^(R) Çözeltisi İçin $Ni(SCN)_4^{-2}$ Kompleksinin Kullanılması ile Elde Edilen Analiz Bulguları	90
Tablo 6: Lomotil ^(R) Tablet İçin $Ni(SCN)_4^{-2}$ Kompleksinin Kullanılması ile Elde Edilen Analiz Bulguları .	91
Tablo 7: Pilokarsol ^(R) Göz Damlası İçin $Ni(SCN)_4^{-2}$ Komp- leksinin Kullanılması ile Elde Edilen Analiz Bulguları	91
Tablo 8: $Ni(SCN)_4^{-2}$ ve $Co(SCN)_4^{-2}$ Kompleks Yapıcıları ile Yapılan Çalışmalarda Atropin Sülfat ve Pilokarpin Hidroklorür İçin Oluşturulan Stan- dard Eğrilerin Korelasyon, Regresyon Katsayı- ları ile Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü İçin Yapılan Hesaplamaların Sonuçları	92

Tablo 9: Göz Damlalarındaki Atropin Sülfat ve Pilo- karpin Hidroklorür Miktarlarının Üç Ayrı Yöntemle Elde Edilen Sonuçlarının Karşılaştı- rılması	93
Tablo 10: Regresyon Varyans Analiz Tablosu	117



I. GİRİŞ

Günümüzde atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS) elemental analizin bütün bölümlerinde rutin olarak kullanılmaktadır. AAS yönteminin organik maddelerin tayini için önerilmesi de her geçen gün artmaktadır (1). Analitik kimyada iyon çifti oluşumunun kullanılması ile, tüketme ve spektrofotometre gibi farklı analitik teknikler birleştirilebilmiştir. Bu birleşmenin sağlanması sonucu organik maddelerin AAS ile tayininde yeni bir aşama kaydedilmiştir (2).

Çalışmamızda farmakolojik ve fizyolojik aktivitelerinden dolayı eczacılıkta kullanımı geniş bir yer tutan alkaloidlerden atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür seçilerek, bu alkaloidlerin miktar tayinleri için AAS ile dolaylı bir yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Geliştirilen yöntemin Türkiye'de bulunan atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür içeren müstahzarlara uygulanmıştır.

Bu yöntemle elde edilecek sonuçların, Türk ve yabancı farmakopelerde kayıtlı bulunan yöntemler ile karşılaştırılması yapılarak, önerilebilecek bir yöntem olup olmadığı tartışılmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi (AAS):

Atomik spektroskopi, yüksek sıcaklıkta numunelerin buharlaşması ile karakteristik dalga boylarında absorpsiyon veya emisyon ölçümleri ile seçilen atom derişimlerinin yüksek duyarlılıkla belirlenmesidir.

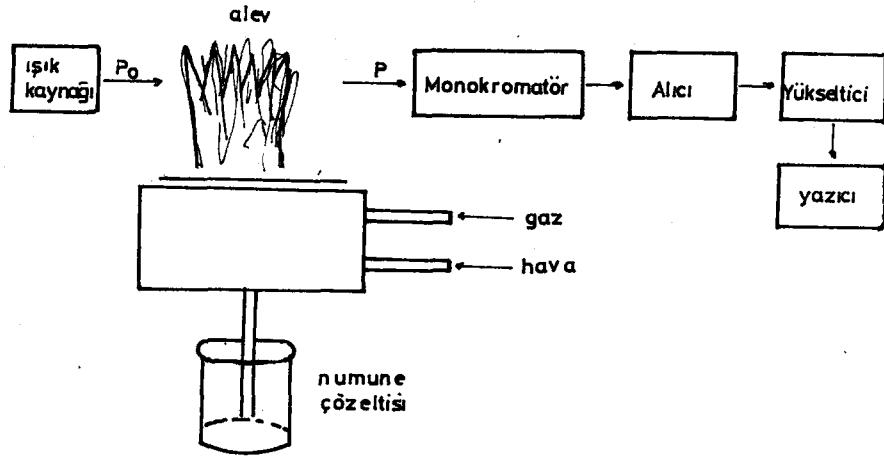
Atomik spektroskopi, analitik kimyanın özellikle endüstriyel alanda temel araçlarının başında gelmektedir. ppm (mg/l) düzeyindeki analit derişimleri rutin olarak, ppb (mg/ml) düzeyindekiler ise ön işlemlerden geçirildikten sonra analiz edilebilirler (3-4).

II.1.1. Absorbsiyonun Temel İlkeleri (5):

Moleküler spektroskopide hücrede yer alan numune tarafından ışığın absorpsiyonu veya hücreye dik konumdaki luminesansı ölçülür. Bu olayların her biri atomik buharda da oluşabilir. Ayrıca buharın yüksek sıcaklığında pek çok atom, sıcaklığın etkisi ile hareketlenir ve yüksek elektronik düzeylerden birine uyarılır. Bunu takiben, çok kısa bir süre içerisinde kendiliğinden ışık vererek düşük elektronik düzeye dönerler. Atomik spektroskopide bu üç olay sırasıyla; absorpsiyon, fluoresans ve emisyondür.

Absorbsiyon ve emisyon esaslarına dayanan atomik

absorbsiyon (AA) cihazının şeması Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1: Atomik Absorbsiyon Spektrometresinin Şeması.

Sıvı numune, 2000-3000 °K sıcaklığındaki alevde emdirilir ve alevde atomlarına ayrışır. Alevin yol uzunluğu genel olarak 10 cm'dir. Örneğin alevde demir atomlarının ışık absorpsiyonu ölçülecek ise; ışık kaynağında katot olarak demir kullanılır. Böylelikle demir katodu içeren lambadan, demir atomlarının karakteristik dalga boyundaki ışınları yayımlanmaktadır.

II.1.2. Atomik Çizgilerin Şiddeti: (5-7)

II.1.2.1. Atomik Absorbsiyon Katsayısı:

Birim zamanda absorblanan toplam enerji ve atom-hücre hacmi; uyarılmış düzeyin birim hacimde bulunan serbest atomlarının sayısı (N), absorblanan ışının enerjisi (E)

ve elektronik geçişlerin olabirliği ile orantılıdır (Eşitlik 1).

$$E = B_{ij} N \cdot I_{\nu} \cdot h \cdot \nu \quad (1)$$

B_{ij} olabirlik faktörü veya temel düzeyden (i), uyarılmış düzeye (j) absorpsiyonunun Einstein olabirlik katsayısıdır. I_{ν} , frekansın (ν) spektral radyasyonunun şiddeti ve h ise Planck sabitidir. Atomlar, salınan elektrik dipolu olarak düşünülebilir. Toplam enerji, elektrodinamik kanunlar tarafından çıkarılır ve harmonik osilatör gibi her birim zamanda absorblanır. Böylece 2. eşitlik oluşur.

$$E = f \cdot \frac{\pi \cdot e^2}{m} \cdot I_{\nu} \quad (2)$$

e , elektronun yükü, m , elektronun kütlesi, f ise absorpsiyon osilatör kuvvetidirki; var olan ışınma tarafından uyarılabilen elektronların sayısını verir. Bu yolla belirlemenin kullanılışı ışınmanın kuantum teorisine girişinden sonra kaybolmuş ve 1. ile 2. eşitliklerin birlikte uygulanması geliştirilmiştir. İkinci eşitlik bir atom için düşünülürse üçüncü eşitlik oluşur.

$$f = \frac{m \cdot h \cdot \nu}{\pi \cdot e^2} B_{ij} \quad (3)$$

Temel düzeydeki atomların absorbe ettiği ışınların sayısı, serbest atomların toplam sayısı ve atomların ışın yakalayıcı tesirleri (absorpsiyon katsayısı (X)) ile orantılıdır (Eşitlik 4).

$$E = X \cdot N \cdot I_{\nu} \cdot c \quad (4)$$

c , ışık hızıdır. Böylece, $I_{\nu} \cdot c$, birim zamanda birim hacimden geçen ışın enerji miktarını verir. 1. ve 4. eşitliklerin birleştirilmesi ile 5. eşitlik oluşturulur.

$$X = \frac{h \cdot \nu}{c} B_{ij} \quad (5)$$

Absorbsiyon katsayısı (X), atom tarafından absorblanabilen ışın şiddeti ile ölçülür. Pratikte daha rahat kullanım için, absorbsiyon katsayısı (K) olarak birim hacimde ifade edilir (Eşitlik 6).

$$K = X \cdot N \quad (6)$$

N , her birim hacimde enerji absorblayan atomların sayısıdır. Absorbsiyon katsayısı ayrıca dimensiyon uzunluğunu da içermektedir (Eşitlik 7).

$$K = \frac{\pi \cdot e^2}{m \cdot c} f \cdot N = 2.653 \times 10^{-2} f N \quad (7)$$

Spektral çizginin şiddeti genellikle osilatör kuvvetinden çıkarılır. Atomik derişim osilatör kuvveti bilindiği zaman, absorbsiyon katsayısından (K) hesaplanabilir. Pek çok metal için f değerleri teorik ve deneysel olarak verilmektedir. 5. eşitliğin geliştirilmesi için, uyarılmış ve temel haldeki atomlar arasındaki ilişki ihmal edilmelidir. Bu absorbsiyon için uygun olmayan atom sayılarının ihmal demektir. Bundan başka, kendiliğinden emisyon oluşması, absorbsiyon katsayısında azalma meydana getirir. Buna bağlı olarak absorbsiyon katsayısı eşitlik 8'deki hale gelir.

$$X = \frac{h \cdot \nu}{c} \left(1 - \frac{N_i \cdot g_i}{N_j \cdot g_j}\right) B_{ij} \quad (8)$$

N_i ve N_j , uyarılmış ve temel düzeyde bulunan birim hacimdeki atomların sayısını, g_i ve g_j , uyarılmış ve temel düzeylerin istatistiksel ağırlıklarını göstermektedir. N_i/N_j oranının küçük olduğu durumlarda 8. eşitlik 5. eşitliğe yaklaşır. İstatistiksel ağırlık (g), tayinlerin yapıldığı atomik durumlardaki atomik düzeylerin sayısıdır.

II.1.2.2. Uyarılmış Atomların Sayısı:

Mutlak sıcaklıkta (T), absorblanan serbest atomların (N) çizgi şiddetlerini, ısısal eşitlikte ve self absorbsiyon olmadan anlatan formül, eşitlik 9'da çıkarılmıştır.

$$I_v = B_{ij} \cdot N \cdot h \cdot \nu \cdot \frac{g_i}{F(T)} \left[\exp(-E_i/kT) \right] \quad (9)$$

$F(T)$, partiyon kısmısal fonksiyonunu, k , Boltzman sabitini gösterir. N , serbest elementin kısmi basıncından çıkarılır. ($P_m = N \cdot k \cdot T$ den)

$$I_v = B_{ij} \cdot P_m \cdot \frac{h \cdot \nu}{kT} \cdot \frac{g_i}{F(T)} \left[\exp(-E_i/kT) \right] \quad (10)$$

10. eşitlik, absorbsiyon çizgisinin şiddetinin P_m 'yi etkileyen her faktör ile değişebileceğini gösterir. Self absorbsiyon fazla miktarda ise, I_v ve P_m arasındaki oran daha karışık hale gelir. Ayrılmış emisyon çizgilerinin sinyali (I_m)'nin radyant akımı, eşitlik 11 ile verilmektedir.

$$I_m = \frac{N_m \cdot A \cdot L \cdot h \cdot \nu \cdot B_{ij} \cdot g_i \cdot \exp(-E_i/kT)}{4\pi \Omega F(T)} \quad (11)$$

N_m , alevin birim hacmindeki atomların belirlenebilen minimum sayısı, L , optik yol boyunca alevin eni, Ω , emisyonun kat açısı, h , plank sabiti (6.62×10^{-34} J.san.), ν_0 , çizgi merkezinin frekansı (san^{-1}), B_{ij} , geçiş olabirliği (san.), $F(T)$, partiyon fonksiyonu, k , Boltzman sabiti (8.62×10^{-5} eV/derece), E_i , uyarılmış seviyenin enerjisi ve g_i , uyarılmış seviyenin istatistiksel ağırlığıdır.

II.1.2.3. Uyarılmış Atomların Sayısına Sıcaklık Etkisi:

n_i ve n_j partiküllerinin sayısı ile E_i ve E_j enerjileri arasındaki ilişki, mutlak sıcaklıkta ısısal eşitlik olarak Boltzman dağılımı ile verilmektedir (Eşitlik 12).

$$\frac{n_i}{n_j} = \exp \left[- (E_i - E_j) / kT \right] \quad (12)$$

Eşitlik, aynı enerjinin değişmemiş alt düzeylerine sahip olan iç kuantum sayısı $J(2J+1)$ ile elektronun atomik uyarılmasına uygulanabilir. Verilen enerji düzeylerinin alt düzeyleri genellikle eşittir ($E_i = E_j$ ve $n_i = n_j$ gibi). E_i düzeyi için g_i alt düzeyi bulunursa, partiküllerin toplam sayısı (N_i) ile enerjisi (E_i) bu nedenle $g_i \cdot n_i$ olur. E_i ve E_j düzeyleri için N_i/N_j oranı da eşitlik 13' deki şeklini alır.

$$N_i/N_j = \frac{g_i \cdot n_i}{g_j \cdot n_j} = \frac{g_i}{g_j} \exp \left[- (E_i - E_j) / kT \right] \quad (13)$$

Bu eşitlikten, sıcaklığın artması ile, ısı ile uyarılan

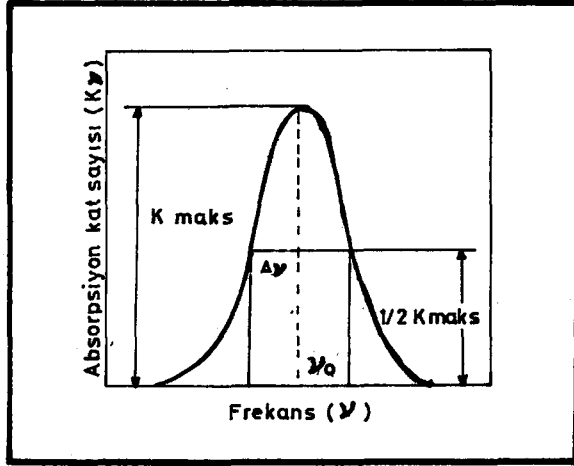
atom kesrinin artacağı ve atomların toplam sayıları ile karşılaştırıldıklarında ihmal edilebilecekleri görülmektedir.

Atomik absorbsiyon ölçümlerinde, teorik olarak sıcaklığa bağımlılık azdır. Çünkü uyarılmamış atomların sayısı esastır. Sıcaklık değişimleri absorbsiyona dolaylı tesir eder. Örneğin sıcaklık artınca, iyonizasyon artar ve bu durum absorbsiyon çizgilerinin genişlemesine ve yüksekliklerinin azalmasına yol açar. Bu nedenle, nicel ölçümler için atomizasyon sıcaklığının kontrolü gerekmektedir.

Atomik absorbsiyonda çalışma sıcaklıklarında, Boltzman dağılımına göre temel düzeydeki atomların sayısı, uyarılmış düzeye göre çok fazladır. Bu nedenle temel düzeyden olan geçişlerdeki absorbsiyonlar en şiddetli olup, bunlara rezonans çizgileri denmektedir.

II.1.3. Atomik Çizgilerin Genişliği (6-8):

Absorbsiyon çizgileri monokromatik olmayıp, belirli bir genişlikleri vardır. Bir absorbsiyon çizgisinin yarı genişliği, absorbsiyon katsayısının yarısına karşılık gelen genişlik olarak tanımlanır (Şekil 2).



Şekil 2: Absorpsiyon Hattı Profili ve Yarı Genişliği.

Rezonans çizgilerinin yarı şiddetindeki genişliği, artan basınç ve artan sıcaklık ile artmaktadır (7).

II.1.3.1. Doğal Genişleme:

Uyarılmış düzeydeki atomun ömrü, ışınlama ömrü (\mathcal{T}) tarafından belirlenir. Ve uygun geçişler ile ters olarak rezonans düzeyleri değişir. Geçiş olabirliğinin (B_{ij}) büyüklüğü, ışınlama süresini kısaltır (Eşitlik 14).

$$\mathcal{T} = 1/B_{ij} \quad (14)$$

Heisenberg tarafından rezonans çizgilerinin genişliği eşitlik 15 ile çıkarılmıştır.

$$\Delta \nu_N = B_{ij}/2\pi \quad (15)$$

Geçiş olabirliği 10^8 san^{-1} olarak düzenlenirse, \mathcal{T} değeri 10^{-8} san olur. Bu durumda, absorpsiyon çizgisinin genişliği 10^{-5} nm ' dir. Bu genişlik, çeşitli etkilerle oluşan

çizgi genişlemeleri ile karşılaştırıldığında, bu sınır $5 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3}$ nm olmaktadır..

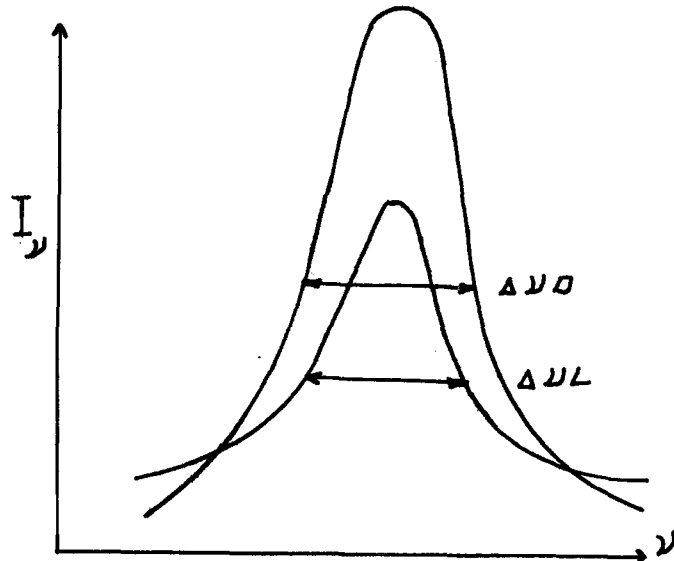
II.1.3.2. Doppler Genişlemesi:

Doppler genişlemesi, absorpsiyon yapan atomların termal hareketleri ile ilgilidir. Atom, ν_0 frekansında ışın verdiği veya absorbladığı zaman, merkezden dışarıya μ hızı ile hareket eder. ν frekansı ölçüldüğünde, ν_0 ' dan fazla uzaklaşmamış, fakat ν_0 ve μ arasındaki ilişkiye bağlı olarak $\nu - \nu_0$ miktarında kaymıştır (Eşitlik 16).

$$(\nu - \nu_0) / \nu_0 = \mu / c \quad (16)$$

c : ışık hızıdır. Aynı zamanda değişik hızlarda hareket eden pek çok atom Şekil 3'deki Gauss dağılımı ile verilen frekansların sürekli sınırı olan ν_0 'da toplanır ve yarı pik yüksekliğindeki genişlik ($\Delta \nu_0$) eşitlik 17 ile bulunur.

$$\Delta \nu_0 = \frac{2 \nu_0}{c} \frac{\sqrt{(2 \ln 2) RT}}{M} = 7.15 \nu_0 \sqrt{I/M} \quad (17)$$



Şekil 3: Doppler ve Lorentz Genişlemeleri:

D: Doppler genişlemesi L: Lorentz genişlemesi

17. eşitlikte; T, mutlak sıcaklık, M, atom ağırlığı, R, gaz sabiti, c, ışık hızı ve $\nu_0 \text{ cm}^{-1}$ dir. Doppler çizgi genişlemesi, düşük atom ağırlığındaki elementler için daha fazladır ve artan sıcaklık ile büyümektedir. Genel alev hücrelerinde, dalga boyu genişlemesi $5 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-3}$ nm sınırlarındadır.

II.1.3.3. Lorentz Genişlemesi:

Absorblanan veya çıkan atomlar ile diğer özellikteki atomların çarpışmaları Lorentz genişlemesine (veya basınç genişlemesine) neden olur. Temel ve uyarılmış durumdaki atomların enerji düzeyleri, etraflarındaki partiküller ile etkileşmeleri sonucu değişmektedir. Bu etkileşme, absorblanan veya yayılan ışınların frekanslarında değişimlere neden olur ve sonuçta spektral çizgiler genişler (Eşitlik 18).

$$\Delta \nu_L = \sigma_L^2 N \sqrt{2RT (M_1 + M_2)/M_1.M_2.\pi} \quad (18)$$

σ_L^2 : Lorentz genişlemesi için çarpışma ara kesiti, N, birim hacimdeki yabancı gaz atom veya moleküllerinin sayısı, M, yabancı atom veya moleküllerin ağırlığı, R, gaz sabiti, T, mutlak sıcaklıktır. Çarpışma ara kesiti, deneysel olarak çarpışmaların uzunluğunun karesi alınarak belirlenmektedir. Lorentz yarı genişliği, Doppler yarı genişliği ile aynı yolla bulunur. Klasik Lorentzian dağılımı simetrik çizgi profili verir, fakat pratikte asimetric profil vermektedir.

II.1.3.4. Holtsmark Genişlemesi:

Uyarılmış durumda aynı element atomlarının çarpışması ile oluşur ve genellikle rezonans genişlemesi de denir. Lorentz genişlemesinin gösterdiğine benzer şiddet dağılımlı verir, fakat asimetrik çizgi veya kayma yoktur. Bu etki derişime bağlıdır. Ancak 10^{-5} nm' lik yarı genişlik, 1 M derişimde analit çözeltisi kullanıldığında ele geçirilir ve böylece bu etki ihmal edilebilir.

II.1.3.5. Söndürme Genişlemesi:

Yabancı gaz molekülleri, analitin atomik özelliğini gösteren rezonans çizgilerinin uyarılmış durumlarını titreşim düzeyleri ile kapamışlardır. Çarpışmalar, titreşim uyarılma enerjilerinde transferler oluşturur ve bunun sonucu olarakta çizgi genişler. Bu etki, Lorentz ve Doppler genişlemeleri ile karşılaştırıldığında, genellikle çok küçüktür.

II.1.3.6. Alan Genişlemesi:

Elektriksel alan (Stark etkisi) veya manyetik alan (Zeeman etkisi) etkileri sonucu alan genişlemeleri oluşur. Stark genişlemesi, atomun elektronik düzeylerinin hareketli iyon veya moleküllerin varlığında veya kuvvetli, düzgün olmayan elektrik alanında yarılmasıdır. Zeeman genişlemesi de, kuvvetli bir manyetik alan etkisinde gözlenen benzer bir ayrılımadır.

Lorentz ve Holtsmark genişlemeleri, sık sık "basınç" veya "çarpışma" veya "vuruşma" genişlemeleri olarak ta verilmektedir.

Analit derişimlerinin arttırılmasında, alev ile yapılan çalışmalarda Holtsmark genişlemesi, Lorentz genişlemesi ile karşılaştırıldığında çok azdır veya yoktur.

Alan genişlemesi, sadece absorbsiyonun olduğu ortama kuvvetli bir alan uygulandığı zaman veya plazmada olduğu gibi ortam kuvvetli iyonize olduğunda açığa çıkar. Böylece Doppler ve Lorentz genişlemelerinin, toplam çizgi genişliğine etki eden esas faktörler olduğu anlaşılmaktadır. Atomik absorbsiyon spektroskopisinde, ışın kaynağından çok küçük yarı genişlik ile çıkan çizgiler kullanılmaktadır. Bu emisyon çizgileri, analitin atomik buharındaki absorbsiyon çizgileri ile karşılaştırıldığında çok küçük oldukları görülür. Böylece Doppler genişlemesi tarafından belirlenen absorbsiyon çizgisinin keskinliği ortaya çıkar. Ölçülen çizginin absorbsiyon katsayısı (K) ile buhar fazındaki atomların darişimi arasındaki ilişki eşitlik 19'daki bağıntı ile verilir.

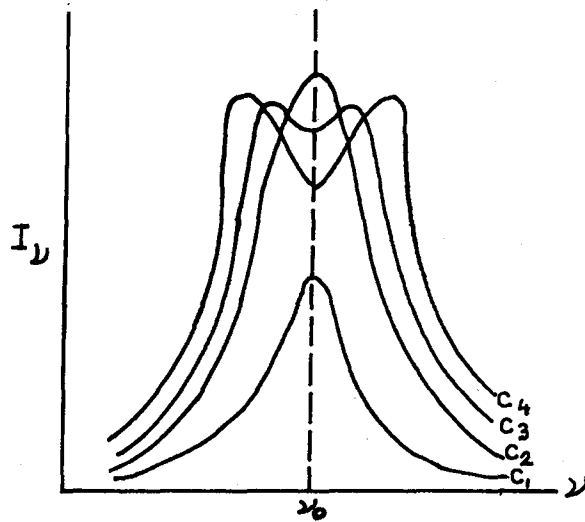
$$K = \frac{2\sqrt{\ln 2} \cdot e^2 \cdot N \cdot F \cdot \sqrt{\pi}}{m \cdot c \cdot \Delta \nu_D} \quad (19)$$

II.1.3.7. Self Absorbsiyon ve Tersine Çevirme Genişlemeleri:

Alevin içindeki sıcak kısımda atomik emisyon ta-

rafından ışınlar oluşur. Veya kaynağın dışındaki soğuk kı-
sımda bulunan aynı metalin uyarılmış durumdaki atomları
tarafından oyuk katot lambası absorpsiyon yapabilir. So-
nuçta, son kalan atomlar uyarılmış hale gelir ve iç değiş-
me veya ışımaz çarpışma geçişleri veya ışımazın emisyonu
tarafından enerji kaybı olur. Çünkü atomlar içteki sıcak
hatta çok hızlı hareket ederler. Emisyon çizgisinin Doppler
genişlemesi, absorpsiyon çizgisininkinden büyüktür. Böyle-
ce kaynak çizgisinin merkezinde, kenarlardan daha kuvvetli
absorpsiyon olur. İşte bu etki bir self absorpsiyondur. Bu
etki, alevde analitin derişiminin artması veya alev kalın-
lığının ve oyuk katot lambasının akımının artması ile ar-
tar.

Oluşan etki yeteri kadar büyürse kaynak çizgisi-
nin merkezi, kenarlardan daha az şiddetli hale gelir ve
çizgi dublet görünümü alır. Bu durum ise tersine çevirme-
dir (Şekil 4).



Şekil 4: Self Absorpsiyona Bağlı Olarak Çizgi
Profilinin Değişimi.

Toplam ışık şiddeti, analitte bulunan atomların sayısı ile orantılı değildir.

Atomik absorpsiyon için Lambert-Beer kanununun doğruluğu, kaynak emisyon çizgisi ve analit absorpsiyon çizgisinin genişliklerinde absorpsiyon ölçümlerinin güvenilirliğinin araştırılmasıdır. AAS' de Lambert-Beer kanunu sadece dar bir derişim aralığında uygulanmaktadır. Çünkü atomizasyon hücresinde analitin dağılımı düzgün değildir. Bu nedenle analitin yüksek derişimlerinde, kalibrasyon eğrisinin doğrusallığı bozulmaktadır. Bu etkilerden kurtulmak için ölçüm alınırken;

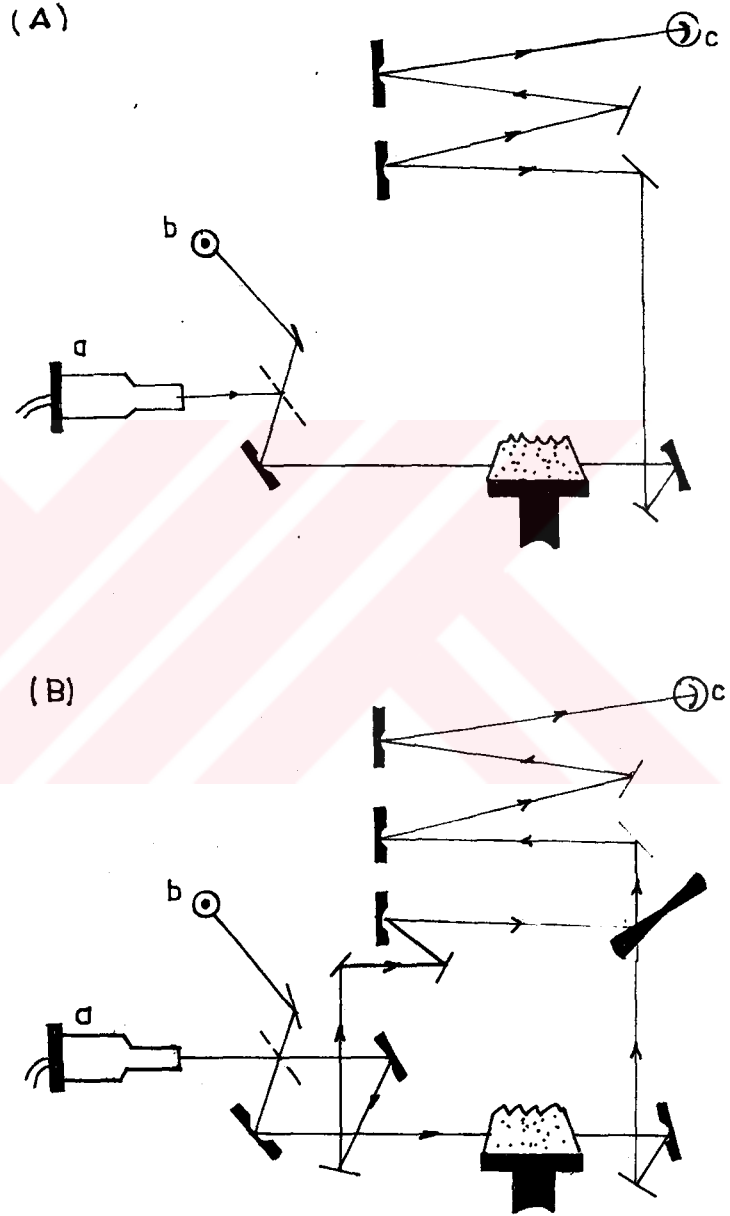
- a) rezonans olmayan çizgiler,
- b) düşük lamba akımı,
- c) analitin seyreltik çözeltisi,
- d) düzgün alev sıcaklığı kullanılmalıdır.

II.1.4. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometreleri:(2)

AAS' de yer alan ana kısımlar 4'e ayrılır:

- 1) İncelenen elementin spektral çizgilerini yayan ışık kaynağı.
- 2) Analitin ayrışması ve buharlaşarak serbest atomları vermesi için gerekli enerjiyi veren atomlaştırıcı kısım.
- 3) Çalışılan spektral çizginin ayrılması ve dağılımı için monokromatör.
- 4) Işık şiddetinin ölçüldüğü alıcı ve elektronik devreler.

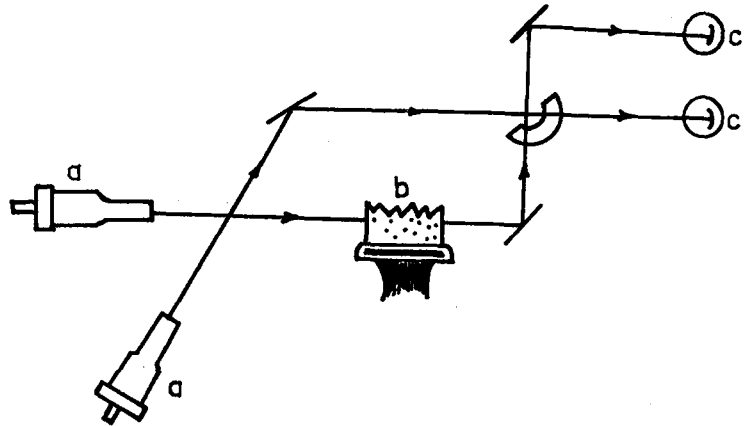
Tek ve çift ışın yollu olmak üzere iki tip AAS vardır (Şekil 5).



Şekil 5: (A): Tek Işın Yollu, (B) Çift Işın Yollu Atomik Absorbsiyon Spektrofotometreleri.
 a) Oyuk katot lambası, b) Döteryum lamba,
 c) Fotokatlandırıcı tüp.

Tek ışın yollu sistemlerde, ışık kaynağından çıkan karakteristik dalga boyundaki ışının, atomik buhar halindeki element ile etkileşmesinden dolayı şiddetindeki azalma ölçülür. Çift ışın yollu sistemlerde ise, ışık, dönen ışık biçer ile kesikli hale getirilir ve numune hücresi boyunca geçen elementin atomik buharı ölçülerek, referans hücre şiddeti ile oranı bildirilir. Bu sistemler, tek ışın yollu sistemlerden daha doğru ve duyarlıdır. Çünkü ışık kaynağının şiddetindeki herhangi bir değişme, alıcı ve elektronik sistemler ile giderilmiştir.

Bu arada birden fazla elementin analizi için sistem kapasitesinin geliştirmesine çalışılmıştır. Bu amaçla, analitteki serbest atomların ışınlanması için iki ışık kaynağı kullanılmış ve iki monokromatör, iki dedektör ve iki elektronik kısım içerecek şekilde aletler düzenlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 6: İki Lambalı Atomik Absorbsiyon Spektrofotometres

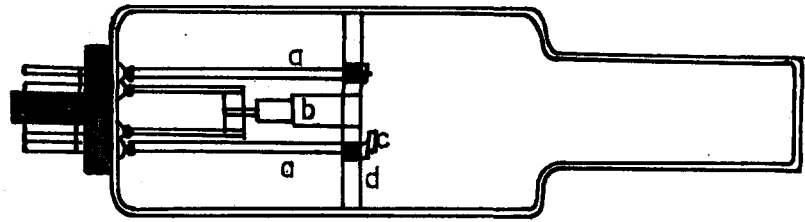
a) Oyuk Katot Lambası, b) Alev, c) Monokromatör.

II.1.4.1. Işık Kaynakları:

Elementten, absorpsiyon çizgisi genişliğinden daha dar (yarı genişliği kadar) bir aralıkta rezonans ışımalarının çıkmasını sağlayan spektral kaynaklar kullanılmaktadır. Bunlar içinde pek çok element için uygun olan ve en çok kullanılan oyuk katot lambalarıdır.

II.1.4.1.1. Oyuk Katot Lambaları: (9)

Oyuk katot lambası, düşük basınçta inert bir gazla (Ar, He, Ne gibi) doldurulmuş, bir katot ve bir anot içeren cam bir silindirdir (Şekil 7). Katot 10 mm veya daha az iç çaplı, incelenen elementin çok saf metalinden yapılmış içi boş bir silindirdir. Anodu ise, zirkonyum veya diğer metallere yapılan bir tel oluşturur.



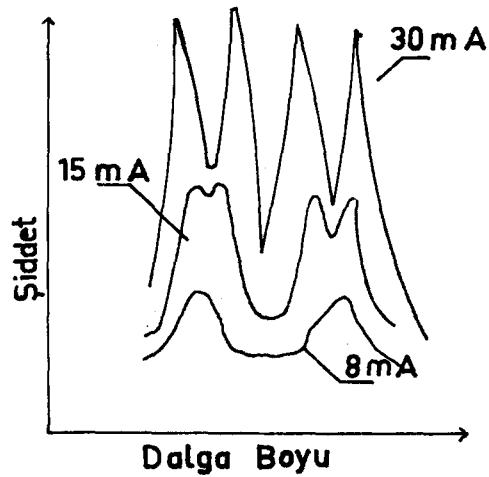
Şekil 7: Oyuk Katot Lambası. a) Yalıtıcı Destekler, b) Oyuk Katot, c) Anot, d) Ayırıcı Kısım.

İki elektrot arasına uygun gerilim uygulandığı zaman inert gaz anotta iyonlaşarak, yüksek bir hızla katoda hareket eder ve uygun enerji ile geldikleri zaman katottan uyarılmış atomları koparır. Bunlar temel hale geçerken katot elementinin karakteristik spektrumunu yayarlar.

Lamba çok yüksek akımda olursa, uyarılmış seviyede fazla sayıda atomlar oluşacaktır. Bu da, lambadan çıkan rezonans ışımının absorblanması ile oluşan rezonans çizgilerinin bozulmasına yol açacaktır.

Yüksek akımda ortaya çıkan Doppler genişlemesi ve self absorpsiyon, elementin absorblandığı kısımdaki şiddeti azaltırken, yan kısımların genişlemesine neden olur (Şekil 8), dolayısıyla hat genişlemesini önleyecek, iyi bir lamba kararlılığını verebilecek optimum bir çalışma akımı seçilmelidir.

Doldurulan gazın cinsi, lambada kullanılan metalin yapısına bağlıdır. En çok kullanılan neondur. Argon ise özellikle krom ve kurşun lambalarında kullanılmaz. Çünkü 357.9 nm ve 217.0 nm'deki kuvvetli krom ve kurşun çizgileri, 357.7 nm ve 217.1 nm'deki argon çizgileri tarafından girişime uğramaktadır. Bundan başka, argon ile doldurulmuş lambanın akımındaki yükselme, He veya Ne ile doldurulmuş lambalardan daha düşük duyarlık verecektir.



Şekil 8: Oyuk Katot Lambası Akımının Fonksiyonu Olarak Bakır Spektral Hatlarının Şiddeti.

193.76 nm'deki arsenik rezonans çizgisi neon doldurulmuş lambaların 193.89 nm ve 193.01 nm'deki neon çizgilerinden gelen spektral girişimlere bağlı olacaktır. Diğer bir deyişle, 3 mmHg basıncında neon, argondan daha büyük parlaklık sağlayacak ve Fe, Mo, Ni, Co, Cr, Cu ve Ti gibi elementler için faydalanılacaktır. 1-1.5 mmHg basıncındaki Ar ise, Al, Ca ve Mg lambaları için kullanılır. Uçucu elementler (Bi, Cd, Pb, Zn, Sn, v.b.) ile yapılan çalışmalarda, doldurulan gaz basıncında azalma ile ışımının parlaklığı artmaktadır. Genel olarak, 1 ila 30 mA, en fazla 50 mA'lık akım ile 350-500 V'luk gerilim değişimi uygulanmaktadır. Her oyuk katot lambasının en iyi düzeyde çalışabilmesi için hepsinin kendine özgü akım değeri bulunmaktadır. Oyuk katot lambalarının değişik tipleri vardır:

a) Yüksek şiddetli oyuk katot lambaları:

Bu lambalarda, standart oyuk katot lambalarına benzer şekilde katot ve elektron tutmayan bir materyal ile kaplanmış iki yardımcı elektrot bulunmaktadır. Bu tip lambalar, yüksek elektron yoğunluğunun olduğu durumlarda kullanılırlar. Böylece atomik buhar bulutu ile olan etkileşimler neticesinde self absorpsiyonda azalma ve ışık şiddetinde artma görülmektedir. Bu lambaların kullanımı ile ışık şiddeti 100 kez arttırılabilmektedir.

b) Çok elementli oyuk katot lambaları:

Bu lambalarda katot bir kaç metalden yapılmıştır.

Böylece, her element için ayrı bir lamba kullanma gereği ortadan kaldırılmaktadır. Daha uçucu metal alaşımlarından yapılan çok elementli lambalarda, çıkan spektrum giderek zayıflamakta ve tek elementli lambaya göre bozulmalar görülmektedir. Aynı erime noktası ve benzer uçuculukları olan metal alaşımlarından (Ca-Mg, Ag-Au, Cu-Fe, Zn-Cd, v.b.) yapılan katotlar daha kullanışlıdır. Çok elementli lambalar ticari olarak uygundur ve en fazla 7 elementi içeren katotlar kullanılmaktadır.

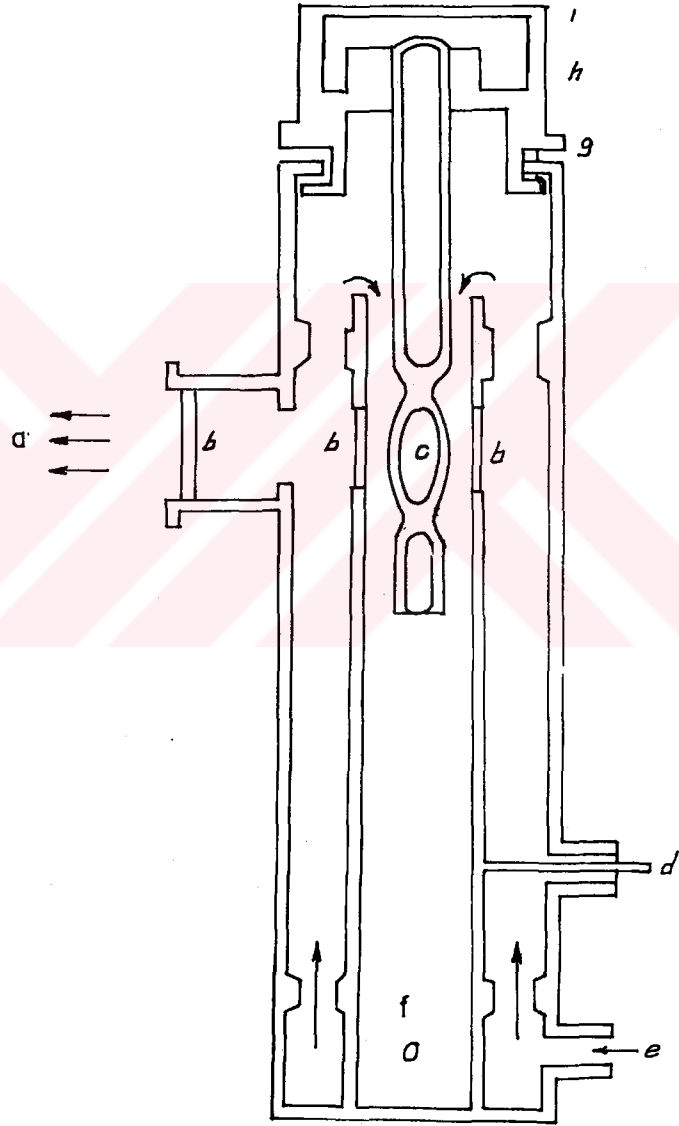
c) Kolayca takılıp çıkarılan oyuk katot lambaları:

Bunlar, farklı elementler için değiştirilen katotlar taşıyan oyuk katot lambalarıdır. İnert gaz ile devamlı temizlenirler. Bu lambalarda argon gazı akışı ile atomik buhar bulutu uzaklaştırılıp, soğutulabilmektedir. Grimm buhar boşalım lambaları takılıp çıkarılabilen oyuk katot emisyon kaynaklarının kullanımı ile geliştirilmiştir. Spektral çizgilerin şiddetinde oyuk katottan anodun uzaklığının etkisi, argon taşıyıcı gaz olarak kullanıldığında Al, Cu ve grafit katot materyalleri için araştırılmıştır. Elektrolitik bozulma ile katotların hazırlanması, saçılma ile olandan daha hızlı olmakta, bu da daha şiddetli ve temiz bir spektrum oluşumunu sağlamaktadır.

II.1.4.1.2. Elektrotsuz Boşalım Lambaları:

Bu lamba, yalıtılmış veya pyreks ile kapatılmış, 3-8 cm uzunluğunda, 5-10 mm iç çapında, içi incelenen elementin birkaç mg' ını içeren tüpdür (Şekil 9). Saf metal,

metal klorür veya elemental iyot ile metal karışımları kullanılır. Tüp birkaç mmHg basıncında inert gaz ile doldurulur. Her element için tübün boyutları, oyuğun tabiatına ve kullanılan materyalin buhar basıncına bağlıdır. Tüpler yaklaşık 50 element için hazırlanmaktadır.



Şekil 9: Elektrotsuz Boşalım Lambaları. a) Işık çıkışı, b) Silika pencereler, c) Lamba, d) Güç girişi, e) Gaz girişi, f) Gaz çıkış noktası, g) Döner halka, h)Yalıtıcı, 1) Radyasyona karşı kap.

Elementler bu tüplerde radyofrekans (100 kHz-100 mHz) veya mikrodalga frekanslarının (100 mHz) ikisinde de uyarılabilirler. Radyofrekans elektrotsuz boşalım lambaları mikrodalga lambalarından daha düşük ışık şiddeti verirler. Fakat, daha dayanıklıdırlar ve sıcaklık kontrolüne gerek göstermezler. Bu lambalar yüksek frekans (yaklaşık 2400 mHz) jeneratörlerinin halkalarına bağlıdırlar ve 200 W'lık düşük güç çıkışı tarafından uyarılırlar. Uyarılmış elektronlar, metal atomları ile çarpışan inert gazın iyonlaşması ile oluşurlar ve son derece dar çizgileri olan şiddetli spektrum verirler.

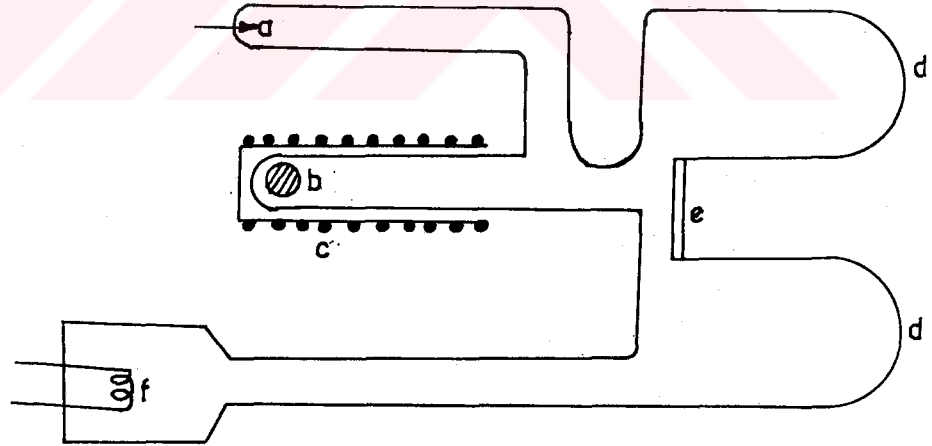
Barnett (10), atomik absorpsiyon aletlerinde kullanılan elektrotsuz boşalım lambaları ile oyuk katot lambalarını aletlerin analitik güçleri açısından karşılaştırmıştır. Elektrotsuz boşalım lambalarının, oyuk katot lambalarından 5-100 kez daha şiddetli ışımaya verdiklerini ve iki kaynağın duyarlık değerlerinin eşit olduğunu gözlemiştir. Ancak belirlenme sınırının oyuk katot lambası tarafından verilene göre elektrotsuz boşalım lambaları ile 1.7-2.5 faktörü kadar daha düşük bulunmuştur.

Elektrotsuz boşalım lambalarının, kısa ömürlü olması, ısınma süresinin uzun olması, çıkış şiddetinin kaymaya yatkın olması ve ayırma için belli bir güce gerek duyması kullanımlarını kısıtlayan faktörlerdir.

II.1.4.1.3. Sıcaklık Gradient Kontrollü Lambalar :

Bu lambalar, düşük basınçta gaz boşalımında ısısal

olarak oluşan buharın uyarılması ile ışımaya verirler. Bu lambaların şematik gösterimi Şekil 10'da yer almaktadır. Bu lambalar üç cam tüp içerirler. Bunlardan biri, anot-tur ve uyarılacak metaldendir. Oksit kaplı filament ise, katottur. Bu tüplere ampul bağlanmıştır ve silikadan çıkış penceresi vardır. Anot kısmı, merkezdeki tübe bağlıdır. Böylece, ısıtılan elektrodun uyarılmış yük boşalmasına difüzyonu tarafından atomik buharların oluşumu sağlanmaktadır. Bu lambalar elektrotsuz boşalım lambalarından daha şiddetli ışımaya verirler ve atomik absorpsiyon aletlerinde kullanım için uygundur. Ayrıca bu lambalar hızlı ısınmakta, tersine çevirmesi olmayan ve genişlikleri az olan rezonans çizgileri vermektedir.



Şekil 10: Sıcaklık Gradient Kontrollü Lambaların Şematik Gösterimi : a) Anot, b) Merkezi tüp, c) Fırın, d) Lamba çeperi, e) Silikadan çıkış penceresi, f) Oksit kaplanmış katot.

II.1.4.1.4. Buhar Boşalım Lambaları:

Termiyonik katot ve silindirik değiştirilmiş katot arasında anot içeren lambalardır. İstenilen rezonans frekansında birinci katodun, ikinci katoda ayarlanmasından yük boşalımı olur. Bu sistem, ölçümlerin duyarlıklarının artması ve zemin değerinin orantılı şiddetinin azalmasında önemlidir.

II.1.4.2. Atomlaştırma Yöntemleri: (5, 6)

II.1.4.2.1. Alevli Atomlaştırıcılar İle:

Alev, AAS'de, katı ve çözeltilerden atomların oluşturulmasında en önemli rolü oynamakta ve atom hücreleri gibi kullanılarak geniş bir alanda yararlanılmaktadır. Basit ve ucuz oluşu ile farklı tabiattaki çeşitli elementlerin uyarılmasında kolaylık sağlaması kullanımını arttırmaktadır.

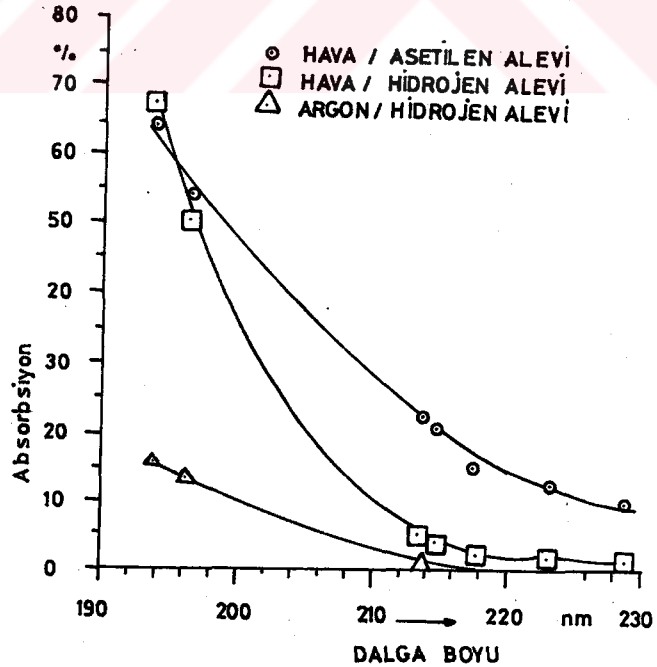
Numune çözeltisinden atomların oluşumuna kadar alevde geçen işlemler; çok iyi aerosol damlacıklarına ayrılması, yapışmış çözücünün buharlaşması, katı partiküllerin uçurulması ve buharlaşan analitin serbest atomlara ayrışmasıdır.

II.1.4.2.1.1. Alev Tipleri:

Belirlenecek elementin yapısına bağlı olarak çeşitli alev tipleri kullanılmaktadır. AAS ölçümleri için ilk kullanılan gaz alevi, hava/petrol olmuştur. Bu alevin sıcaklığının düşük ve pek çok elementin atomlaşması için yetersiz

olduğu görülmüştür. Hava/asetilen alevinin ise, (yaklaşık 2300 °C) çok sayıda elementin atomlaşması için uygun olduğu görülmüştür. Bu alev geniş bir spektral aralıkta tamamen geçirgendir. 230 nm'den daha uzun dalga boylarında çok az self absorpsiyon ve çok düşük emisyon görülebilir. Dalga boyuna bağlı olarak çeşitli alev tiplerinin absorpsiyonlarındaki değişimler Şekil 11'de görülmektedir.

Hava/asetilen alevinin sıcaklığı, oksitlerin ayrışması için yeterli değildir. Bunu sağlamak için, oksijen/asetilen veya oksijen/azot gibi daha sıcak alevlerin oluşturulması, organik çözücülerin kullanılması veya yakıcı ile kompleks yapan ajanların değiştirilmesi gibi işlemlerden en uygun olanı seçilmektedir (11).



Şekil 11: Çeşitli Alev Tiplerinin Absorpsiyon Değerlerinde Dalga Boyuna Bağlı Değişimler.

Azot oksit/asetilen alevinin sıcaklığı yüksek olup (yaklaşık 2900 °C), özellikle oksit şeklindeki elementlerin atomlaşması için uygundur. Alevin hızı düşük olduğundan, geri parlama tehlikesi yoktur. Bu alevin en önemli özelliği, iyot, sülfür ve fosfor gibi elementlerin belirlenmesi için vakum UV bölgesinde kullanılabilmesidir. Alevin yüksek sıcaklığının neden olduğu bazı elementlerin iyonlaşması ve böylece duyarlılığın azalması problemi kolaylıkla iyonlaşabilen bir elementin aşırı miktarda eklenmesi ile uzaklaştırılabilmektedir (12).

Azot oksit/hidrojen alevi ise, düşük zemin değerine, yüksek sıcaklığa ve kolay atomlaştırılan elementler için iyi bir duyarlılığa sahiptir. Bu alevin kullanılması, susuz çözücüler ile yapılan çalışmalarda üstünlük sağlamıştır (13). Azot oksit/hidrojen alevinin analitik kullanılması hidrokarbon alevler kullanmadan organik çözücülerin geniş alanda kullanımını arttırmıştır. Bu da, petrol ürünlerinin seyreltme yapılmadan doğrudan analizine olanak verir.

Hava/hidrojen alevi (yaklaşık 2000 °C) alkali metaller için kullanılır. Alevin duyarlılığı yüksek ve 200-230 nm arasındaki bölgede self absorpsiyonu düşüktür. Fakat parlama problemleri vardır. Alev yakıldığı zaman, hidrojen inert gaz ile seyrelir ve dolaşan havada yanar. Alevin durumuna bağlı olarak sıcaklığı değişmektedir. Bu alevde, kimyasal girişimler ve ışık kayıpları yer alır. Bu alevin en önemli özelliği vakum UV'de kullanılabilmesi ve 194 nm'de arsenik ve 196 nm'de selenyum gibi metallerin belirlen-

mesine olanak vermesidir.

He/oksijen/asetilen alevi geri patlamanın önlenmesi için emniyetli bir kullanım sağlamakta ve en yüksek sıcaklık olarak 2760 °K' e ulaşabilmektedir. Hava/organik çözücü (toluen, benzen, hekzan gibi) ve hava/propan alevlerinde AAS' de kullanılmaktadır.

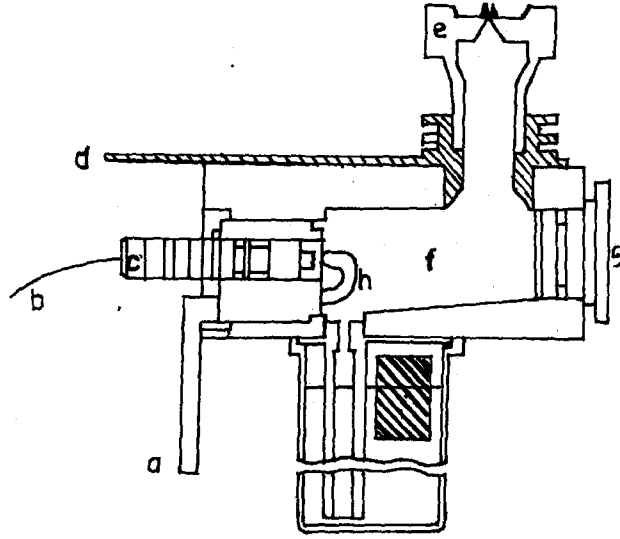
Alevlerin anlatılan bütün tipleri, uygun yakıcılar ile işlev görmektedir. Yakıcı tipleri, laminar ve turbulan gibi gaz akışına göre adlandırılmıştır. Ticari yakıcıların hepsi havalı sisleştirci sistemi ile işler ve kaldırma hızı ile sıcaklık kontrolüne de sahiptir.

II.1.4.2.1.2. Yakıcılar (6):

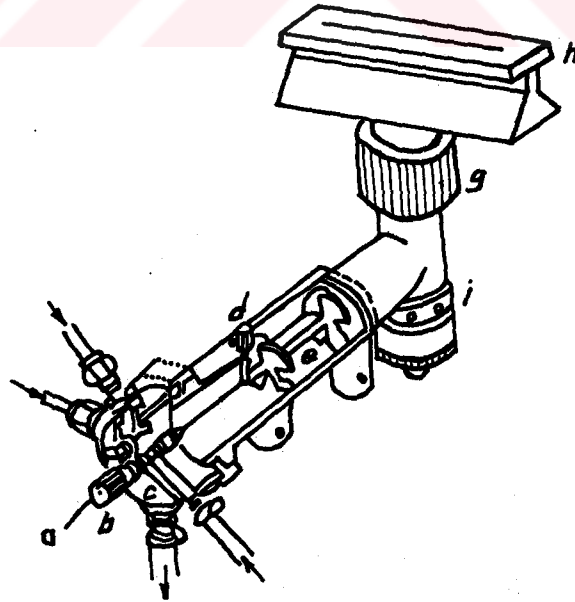
AAS'de kullanılan yakıcı tipleri iki grup altında incelenmektedir:

a) Laminar (premix) yakıcılar:

Yakıcı sistemlerinin bu tipinde, numune çözeltilisi, karıştırma bölmesine, gaz-yakıcı karışımı ile aerosol oluşturduktan sonra havalı sisleştirci ile püskürtülür. Destek gaz (hava veya azot oksit) bölmeye püskürtmeden önce veya sonra eklenebilir. Sıvı damlacıkları, cam boncuk, (Şekil 12) veya akış bozucu (Şekil 13) sistemlere vurarak, sisleştirciden dağılmış damlacıklar olarak çıkarlar.



Şekil 12: Cam Boncuk Sisleştiricisi Taşıyan Laminar Yakıcı.
 a) Sisleştirici kilitleme kolu, b) Kılcal, c) Sisleştirici, d) Yakıcı dönüş ayarlayıcısı, e) Yakıcı başlığı, f) Püskürtme bölümü, g) Püskürtme bölümü tıkacı, h) Cam boncuk.



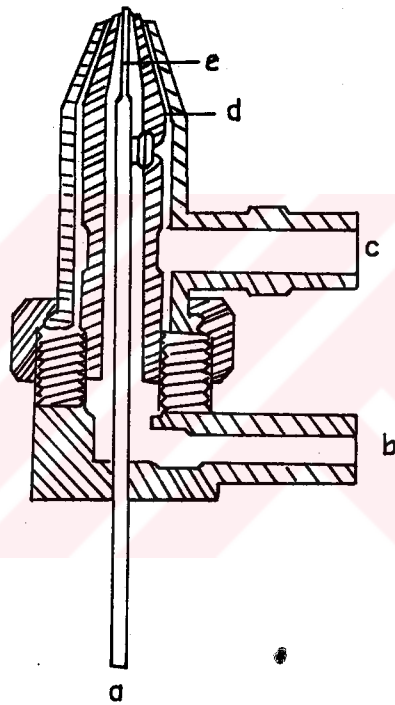
Şekil 13: Akış Bozucu Tipi Sisleştirici Taşıyan Laminar Yakıcı Sistemi.
 a) Numune kılcalı, b) Sisleşmeyi ayarlayan düğme, c) Sisleştirici, d) Akış bozucuyu tutan vida, e) Akış bozucu, f) Basınç boşalım delikleri, g) Yakıcı başlığını kilitleyen halka, h) Yakıcı başlığı.

Yanıcı gaz, destek gaz ve damlacık karışımından oluşan aerosol, aleve taşınır. Havalı sisleştiriciler $<5-25 \mu\text{m}$ veya daha büyük çaplı damlacıklar ile aerosoller oluştururlar. Alev, daha küçük damlacıkların ($<10 \mu\text{m}$ çaplı) taşınması ile en iyi sinyal/gürültü oranı elde edilir. Damlacıkların bu kısmı, sisleştirecek toplam maddenin % 10-15'den daha azdır. Büyük çaplı damlacıklar tamamen buharlaşamazlar, alev sıcaklığında indirgenirler ve gürültünün artmasına neden olurlar. Çok derişik çözeltilerin analizi için veya azot oksit/asetilen alevinin kullanılmasında, akış bozucu tipi sisleştirici, tıkanma problemlerine karşı yakma süresini azalttığı için önerilmektedir. Pek çok yakıcı, korozyonun neden olduğu kirlenmeden kaçınmak için paslanmaz çelik veya kimyasal olarak karşı gelen diğer bir metalden veya cam, plastik ya da titanyumdan yapılmaktadır. Genelde, laminar yakıcılar, düşük yanma hızı olan alev gazları (asetilen, hava gibi) için kullanılabilir. Bu yakıcılar, dayanıklı ve tekrarlanır absorpsiyon değerleri, düşük gürültü sinyalleri, uygun duyarlık, çok az girişim ve uzun dikdörtgen şeklindeki geçirgen alev hücreleri ile emniyetli bir çalışma sağlarlar.

b)Turbulan (total consumption) yakıcılar:

Bu yakıcılar özel biçimdeki çıkış borusu ile sisleştirici ve yakıcının birleştirilmesi sonucu oluşurlar. Yanıcı ve yakıcı gazlar ayrı ayrı tüplerde taşınarak yakıcı başlığının hemen altında karışırlar. Analiz edilen numune çözeltilisi, yakıcının merkezinden geçen dik bir kılcaldan

püskürtülerek doğrudan aerosol şeklindeki alev verilir (Şekil 14). Bu yakıcılar, numune çözeltisini alevde kayıp vermeden tamamen sisleştirebilme özelliğine sahiptir. Fazla hacimdeki sıvılar alev verildiğinde, alev sıcaklığında önemli azalmalar görülmektedir. Bu yakıcı ile oluşturulan alevin gürültü ve zemin değeri ışması yüksektir.



Şekil 14: Turbulan Yakıcılar. a) Kılcal tüp, b) Yakıcı girişi, c) Gaz girişi, d) Gaz hortum girişi, e) Yakıcı hortum girişi.

II.1.4.2.2. Alevsiz Atomlaştırıcılar İle:

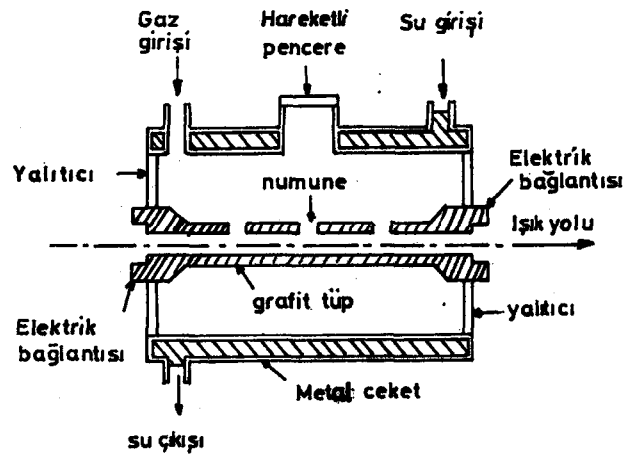
Bu tip atomlaştırıcıların kullanıldığı yöntemler, katı veya çözelti halindeki numunenin, karbon numune kabına (grafit tübe) konularak kabın elektrik arkıyla akkor haline getirilmesini içerirler. Duyarlık, diğer atomlaştırıcı yön-

temlere göre daha yüksektir. Nedeni, giren numunenin kısa sürede atomlaşması ve atomların optik yolda alıkonma sürelerinin yaklaşık bir saniye olmasıdır.

Alevsiz atomlaştırıcıda, numunenin birkaç μl 'si buharlaştırılır. Karbon, talyum veya diğer iletken bir maddeden yapılmış olan elektrikle ısıtılan yüzeyde küllenir. İletken, oyuk tüp, şerit, çubuk, bot veya oluk olabilir. Küllenmeden sonra, akım 100 A veya daha yukarı çıkarılırki, bu da sıcaklığın 2000-3000 $^{\circ}\text{C}$ 'ye yükselmesine neden olur. Bu sıcaklıkta birkaç saniyede atomlaşma gerçekleşir. Atomlaşmış partiküllerin absorpsiyonu ölçülür. Absorpsiyonun olduğu dalga boyunda, sinyalin birkaç saniye sonra maksimum değere yükseldiği görülür. Pik yüksekliği veya alanına bağlı olarak miktar tayini yapılır.

Alevsiz atomlaştırıcılar, çalışma başlığı, güç ünitesi ve inert gaz donanımı olmak üzere üç yardımcı parça içerirler. Çalışma başlığı, yakıcının yerleştirildiği spektrometrenin ortasıdır. Güç ünitesi, çalışma başlığına uygun voltajda akımın geçmesini sağlar. Gaz kontrol ünitesi, gaz ölçme aletini içerir ve inert gazın çalışma başlığı boyunca akmasını kontrol eder. Şekil 15' de görülen grafit atomlaştırıcı, boydan boya geçen ışık yolu ile yatay olacak şekilde yerleştirilmiş oyuk grafit silindir içerir.

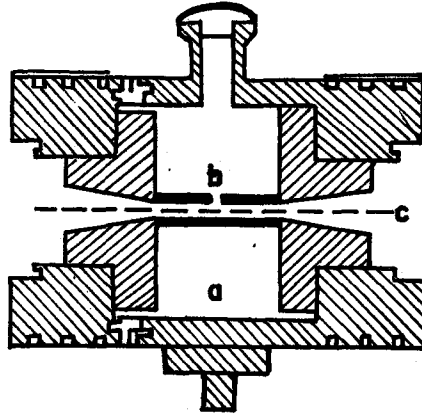
Bu atomlaştırıcıların önemli özelliği, numunelerin doğrudan uygulanmasıdır. Biyolojik ve diğer organik maddelerle çalışırken ön işlemler gerekmemektedir.



Şekil 15: Grafit Atomlaştırıcısının Ara Kesiti.

Grafit fırının AAS'de kullanılması L'vov tarafından geliştirilmiştir. 10 cm uzunluğunda olan grafit tüp fırının içi tantal veya tungsten ile kaplıdır. Elektriksel dirençle ısıtılır ve numune doğru akım arkıyla atomlaştırılır. Gelişmiş modellerinde ise, pirolitik karbondan yapılmış 5 cm uzunluğunda fırın kullanılmıştır. Grafit fırının kendisinde karşıt elektrot görevini görür. Atomlaşmayı sağlayan ark, elektrodun fırına yaklaştırılması ile olur. Tüm düzenek kapalı argon atmosferindedir (14).

Massman ise, yine 5 cm uzunlukta, uçlarına uygulanan düşük gerilimde (yaklaşık 10 V), yüksek akımla (yaklaşık 500 A) ısıtılan daha basit bir fırın yapmıştır. Şekil 16' da görülen bu tip fırınlarda istenilen sıcaklığın elde edilmesi ve böylece her elementin atomlaşması için gerekli sıcaklığın ayarlanabilmesi sağlanmaktadır. Tüp inert gaz akımı ile devamlı temizlenmektedir. Ticari fırınların çoğu Massman esasına dayanmaktadır.



Şekil 16: Massman Grafit Atomlaştırıcısı. a) Uç konisi, b) Grafit tüp, c) Işık yolu.

Bazı araştırmacılar, fiziksel girişim ve partiküllerden saçılma ile gelebilecek hataları en aza indirebilmek için, grafitten yapılmış küçük platformları fırının içine yerleştirmişlerdir. Tüp sabit sıcaklığa gelene kadar maddenin buharlaşması ve atomlaşması geciktirilir. Böylece madde yüzeyde daha sıcak gaz yüzeyi tarafından buharlaştırılabilir.

Diğer bir araştırmacı grubu ise, grafit tüp fırının tepesinde açılmış yarığa sokulan grafit tıkaç kullanarak, ısıtma işlemi boyunca tıkaç sıcaklığını duvar sıcaklığının altında tutmuşlar, böylece maddenin buharlaşmasına yardımcı olmuşlardır. Ayrıca grafit tüp içine tungsten tüp sokularakta duyarlılığın arttırıldığı görülmüştür (6).

Grafit teller ise, su soğutmalı paslanmaz çelik elektrotlara bindirilmiş tellerdir. Elektrikle ısıtılan bu teller ile argon atmosferinde çalışılmaktadır (15). Molibden

veya tungstenden yapılmış metal tüp atomlaştırıcıları ile elektrikle ısıtılan platin telden atomlaştırıcılarda bulunmaktadır. Son yıllarda elektron bombardımanı veya lazer kullanımı ile atomlaştırmanın gerçekleştirilmesi üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (16).

II.1.4.2.3. Hidrür Tekniği: (5)

Arsenik ve periodik cetvelin IV, V ve VI. gruplarında yer alan diğer uçucu özellikteki elementlerin (Bi, Sb, gibi) hidrojen ile kovalent bağlarla bağlanarak hidrürleri oluşturdukları bilinmektedir. Gaz hidrürlerinde oluşan buharlaşmanın yararı, ayırımın açıklığı, analit elementinin zenginleşmesi ve böylece girişimlerinin uzaklaştırılmasının sağlanması veya indirgenmesinin olmasıdır.

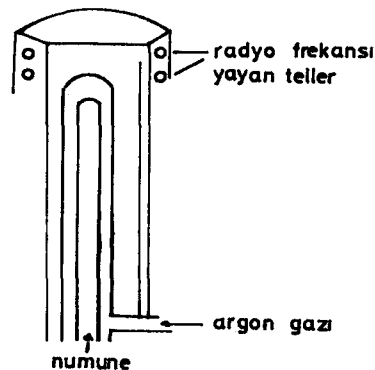
Tekniklerden biri, arsenik ve diğer hidrür oluşturan elementlerin kolorimetrik yöntemlerle belirlenmesi için geliştirilmiştir. Hidrür, asit çözeltisinde çinko ile birlikte oluşur ve amonyum molibdat veya hidrazin sülfat gibi hidrürler ile renkli karakteristik kompleksler oluşturacak maddeleri içeren çözeltiye alınarak gaz tepkimeleri oluştururlar. AAS kullanılarak arseniğin belirlenmesi için hidrür tekniğinin ilk uygulanması 1969 yılında olmuştur. Holak, hidroklorik asit ile asitlendirdiği numune çözeltisine çinko ilave ederek hidrojen oluşturmuş ve arsini sıvı azotta soğutarak toplamıştır (5). Tepkimenin sonunda, azot buharları ile arsin, argon/hidrojen difüzyon alevine götürülerek, atomik absorpsiyonda ölçülmüştür.

II.1.4.2.4. Soğuk Buhar Tekniği: (5)

Oda sıcaklığında atomik düzeyde bulunan tek metalik element cıva olup belli bir buhar basıncını göstermektedir. Bu özelliklerine dayanarak, elemental analizin geliştirilmesinde çok düşük düzeylerde cıvanın belirlenmesine çalışılmıştır. Cıva alevde zayıf duyarlık göstermektedir ve çok küçük miktarlarda belirlenmesi için çalışmalara gerek duyulmaktadır. Cıva 20 °C'de 0.0016 mbar'lık buhar basıncına sahip olup, bu değer her m³ havada yaklaşık 14 mg derişime karşılık gelmektedir. Bu nedenle atomlaştırıcı kullanılmadan AAS ile belirlenebilmektedir. Elementin sadece bileşiklerinden metal haline indirgenmesi ve buhar fazına geçmesi yeterli olmaktadır (17).

II.1.4.2.5. Plazma Tekniği

Plazma, fazla miktarda iyon içerdiği için elektrik akımı iletkenliği yüksek olan ve dışardan uygulanan manyetik alanla kendisine enerji transfer edilebilen bir gaz ortamıdır. Numunenin verildiği uyarıcı ortam olarak kullanılan plazmanın oluşturduğu kuvars tüp Şekil 17'de şematik olarak gösterilmiştir (18).



Şekil 17: Plazmanın Oluşturulduğu Kuvars Tüp.

Argon gazı içinden bir kıvılcım geçirilir. Bir kısım argon gazı böylece iyonlaşarak, tübün ağzına sarılmış olan tellerden yayılan (yaklaşık 27 mHz'lik) enerjiyi absorblar. Sonuçta tellerden geçen alternatif akım enerjisi gaz ortamına transfer edilmiş olur. Sıcaklık yaklaşık 6000-10000 °K'ne ulaşır. Bu sıcaklıkta yeni argon atomları iyonlaşır ve plazma oluşur. Plazma oldukça yüksek sıcaklıklarda ve kararlı uyarıcı ortamlar sağlamaktadır.

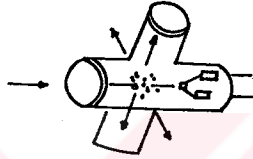
II.1.4.2.6. Ark Tekniği:

Bu teknikte, iki farklı tipte elektrot bulunur. Katot olan elektrodun ortası oyuktur ve analizlenecek numune toz edilerek bu oyuğa yerleştirilir. Daha sonra iki elektrot arasına 5-15 amper ve 200-300 volt'luk doğru akım uygulanır ve elektrotlar kısa bir süre temas ettirilip, 1 cm kadar ayrılır. Elektrik boşalması ile oluşan ark numuneyi yaklaşık 4000-5000 °K'e kadar ısıtır. Bu teknikle atomlaşmanın sağlanması, daha çok nitel amaçlarla yapılmaktadır.

II.1.4.3. Monokromatörler:

Çalışılan elementin rezonans çizgisinin, diğer emisyon çizgilerinden ayrılması için monokromatörler kullanılır. Prizma ve şebekelerin ikisinde monokromatör olarak kullanılabilir. Ebert, Czerny-Turner ve Littrow şebekeleri en çok kullanılanlardır. Mor ötesi ve görünür bölgelerin sınırına giren çift şebekeler daha fazla tercih edilmektedirler. Rezonans alıcılar çift fonksiyonla işleyip, AAS'de

monokromatör görevi yaparlar (19). Şekil 18'de şematik olarak bir rezonans alıcısı gösterilmektedir. Ana kaynaktan çıkan spektral ışınlar, absorpsiyon bölgesi boyunca geçtikten sonra, rezonans alıcıya düşer. Alıcı, uyarılmış durumda oluşan nötral atom lekelerini içerir. Ana kaynak ve rezonans alıcısı aynı metalden yapılmalıdır.



Şekil 18: Rezonans Alıcısı.

Işınlar, absorpsiyon bölgesini geçtikten sonra, elementin atom bulutuna düşerse belirleme olur. Atom bulutu içinde ışın kalırsa, rezonans çizgileri absorblanır. Absorblanan rezonans ışınları, metal atomlarının fluoresansı olarak çıkar ve bu doğrudan düz açıda bulunan alıcı tarafından ölçülür. Fluoresans ışınlarının spektrumu, atom bulutları tarafından absorblanan spektral çizgileri içerir. Rezonans alıcılar monokromatör fonksiyonu aldıklarında, AAS'de ayrılan çizgiler ölçülür.

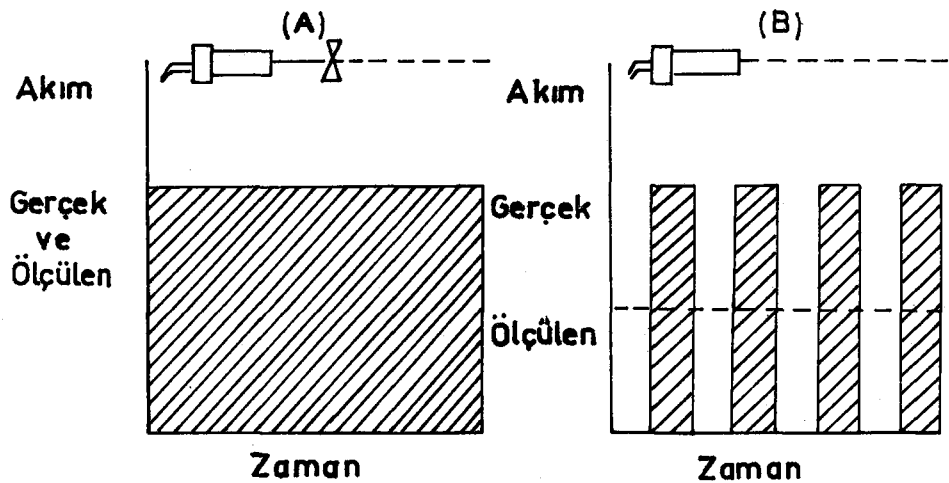
II.1.4.4. Alıcılar:

AAS'de ışık sinyalinin elektrik sinyaline dönüştürülmesinde fotokatlandırıcılar kullanılır. Bunlar, anot, ışığa duyarlı elektrot (fotokatot) ve dinotların olduğu fo-

to hücre içerirler. Toplam olarak 10 elektrot bulunmaktadır. Işık katoda çarpınca oluşan elektronlar bir dinoda akar. Bu dinot kendinden sonra gelen dinoda göre katot, ilk katoda göre ise anot konumundadır. Dinotların arasında 90 V kadar bir gerilim farkı vardır. Her aşamada dinoda çarpan bir elektron 2 ile 5 yeni elektron koparır. Böylece, 9-10 dinot sonra, son anoda gelen elektron sayısı çok büyüktür ve bu olgu sinyalin büyümesini sağlamaktadır.

Modern cihazların hepsinde ışık hücresi mekaniksel veya elektriksel olarak geliştirilmiştir. Mekanik yapımda, ışık kaynağı sabit akımda hareket eder ve asıl geçen akım yazıcıda kaydedilir.

Elektriksel yapımda ise, akım, hızlı akışta anahtarla açılır ve kapanır. Akımdaki bu hızlı değişimler kaydedilemez, fakat lamba zamanı boyunca asıl akan miktar, düşen akım olarak belirlenir. Sonuç olarak, cihazlar için düşük lamba akımı yerleştirilerek, kaynak elektriksel olarak çalıştırılmaktadır (Şekil 19).



Şekil 19: Işığın (A) Mekaniksel, (B) Elektriksel Olarak Ölçüm Değişimleri.

Modern aletlerde bilgisayarlar kullanılması, sadece elektronik sistemlerin yerine geçmemiş ayrıca,

- a) alet tarafından işlem sırasında verimliliğin kontrolünü,
- b) analiz için verilerin geliştirilmesini,
- c) sonuçların hızlı ve güvenilirliğini sağlamıştır.

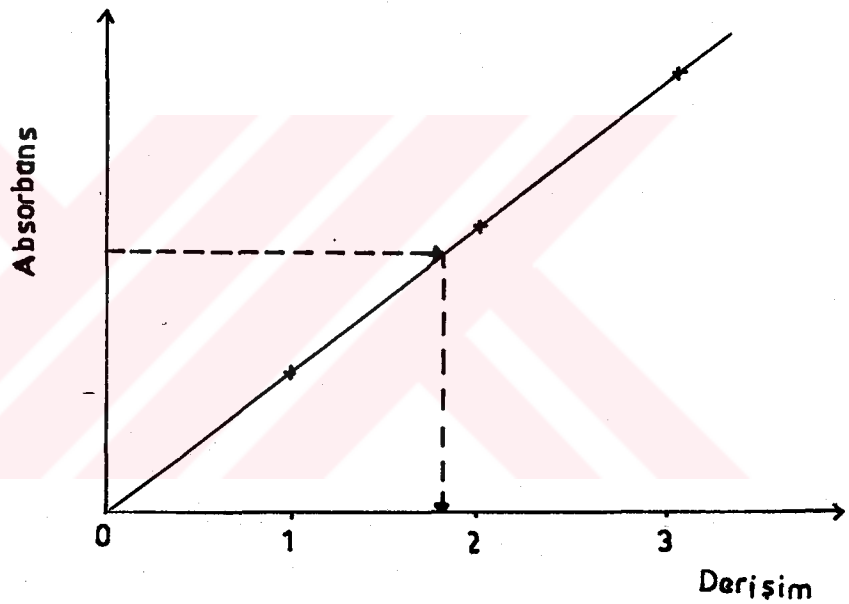
II.1.5. Ölçüm Yöntemleri:

AAS mutlak değil, bağıl bir yöntemdir. Bu demektirki; nicel sonuçlar, sadece referans maddeler veya referans çözeltiler ile karşılaştırılarak alınabilir. Her seferinde referans ölçümlerinin yapılmasının gerekliliği zorluklar çıkarmaktadır. Ayrıca, uygun referans madde veya çözeltilerin seçimi veya uygun teknik seçimleri ile pek çok girişimler uzaklaştırılabilmektedir. Bir numune serisinden diğerine veya günden güne değişmelerin görülmesi, uygun kalibrasyon tekniğinin seçimi ile en aza indirilebilir. Doğruluk, güvenilirlik veya hız özelliklerine göre seçilen ve analitik çalışmalara uygun farklı kalibrasyon teknikleri bulunmaktadır.

II.1.5.1. Standart Eğri Yöntemi:

Bu yöntem derişimi bilinen standart çözeltilerle analitin derişiminin karşılaştırılmasına dayanır. Verecekleri absorban değerleri 0.2 ile 0.8 arasında olan, içerdiği farklı metal derişimleri bilinen en az beş standart seri, stok çözeltilerden seyreltme ile hazırlanır ve atomlaştırılır.

Kalibrasyon eğrisi, derişime karşı okunan absorbands değerlerinin işaretlenmesi ile oluşturulur. Numune çözeltisinin absorbands değeri okunduktan sonra, grafikten o değere karşı gelen derişim bulunur. Şekil 20'de gösterilen kalibrasyon eğrisi doğrusal olduğu bölgede, Lambert-Beer kuralına da uymaktadır. Ayrıca, kalibrasyon fonksiyonunun belirlenmesinde, birden fazla referans çözeltisi kullanılırsa, eğrinin eğimi en küçük kareler yöntemi ile hesaplanır.



Şekil 20: Standart Eğri Yöntemi.

Kalibrasyon verileri, bilgisayar tarafından daha çabuk alınmakta, gürültü uzaklaştırılabilmekte ve böylece sonuçlar düzeltilmektedir. Aletlerde yapılan değişiklikler ve digital okuma sistemlerinin kullanılması da, analitik kalibrasyon eğrilerini düzeltmekte ve doğrusal oldukları bölgeyi genişletmektedir.

Doğrusallıktan sapmanın, yüksek analit derişiminde, yüksek lamba akımında olduğu ve absorbsiyon çizgisi

ile karşılaştırıldığında, lamba emisyon çizgisinin spektral genişliği çok küçük olduğunda arttığı bildirilmektedir. Bu yöntemin başarısı, atomik absorpsiyonda bilgisayar kullanımı ile doğruluk, güvenilirlik ve dinamik sınırın artırılmasıdır. Ayrıca kullanım kolaylığı, analitik uygulanabilirlikte artma ve esneklik sağlamaktadır.

II.1.5.2. Faktör Yöntemi:

Kalibrasyon eğrisi doğrusal olduğu zaman daha basit işlemler uygulanabilir. Bu işlemlerde, numune çözeltisi belli hacimde (V_x), iki eşit kısma ayrılır (A ve B). Bir kısmına C_s derişimindeki standart belli bir hacimde (V_s) eklenir. Diğer kısma aynı hacimde çözücü eklenir. İki çözeltisinde absorpsanları ölçülür ve bilinmeyen numunenin derişimi aşağıdaki formülle hesaplanır;

$$C_x = S_B \cdot V_s \cdot C_s / (S_A - S_B) \cdot V_x$$

S_A ve S_B , A ve B çözeltilerinin absorpsanlarıdır. Bu yöntemin alevli ve alevsiz atomlaştırıcılar ile yapılan çalışmalarda kullanılması uygundur. Fakat, doğrusal sınırın dar olduğu durumlar hataların yükselmesine neden olmaktadır.

II.1.5.3. Standart Aralık (Bracketing) Yöntemi:

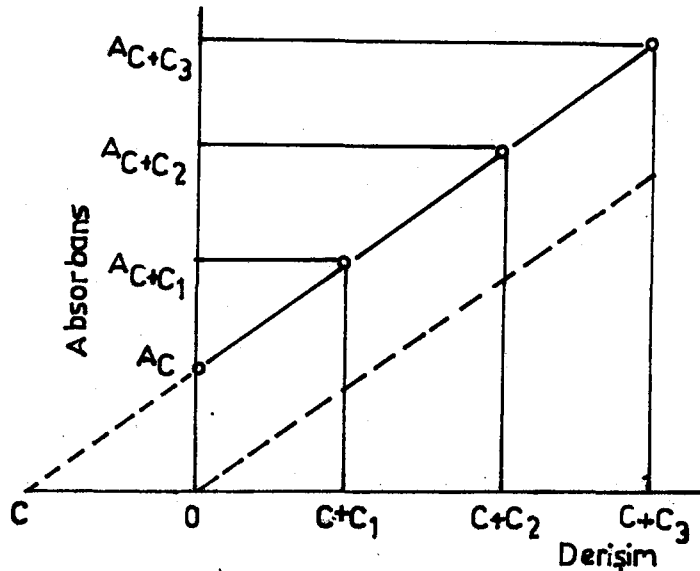
Analitik eğri doğrusal olmadığı zaman veya ön kalibrasyon eğrisi istenildiğinde önerilen bir yöntemdir. Analit çözeltisinin absorpsanı ölçülür ve kalibrasyon eğrisinden yaklaşık derişimi bulunur. Sonra hesaplanan analit deri-

şimine yakın iki standardın absorbanları ölçülür ve iki standart arasında doğrusal olan kalibrasyon eğrisinden analit derişimi hesaplanır. Belirlenmiş analit derişimine yakın standartların hazırlanabildiği ve skala genişlemesinin olduğu durumlarda kullanışlıdır.

II.1.5.4. Standart Ekleme Yöntemi:

Bu yöntemde, analit çözeltisi dört veya daha fazla kısma ayrılır. Biri hariç diğerlerine artan derişimlerde standart çözeltilerden eşit hacimde eklenir. Son kısım ise , aynı hacimde saf çözücü ile tamamlanır. Böylece, analit derişimi farklı olan bütün çözeltiler aynı matriksi içereceklerdir. Çözeltilerin absorbanları ölçülerek, eklenen standart derişime karşı grafiğe geçirilir. Numunedeki analitin derişimi grafikten eğrinin geriye doğru uzatılması (Şekil 21) veya aşağıdaki eşitliğin kullanılması ile bulunabilir;

$$C = \frac{(C+C_3) A_C}{A_{C+C_3} - A_C}$$



Şekil 21: Standart Ekleme Yöntemi.

Matriks etkilerine bağlı girişimler, saf standart çözeltileri ve eklenen analit çözeltileri için oluşturulan eğrilerin eğimlerinin karşılaştırılması ile belirlenebilir. Girişim olmadığında, ikisinin de eğimleri aynıdır. Nedeni standart kalibrasyon eğrisinin hazırlanması ile tam matriks oluşumunun eşit olduğu bir yöntem olmasıdır. Bazı cihazlarda, otomatik sıfır ayarı vardır. Numune çözeltisi ile sıfır ayarı yapılır. Bilinen derişimlerde analit eklendiği zaman, numuneden okunan sinyaller, eklenen standart derişimi ile orantılı olacaktır. Sonra boş çözeltileri test edilirse, analit derişiminin negatif olması ile orantılı olarak negatif sinyal alınacaktır. Bu yaklaşım, kısa negatif okuma sınırlarının kısıtlanıp, yerine pozitif okumaların verilmesi şeklinde düzenlenmiştir.

II.1.5.5. Analit Seyreltme Yöntemi:

Bu yöntem, analitin aşırı iyonlaşma gösterdiği veya matriks tarafından girişimlerin olduğu durumlarda kullanılır. Bu amaçla, maddenin sabit miktarda fazlasını içeren çözeltileri ile, analit ve standart çözeltileri eşit miktarda seyreltilir. Bu durumda, analitte her zaman bulunan girişim maddelerinin miktarı nispeten küçük olur. Fakat standartta bu etki fazla olacaktır. Seyreltmeden sonraki analit derişimi ölçülebilen sınırlar içinde yer almalıdır.

II.1.5.6. İç Standart Yöntemi:

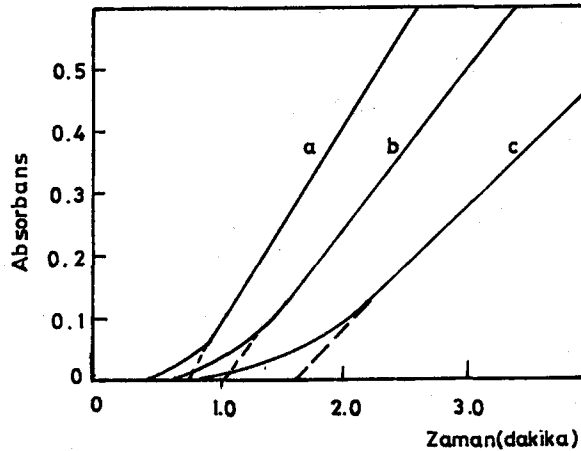
Bu yöntem, analitten farklı dalga boyunda absorpsiyonu olan standart referans bir elementin eklenmesine bağlıdır. Referans standart, bütün analit ve boş numunelere aynı

değişimde eklenir. Analit sinyalinin (A_a), referans standart sinyaline (A_r) oranı ölçülür ve standarttaki analit derişimine karşı A_a/A_r işaretlenerek kalibrasyon eğrisi hazırlanır. Bu yöntemin uygulanması için iki koşul bulunmaktadır. Bunlar;

- a) test numunesinde referans elementin bulunmaması,
- b) atom hücresinde analit ile referans elementin ikisinde benzer davranış göstermesidir.

II.1.5.7. Absorbsiyon İnhibisyon-Titrasyon Yöntemi:

Titrasyon yöntemi, metal iyonlarının atomik absorpsiyon veya emisyonunda bazı anyonların inhibisyon etkisine bağlıdır. Yöntem, standart metal çözeltisinin titrant gibi, karıştırılan anyon çözeltisine eklenmesini ve titrasyon süresince absorpsiyon veya emisyon sinyallerinin ölçülmesini içerir. Titrasyon eğrisinin şekli, çözeltideki analitin tabiatına ve atomlaşma durumuna bağlıdır (20). Bu eğrilerin biçimleri Şekil 22'de görülmektedir.



Şekil 22: a) 2.0, b) 4.0, c) 6.0 g/ml Sülfat ile 50 g/ml Magnezyum Çözeltisinin Titrasyon Eğrileri.

Yöntem işlem olarak titrasyondur. Pratikte; anyon içeren çözelti beherde yer alır ve manyetik olarak karıştırılır. Titrant hava tübü ile anyon çözeltisinin içine bırakılır. Hava geçme işlemi başlatılır ve titrant akar. Anyon ile tepkimeye girecek olandan fazla metal iyon eklendiğinde, eğrinin şeklinden dönüm noktası bulunur. Alevle atomlaştırma işlemlerinin incelenmesinde, pek çok türün belirlenmesi için bu yöntemin kullanılması çok iyi sonuçlar vermektedir.

II.1.6. Girişim Çeşitleri ve Kontrolleri:

AAS'nde yer alan girişimleri, nedenlerine bağlı olarak fiziksel, kimyasal, iyonlaşma, spektral ve zemin girişimleri olarak gruplandırabiliriz.

Alevli ve alevsiz atomlaştırıcıların her ikisinde yer alan girişimlerin uzaklaştırılması veya kontrol edilebilmesi için çalışmalar yapılmaktadır (21). Genel olarak fiziksel, kimyasal ve atomlaştırıcı girişimleri, dikkatli numune hazırlanması ve/veya standart ekleme yönteminin kullanılması ile uzaklaştırılabilir. Zemin absorpsiyonuna bağlı girişimler ise, Zeeman etkisi veya devamlı kaynağı kullanan alet parametreleri tarafından otomatik olarak önlenabilir.

II.1.6.1. Fiziksel Girişimler:

Bu girişimler çözeltilerin viskozite, yüzey gerilimi ve özgül ağırlık gibi fiziksel özelliklerinin analit

ve standart referans çözeltilerde farklı olması nedeniyle ortaya çıkar. Fiziksel girişimler, sisleştirme verimini ve alevdeki serbest atom sayısını değiştirebilir. Eğer bir çözeltilenin viskozitesi fazla miktarda tuz eklenmesi ile artarsa, daha az örnek emilir ve damlacıklar büyür, aleve ulaşan örnek miktarı azalır. Organik çözücüler kullanıldığında sisleştirme verimi ve alev sıcaklığı artar. Birçok organik çözücünün viskozite ve özgül ağırlığı sudan daha az olduğu için daha kolay püskürtülürler. Daha az olan yüzey gerilimi, sisleşmenin iyi olmasını ve birim zamanda daha fazla örneğin aleve ulaşmasını sağlar.

Alevsiz atomlaştırıcıli yöntemlerde analit doğrudan atomlaştırıcıya yerleştirildiği ve sisleştirme işlemi olmadığı için bu tür fiziksel girişimler grafit fırın ile çalışmalarda ortaya çıkmaz. Alev sistemlerindeki davranış zıtlığı, belli organik çözücüler (ksilen, metil izobütil keton, hekzan) grafit tüp atomizerleri enjekte edildiğinde problemler çıkabilir. Bu çözücüler 2500 °C'de ve 200-250 nm'de zemin absorpsiyonu verirler (100 °C'de kuruma ve 800 °C'de kömürleşmeden sonra). Ayrıca, analitin matriks tarafından absorblanmasında söz konusudur (22).

Fiziksel girişimlerin önlenmesi aşağıdaki koşullar ile gerçekleştirilebilir:

- a) Standart ve test numunelerinin matriks durumları ve fiziksel özelliklerinin eşleştirilmesi.
- b) Ölçüm için standart ekleme yönteminin kullanılması.

c) Analit numunesinin seyreltilmesi.

d) Sisletirici yerine, sabit besleme hızı ile numune pompalanmasının yapılması.

II.1.6.2. Kimyasal Girişimler:

Atomizasyon hücresinde, yer alan herhangi bir kimyasal tepkime tarafından, uyarılma için uygun serbest atom sayısı etkilenmektedir. Genel olarak, alevde atomların dağılıma kinetikleri ve difüzyonu oluşturan etkiler kimyasal girişim olarak değerlendirilir. Isıya dayanıklı oksit, hidroksit, karpit ve nitritlerin oluşumu, matriks tarafından anyon ve katyonlar ile olan etkileşimler ve bazı mineral asitlerin etkisi sık rastlanan girişim nedenleridir. Girişim kaynakları aşağıdaki yöntemler ile uzaklaştırılabilir;

a) Yükselen atomlaştırıcı sıcaklığı ile daha uçucu bileşiklerin ayrışması,

b) Standart referans ve analit çözeltisine girişim bileşiklerinin eklenmesi,

c) Analit ile daha uçucu bileşiklerin oluşumu için yardımcı maddelerin kullanılması,

d) Girişim yapan madde ile tepkime verebilecek bir ajanın kullanılması.

Alevsiz atomlaştırıcılarda, kimyasal olarak inert ve indirgen bir ortam bulunduğundan, alev özelliklerinin neden olduğu çeşitli girişimlerle karşılaşmaz.

II.1.6.3. İyonlaşma Girişimleri:

Bazı metaller farklı derecelerdeki alevlerde kolaylıkla iyonlaşırlar. İyonlaşma, düşük metal derişimlerinde yüksek derişimlere göre daha büyüktür. Bunun için iyonlaşma, uyarılma için uygun serbest atom sayılarını azaltır. İyonlaşma girişimi iki yolla giderilebilir:

1) Atomlaşma daha düşük sıcaklıktaki alevde yapılabilir. Örneğin, hava/asetilen alevinden daha soğuk olan hava/hidrojen alevi kullanılabilir.

2) Stardart va analit çözeltilerine kolaylıkla iyonlaşabilen bir elementin aşırısı (0.2-10 g/L) eklenebilir. Bu durumda, $Me \rightleftharpoons Me^+ + e^-$ dengesi, alevde aşırı elektron oluşturulduğundan sola kayacaktır.

Alevsiz atomlaştırıcılar ile çalışmalarda, analitin iyonlaşması aleve göre daha azdır. Kolaylıkla iyonlaşabilen bir elementin analit çözeltilisine eklenmesi alevsiz atomlaştırıcılarda, duyarlık kaybına neden olacaktır.

II.1.6.4. Spektral Girişimler:

Analitin rezonans çizgisinin civarında matriks elementlerinden birinin rezonans çizgisinin bulunması iki sinyalin çakışmasına neden olur. İki dalga boyu arasındaki fark 0.5 nm'den daha az ise girişim söz konusu olur. Spektral girişimlerin olma olasılığı çok elementli ışık kaynağı kullanıldığında daha fazladır. Fakat ışık kaynağı değiştirilip ve değiştirilen frekansa ayarlanarak, çakışmalar en aza in-

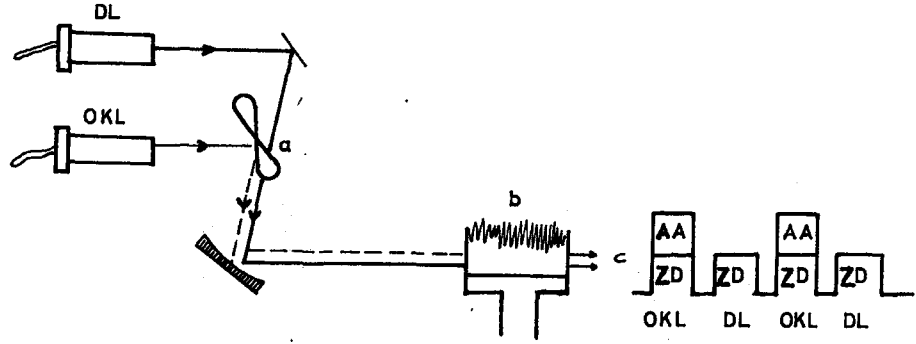
dirilmektedir (23).

II.1.6.5. Zemin Girişimleri:

Absorbsiyon analizlerinde başlıca hata kaynakları, numune matriksinde molekül veya radikallerin ışık absorpsiyonu ile atom hücreesindeki katı partiküller veya sıvı damlacıklarından oluşan ışık saçılmalarından dolayı ortaya çıkan zemin absorpsiyonudur. Bu absorpsiyon etkileri, her absorpsiyon okumasında alınmakta ve toplam absorpsiyondan çıkarılarak denge sağlanmaktadır. Zemin etkilerinin düzeltilmesinde, sürekli ışık kaynağı kullanımı veya Zeeman etkisine dayanan yöntemler seçilmektedir.

a) Sürekli ışık kaynağı kullanımı ile zemin değerinin düzeltilmesi:

Döteryum, hidrojen veya tungsten halojenür lambaları optik sisteme yerleştirildiğinde, absorpsiyon sinyalindeki zemin değeri düzeltilerek ölçüm yapılmış olur (24, 25). Bu düzeltme otomatik olarak şöyle yapılabilir; AAS ışık kaynağından (oyuk katot lambasından) gelen ışık ve sürekli kaynaktan gelen ışık sıra ile atom hücreesinden, hızlı olarak dönen ışık biçerden ve sonra monokromatörden geçirilir. Sekil 23'de zemin değerinin düzeltilmesi için sürekli ışık kaynağının yerleşimi görülmektedir.



Şekil 23: Otomatik Geri Zemin Düzeltiminin Şematik Gösterimi. DL: Döteryum lambası, OKL: Oyuk katot lambası, a) dönen ışık biçer, b) alev, c) monokromatör.

Son yıllarda kullanılmakta olan atomik absorpsiyon aletlerinin hepsinde zemin değeri düzeltmesini kendiliğinden yapan sistemler bulunmaktadır. Alev tekniğinde, sürekli kaynak kullanımı ile zemin değerinin düzeltilmesi aşağıdaki sınırlamaları getirmiştir.

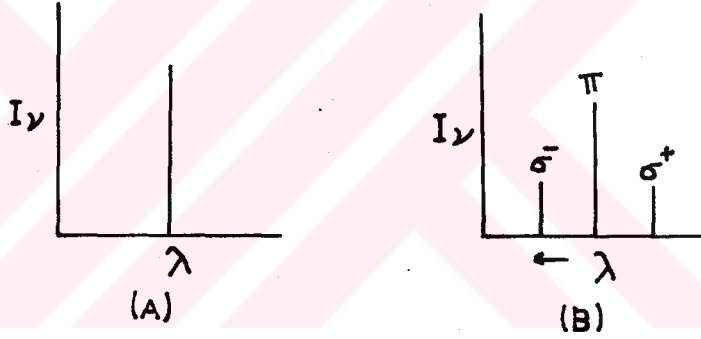
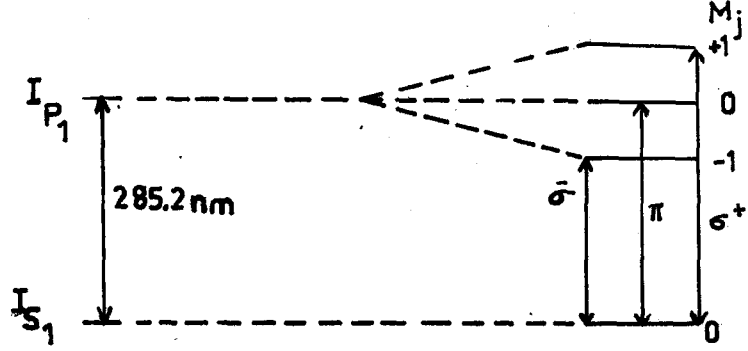
- 1) UV ve görünür bölgelerin ikisini de kapsayan ayrı sürekli kaynaklar gerekmektedir.
- 2) Sinyal/gürültü oranında bazı azalmalar söz konusudur.
- 3) AAS kaynağı ve sürekli kaynağın şiddetleri tamamen birbirine uymamaktadır.
- 4) Şayet, zemin değeri numunenin yapısında ise, düzeltme hatalı olur.
- 5) AAS kaynağı ve sürekli lambanın optik kısımları arasında iyi bir diziliş istenmektedir.
- 6) Yüksek zemin değeri düzeyine sahip numuneler ile zemin değeri sinyalinin alınması için dengeleme iyi olmalıdır.

7) Alevsiz atomlaştırıcılı sistemlerdeki kullanım-
da güvenilirlik sınırlıdır. Bunun için alevsiz atomlaştırıcı-
lı sistemlerde geri zemin düzeltilmesinin yapılmasında,
Zeeman etkisinin uygulanmasına daha büyük bir gereksinme doğ-
muştur.

b) Zeeman etkisi ile geri zemin düzeltilmesi:

Farklı enerji seviyelerinde polarize olmuş bileşen
içeren atomik spektral çizgiler, kuvvetli manyetik alan et-
kisinde yarılırlar. Emisyon ve absorpsiyon için, yeni düzey-
len arasındaki geçişler, seçicilik kuralı ile verilmektedir
($\Delta M_j = 0 \mp 1$ $M_j =$ Manyetik kuantum sayısı). Bu ilişki Zeeman
etkisidir. Normal Zeeman etkisinde atomun gösterdiği spek-
tral çizgi yerine $\Delta M_j = 0$ bileşeni (π çizgisi) ve $\Delta M_j = \mp 1$
bileşeni ($\sigma \mp$ çizgisi) geçmektedir. π çizgisi, spektral çiz-
ginin orijinal dalga boyunda fakat orijinal şiddetinin yarı-
sında görülmektedir. $\sigma \mp$ çizgileri ise, orijinal çizginin iki
yanında eşit aralıklarla yerleşmişlerdir ve şiddetleri ori-
jinal çizginin dörtte biridir. π bileşeni, manyetik alana
paralel elektrik vektörü ile doğrusal olarak polarize olmuş-
tur. $\sigma \mp$ bileşeninin manyetik alana dik polarize olan elek-
trik vektörü ile, kuvvet çizgilerinin dairesel polarize ol-
duğu görülmüştür. $\sigma +$ ve $\sigma -$ bileşen vektörleri zıt pozisyon-
larda dönmektedir. Örneğin, 285.2 nm magnezyum çizgisi veya
553.6 nm 'de baryumun çizgisi ile etkinin tipini gösterebi-
liriz. Spektral çizgi 10 kG (kilogaussluk) manyetik alan kuv-
veti altında bırakıldığında, $\sigma \mp$ bileşenleri, π bileşeninden

yaklaşık 3.8×10^{-3} nm kadar ayrılır. Bu simetrik tripletin şiddet oranları 1:2:1 olur (Şekil 24).



Şekil 24: Magnezyum İçin Normal Zeeman Etkisi.

a) Manyetik alan yokken, b) 10 kG'luk manyetik alan varken.

Bazı elementler için, π ve σ çizgilerinin ikisinde, ilave yarılmalar ile başka çizgilerde verirler. Bu durum anormal Zeeman etkisi olarak bilinir.

Zemin absorpsiyonu, atomik absorpsiyona zıt olarak moleküler saçılma ve absorpsiyon nedeniyle oluştuğunda, zemin düzeltimi için Zeeman etkisinin kullanılması esastır. Manyetik alan ışık kaynağına (kaynak kayma Zeeman zemin dü-

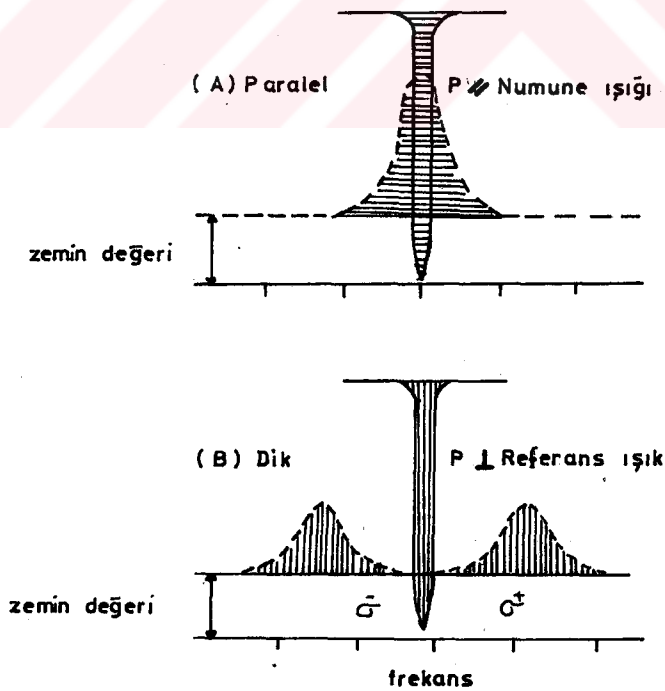
zeltimi) veya atom hücresine (analit kayma Zeeman zemin düzeltimi) uygulanabilir. Manyetik alan sabit tutulabilir veya ışık yolunda boyuna veya enine olacak şekilde değiştirilebilir. Sabit tutulan veya dönen polarizer atom hücresinden önce veya sonraya yerleştirilebilir. Bu bileşenlerin tipi ve yerleştirme etkileri analitik çalışma aralığını ve duyarlılığını etkileyecektir.

Kaynak kayması ile Zeeman geri düzeltiminde, spektral kaynak çizgisi π ve σ^+ bileşenlerine yarılır. Atomlaştırılacak numuneden geçirildiğinde, π bileşeni analit ve zemin değeri tarafından absorblanırken, σ^+ bileşenini sadece zemin değeri absorblar. Sodyumun D çizgileri ile gümüşün 328.1 nm'deki çizgileri bu duruma örnektir. Sodyumun D_1 çizgisi 4 çizgiye (2π ve $2\sigma^+$), D_2 çizgisi ise, 6 çizgiye (2π ve $4\sigma^+$) yarılırken, gümüş çizgisi 4π ve $8\sigma^+$ çizgiye yarılmaktadır. Bu tekniğin alevli ve alevsiz atomlaştırıcılı sistemlere uygulanabilmesi en önemli özelliğidir. Diğer bir özelliği ise, manyetik alanda çalışırken ışık kaynağından yüksek gürültüsüz sabit çıkışın sağlanabilmesidir (26).

Analit kayması Zeeman zemin düzeltiminde, konvansiyonel ışık kaynağı kullanılır ve atomlaştırma hücresi manyetik alana yerleştirilir. Işık kaynağından çıkan ışık dönen polarizörden geçerek manyetik alana dik ve paralel olmak üzere iki doğrusal polarize ışık demetine yarılır. Bu demetler sıra ile manyetik alandaki atom hücresinde bulunan analitin atomik buharından geçerler. Birinci dönüş boyunca,

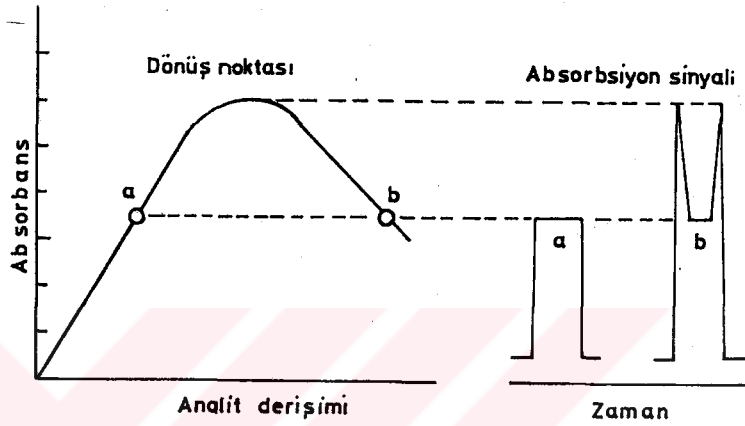
paralel çizgi zemin absorpsiyonu ve saçılma tarafından azalan kadar atomik absorpsiyondan geçer. İkinci dönüşte, dik çizgi, zemin absorpsiyonu ve saçılma tarafından azalır (Şekil 25). Paralel ve dik çizgiler, zemin değeri tarafından aynı miktarda azalır ve iki sinyalin çıkarılması ile analitin gerçek absorpsiyonu bulunur.

Zeeman AAS'nin hepsinde karşılaşılan bir problem, düşük belirlenme sınırının yaklaşık 10^4 katı derişimde, derişim eksenine doğru kalibrasyon eğrisinin dönmesidir. Bu durum π ve σ bileşenleri arasındaki farklı absorpsiyona bağlıdır ve π bileşeninin doyması ile absorpsiyonu σ bileşeninden daha düşük derişimde olacaktır (27).



Şekil 25: Paralel ve Dik Polarize Işık Demetleri ile Absorpsiyon Çizgileri Arasındaki İlişki.

Sonuçta, çift değerli kalibrasyon eğrileri çıkar (Şekil 26). Alevli Zeeman AAS kullanımı ile eğrilerin bu tipi değiştirilmektedir. Ancak, alevsiz atomlaştırıcılar ile çalışıldığında bu problem giderilemez.



Şekil 26: Alevli Zeeman AAS'de Çift Değerli Kalibrasyon eğrileri.

Genellikle, Zeeman etkisi ile zemin değeri düzeltimi aşağıdaki üstünlükleri sağlamaktadır. Bunlar,

- a) Geniş dalga boyu aralığında uygun düzeltimi,
- b) Absorbsiyon çizgilerinin spektral girişimleri ile oluşan girişimlerin uzaklaştırılması,
- c) Değişen ışık şiddetleri ile değişmez ana çizgi kararlılığı,
- d) Rezonans çizgileri ile aynı dalga boyundaki zemin değerinin kesin düzeltimi ve analit buharlarının referans ve numune hücresinden geçmesi ile çift ışın yolu optik sistem üstünlüklerinin alınması,
- e) Yüksek zemin değerinin elverişli düzeltimi,

f) Spektrel girişimlerin uzaklaştırılmasıdır.

II.1.7. Organik Reaktif Kullanımı: (6)

Analitin ön derişimi ve bazı elementlerin girişiminin önlenmesi için AAS'de organik reaktiflerinin kullanılması uygulanmaktadır. Atomlaştırma yöntemi ve reaktifin tabiatına bağlı olarak bilinen organik reaktiflerin varlığında, bazı elementlerin absorpsiyonu bastırılmakta veya arttırılmaktadır (28).

Alevde organik reaktiflerin kullanılması aşağıdaki üstünlüklerinden dolayı tercih edilmektedir:

a) Metal türevleri, uygun oksitlerinden daha uçucu ve daha ayrışmaya hazır şekildedir.

b) Reaktifin bozulması, alevin sıcaklığını düzelter ve karakteristik özelliklerini düzelter ürünler verir.

Analitin saf metal veya metal karpitlerine indirgenmesi, yöntemin duyarlılığını değiştirir ve bazı ürünlerin uçuculuğunu gösterilen sırada azaltır (oksit > metal > karpit).

Alevsiz atomlaştırıcılı sistemlerde, organik reaktiflerin kullanılması uygun değildir. Bazı şelatların buharlaşma sıcaklığı, absorpsiyon sinyalinin azalması ve analitin kaybına neden olan atomlaşma için gerekenden daha düşük olmaktadır. Alevsiz atomlaştırıcılarda, karbonda organik reaktifin bozulması, metal karpitlerinin etkisiyle metal oksitlerinin serbest atomlara indirgenmesinin artması

sonucu olur. Organik çözücüler kullanılırsa, atomlaştırıcının grafit yüzeyi ile etkileşirler ve yüksek sıcaklıklara kadar salınmazlar. Böylece, metalin atomlaşma adımı girişimlere neden olurlar.

AAS'de organik reaktif uygulamalarından birisi, bazı elementlerin girişim etkilerini uzaklaştırmaktır. Bu işlem, ısıya dayanıklılık özellikleri tarafından durdurulan ve girişim yapan madde ile etkileşmelerinden dolayı korunmayan analit ve/veya girişim yapıcı maddenin kompleks oluşturmasıdır. Çözeltide şelatın dayanıklılığı kesin bir faktör değildir. Zayıf şelat yapıcı ajanların (glukoz, sukroz, gliserol, mannitol gibi) kullanılması daha çok tercih edilmektedir.

Organik reaktif etkisinin bir diğer anlatımı, şelatlardan metal atomlarının oluşumunun, damlanın ayrılıp dağılması ile inorganik bileşiklerden metal atomlarının endotermik oluşumu yanında ekzotermik olmasıdır.

Çeşitli reaktif kullanımları bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak, kalsiyum ve magnezyumun belirlenmesinde, Fe, Co, Cr, Bi ve Be elementlerinden gelen girişimlerin 8-hidroksikinolin ile uzaklaştırılması verilebilir. Ayrıca, alifatik aminlerin (metil amin, dietil amin gibi) absorpsiyonu, metal komplekslerinin tamamlanmamış ayrışması nedeniyle hava / asetilen alevinde çeşitli elementlerin absorpsiyonu tarafından bastırılması ve aromatik sülfonik asitlerin absorpsiyonu ise, sodyum ve potasyum varlığında, alevde

titanyum ve molibdenin absorpsiyonu ile arttırılması karşılaşılan örneklerdendir (29).

Analitin düşük derişimleri veya girişim yapan maddenin yüksek derişimlerini içeren numunelerin belirlenmesi için, uygun organik şelasyon ajanı ile ön tüketme işleminin olması diğer bir uygulama alanıdır.

II.1.8. Yöntemlerin Uygulanması:

II.1.8.1. Doğrudan Yöntemler:

Metallerin çoğu, atomlaştırma koşulları ve aletsel parametreler dikkatli kontrol edildiğinde, ana rezonans çizgilerinde, doğrudan absorpsansları ölçülerek kolaylıkla belirlenebilirler. Düşük derişimde analit içeren numuneler ise, ön deriştirme işleminden sonra analiz edilebilirler. Tüketme, tekrar çöktürme, elektro parçalanma ve iyon değiştirme kromatografisi ile analitin ön derişimi ve numune matriksinden uzaklaştırılması sağlanmış olur. Böylece atomik absorpsiyon ölçümlerinin derişim aralığı genişletilir ve belirlenme sınırı düşürülür.

II.1.8.2. Dolaylı Tepkimelere Bağlı Yöntemler:

Çok çeşitli dolaylı yöntemler bulunmaktadır.

a) Metal iyonu ile analitin çöktürülmesi, çökelek veya çözeltide ölçüm yapılması. Sülfat ve oksalat, sırası ile baryum ve kalsiyum ile çöktürülerek belirlenmektedir.

b) Metal şelatı ile analit tepkimesi sonucu iyo-

nik kompleksin oluşumu, tüketme işleminden sonra metal içeriğinin ölçülmesi. Fitalik asidin ve uranyumun belirlenmesi, Cu (I) neukupron ile kompleks oluşumuna dayanmaktadır (30,31). Sularda eser miktardaki fenolun ve siyanürün belirlenmesi içinde benzer yöntemler önerilmektedir (32,33).

c) Heteropoli asit şekline getirilip, tüketmeden sonra metal içeriğinin ölçülmesi. Fosfat ve alkaloitler, fosfomolibdat bileşiklerine çevrilirler ve her orijinal fosfat atomu veya üç alkaloit molekülü ile ayrışan yirmi molibden atomu 313 nm'de belirlenir (34,35).

d) Saf metallerden metal iyonlarının çözünmesi veya buharlaşması. Siyanür ve nitro bileşikleri, Ag ve Cd metalleri ile tepkimeye girerek eşit miktarda salıverilen Ag ve Cd iyonlarının belirlenmesine dayanarak tayin edilirler (36).

e) Elementin indirgenmesi, ayrılması ve ölçülmesi. İyodür ve aldehitler, Se (IV) ve Ag (I) ile tepkimeleri sonucu elemental Se ve Ag vermeleri ile belirlenirler. Elementler ayrılır, yıkanır, asitte çözünür ve atomlaştırılır (37).

f) Seçici tüketme veya diğer bir element varlığında, elementin oksitlenerek çöktürülmesi. Örneğin, dioller periyodat ile oksitlenir, sonra salınan iyoda eşit miktarda Ag (I) ile çöktürülerek belirlenirler (38).

g) Komplekslerden bazı metal iyonlarının çıkarılması. Florürün tayininde, tiyosiyanat kompleksinden Fe (III) çıkarılır ve tüketildikten sonra metal kompleksinin fazlası ölçülür (6).

II.1.8.3. Absorbsiyonun Baskılanma veya Arttırılmasına Bağlı Yöntemler:

Bazı anyon, katyon ve organik bileşikler, alevdeki bazı metallerin absorpsiyonunu arttırıcı veya azaltıcı etkide bulunurlar. Bu etkiler, esasta atomlaşma basamağında ayrışmanın kolay veya zor olmasına bağlıdır.

a) Katyon-anyon etkileşmesine örnek olarak, magnezyuma ait absorpsiyonun hava / soğuk gaz alevinde florür iyonları tarafından bastırılması verilebilir.

b) Katyon-katyon etkileşmesine, demirin absorpsiyonunun, hava / asetilen alevi kullanıldığında aluminyum veya titanyum tarafından arttırılması örnek olarak verilmektedir.

c) Katyon-molekül etkileşmesine bağlı olarak 10^{-6} M'dan daha az derişimde glukozun bulunması kalsiyumun absorpsiyonunu azaltmaktadır.

II.1.8.4. Metal Buharlaşmasına Bağlı Yöntemler:

Bu yöntemler, oda sıcaklığı veya yüksek sıcaklıklarda buharlaşma ile analitin serbest element veya türevlerine ayrılmasını içerirler. Ayrıca, çok düşük analit derişimlerinin ölçülmesini sağlar. Çünkü buharlaşan bileşikler geniş çözelti hacimleri tarafından toplanmaktadır ve derişim maddeleri ile matriks etkisinden uzakta bulunmaktadırlar.

a) Serbest metallerin oluşumu. As, Bi, Cd, Se gibi buhar haline gelen elementlerin ng veya μg miktarları,

uçucu olmayan matrikslerde 1400°C'nin üzerinde sıcaklıklarda buharlaştırma ile belirlenmektedir. Buharlaşan element, taşıyıcı gaz buharında ayrışır, toplanır ve ölçülür (39).

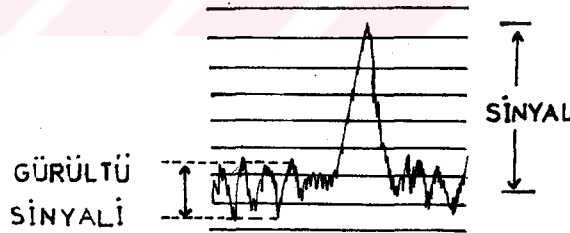
b) Metal hidrürlerin oluşumu. As, Bi, Ge, Pb, Sb, Sn ve Te gibi çeşitli elementler, uçucu hidrürlerinin oluşumu ile AAS ölçümleri için uygun hale gelmektedirler. Bu elementleri içeren çözelti Zn, Mg veya Al metali ile indirgenir veya sodyum borhidrür veya borsiyanür ile hidrürleri şeklini alarak atomlaştırıcıya geçer. Oluşan hidrürler, serbest metal atomlarına ayrışır ve rezonans çizgilerinde absorpsiyonları ölçülür. Bu yöntemin duyarlılığı, alevden 50-100 kez, alevsiz yöntemlerden 5-10 kez daha fazladır (40).

c) Metal karbonil ve alkilerin oluşumu. Hidrür oluşumu bütün metallere uygulanamadığı için, diğer uçucu türevlerin oluşumuna çalışılmıştır. Eser düzeyde (ng) nikelin belirlenmesi karbonil oluşumu ile yapılabilir. Metal sodyum borhidrür ile elemental şekle indirgenir. Karbon monoksit ile etkileşerek nikel karbonil oluşumundan sonra He-Co gaz buharı ile çözültiden çıkarılarak, sıvı azotta toplanır ve kuvars tüpte atomlaştırılır (41).

II.1.9. Duyarlık ve Gözlenebilme Sınırı: (7)

Verilen element için AAS'de duyarlık, o elementin, %99 geçirgenliğe (%1 absorpsiyon veya 0,00436 absorbanse) karşı gelen derişimidir.

Gözlenebilme sınırı, boş numuneyle ölçüm yapıldığında elde edilen pik yüksekliğinin iki katı yükseklikte pik veren element derişimidir. Boş numuneyle elde edilen sinyal, gürültü sinyalidir. Bu sinyaldeki en alta inen pik ile en üst pik arasındaki uzaklık gürültü sinyalinin şiddetini verir. Pik sinyalinin şiddeti ise, orta noktası başlama çizgisi alınarak ölçülmüştür ki, bu aynı zamanda kendi tabanından itibaren yüksekliğinin ölçülmesidir. Şekil 27'de verilen örnek için sinyal/gürültü oranı 3:2 dir. Gürültü için boş numuneden kaynaklanan akım değeri ilk önce ifade edilir. Gürültü için ikinci kaynak, foto akımın istatistiksel değişimlerinin neden olduğu ışın gürültüsüdür. Ayrıca ek olarak, ışık kaynağının ışık şiddetindeki değişmelerin oluşturduğu lamba gürültüsü de bulunmaktadır.



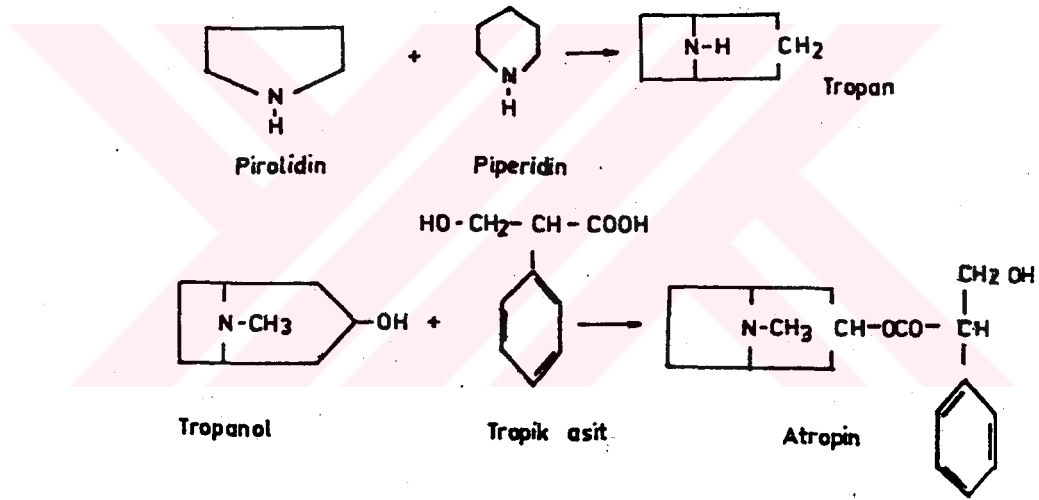
Şekil 27: Gürültü Sinyali ve Gerçek Sinyalin Ölçülmesi.

Ana neden, ışık saçılmaları veya alevde absorbsiyon tarafından çevrilen ışımının geçirmesindeki değişikliklerdir. Bundan başka, analiz edilen elementin absorbsiyonundaki değişmeler, atomların geçişinden ve değişken yapılarından gelebilir.

II.2. Alkaloitler:

II.2.1. Atropin:

Pirolidin ve piperidin halkalarının kondensasyonu ile oluşan "tropan" halkası, atropinin ana iskeletini oluşturmaktadır. Azot atomuna bir metil ve üçüncü karbona bir alkol grubunun bağlanması ile tropanol oluşur. Bu grubunun, organik bir asit olan tropik asit ile oluşturduğu ester ise, atropindir (Şekil 28).



Şekil 28: Atropinin Kimyasal Yapısı.

Atropin parasempatolitik etkide olup, göz bebeğini genişletir, yani midriyatiktir. Ayrıca kalp hastalıklarında kullanılan dijitalin blokajına neden olduğu gibi, astım nöbetlerinde, spazm nedeniyle ortaya çıkan kabızlıklarda, ter kesmek için ve öksürükte sedatif olarak kullanılmaktadır.

Atropinin miktar tayini için titrimetrik, spektrofotometrik ve gaz kromatografik yöntemler geliştirilmiştir (42).

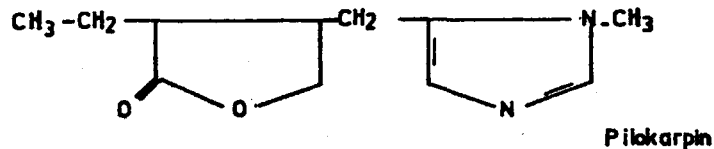
Titrimetrik yöntemler, susuz ortam titrasyonuna dayanan ve bitiş noktası potansiyometrik olarak belirlenen yöntemlerdir (43).

Spektrofotometrik yöntemler, alkali ortamda kloroformla tüketme sonucunda, dumanlı nitrik asit eklenmesini takiben buharlaştırılması ve dimetilformamid ile tetrametilamonyum hidroksit eklenerek standarta karşı 545 nm'de absorpsiyonlarının okunmasına dayanmaktadır (44).

Gaz kromatografik yöntem ise, iç standart kullanımına dayanarak yapılmaktadır (45). USP XX'de gaz kromatografi yöntemi önerilmektedir (46). Ayrıca, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile bütün tropan alkaloidlerinin ayırımı ve nicel belirlenmeleri sağlanmıştır(47).

II.2.2. Pilocarpin:

Bu alkaloid, beşli halkalardan azot atomu içeren imidazol ile beşli bir lakton halkasının metil grubuyla bağlanması sonucu oluşmuştur. İmidazole bağlı bir metil ve lakton halkasına bağlı bir etil sübstitüenti taşıyan pilokarpin sıvı halde bulunan bir alkaloidtir (Şekil 29).



Şekil 29: Pilocarpinin Kimyasal Yapısı.

Pilokarpin parasempatomimetik etkide bir alkaloid olup, atropinin aksine salgı arttırır ve göz bebeğini daraltır. Nitrat tuzu halinde bronş ifrazını arttırıcı olarak ve kolir şeklinde gözün iç basıncına azaltmak suretiyle glokom tedavisinde kullanılır.

Pilokarpinin miktar tayini için titrimetrik ve gaz kromatografik yöntemler geliştirilmiştir. Titrimetrik yöntem, susuz ortam titrasyonudur. Bitiş noktası indikatör ile (44) olduğu gibi potansiyometrik olarakta (43) bulunabilmektedir.

Gaz kromatografik yöntem ise, USP XX'de yer almaktadır (46).

II.3. Organik Maddelerin AAS İle Analizleri: (1)

Organik maddelerin doğrudan AAS yöntemi ile belirlenebilmeleri için, moleküllerinde mutlaka bir metalik element bulunması gerekmektedir. Örneğin, B₁₂ vitamininin her molekülü bir atom kobalt içerir. Böylece, farmasötik dozaj şekillerinde bulunan B₁₂ vitamininin belirlenmesi için, 242.5 nm'de kobaltın atomik absorpsiyonunun ölçülmesine dayanan bir yöntem geliştirilmiştir (48). Benzer şekilde yağlarda ve meyve sularında bulunan dimetilpolisiloksanın tayini, 251.6 nm'de silisyumun verdiği atomik sinyalin ölçülmesine dayanmaktadır.

Organik bileşiklerin, AAS ile belirlenebilmesi için, uygun bir kimyasal tepkimenin olması gerekmektedir.

Ayrıca bu tepkime, atomik absorpsiyon belirlemelerinde oluşan problemlerin kolayca halledilmesinde önem taşımaktadır. Bu nedenle, analit ile tepkimeye girecek bir veya birkaç uygun ayıracın(bunlardan biri metalik elementtir) seçimi çok önemlidir. Dolaylı AAS yöntemlerinde metalik atomik sinyali (tepkimede sarfedilmiş olsun veya olmasın), analitin derişimi ile doğru veya ters orantılıdır. Analiz edilecek bileşik ile metalik elementin tepkimeye girmesini içeren yöntemler aşağıdaki şekilde gruplandırılabilir;

1) Çözeltide bileşik oluşturulmasına dayanan yöntemler, metal iyonu ile çöktürme tepkimesi, metal komplekslerin oluşumu, heteropoli asit bileşiklerinin oluşumu ve redoks tepkimelerini içerirler.

a) Çöktürme tepkimeleri, metal fazlasının belirlenmesi veya çöken metalin belirlenmesi olarak iki gruba ayrılır. Örnek olarak, sülfonamidlerin Ag metali ile çözünmeyen gümüş tuzları oluşturarak dolaylı tayinleri verilebilir.

b) Metal komplekslerinin oluşumunda, analit bir veya birkaç ayıraç ile tepkimeye girerek yüklü veya yüksüz metal kompleksi veya iyon bağlı kompleksin oluşumunu sağlamaktadır (49, 50). Analitin ligand olarak görev yaptığı bu yöntemler organik bileşiklerin belirlenmesinde uygulanabilmektedir. Örneğin, ilaçlarda noskapin belirlenmesinde raine-kat tuzları eklenip, kloroform ile tüketme sonucu kromun AAS'de ölçülmesi ile dolaylı tayin yapılmıştır (51, 52).

Yüksüz bir metal kompleksinin oluşumunu içeren

yöntemlerde de çözücü tüketimi ile ayırım sağlanmakta ve organik çözücüdeki kompleks bileşimine giren metal AAS ile belirlenmektedir. Siyanür, tiyosiyanat, sülfid, halojenür yanısıra pek çok organik bileşik içinde bu yöntem uygulanmaktadır (53). Histidin, bakır metali ile Schiff bazları şeklinde kompleks oluşturarak, insan serum ve idrarındaki sodyum dietilditiyokarbamat bakır ile şelat vererek, deniz suyunda iyonik olmayan surfaktanlar kobalt tiyosiyanat ile kompleks oluşturarak, insan serumundaki serbest yağ asitleri kobalt kompleksleri vererek belirlenmektedir.

Analit ile iyon çifti oluşumu sonucu meydana gelen yüklü metal kompleksinin çözücü tüketimi ile arttırılmasına dayanan yöntemlerde, kompleksi oluşturan metalin atomik absorpsiyonu genellikle hava/asetilen alevinde ölçülür ve miktarı analite bağlıdır. Bu yöntemin seçiciliği, tüketilen kompleks bileşiğine ve tüketmenin yapıldığı koşullara bağlıdır. Dolaylı atomik absorpsiyon yöntemleri, iyon çifti oluşumu ve tüketimi yolu ile organik bileşiklerin belirlenmesi için geliştirilmiştir. Bu yöntemin en önemli özelliği, pozitif veya negatif yüklü organik bileşiklere uygulanabilir olmasıdır. Bu işlemin uygulanmalarına örnek olarak, pentaklorofenolun ve salisilik asidin $Cu(I)$ (neokupron)₂ ile, anyonik deterjanların $Cu(I)(fen)_2$ ile, alkil benzen sülfonatların $Cu(I)(tiyoüre)_2$ ile, alifatik amin ve hiyosinin $Co(II)(SCN)_4$ ile iyon çifti oluşturmaları ve uygun organik faz ile tüketilerek metalin AAS'de tayini sonucu dolaylı olarak belirlenmeleri verilebilir.

c) Heteropoli asit bileşenlerinin oluşumuna en güzel örnek, fosfat içeren çözeltiliye molibdat çözeltisi eklenerek oluşturulan molibdofosforik asidin organik çözücü ile tüketilmesi ve organik faza geçen fazla molibdat uzaklaştırıldıktan sonra, fosfat içeriği ile nicel ilişkide olan molibdatın 313.2 nm'de atomik absorpsiyonunun ölçülmesidir (1).

d) Redoks tepkimeleri, yükseltgen veya indirgen maddelerin, yükseltgen veya indirgen olan bir veya iki ayıraç (bunlardan biri metal iyonudur) ile tepkimesini içerirler. Daha sonra eklenen metal iyonunun yükseltgenmiş veya indirgenmiş şekli ayrılarak, AAS'de belirlenir. Genelde, bu yöntemler kullanılmamaktadır. Çünkü diğer indirgen veya yükseltgen hiçbir faktörün bulunmaması gerekmektedir. Bazı organik bileşikler redoks tepkimeleri ile dolaylı olarak belirlenmiştir. İki tip tepkime esas olarak alınmıştır. Bunlardan biri, çözeltide analitin bir metal ile indirgenmesi ve çöken metalin nitrik asitte çözünerek AAS ile belirlenmesidir (54). Diğeri ise, periyodik asit veya potasyum permanganat ile yükseltgenmeye dayanmaktadır (55). Bu yöntemler daha çok fonksiyonel gruplara uygulanmaktadır.

2) Atomizasyon hücresinde bileşik oluşturulmasına dayanan yöntemler, bazı anyonların atomize hücre ısısında metalik elementler ile erimeyen bileşikler oluşturmasına bağlıdır. Metalin atomik absorpsiyon sinyalindeki azalma veya artmanın ölçülmesi ile sonuca varılmaktadır. Daha önce anlatılan yöntemler ile karşılaştırıldığında en önemli farkı

metal ve anyon arasındaki nicel ilişkinin kurulması için kullanılan kimyasal tepkimenin çözeltide değil, atomizasyon hücresinin kendi içinde yürütülmesidir.

3) Uçucu bileşiklerin oluşturulmasına bağlı yöntemler atomizasyon hücresinde gaz halindeki bileşiklerin oluşması ile uygulanabilen yöntemlerdir. SiF_4 ' den florür miktarlarının belirlenmesi için bu yöntem kullanılmış ve 251.6 nm'de silisyumun atomik absorpsiyonu ölçülmüştür (1).

Organik bileşiklerin farmasötik preparatlarda AAS ile dolaylı tayinleri için 1973'de Kirkbright ve Johnson adlı araştırmacılar tarafından başlatılan ön çalışmalar son yıllarda daha da geliştirilmiştir.

G. Perez, H. Mendez, M. Martin adlı araştırmacılar ilaçlarda bromazepaminin belirlenmesi için bromazepam-Ni (II) şelatı ve perkloratın oluşturduğu iyon çiftinin organik fazda tüketilmesinden sonra, AAS ile organik fazdaki nikeli ölçmüşlerdir (56).

1985 yılında C. Nerin, A. Garnica ve J. Cacho adlı araştırmacılar tarafından geliştirilen yöntem ise, inorganik bir kompleks olan $\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ ile iyon çifti oluşturulması, iyonik kompleksin uygun organik faz ile tüketilmesinden sonra AAS'de kobaltın ölçümüne dayanmaktadır. Bu yöntem ile bazı alkaloitlerin (2) ve bromheksin etken maddesini içeren ilaçların (57) analizleri AAS'de dolaylı olarak yapılmıştır.

Aynı araştırmacılar daha sonraki çalışmalarında bazı alkaloitleri içeren farmasötik preparatların belirlenmesinde iyon çifti oluşunu için Dragendorf ayıracını kullanmışlar ve organik faza çektikleri bizmutu AAS ile ölçmüşlerdir (58). Daha sonra aynı yöntemi pirolizidin grubu alkaloitlere de uygulamışlardır (59).

M. Ayad ve arkadaşları, sülfatiazol, sülfadiazin ve sülfamerazin adlı sülfonamidler için AAS ile miktar tayini yöntemi geliştirmişlerdir (60). Aynı araştırıcı başka bir grup ile 1985 yılında tütünden nikotin alkaloidinin belirlenmesi için AAS ile yeni bir yöntem ileri sürmüştür (61). Bu yöntemde, alkaloit, Cu, Pb, Zn, ve Hg'den herhangi biri ile nicel olarak öktürölmüş, eşdeğer veya artan metal miktarı ölçölmüştür.

Bir grup Japon araştırıcı da organik maddelerin analizlerinin AAS'de yapılması üzerinde çalışmış ve pipetanat hidroklorürün amonyum kobalt tiyosiyanat ile tepkimesi sonucu oluşan iyon çiftini 1,2-dikloroetana çekerek, organik fazdaki kobaltı ölçmüşlerdir (62).

Ayrıca Crisp, Eckert ve Gibson adlı araştırıcılar anyonik deterjanların iyon çifti oluşunu ile analizlerini AAS'de yapmışlardır (63). Aynı araştırıcılar daha sonraki yıllarda iyonik olmayan surfaktanların tayinleri içinde AAS ile bir yöntem geliştirmişlerdir (64).

1986 yılında ise, Gallego ve arkadaşları tarafından anyonik surfaktanların tanınmaları için otomatik olarak

devamlı çalışan sıvı-sıvı tüketiminin AAS'de kullanımı ile yeni bir yöntem geliştirmişlerdir (65).

AAS ile uygulanan dolaylı yöntemlerden bir diğeri ise, malation adlı pestisidin dimetil-ditiyofosfat ile bozunması ve bakır (II) eklenmesi ile oluşan kompleksin organik faza alınarak AAS'de bakırın ölçülmesi şeklinde analiz edilmesidir (66).

AAS kullanımı ile geliştirilen yöntemler birçok organik bileşiğe uygulanmıştır (67). Bunlar arasında asitler, aminoasitler, alkoller, aminler, aminökinolinler, barbitürik asit türevleri, benzilpenisilin, bütil skopolamin tuzları, kolşisin, kinoform, klorfeniramin maleat, deterjanlar, diketonlar, dioller, esterler, etambutol, etinilestadiol, flufenamik asit, folik asit, histamin, hiosin, izonikotinil hidrazin, metil amfetamin maleat, nitro grupları, fenoller, oksalik asit, fenil asetilen, porfirin, şekerler, tanenler yer almaktadır.

III. DENEYSEL KISIM

III.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler:

Bu çalışmada kullanılan atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür standart maddeleri saf kristal halde olup, Merck firmasına aittir. Maddelerin saflık kontrolleri UV ve IR spektrumları yardımıyla yapılmıştır.

Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler şunlardır:

- 1) Kobalt(II) nitrat. $6H_2O$ (Merck)
- 2) Nikel(II) nitrat. $6H_2O$ (Merck)
- 3) Krom(III) nitrat. $9H_2O$ (Merck, pro analysi)
- 4) Amonyum tiyosiyanat (Merck)
- 5) Disodyum hidrojen fosfat. $12H_2O$ (Merck)
- 6) Potasyum hidrojen fitalat (Merck, pro analysi)
- 7) Sodyum hidroksit (Analar)
- 8) Tetrametil amonyum hidroksit (Merck)
- 9) Sitrik asit monohidrat (Merck)
- 10) Perklorik asit (Merck, pro analysi)
- 11) Glasiyel asetik asit (Merck)
- 12) Hidroklorik asit (Merck)
- 13) Nitrik asit (Merck)
- 14) Asetik anhidrit (Hopkins and Williams)
- 15) 1,2-Dikloroetan (Merck)

- 16) Metil izobütil keton (Merck)
- 17) Kloroform (Merck)
- 18) Karbon tetraklorür (Merck)
- 19) Dioksan (Riedel)
- 20) Dimetilformamid (Merck)
- 21) Kristal viyole (Merck)

Kontrol edilen ilaçlar Ankara eczanelerinden temin edilmişlerdir. Çalışılan müstahzarlar, birim doz içerikleri ile birlikte Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Çalışılan Alkaloitleri İçeren Müstahzarlar.

Müstahzar adı	Madde adı	Farmasötik şekli	Birim doz içeriği
Atrosol ^(R)	Atropin sülfat	Göz damlası	%1'lik
Atropin sülfat enjeksiyonluk	Atropin sülfat	Ampul	0.25 mg/ml
Lomotil ^(R)	Atropin sülfat	Tablet	0.025 mg/tablet
Pilokarsol ^(R)	Pilokarpin hidroklorür	Göz damlası	%2'lik

III.2. Kullanılan Araç ve Gereçler:

- 1) Atomik absorpsiyon spektrofotometresi, Perkin Elmer, Model 2380, Çift ışın yollu.

- 2) pH metre, Model 12, Corning, Corning Scientific Instrument, New York, U.S.A.
- 3) pH metre cam elektrodu, Corning.
- 4) pH metre referans elektrodu, Kalomel, Corning.
- 5) pH metre kombine elektrodu, Corning.
- 6) pH metre, SESA, Model 1400, Türkiye.
- 7) İletkenlik köprüsü, Model 31, Yellow Spring Instruments Co. Inc., Ohio, U.S.A.
- 8) Etüv, Model 5169, MAS, Labortechnik.
- 9) Manyetik karıştırıcı, Model MK 20-Nüve.
- 10) Duyar terazi, Sartorius-Werke GmbH, 2257, West Germany.
- 11) Duyar terazi, Mettler H20, Mettler Instrument, Switzerland.
- 12) Çalkalayıcı, Karl-Kolb, 2363, Karl-Kolb Scientific Technical Supplies, West Germany.
- 13) Su banyosu, Gallenkamp, BJE 800.
- 14) Kolorimetre, Spectronic 20, Baush and Lomb.
- 15) Ultraviyole-görünür bölge spektrofotometresi, Perkin Elmer, Lamda 5.
- 16) Yazıcı, Perkin Elmer, Printer/Plotter.
- 17) FTIR (Infrared Fourier Transform) spektrofotometresi, Perkin Elmer 1710.
- 18) Çeşitli boy pyrex^R balon joje ve pipetler.
- 19) Çeşitli boy pyrex^R ayırma hunileri.
- 20) Porselen havan, havan eli.
- 21) Süzgeç kağıdı, Whattman 40, 11 cm.
- 22) Pipet yıkayıcı, J. Köttermann KG.
- 23) Asetilen gazı, Habaş.

III.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması:

Standart maddeler ve ilaçlar istenilen derişimde olacak şekilde ana numunelerden alınmişlardır. Tablet analizlerinde, 10 tablet, toz edilerek kullanılmış ve bulunan sonuçlar bir dozaj şekline indirgenmiştir. Ampul analizlerinde, 1 ampul içeriği alınmıştır. Göz damlalarında ise, 1 ml alınarak yöntem uygulanmıştır.

Diğer çözeltilerin hazırlanması şu şekildedir:

0.1 F HCl çözeltisi: 3.06 ml derişik HCl çözeltisinden alınıp, az miktar su üzerine eklenip, karıştırıldıktan sonra bir litreye su ile tamamlanır.

0.1 F NaOH çözeltisi: 4 g NaOH alınıp, hemen az miktar su ile yıkanır. Daha sonra çözülüp bir litreye su ile tamamlanır.

1.2 F $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ çözeltisi: 87.24 g $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ile 91.34 g NH_4SCN su ile çözüldükten sonra 250 ml'ye su ile tamamlanır.

1.2 F $\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ çözeltisi: 87.31 g $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ile 91.34 g NH_4SCN su ile çözüldükten sonra 250 ml'ye su ile tamamlanır.

1.2 F $\text{Cr}(\text{SCN})_4^{-2}$ çözeltisi: 120.05 g $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ile 91.34 g NH_4SCN su ile çözüldükten sonra 250 ml'ye su ile tamamlanır.

0.1 F sitrik asit çözeltisi: 19.21 g sitrik asit alınıp su ile 1 litreye tamamlanır.

0.2 F disodyum hidrojen fosfat çözeltisi: 171.64 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ alınıp su ile 1 litreye tamamlanır.

Mcllvaine tamponu: 0.1 F'lik sitrik asit çözeltisi ile 0.2 F'lik disodyum hidrojen fosfat çözeltisinden yeterli miktarlarda karıştırılarak istenilen pH'da Mcllvaine tamponu pH metre yardımıyla hazırlanır.

Kristal viyole çözeltisi: 0.50 g kristal viyole alınıp, 100 ml'ye glasiyel asetik asitte çözülerek tamamlanır.

0.1 F HClO_4 çözeltisi: 900 ml glasiyel asetik asit içine 8.2 ml perklorik asit eklenir ve karıştırılır. Üzerine 32 ml asetik anhidrit eklenip oda sıcaklığına soğutulur. Glasiyel asetik asit ile 1 litreye tamamlanıp 24 saat bekletilir.

Çözeltilerin saklandığı balon joje ve diğer cam eşya, kromik asit yıkama çözeltisi ile temizlendikten sonra su ile yıkanmış ve bir gece 2 F HNO_3 çözeltisi içerisinde bekletilmiştir. Daha sonra su ile yıkanıp, kullanılmıştır. Bu şekilde temizlenen cam eşyanın iç yüzeyinde inorganik ve organik safsızlıkların kalmadığı bildirilmektedir (68).

III.4. Deneyin Yapılışı:

Bu çalışmada, 100 ml'lik ayırma hunisine alkaloit veya ilaç çözeltisi konulmuş, üzerine istenilen derişimde olacak şekilde metal kompleksinin çözeltisi eklenmiştir. İstenilen pH değeri, 0.1 F HCl veya 0.1 F NaOH çözeltisinin eklenmesi ile ayarlanmıştır. Ayarlanan pH'da hazırlanmış olan tampon çözelti ile toplam hacim 50 ml'ye tamamlanarak, üzerine 10 ml organik çözücü eklenmiş ve belirli bir süre çalkalanmıştır. Daha sonra Whattman 40 numaralı süzgeç kağıdından süzülerek, alınan organik fazdaki metal AAS ile ölçülmüştür.

Çalışmaların yapıldığı Perkin Elmer Model 2380 alevli AAS'de kullanılan parametreler Tablo 2'de verilmektedir. Ayrıca bu tabloda karşılaştırma çalışmalarının yapıldığı kobalt metali ile ilgili parametreler de yer almaktadır.

Tablo 2: Perkin-Elmer 2380 Alevli AAS'de Kullanılan Parametreler:

Tayin Edilen Metal	Nikel	Kobalt
Çalışılan dalga boyu(nm)	232	240.7
Lamba akımı (mA)	25	30
Yarık aralığı (nm)	0.2	0.2
Yanıcı gaz	Asetilen	Asetilen
Yakıcı gaz	Hava	Hava
Gaz basınçları (asetilen/hava)(KpA)	15/45	15/45
Işık kaynağı	Nikel oyuk katot lambası	Kobalt oyuk katot lambası
Sisleştirici	Boncuk tip	Boncuk tip
Alıcı	Fotokatlandırıcı tüp	Fotokatlandırıcı tüp
Okuma zamanı(sn)	0.5	0.5
Okuma sayısı	10	10

IV. BULGULAR

Atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorürün UV-görünür bölge spektrofotometresinde analizleri yapılarak farmakopelere uydukları görülmüştür.

Yapılan çalışmada zayıf bir kompleks olan $Ni(SCN)_4^{-2}$ ile atropin ve pilokarpin alkaloidlerinin oluşturdukları iyon çiftinin belirlenmesini takiben, bu iyon çiftlerinin dayanıklı oldukları organik fazın seçimi yapılmıştır. Pek çok çözelti bu amaçla denenmiş ve iyon çiftlerinin tüketilmesinde özellikle düşük polaritedeki çözeltilerin ayırıcılıklarının daha iyi olduğuda göz önüne alınarak yapılan çalışmalar sonucunda, atropin için metil izobütil keton (MİBK), pilokarpin için 1,2-dikloroetan tüketme işleminde kullanılmak üzere seçilmişlerdir.

pH değişiminin, $Ni(SCN)_4^{-2}$ derişiminin ve çalkalama sürelerinin ölçülen absorbands değerlerine olan etkileri Şekil 30, 32, 34'de gösterilmiştir.

Oluşturulan iyon çiftlerinden her birinin dayanıklılığının belirlenmesinde, belli miktarda alkaloid içeren çözeltiden yapılan tüketme sonucu elde edilen stok çözelti ile, kontrol yapılacak aralıklarda, aynı şartlarda yeni hazırlanan çözeltinin karşılaştırılması şeklinde yapılmıştır. 1/2, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24 saat aralıklarla alınan

ölçümler sonucunda iyon çiftlerinin en az 12 saat dayanıklı oldukları bulunmuştur (Şekil 36).

Bu çalışmalar sonucunda sağlanan en iyi deney koşulları Tablo 3'de gösterilmiştir. Ayrıca karşılaştırma yöntemi olarak kobalt metali ile yapılan çalışmalar için uygulanan koşullarda bu tabloda yer almaktadır. Bu koşullarda, atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür için standart eğriler oluşturularak (Şekil 38, 39), farmasötik preparatların analizine geçilmiştir.

Piyasadaki atropin sülfat içeren göz damlası ve enjeksiyonluk preparatların yanısıra, kombine katı preparatlarında analizleri gerçekleştirilmiştir (Tablo 4, 5, 6). Pilokarpin hidroklorür içeren müstahzar olarak piyasada bulunan göz damlalarının analizleri yapılmıştır. Alınan sonuçlar Tablo 7'de verilmiştir.

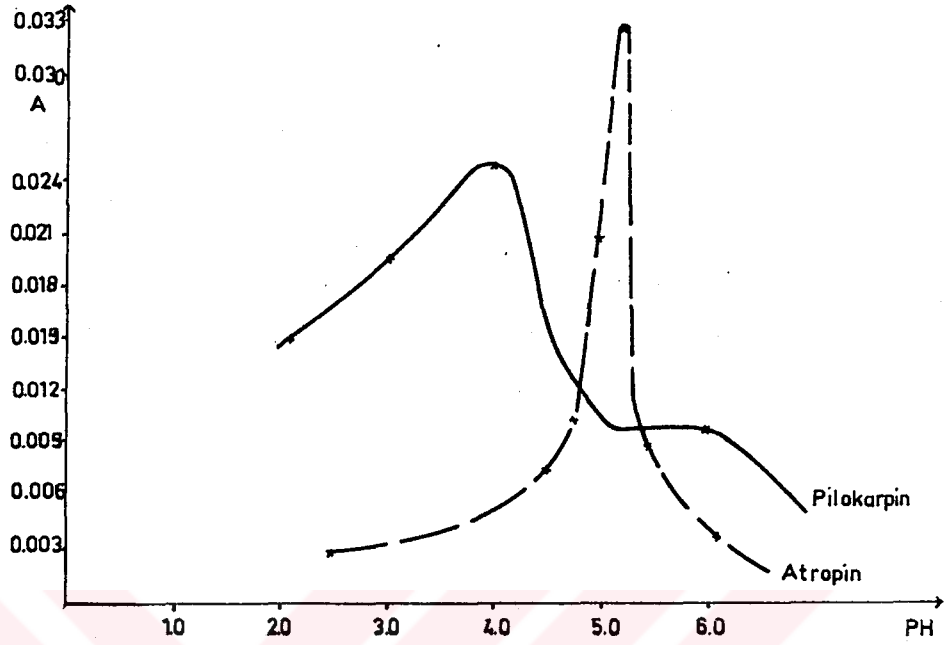
Analizler, Co(SCN)_4^{-2} inorganik kompleksinin, alkaloitler ile iyon çifti oluşturduğu AAS yöntemi (2) ile de yapılmıştır. Karşılaştırma yapılabilmesi amacıyla Co(SCN)_4^{-2} kompleksi ile iyon çiftinin oluşturulduğu çalışmalardaki pH etkisi, Co(SCN)_4^{-2} derişiminin etkisi, çalkalama süresinin etkisi ve dayanıklılık test sonuçları Şekil 30, 32, 34 ve 36'da verilmiştir. Bu yöntem ile atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür için oluşturulan standart eğriler ise Şekil 40 ve 41'de yer almaktadır.

Şekil 38-41'deki standart eğriler için doğrusal

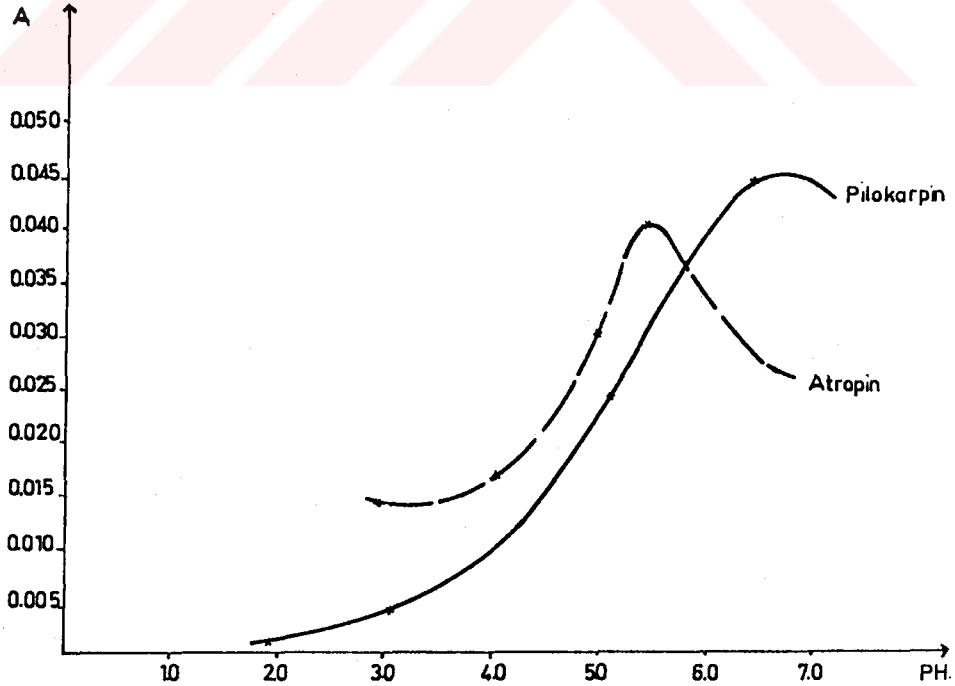
regresyon analizleri yapılmış, regresyon ve korelasyon katsayıları hesaplanmıştır (69). Her bir standart eğri için korelasyon katsayısının ve doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolü yapılarak, sonuçlar Tablo 8'de verilmiştir. Korelasyon katsayısının önem kontrolü için H_0 hipotezi "korelasyon katsayısı önemsiz bir değerdir" şeklinde kurulmuştur. Sonuçta, t_H değeri, 0.05 yanılma olasılığında t_T değerinden büyük bulunduğundan H_0 hipotezi reddedilerek, korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğu bulunmuştur.

Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolü analizinin yapılmasında ise, H_0 hipotezi "deneysel noktaların regresyon uyumu önemsizdir" şeklinde kurulmuştur. Bu hipotezi sınamak amacıyla regresyon varyans analiz tablosu EK 1'de gösterildiği şekilde kurulmuş ve terimler açıklanmıştır. Sonuçta F_H değeri 0.05 yanılma olasılığında F_T değerinden büyük bulunmuş ve H_0 hipotezi reddedilerek doğrusallıktan ayrılışın önemsiz olduğu ve her dört dağılım içinde doğrunun çizilebileceği kararına varılmıştır.

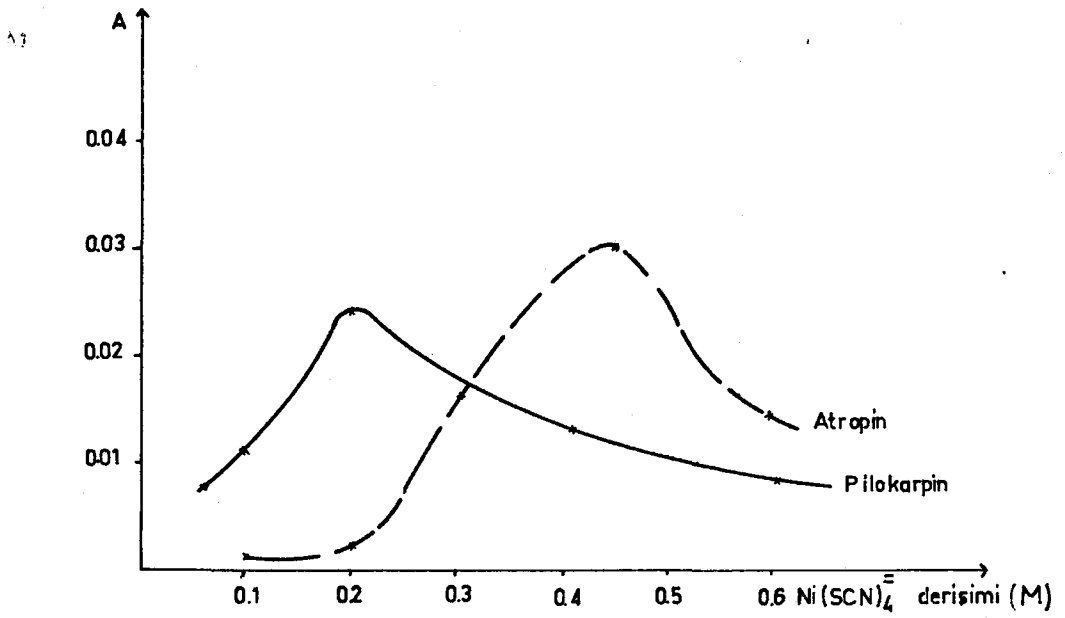
Ayrıca farmasötik preparatlardan göz damlaları için Türk Farmakopesinde atropin sülfat miktar tayininde verilen kolorimetrik ve pilokarpin hidroklorür için bildirilen susuz ortam titrasyon yöntemlerinin (44) yanısıra BP'de her iki alkaloid için bildirilmiş olan susuz ortam potansiyometrik titrasyon yöntemi (43) ile analizler yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 9'da verilmiştir (EK 2). Karşılaştırma yöntemleri ile bulunan değerler arasında fark bulunup bulunmadığı istatistiksel olarak Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanarak araştırılmış (EK 3) ve fark olmadığı saptanmıştır.



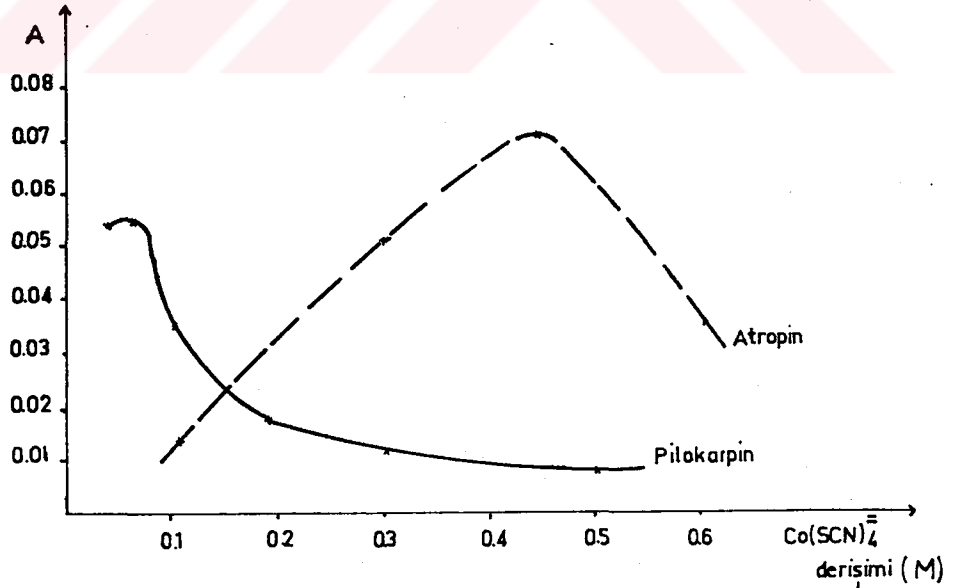
Şekil 30: Alkaloidlerin Ni(SCN)₄⁻² Kompleksi ile İyon Çifti Oluşturdukları Çalışmalarda pH Etkisi.



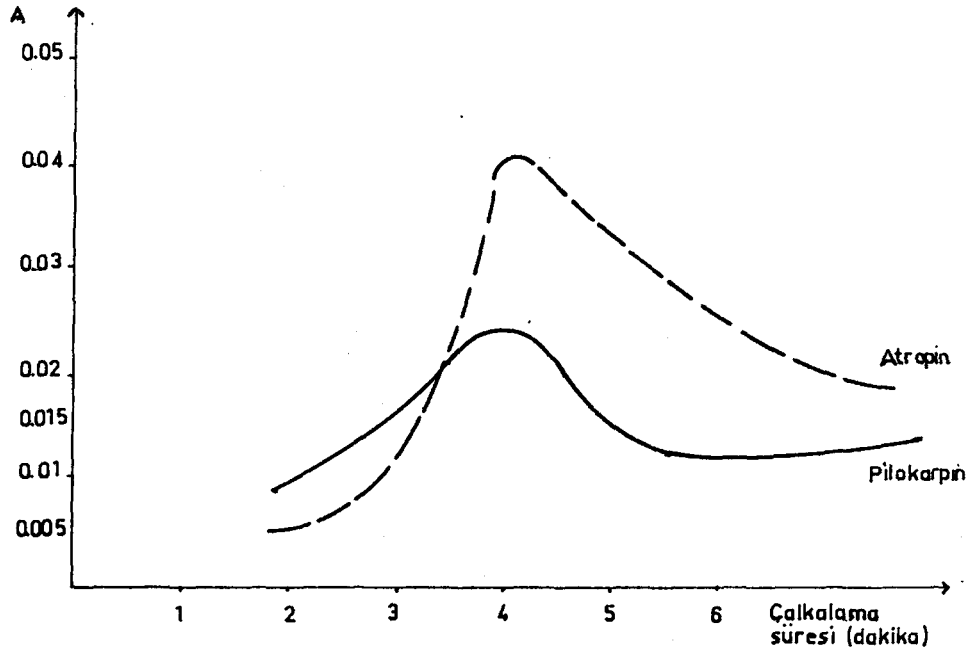
Şekil 31: Alkaloidlerin Co(SCN)₄⁻² Kompleksi ile İyon Çifti Oluşturdukları Çalışmalarda pH Etkisi.



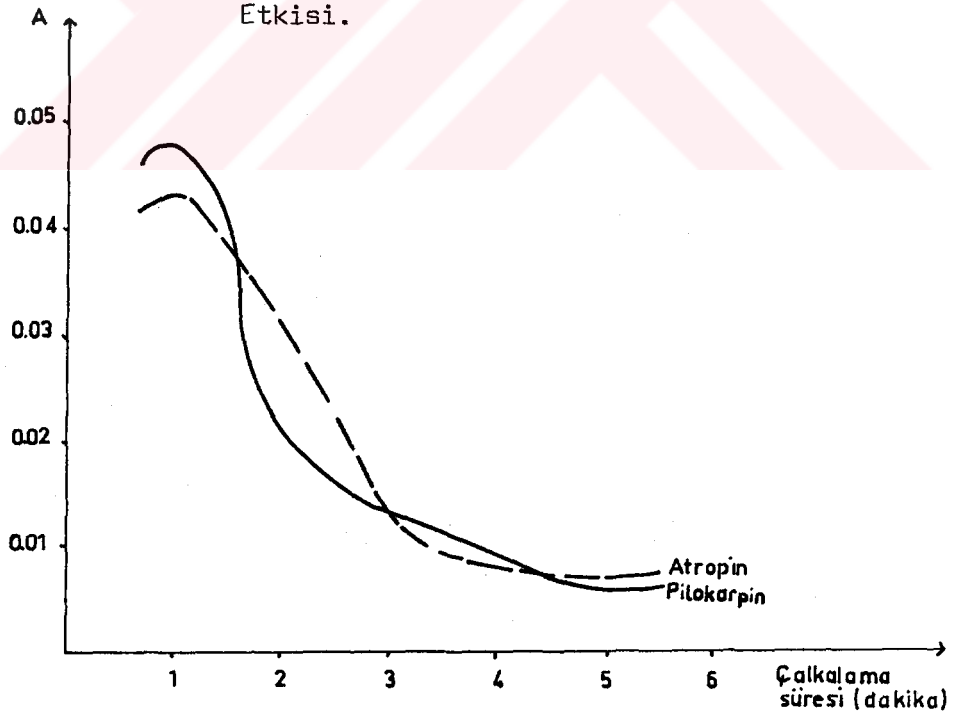
Şekil 32: Alkaloidlerin $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleksi ile İyon Çifti Verdikleri Çalışmalarda $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ Derişiminin Etkisi.



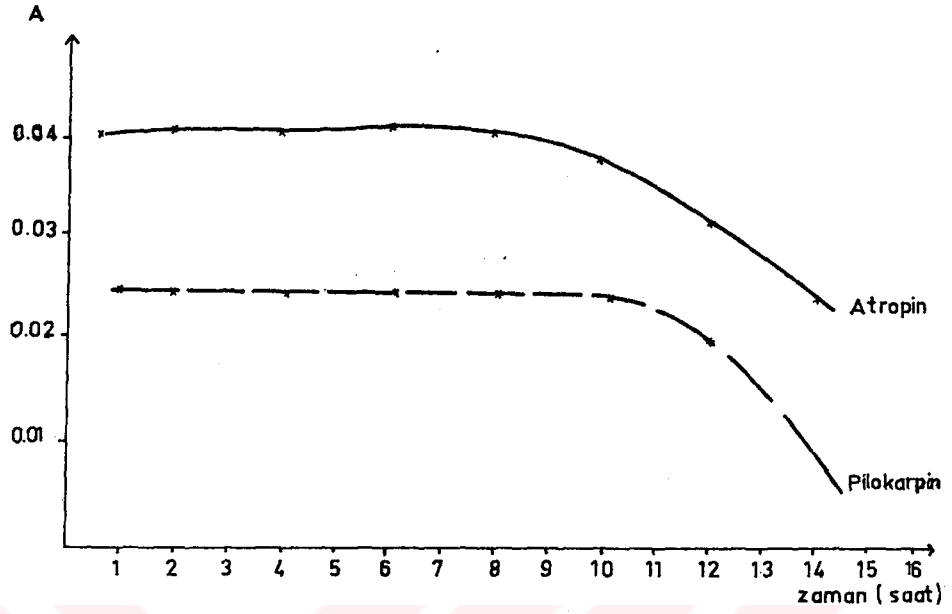
Şekil 33: Alkaloidlerin $\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleksi ile İyon Çifti Verdikleri Çalışmalarda $\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ Derişiminin Etkisi.



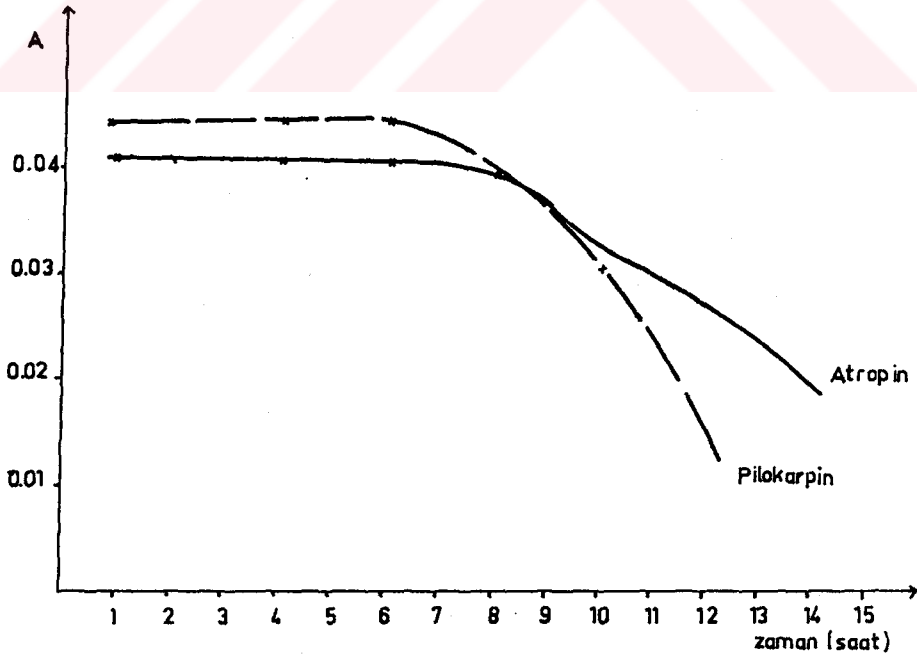
Şekil 34: Alkaloidlerin Ni(SCN)₄⁻² Kompleksi ile İyon Çifti Oluşturdukları Çalışmalarda Çalkalama Süresinin Etkisi.



Şekil 35: Alkaloidlerin Co(SCN)₄⁻² Kompleksi ile İyon Çifti Oluşturdukları Çalışmalarda Çalkalama Süresinin Etkisi.



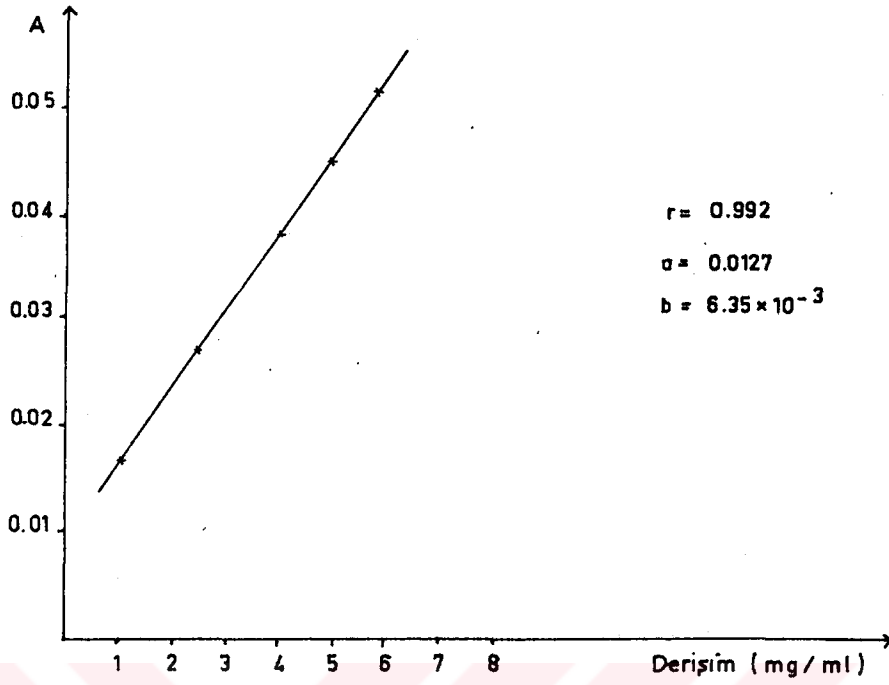
Şekil 36: Alkaloitlerin $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{2-}$ Kompleksi ile Oluşturdukları İyon Çiftlerinin Dayanıklılık Test Sonuçları.



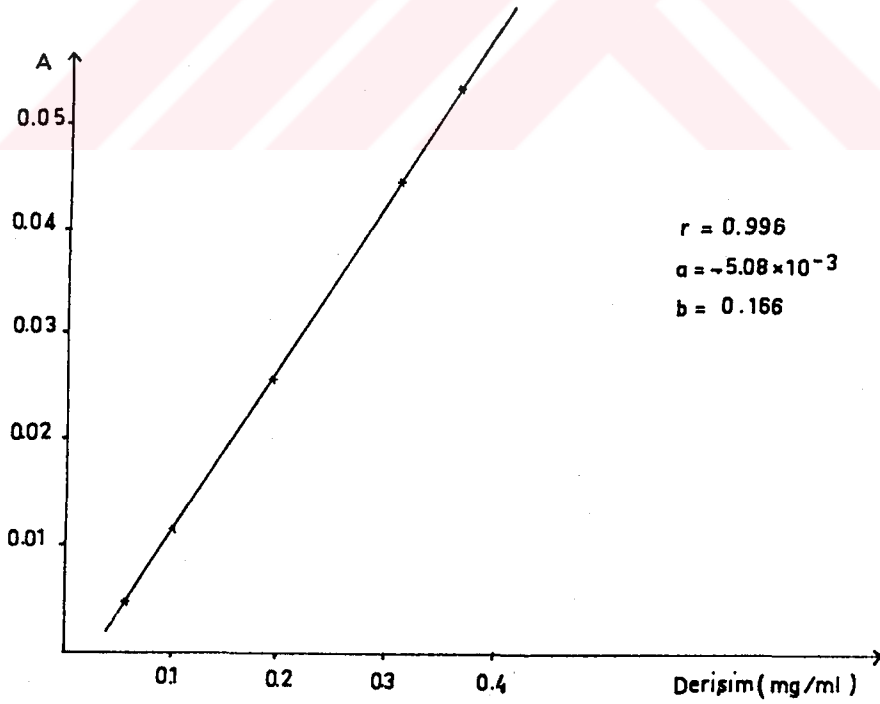
Şekil 37: Alkaloitlerin $\text{Co}(\text{SCN})_4^{2-}$ Kompleksi ile Oluşturdukları İyon Çiftlerinin Dayanıklılık Test Sonuçları

Tablo 3: Çalışmalarımızda Sağlanan En İyi Deney Koşulları.

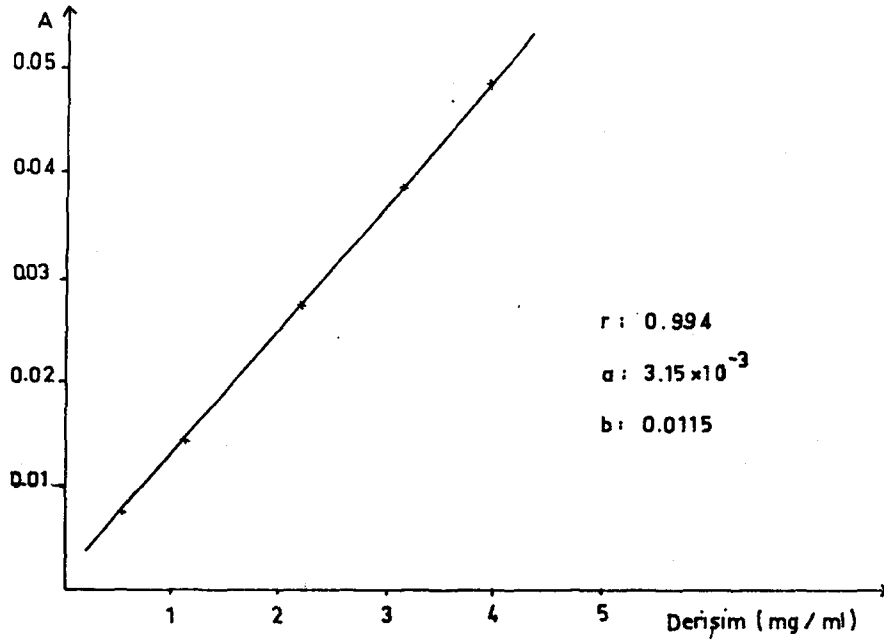
	pH	
	$Ni(SCN)_4^{-2}$	$Co(SCN)_4^{-2}$
Atropin sülfat	5.2	5.4
Pilokarpin hidroklorür	4.0	6.4
	İnorganik kompleksin derişimi	
	$Ni(SCN)_4^{-2}$	$Co(SCN)_4^{-2}$
Atropin sülfat	0.45 F	0.45 F
Pilokarpin hidroklorür	0.20 F	0.06 F
	Çalkalama süresi	
	$Ni(SCN)_4^{-2}$	$Co(SCN)_4^{-2}$
Atropin sülfat	4 dakika	1 dakika
Pilokarpin hidroklorür	4 dakika	1 dakika
	Tüketme sayısı	
	$Ni(SCN)_4^{-2}$	$Co(SCN)_4^{-2}$
Atropin sülfat	1	1
Pilokarpin hidroklorür	1	1



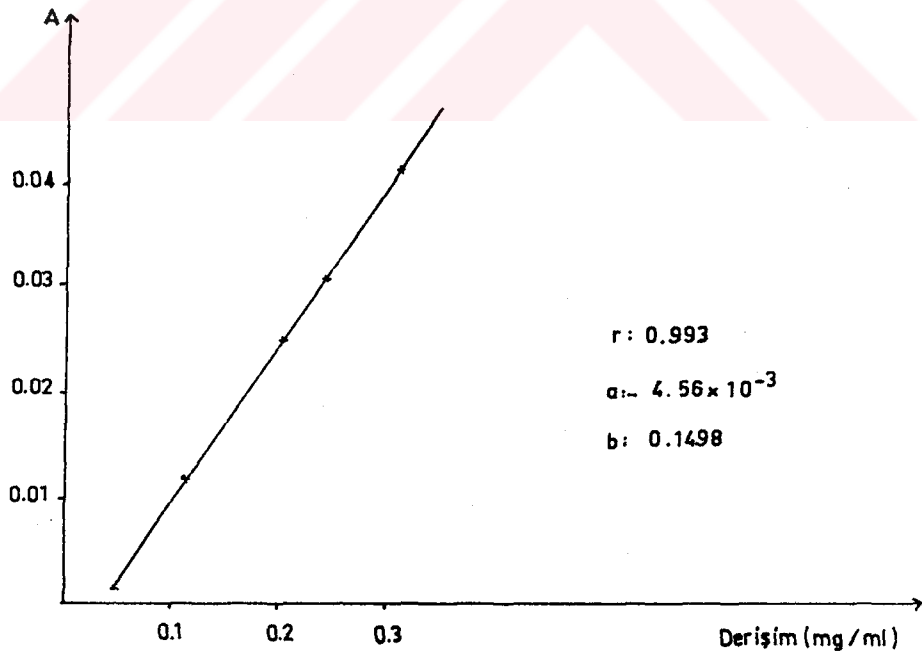
Şekil 38: Atropin Sülfat İçin Oluşturulan Standart Eğri
 ($\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleks Yapıcı Olarak Kullanıldığında).



Şekil 39: Pilocarpin Hidroklorür İçin Oluşturulan Standart Eğri ($\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleks Yapıcı Olarak Kullanıldığında).



Şekil 40: Atropin Sülfat İçin Standart Eğri ($\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleks Yapıcı Olarak Kullanıldığında).



Şekil 41: Pilocarpin Hidroklorür İçin Standart Eğri ($\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleks Yapıcı Olarak Kullanıldığında).

Tablo 4: Atrosol^(R) Göz Damlası İçin $Ni(SCN)_4^{-2}$ Kompleksinin Kullanılması ile Elde Edilen Analiz Bulguları.

Numune No	Bulunan Atropin Sülfat (mg/ml)	
1	20.00	
2	19.80	Belirtilen miktar:
3	20.00	20.00 mg/ml
4	19.50	$\bar{x} = 19.82 \text{ mg} \pm 0.09$
5	19.60	ss= 0.2229
6	20.00	
Karşılaştırma yöntemi ile elde edilen sonuçlar:*		
$\bar{x} = 19.50 \text{ mg} \pm 0.04 \text{ (n=6)}$.		

Tablo 5: Atropin Sülfat Enjeksiyonluk^(R) Çözeltisi İçin $Ni(SCN)_4^{-2}$ Kompleksinin Kullanılması ile Elde Edilen Analiz Bulguları.

Numune No	Bulunan Atropin Sülfat (mg/ml)	
1	0.25	
2	0.24	Belirtilen miktar:
3	0.25	0.25 mg/ml
4	0.28	$\bar{x} = 0.25 \text{ mg} \pm 0.01$
5	0.24	ss= 0.0147
6	0.25	
Karşılaştırma yöntemi ile elde edilen sonuçlar:*		
$\bar{x} = 0.24 \text{ mg} \pm 0.01 \text{ (n= 6)}$.		

(*)= Karşılaştırma yöntemi: $Co(SCN)_4^{-2}$ inorganik kompleksinin kullanılması ile yapılır.

Tablo 6: Lomotil^(R) Tablet için $Ni(SCN)_4^{-2}$ Kompleksinin Kullanılması ile Elde Edilen Analiz Bulguları.

Numune No	Bulunan Atropin Sülfat (mg/ml)	
1	0.027	
2	0.025	Belirtilen miktar:
3	0.026	0.025 mg/tablet
4	0.026	$\bar{x} = 0.025 \text{ mg} \pm 0.001$
5	0.025	$ss = 0.00077$
6	0.025	
Karşılaştırma yöntemi ile elde edilen sonuçlar:*		
$\bar{x} = 0.025 \text{ mg} \pm 0.001 \text{ (n=6)}$.		

Tablo 7: Pilocarsol^(R) Göz Damlası için $Ni(SCN)_4^{-2}$ Kompleksinin Kullanılması ile Elde Edilen Analiz Bulguları.

Numune No	Bulunan Pilocarpin Hidroklorür (mg/ml)	
1	21.80	
2	18.80	Belirtilen miktar
3	20.00	20.00 mg/ml
4	20.00	$\bar{x} = 20.16 \text{ mg} \pm 0.39$
5	20.00	$ss = 0.9668$
6	20.40	
Karşılaştırma yöntemi ile elde edilen sonuçlar:*		
$\bar{x} = 20.07 \text{ mg} \pm 0.09 \text{ (n=6)}$.		

(*): Karşılaştırma yöntemi: $Co(SCN)_4^{-2}$ inorganik kompleksinin kullanılması ile yapılmıştır.

Tablo 8: $Ni(SCN)_4^{-2}$ ve $Co(SCN)_4^{-2}$ Kompleks Yapıcıları ile Yapılan Çalışmalarda Atropin Sülfat ve Pilokarpin Hidroklorür için Oluşturulan Standart Eğrilerin Korelasyon, Regresyon Katsayıları ile Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü İçin Yapılan Hesaplamaların Sonuçları (*)

Standart Eğri	n	b	r	S_r	t_H	t_T	RKT	OAKT	RAKT	RAKO	OAKO	F_H	F_T
Atropin Sülfat ($Ni(SCN)_4^{-2}$ ile)	5	0.0064	0.992	0.07288	13.61	3.18	6.93×10^{-4}	7.01×10^{-4}	8.20×10^{-6}	2.73×10^{-6}	1.75×10^{-4}	0.01557	9.12
Pilokarpin hidro- klorür ($Ni(SCN)_4^{-2}$ ile)	5	0.1669	0.996	0.05157	19.31	3.18	1.81×10^{-3}	1.79×10^{-3}	1.80×10^{-5}	6.00×10^{-6}	4.48×10^{-4}	0.01339	9.12
Atropin sülfat ($Co(SCN)_4^{-2}$ ile)	5	0.0115	0.994	0.06315	15.74	3.18	1.07×10^{-3}	1.09×10^{-3}	1.40×10^{-5}	4.66×10^{-6}	2.72×10^{-4}	0.017	9.12
Pilokarpin hidro- klorür ($Co(SCN)_4^{-2}$ ile)	5	0.1497	0.993	0.06819	14.56	3.18	9.64×10^{-4}	9.79×10^{-4}	1.48×10^{-5}	4.93×10^{-6}	2.45×10^{-4}	0.020	9.12

(*) Terimler EK-1' de açıklanmaktadır.

Tablo 9: Göz Damlalarındaki Atropin Sülfat ve Pilocarpin Hidroklorür Miktarlarının Üç Ayrı Yöntemle Elde Edilen Sonuçlarının Karşılaştırılması. (*)

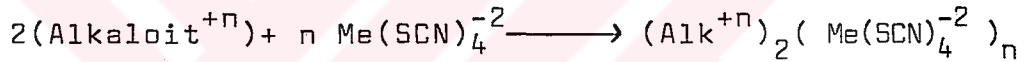
	Atropin Sülfat	Pilocarpin Hidroklorür
Belirtilen miktar	20.00 mg/ml	20.00 mg/ml
AAS ile bulunan miktar	19.82 mg \pm 0.09	20.16 mg \pm 0.39
TF 1974'e göre bulunan miktar	19.85 mg \pm 0.02	22.03 mg \pm 0.35
BP 1980'e göre bulunan miktar	19.85 mg \pm 0.05	21.72 mg \pm 0.26

(*) Verilen değerler 7 ilaçtan elde edilen değerlerin ortalamasıdır.

V. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızdaki atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür alkaloitlerinin zayıf bir kompleks olan nikel tiyosiyanat ($\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$) ile oluşturdukları iyon çiftlerinin oluşumu, kobalt tiyosiyanat ($\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$) inorganik kompleksi ile alkaloitlerin verdiklerine benzer şekildedir.

Bu da aşağıdaki şekilde ifade edilmektedir.

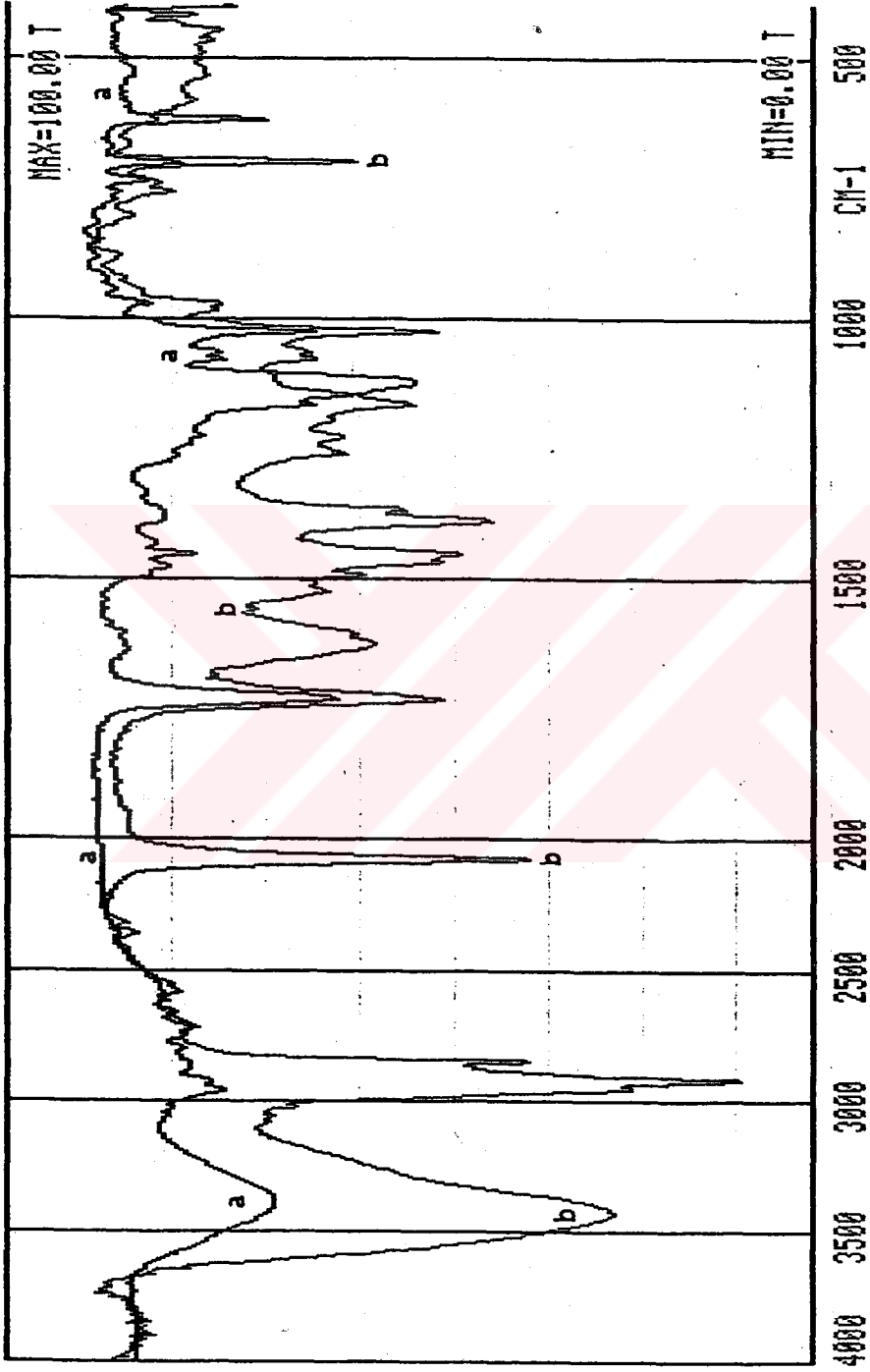


Atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür için $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ kompleksi ile iyon çifti oluşumu UV ve IR spektrumları alınarak ta belirlenmiştir. Saf atropin sülfat ile çekilen UV spektrumu ile iyon çifti oluşumunu takiben çekilen spektrum karşılaştırıldığında, 224 nm'de iyon çifti oluşumuna ait pik görülmüştür. 252, 257 ve 263 nm'de atropin sülfata ait görülen üçlü pik yanında oluşan bu pik kompleks yapının oluştuğunu göstermektedir. Saf pilokarpin hidroklorür ve $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ kompleksi ile verdiği iyon çiftinin UV spektrumlarında alınmıştır. 244 nm'deki yeni pik oluşumu iyon çiftinin varlığını göstermiştir.

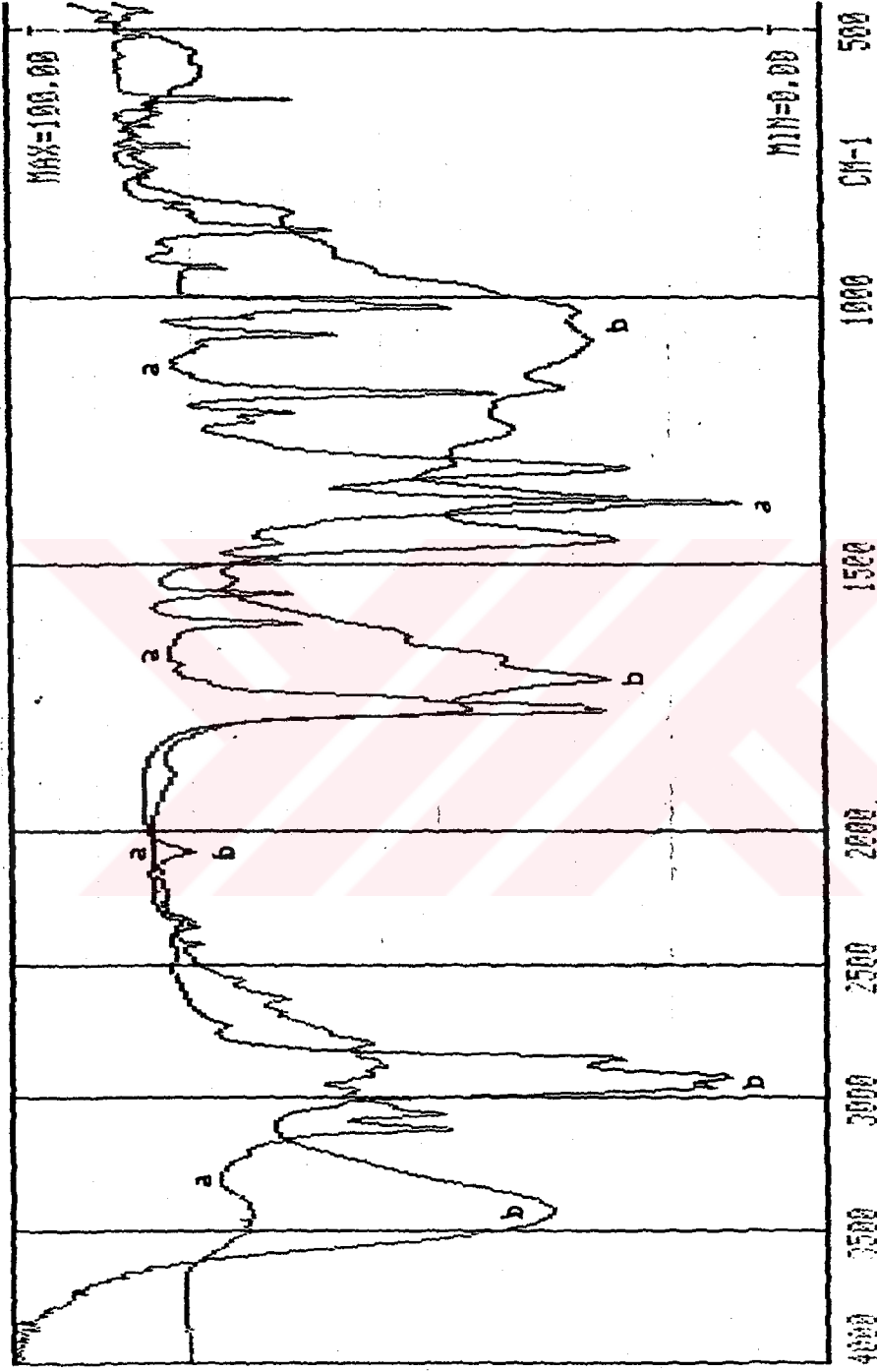
Saf atropin sülfat ve $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ inorganik kompleksinin oluşturduğu iyon çiftinin IR spektrumları çekilmiştir (Şekil 42). Bu spektrumlar karşılaştırıldığında, 3450 cm^{-1} 'de moleküller arası hidrojen bağlarından gelen

bant dışında, N-H gerilimine ait bant görülmektedir. 2080 cm^{-1} 'de görülen kuvvetli pik, R-S=C=N- ait gerilim pikini vermektedir. Bu da organik fazda iyon çiftinin varlığını gösterir. Oluşan pikin saf $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ inorganik kompleksinden değilde iyon çifti oluşumuna giren $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ 'den geldiği; alkaloit eklenmeden yapılan deneyler ile anlaşılmıştır. Saf $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ inorganik kompleksi ile yapılan çalışmada, organik faza nikel geçmediği AAS ile belirlendiği gibi IR spektrumları alındığında da o bölgede pik görülmemiştir.

Alkaloit ile oluşturulan iyon çifti organik faza geçmekte ve 2080 cm^{-1} 'deki pik bize iyon çiftinin oluşumunu göstermektedir. Ayrıca bu pik $\text{H}-\overset{\dagger}{\text{N}}\text{R}_3$ gerilimine ait olabilir. 1600 cm^{-1} 'de $\text{H}-\overset{\dagger}{\text{N}}\text{R}_3$ eğilme, 1390 cm^{-1} 'de simetrik N-H eğilme, 950 cm^{-1} 'de düzlem içi N-H sallanma ve 600 cm^{-1} 'de düzlem dışı N-H sallanma bantlarının bulunması, iyon çiftinin oluşumunda azot atomundan bir bağlanmanın olduğunu ve sonuçta kuaterner amonyum tuzu oluştuğunu göstermektedir. Saf pilokarpin hidroklorür ve $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ kompleksi ile verdiği iyon çiftinin IR spektrumları Şekil 43'de yer almaktadır. 3500-3400 cm^{-1} arasında N-H gerilim bandının oluştuğu, iyon çifti içeren spektrumda görülmektedir. 2090 cm^{-1} 'de R-S=C=N- ait gerilim piki olması, iyon çiftinin oluşumunu, 1710 cm^{-1} 'de asimetrik N-H eğilme ve 1450 cm^{-1} 'de, simetrik N-H eğilme bantlarının varlığı, 1250 cm^{-1} 'de H-N-C içeren N-H eğilme ve C-N gerilim bantları, 630 cm^{-1} 'de düzlem dışı N-H sallanma bantlarının bulunması iyon çifti oluşumunun azot atomunda olduğunu göstermektedir.



Şekil 42: Saf Atropin Sülfat (a) ve $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{2-}$ Kompleksi ile Oluşturduğu İyon Çiftinin (b) IR Spektrumları.



Şekil 43: Saf Pilocarpin Hidroklorür (a) ve $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ Kompleksi ile Oluşturduğu İyon Çiftinin (b) IR Spektrumları.

Çalışmalarımızın başlangıcında, demir, krom, bakır, nikel metal kompleksleri, alkaloitler ile iyon çifti oluşturulmasında denenmiş, tekrarlanabilirlik ve duyarlık açısından en iyi sonuçların alındığı nikel tiyosiyanat kompleksinin kullanılmasına karar verilmiştir. Ayrıca UV ve IR çalışmaları ile seçilen kompleksin diğerlerine göre daha dayanıklı iyon çiftleri oluşturdukları bulunmuştur.

Oluşturulan iyon çiftlerinin organik faz ile tüketilmesi sırasında polariteleri düşük ve birbirine yakın olan kloroform, karbon tetraklorür, 1,2-dikloroetan ile metil izobütil keton denenmiştir. Ayrıca çalışmalar sırasında, tüketme işleminde organik faz/su arasındaki dağılıma bağlı olarak en yüksek dağılım katsayısına sahip organik çözücünün seçilmesine çalışılmıştır. Sonuçta, atropin sülfat ile yapılan deneylerde metil izobütil keton, pilokarpin hidroklorür ile yapılan denemelerde ise, 1,2-dikloroetan kullanılmasının uygun olduğu bulunmuştur. Polaritesi 1,2-dikloroetana yakın olması dolayısıyla denemelerde önemli yer alan kloroformun alevde artan miktarlarda hidroklorik asit oluşturmaya karşılık alev sıcaklığı azalmakta ve okumalarda bozukluklar oluşmaktadır. Bu nedenle 1,2-dikloroetan seçilmiştir.

Tüketme işlemi sırasında önemli bir faktörde, organik faz/su fazı arasındaki orandır. Çeşitli faz oranlarının denenmesinden sonra en iyi sonucun 1/5 (organik faz/sulu faz) oranında sağlandığı görülmüştür.

Organik fazla tüketme işleminden önce pH'nın değişimi ile yapılan incelemelerde, elde edilen sonuçlar Şekil 30'da gösterilmiştir. Maksimum absorpsiyon değerinin elde edildiği atropin sülfat için 5.2, pilokarpin hidroklorür için 4.0 pH değerlerinde çalışmaların yapılması uygun bulunmuştur. Ortamın asidik olması iyon çifti oluşumundan ziyade oluşan iyon çiftinin dayanıklılığını sağlamaktadır.

Alkaloitler ile iyon çifti oluşturulması için gerekli olan metal kompleks derişimi, okunan absorpsiyon değerlerine etki etmektedir. Atropin sülfat ile yapılan çalışmalarda 0.45 M, pilokarpin hidroklorürle çalışmalarda 0.20 M Ni(SCN)_4^{-2} derişiminin seçilmesi Şekil 32'den de görülebileceği gibi en uygun olanıdır.

Deneyler süresince absorpsiyon değerlerine çalkalama süresinin etkisinin bulunup bulunmadığı araştırılmış ve 15 saniye ile 10 dakika arasındaki aralıklarda yapılan çalışmalar sonucunda 4 dakikalık bir çalkalama süresinin organik faz ile maksimum tüketme için yeterli olduğu bulunmuştur (Şekil 34). Ayrıca değişik çalkalama sürelerinde çalışmalar yapılırken her süre için çeşitli sayıda tüketmelerde denenmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda elde edilen absorpsiyon değerlerine göre, 4 dakikalık 1 tüketmenin yeterli ola-

cağı görüşüne varılmıştır.

Atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür ile yapılan çalışmalarımızda oluşturulan iyon çiftlerinin en az 12 saat dayanıklı oldukları bulunmuştur (Şekil 36). 12 saatte sonra sonra belirli aralıklarla stok çözelti ile aynı koşullarda hazırlanan yeni çözeltinin karşılaştırılmasına devam edilmiştir. Okunan absorpsiyon değerlerinde azalmalar görülmüş ve 24 saate yaklaşıldığı zaman bu değerlerin çok düşük miktarlara indiği belirlenmiştir. Ayrıca oluşan iyon çiftlerinin ışık etkisi ile bozulup bozulmadığıda incelenmiştir. Dayanıklılık testi, bir gruba gün ışığında, diğer gruba ise ışıktan korunma sağlanarak uygulanmıştır. Işıktan korumak için alüminyum kağıt kaplı cam malzeme kullanılmış ve karanlık odalarda çalışılmıştır. Her iki grup için elde edilen absorpsiyon değerleri birbirlerine çok yakın bulunmuştur. 12 saat sonunda ise, iki grupta da bozunma görülmüştür. Bu sonuçlara dayanarak iyon çifti oluşumuna ve kararlılığına gün ışığının bir etkisi bulunmadığına karar verilerek, çalışmalarımızdaki ışıktan korunma gereksinimi kaldırılmıştır.

Çalışmalarımızda kullanılan AAS'nin seçilen parametreleri Tablo 2'de yer almaktadır. Asetilen/hava basınç oranları çeşitli oranlarda ayarlanarak deneyler yapılmıştır. En uygun oranın 15/45 asetilen/hava olduğu bulunmuştur. Bu orandaki karışım sağlandığında alevin yanışı düzenli olmaktadır. Aksi takdirde çok parlak veya çok silik alevler elde edilmekte, ayrıca istenilen alev sıcaklığına ula-

şılması zor olmaktadır.

Çalışmalarımızda, AAS'ne boncuk tipi sisleştirci takılı olarak yapılan deneyler, aynı zamanda akış bozucu tipi sisleştirci kullanılarak da tekrarlanmıştır. Akış bozucu tipi sisleştirci ile yapılan uygulamalarda, belirli bir derişim aralığında okunan absorbans değerleri, boncuk tipi ile okunandan daha düşük olmaktadır. Ayrıca, 10 ppm'den daha düşük derişimlerde akış bozucu tipi sisleştirci kullanımı ile okumaların yapılmasının sağlıklı sonuçlar vermediği görülmüştür. Bu nedenle çalışmalarımız, sisleştirmenin daha homojen ve duyarlı yapıldığı boncuk tipi ile sürdürülmüştür.

AAS parametrelerinin seçilmesinde ayarlanan diğer bir faktörde okuma zamanı olmuştur. 0.1 ile 2.0 saniye arasındaki aralıklarla okuma yapılarak alınan değerleri karşılaştırdığımız zaman en kararlı değerlerin 0.5 saniyede bir okuma alındığında elde edildiği bulunmuştur. Ayrıca 0.5 saniye aralıklarla 10 okuma yapılarak cihaz içinde bulunan bilgisayar birimi tarafından bulunan değerlerin ortalaması alınmıştır.

Çalışılan AAS aleti ile ilgili olarak bulunup, geliştirilen parametreler organik çözücü kullanılmasının üstünlüklerini ortaya çıkarmakta yardımcı olmuştur. Bunlardan birkaçı aşağıda verilmektedir (28):

a) Organik ligantlar ile şelat oluşturan hidrate olmayan metallerin bozulması ile oluşan atomlar, azalan atmosfer tarafından korunurlar.

b) Organik bileşiklerin bozulma ürünlerinin, oksitlerinin, indirgenme ürünleri ile alevde kondanse olarak verdikleri yeni ürünler gaz fazında alevin özelliklerini değiştirebilir.

c) Aromatik veya siklik bileşikler gibi organik ligantların varlığında, yanma ısısında azalma ve ekzotermik tepkimeler tarafından alev ısısında azalmalar olabilir. Organik maddeler alevde ekzotermik olarak yanarlar. Bu özelliklerinden dolayı çalışmamızda, oluşturulan iyon çiftleri uygun organik fazlara alınarak, bu fazlardaki metalin tayini AAS ile yapılmıştır.

Atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür alkaloitlerinin miktar tayinleri için geliştirilen yöntemimizde, her iki alkaloit içinde saf maddelerden standart eğriler oluşturulmuştur. Bu eğrilerin doğrusal olduğu aralıklar saptanmıştır. Böylece atropin sülfat için alt tayin sınırının 0.5 mg/ml, üst tayin sınırının ise 6.0 mg/ml olduğu, pilokarpin hidroklorür için bu sınırların 0.005 mg/ml ile 0.4 mg/ml arasında olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda, $Ni(SCN)_4^{-2}$ yanı sıra $Co(SCN)_4^{-2}$ kompleksi kullanılarak iyon çifti oluşumu sağlanmıştır (2). Her iki kompleks ile yapılan çalışmalar için deneysel koşullar Tablo 3'de bildirilmiştir. İki yöntem arasındaki önemli fark, belirlenme sınırında görülmektedir. Atropin sülfat $Ni(SCN)_4^{-2}$ kompleksi ile çalışıldığında 0.5 mg/ml olarak bulunan alt tayin sınırı, $Co(SCN)_4^{-2}$ kompleksi kulla-

bulduğunda 1.25 mg/ml olarak bulunmaktadır. $\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ kompleksi ile çalışmalarda 3.75 mg/ml bulunan üst tayin sınırı ise geliştirilen yöntem ile 6.00 mg/ml sınırına çıkarılmıştır. Pilocarpin hidroklorür miktar tayini için $\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ kompleksi ile çalışıldığında, 0.050 mg/ml olarak bulunan alt tayin sınırı, $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ kompleksi kullanılan çalışmalarda 0.005 mg/ml değerine indirildiği gibi, $\text{Co}(\text{SCN})_4^{-2}$ ile 0.3 mg/ml olan üst sınır da $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$ ile 0.4 mg/ml'ye genişletilebilmiştir.

Belirlenme sınırlarında olan bu genişleme farmasötik preparatların daha az miktarları ile tayin yapılabilmesine olanak verir. Atropin sülfat içeren göz damlası, ampul ve tablet ile, pilokarpin hidroklorürden oluşan göz damlası farmasötik şekillerine yöntemin uygulanabilirliği gösterilmiştir.

Ayrıca her iki alkaloid içinde aynı olan göz damlası farmasötik şekillerinde, alkaloidlerin miktar tayinleri Türk Farmakopesi ve İngiliz Farmakopesi (BP) ile de yapılmıştır. Spektrofotometrik ve titrimetrik olan bu yöntemler ile elde edilen sonuçlar AAS ile alınan verilerle karşılaştırıldığında aralarında fark bulunmadığı görülmüştür. Bu da geliştirilen yöntemin farmakope yöntemleri ile karşılaştırılabileceğini ve daha düşük belirlenme düzeylerine inilebildiği için özellikle atropin zehirlenmelerinde yöntemin kullanılabilir olacağını ortaya çıkarmaktadır.

AAS ile miktar tayinlerini yaptığımız nikel ve

kobalt metalllerinin çalıştığı düzeylerdeki analizleri için alevli AAS yeterli bulunmuştur. Ayrıca alevli AAS kullanımının benzer çalışmalar için grafit fırın AAS ve ICP'ye üstün geldiği görülmektedir (70). Geliştirilen yöntem tekrarlanabilir sonuçlar vermesi, duyarlılığı, diğer atomik absorpsiyon yöntemleri yanında ucuzluğu, güvenilirliği açısından seçilmiştir. Amerikan farmakopesinde önerilmekte olan gaz kromatografik yöntemle göre daha az madde ve zaman harcanması gerektiğinde bir gerçektir.

Alkaloitler ve yer aldıkları müstahzarlar dışında çeşitli inorganik kompleksler ile iyon çifti verebilecek ilaç gruplarına yöntemin uygulanabilir olacağı düşünülmektedir. Son yıllarda bu konuda yoğunlaşan çalışmalar bu düşünceyi desteklemektedir.

Çalışmamızda, alkaloitler ile $Ni(SCN)_4^{-2}$ inorganik kompleksi kullanılarak oluşturulan iyon çiftlerinin $Co(SCN)_4^{-2}$ kompleksi ile oluşturulanlara göre daha dayanıklı olduğu, daha geniş kompleks derişim aralığı kullanılarak oluşturuldukları, tüketme için uygun çalkalama sürelerinin fazla bulunması ve elde edilen atropin sülfat ile pilokarpin hidrok. için standart eğrilerde doğrusallık sınırının daha fazla olduğu görülmüştür.

AAS ile kan, serum, plazma, idrar ve biyolojik dokularda doğrudan yöntemlerle metal analizleri rutin olarak yapılmaktadır (71). Enzim tanımları (72) ve organik maddelerin belirlenebilmeleri ile biyolojik sıvılarda organik maddelerin tayini için çalışmaların yapılması düşünülmektedir. Geliştirilen yöntemde alt tayin sınırının düşük bulunmasında atropin zehirlenmelerinde bu yöntemin önerilebileceğini göstermektedir.

ÖZET

Bu çalışmada atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür alkaloidlerinin, inorganik bir kompleks olan $Ni(SCN)_4^{-2}$ ile oluşturdukları iyon çiftlerinin organik fazda tüketilmesini takiben organik fazdaki nikelin 232 nm'de atomik absorpsiyon spektrofotometresinde ölçülmesini içeren miktar tayini yöntemi geliştirilmiştir.

Organik faz olarak atropin sülfat için metil izobütil keton, pilokarpin hidroklorür için 1,2-dikloroetanın seçildiği çalışmada, pH, $Ni(SCN)_4^{-2}$ derişimi, çalkalama süresi, sulu/organik faz oranı, tüketme sayısı ve alet parametrelerinin en uygun olduğu koşullar bulunmuştur.

Kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması sonucunda atropin sülfat için 0.5 mg/ml - 6.0 mg/ml, pilokarpin hidroklorür için 0.005 mg/ml - 0.4 mg/ml sınırları arasındaki miktar tayinlerinin doğrusal olarak yapılabileceği saptanmıştır.

Geliştirilen miktar tayini yöntemi Türkiye'de bulunan atropin sülfat içeren müstahzarların göz damlası, ampul ve tablet; Pilokarpin hidroklorür içeren göz damlası farmasötik şekillerine uygulanmıştır. Bu ilaçlar için elde edilen sonuçlar Türk ve yabancı farmakopelerde kayıtlı bulunan yöntemler ile karşılaştırılarak değerlerin verilen sınırlar içinde olduğu bulunmuştur.

SUMMARY

In this study, an assay method has been developed which consist of extracting of ion pairs between the alkaloïds, atropine sulphate and pilocarpine hydrochloride, and the inorganic complex $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$, then measuring nickel in the organic phase by atomic absorption spectrophotometry at 232 nm.

Methyl isobutyl ketone for atropine sulphate and 1,2 dichloroethane for pilocarpine hydrochloride have been chosen as organic phase. The optimal experimental conditions of pH, concentration of $\text{Ni}(\text{SCN})_4^{-2}$, shaking time, aqueous/organic phase ratio and number of extractions were determined.

Calibrations curves for atropine sulphate and pilocarpine hydrochloride have been obtained and linear range were found to be in between 0.5 mg/ml - 6.0 mg/ml and 0.005 mg/ml - 0.4 mg/ml, respectively.

The method developed has been applied to the pharmaceutical preparations such as eye drops, injections and tablets containing atropine sulphate and eye drops containing pilocarpine hydrochloride marketed in Turkey.

The results obtained for these drugs have been compared with the methods in Turkish and British Pharmacopoeiae and found to be in a good agreement.

KAYNAKLAR

- 1- Vargas, M.G., Milla, M., Bustamante, J.A.P., Atomic Absorption Spectroscopy as a Tool for the Determination of Inorganic Anions and Organic Compounds. A Review, *Analyst*, 108, 1417 (1983).
- 2- Nerin, C., Garnica, A., Cacho, J., Indirect Determination of Alkaloids and Drugs by Atomic Absorption Spectrometry, *Anal. Chem.*, 57, 34 (1985).
- 3- Volland, G., Kölblin, G., Tschöpel, P., Tölg, G., Einige Systematische Fehlerquellen bei der Bestimmung von Elementen im ng, -und pg- Bereich mit der Atomabsorptionsspektrometrie mit flammerloser Anregung im Graphitofen, *Z. Anal. Chem.*, 284, 1 (1977).
- 4- Skoog, D.A., West, D.M., Principles of Instrumental Analysis, 2nd. Edition, Saunders College Holt, USA (1980).
- 5- Welz, B., Atomic Absorption Spectrometry, Second, Completely Revised Edition, Meersburg(1985).
- 6- Hassan, S.S., Organic Analysis Using Atomic Absorption Spectrometry, Ellis Horwood Limited, England (1984).
- 7- Harris, D.C., Quantitative Chemical Analysis, W.H. Freeman and Company, USA (1982).
- 8- Varma, A., CRC Handbook of Atomic Absorption Analysis, CRC Press, Inc., USA (1984).

- 9- Pillow, A., Critical Review of Spectral and Related Physical Properties of the Hollow Cathode Discharge, *Spectrochim. Acta*, 36B, 821 (1981).
- 10- Barnett, W.B., Vollmer, J.W., DeNuzzo, S.M., The Application of Electrodeless Discharge-Lamps in Atomic Absorption, *Atom. Absorp. Newsletter*, 15, 33 (1976).
- 11- Aggett, J., O'Brien, G., Formation of Chromium Atoms in Air-Acetylene Flames, *Analyst*, 106, 497 (1981).
- 12- Manning, D.C., The Nitrous Oxide-Acetylene Flame in Atomic Absorption Spectroscopy, *Atom. Absorp. Newsletter*, 5, 127 (1966).
- 13- Pau, J.C.M., Pickett, E.E., Koirtyohann, S.R., Determination of Boron in Plants by Emission Spectroscopy with the Nitrous Oxide-Hydrogen Flame, *Analyst*, 97, 860 (1972).
- 14- L'vov, B.V., The Potentialities of the Graphite Crucible Method in Atomic Absorption Spectroscopy, *Spectrochim. Acta*, 24B, 53 (1969).
- 15- Amos, M.D., Bennett, P.A., Brodie, K.G., Lung, P.W.Y., Matousek, J.P., Carbon Rod Atomizer in Atomic Absorption and Fluorescence Spectrometry and Its Clinical Application, *Anal. Chem.*, 43, 211 (1971).
- 16- Mossotti, V.G., Laqua, K., Hagenah, W.D., Laser-Microanalysis by Atomic Absorption, *Spectrochim. Acta*, 23B, 197 (1967).

- 17- Kennedy, K.R., Crock, J.G., Determination of Mercury in Geological Materials by Continuous-Flow, Cold-Vapor, Atomic Absorption Spectrophotometry, Anal Lett., 20, 899 (1987).
- 18- Şener, B., Orbey, M.T., Temizer, A., Modern Analiz Yöntemleri, Seldem ofset, Ankara (1986).
- 19- Sullivan, J.V., Walsh, A., The Application of Resonance Lamps as Monochromators in Atomic Absorption Spectroscopy, Spectrochim. Acta, 22, 1843 (1966).
- 20- Looyenga, R.W., Huber, C.O., The Determination of Sulphate by Atomic Absorption Inhibition Titration, Anal. Chim. Acta, 55, 179 (1971).
- 21- Chakrabarti, C.L., Wan, C.C., Hamed, H.A., Bertels, P.C., Matrix Interferences in Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry by Capacitive Discharge Heating, Anal. Chem., 53, 444 (1981).
- 22- Verbeke, J.S., Michotte, Y., Winkel, P., Massard, D.L., Matrix Effects in the Determination of Copper and Manganese in Biological Materials using Carbon Furnace Atomic Absorption Spectrometry, Anal. Chem., 48, 125 (1976).
- 23- Morris, J.D., West, T.S., Some Application of Spectral Overlap in Atomic Absorption Spectrometry, Anal. Chem., 46, 1423 (1974).
- 24- Koirtzjohann, S.R., Pickett, E.E., Spectral Interferences in Atomic Absorption Spectrometry, Anal. Chem., 38, 585 (1966).

- 25- Ruthledge, M.J., Smith, B.W., Wiefordner, J.D., Estimation of Absolute Analyte Number Densities in Atomic Emission, Absorption, and Fluorescence Using Line and Continuum Sources, *Anal. Chem.*, 59, 1794 (1987).
- 26- Koizumi, H., Yasuda, K., Determination of Lead, Cadmium and Zinc Using the Zeeman Effect in Atomic Absorption Spectrometry, *Anal. Chem.*, 48, 1178 (1976).
- 27- Koizumi, M., Sawakabu, H., Koga, M., Correction for Double Valued Calibration Curves in Zeeman Effect Atomic Absorption Spectrometry, *Anal. Chem.*, 54, 1029 (1982).
- 28- Komerak, J., Sommer, L., Organic Complexing Agents in Atomic Absorption Spectrometry. A Review, *Talanta*, 29, 159 (1982).
- 29- Hartlage, F.R., Effect of Amines on Atomic Absorption Analyses, *Anal. Chim. Acta*, 39, 273 (1967).
- 30- Kumamaru, T., A New Application of Atomic Absorption Spectrophotometry. Determination of Phthalic Acid by Solvent Extraction with Neocuproine-Copper (I) Chelate, *Anal. Chim. Acta*, 43, 19 (1968).
- 31- Alder, J.F., Das, B.C., Indirect Determination of Uranium by Atomic Absorption Spectrophotometry Using a Air-Acetylene Flame, *Analyst*, 102, 564 (1977).
- 32- Box-Xing, X., Tong-Ming, X., Ming-Neng, S., Yu-Zhi, F., Indirect Determination of Trace Phenol in Water by Atomic Absorption Spectrophotometry, *Talanta*, 32, 215 (1985).

- 33- Bo-Xing, X., Tong-Ming, X., Yu-Zhi, F., Indirect Determination of Cyanide in Water by Atomic Absorption Spectrophotometry, *Talanta*, 31, 141 (1984).
- 34- Zaugg, W.S., Knox, R.J., Indirect Determination of Inorganic Phosphate by Atomic Absorption Spectrophotometric Determination of Molybdenum, *Anal. Chem.*, 38, 1759 (1966).
- 35- Bernal, J.L., Nozal, M.J., Deban, L., Aller, A.J., An Indirect Method for Determining Phosphorus in Aluminium Alloys by Atomic Absorption Spectrometry, *Talanta*, 28, 469 (1981).
- 36- Jungreis, E., Ain, F., Determination of Cyanide in the p.p.b. Range by Atomic Absorption Spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 88, 191 (1977).
- 37- Christian, G.D., Feldman, F.J., Determination of Non-metals by Atomic Absorption Spectrophotometry, *Anal. Chim. Acta*, 40, 173 (1968).
- 38- Oles, P.J., Siggia, S., Atomic Absorption Method for Determining Micromolar Quantities of 1,2-Diols, *Anal. Chem.*, 46, 2197 (1974).
- 39- Heinrichs, H., Keltsch, H., Determination of Arsenic, Bismuth, Cadmium, Selenium, and Thallium by Atomic Absorption Spectrometry with a Volatilization Technique, *Anal. Chem.*, 54, 1211 (1982).
- 40- Roden, D.R., Tallman, D.E., Determination of Inorganic Selenium Species in Groundwaters Containing Organic Interferences by Ion Chromatography and Hydride Generation/Atomic Absorption Spectrometry, *Anal. Chem.*, 54, 307 (1982).

- 41- Lee, D.S., Determination of Nickel in Seawater by Carbonyl Generation, Anal. Chem., 54, 1182 (1982).
- 42- Gilpin, R.K., Pachla, L.A., Pharmaceuticals and Related Drugs, Anal. Chem., 57, 29R (1985).
- 43- British Pharmacopoeia, Her Majesty's Stationery Office, London (1980).
- 44- Türk Farmakopesi, Milli Eğitim Basımevi, İstanbul (1974).
- 45- Majlat, P., Beiträge zur Gaschromatografischen Bestimmung von Atropin, Theophyllin, Phenobarbital und Aminophenazon in Tabletten, Pharmazie, 38, 520 (1983).
- 46- The Pharmacopoeia of the United States of America, United States Pharmacopoeial Convention, Inc., USA (1984).
- 47- Jira, T., Beyrich, T., Lemke, E., Beitrag zur Ionenpaar-Umkehrphasen- HPLC von Tropan- Alkaloiden, Pharmazie, 39, H5 (1984).
- 48- Diaz, F.J., Determination of Cyanocobalamin by Atomic Absorption Spectrophotometry with a Pre- Mix Air- Acetylene Flame, Anal. Chim. Acta, 58, 455 (1972).
- 49- Berger, S.A., The Use of Atomic Spectroscopy for the Determination of Parameters in the Solvent Extraction of Metal Chelates. Atom. Absorp. Newsletter, 12, 30 (1973).
- 50- Roy, N.K., Das, A.K., Determination of Tungsten in Rocks and Minerals by Chelate Extraction and Atomic-Absorption Spectrometry, Talanta, 33, 277 (1986).

- 51- Jones, D.R., Manahan, S.E., Detection Limits for Flame Spectrophotometric Monitoring of High Speed Liquid Chromatographic Effluents, *Anal. Chem.*, 48, 1897 (1976).
- 52- Matsueda, T., Morimoto, M., Indirect Determination of Alkaloids by Atomic Absorption Spectrometry, *Bunseki Kagaku*, 30, 811 (1981). Ref: C.A. 96, 62356-m (1982).
- 53- Kneebone, B.M., Freiser, H., Determination of Carbon Disulfide in Industrial Atmospheres by an Extraction-Atomic Absorption Method, *Anal. Chem.*, 47, 942 (1975).
- 54- Oles, P.J., Siggia, S., Atomic Absorption Method for Determining Micromolar Quantities of Aldehydes, *Anal. Chem.*, 46, 911 (1974).
- 55- Tan, B., Mellius, P., Kilgore, M.V., Determination of 1,2-Diols by Indirect Atomic Absorption with Digested Lead Periodate, *Anal. Chem.*, 52, 602 (1980).
- 56- Perez, C.G., Mendez, J.H., Martin, M.G., Metal Complexes of 1,4-Benzodiazepines, Determination of Bromazepam in Drugs by Atomic Absorption Spectrophotometry, *Farmaco-Ed. Pr.*, 38, 383 (1983).
- 57- Nerin, C., Cacho, J., Garnica, A., Indirect Determination of Bromhexine by Atomic Absorption Spectrophotometry, *Anal. Lett.*, 18, 1887 (1985).
- 58- Nerin, C., Garnica, A., Cacho, J., Indirect Determination of Nitrogenated Drugs by Atomic Absorption Spectrometry, *Anal. Chem.*, 58, 2617 (1986).

- 59- Nerin, C., Cacho, J., Garnica, A., Indirect Determination of Pyrrolizidine Alkaloids by Atomic Absorption Spectrometry, International Symposium in Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Barcelona, September 23-25 (1987).
- 60- Ayad, M., Abd El Aziz, L., El Kheir, A., Atomic Absorption Determination of Certain Sulfonamides Via Their Metal Complexes, Anal. Lett., 16, 1335 (1983).
- 61- Ayad, M., Khayyal, S.E., Farag, N.M., Atomic Absorption Determination of Nicotine in Tobacco, Spectrochim, Acta, 40B, 1127 (1985).
- 62- Lee, W.K., Park, M.K., Kim, B.K., Sohn, C.Y., Pipethanate Hydrochloride by Spectrophotometry and AAS, Yakhak Hoechi, 27, 303 (1983). Ref: C.A. 100, 197855-v (1984).
- 63- Crisp, P.T., Eckert, J.M., Gibson, N.A., The Determination of Anionic Detergents with the Bis (ethylenediamine) copper(II) ion, Anal. Chim. Acta, 78, 391 (1975).
- 64- Crisp, P.T., Eckert, J.M., Gibson, A., An Atomic Spectrometric Method for the Determination of Non-Ionic Surfactants, Anal. Chim. Acta, 104, 93 (1979).
- 65- Gallego, M., Silva, M., Varcacel, M., Indirect Atomic Absorption Determination of Anionic Surfactants in Wastewaters by Flow Injection Continuous Liquid-Liquid Extraction, Anal. Chem., 58, 2265 (1986).
- 66- Mendez, J.H., Blas, O.J., Martin, V.R., Lopez, E.S., Indirect Determination of the Pesticide Malathion by Atomic Absorption Spectrophotometry, Anal. Lett., 18, 2069 (1985).

- 67- Clark, E.R., Yacoub, A.K., Indirect Determination of Organic Compounds by Atomic Absorption Spectrophotometry, *Talanta*, 31, 15 (1984).
- 68- Somer, G., Green, M., Temizer, A., Çakır, O., Solak, A.O., Özyörük, G., Hava Kirinde Ağır Elementler, TBTAk Temel Bilimler Araştırma Grubu Projesi-171 (1977).
- 69- Sümbüloğlu, K., Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik, Çağ Matbaası, Ankara (1978).
- 70- Slavin, W., Flames, Furnaces, Plasmas, How Do We Choose, *Anal. Chem.*, 58, 589A (1986).
- 71- Holcombe, J.A., Rettberg, T.M., Atomic Absorption, Atomic Fluorescence, and Flame Emission Spectrometry, *Anal. Chem.*, 58, 124R (1986).
- 72- Tan, B., Melius, P., Indirect Atomic Absorption Spectrometric Assay for Epoxide Hydrolase, *Anal. Lett.*, 14, 311 (1981).

EK 1

Standart eğrilerin çizilmesinde yapılan istatistiksel hesaplamalar:

Korelasyon katsayısı (r) aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (41).

$$r = \frac{\Sigma xy - \frac{(\Sigma x)(\Sigma y)}{n}}{\sqrt{(\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n})(\Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{n})}}$$

x= Derişim (mg/ml)
y= Absorbans

"Korelasyon Katsayısı tesadüfi bir değerdir" şeklinde kurulan H_0 hipotezini sınamak amacıyla korelasyon katsayısı standart hatası (S_r) bulunarak t_H değeri hesaplanmıştır.

$$S_r = \sqrt{\frac{1-r^2}{n}}, \quad t_H = \frac{r}{S_r}$$

Daha sonra t tablosundan 0.05 yanılma olasılığında, (n-2) serbestlik derecesinde t_T değeri bulunmuştur. $t_T < t_H$ olduğundan H_0 hipotezi reddedilerek korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir.

"Doğrusallıktan ayrılış önemsizdir" şeklinde kurulan hipotezi sınamak için regresyon varyans analiz tablosu düzenlenmiştir.

Tablo 10: Regresyon Varyans Analiz Tablosu.

Varyans kaynağı	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması(KO)	F_H
R	1	$b \times XY\check{C}T$	RKO	
RA	$n-2$	RAKT	RAKO	$\frac{RAKO}{OAKO}$
OA	$n-1$	OAKT	OAKO	

Tablo 10'da, regresyon R, regresyondan ayrılış RA, ortalamadan ayrılış OA, ölçüm sayısı n, regresyon katsayısı r, x ve y'nin çarpımlar toplamı XYÇT olarak kısaltılmıştır.

Bu tablodan yararlanılarak hesaplanan F_H değeri, F tablosundan 0.05 yanılma olasılığında, $(n-2)$ serbestlik derecesinde bulunan F_T değeri ile karşılaştırılmıştır. $F_H < F_T$ olduğundan hipotez kabul edilerek doğrusallıktan ayrılışın önemsiz olduğuna karar verilmiştir. Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolünde kullanılan çeşitli terimler aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır.

$$b = \frac{\sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$RKT = b \times XY\check{C}T$$

$$XY\check{C}T = \sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}$$

$$OAKT = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}$$

$$\text{RAKT} = \text{OAKT} - \text{RKT}$$

$$\text{RKO} = \frac{\text{RKT}}{\text{RSD}}$$

$$\text{RAKO} = \frac{\text{RAKT}}{\text{RASD}}$$

$$\text{OAKO} = \frac{\text{OAKT}}{\text{OASD}}$$

$$F_H = \frac{\text{RAKO}}{\text{OAKO}}$$



EK 2

TF 1974'e göre Atropin Sülfat Miktar Tayini:

Belirli bir miktar numune ayırma hunisine alınır, 4 ml seyreltik NH_3 eklenip, 10,10 ve 5 ml CHCl_3 ile tüketme yapılır. Birleştirilen CHCl_3 'lu çözeltiler süzülüp, 25 ml'ye CHCl_3 ile tamamlanır. Bu çözeltinin 2 ml'si kapsüle konur ve su banyosunda kuruluğa kadar buharlaştırılır. Artığa 9 ml dimetilformamid, 0.3 ml tetrametilamonyum hidroksit eklenip, hacim dimetilformamid ile 10 ml'ye tamamlanır. Karıştırılır. Boşa karşı 545 nm'de absorpsiyonları ölçülür. Bilinen miktarlardaki atropin sülfat ile yapılan deneyler sonucunda kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Göz damlalarından belirli bir miktar alınarak yapılan deneyler ile içerdikleri atropin sülfat miktarı kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanmıştır.

TF 1974'e göre Pilocarpin Hidroklorürün Miktar Tayini:

Belirli bir miktar numune 40 ml glasiyel asetik asitte ısıtılarak eritilip, soğutulur. 20 ml dioksan ve 2-3 damla kristal viyole eklenmesinden sonra potasyum hidrojen fitalat ile ayarlama sonucu normalitesi 0.07583 N olarak bulunan perklorik asit ile titre edilmiştir. Dönüm noktasında harcanan HClO_4 asit hacmi bulunarak aşağıdaki formül ile pilokarpin hidroklorürün miktarı hesaplanmıştır.

$$N_{\text{HClO}_4} \times V_{\text{HClO}_4} = \frac{\text{Pilokarpin hidroklorürün ağırlığı}}{\text{Pilokarpin hidroklorürün molekül ağırlığı}}$$

BP 1980'de atropin sülfat ve pilokarpin hidroklorür için verilen miktar tayini yöntemi, aynıdır.

Bu yöntemde belirli bir miktar numune alınarak 30 ml glasiyel asetik asit eklendikten sonra 10 ml cıva(II) asetat çözeltiliside konulmuş ve potasyum hidrojen fitalat ile ayarlanmış 0.07576 N perklorik asit ile titre edilir. Dönüm noktası potansiyometrik olarak belirlenir. Bunun için eklenen perklorik asit miktarına karşı potansiyometreden okunan milivolt değerleri grafiğe geçirilir. Elde edilen S eğrisinin orta noktasına karşılık gelen ml değeri bulunur. Etken madde miktarı yukarıdaki formül ile hesaplanır.

EK 3

Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi:

Yöntemlerin karşılaştırılmasında, iki yöntemle elde edilen sonuçlar arasında fark bulunup bulunmadığını test etmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanır. Göz damlalarında 4 yöntemle bulunan sonuçların karşılaştırılmasında ise, yöntemler ikişer ikişer gruplandırılarak test uygulanmıştır.

Her grup için "iki yöntem arasında fark yoktur" şeklinde kurulan H_0 hipotezini sınamak için, ilk önce iki yöntemle bulunan sonuçlar arasındaki farklar alınır. Farklar küçükten büyüğe sıralanır. Fark işareti sıra numarasının önüne konur. Sonuçta artı ve eksi işaretlerin hangisi daha az ise onların sıra numaraları toplanarak T_H değeri hesaplanır. 0.05 yanılma düzeyinde 12 serbestlik derecesinde bulunan tablo T değeri = 0' dır. $T_H > T_T$ olduğundan H_0 hipotezi kabul edilerek yöntemler arasında fark bulunmadığı gösterilmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

1958 yılı Aralık ayında Ankara'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi tamamladıktan sonra 1975 yılında başladığım Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 1980 yılı Haziran ayında mezun oldum. Aynı yıl Eylül ayında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Ana Bilim Dalında asistan olarak göreve başladım. 1983 yılında Bilim Uzmanlığı ünvanını aldım. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmalarımı sürdürmekteyim. Evliyim.