

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI TIBBİ BİTKİLERDE
YARARLI BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU VE TAYİNİ**

Cemile BAL (ÖZCAN)

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

ELAZIĞ-2005

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI TIBBİ BİTKİLERDE
YARARLI BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU VE TAYİNİ**

Cemile BAL (ÖZCAN)

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi(FÜBAP) tarafından desteklenmiştir (FÜBAP Proje No:997)

ELAZIĞ-2005

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI TIBBİ BİTKİLERDE
YARARLI BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU VE TAYİNİ

Cemile BAL (ÖZCAN)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI

Bu tez, 20.06.2005 Tarihinde, Aşağıda Belirtilen Jüri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Başarılı/~~Başarısız~~ Olarak Değerlendirilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Mehmet YAMAN

Üye: Doç. Dr. Ali ÖLÇÜCÜ

Üye: Doç. Dr. Eyüp BAĞCI

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 29.06.05... tarih ve 2005/20...1... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI TIBBİ BİTKİLERDE YARARLI BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU VE TAYİNİ

Cemile BAL (ÖZCAN)

Fırat Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Ana Bilim Dalı
2005, Sayfa:130

Bu çalışmada, yıllardır tıbbi amaçla kullanılan ısırgan otu (*Urtica dioica*) yaprakları ve kuşburnu (*Rosa canina*) meyvesinin gerekli eser ve mikro element konsantrasyonları tayin edildi. Bu amaçla örnekler mikrodalga (MW) fırınında çözünürleştirildi ve metal analizleri Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi (AAS) ile yapıldı.

Ayrıca örnekler çeşitli organik çözücülerle ekstrakte edildi ve ekstraktlar Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisinde (GC-MS) değerlendirildi. Makro moleküllerin ayrılması için ekstraksiyon çözeltileri silikajelden geçirilerek süzütünün GC-MS de kromotogram ve spektrumları alınarak direk alınanlarla karşılaştırıldı.

Anahtar kelimeler: Isırgan otu, Kuş burnu, Ekstraksiyon, Mikrodalga fırın, Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi, Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi, Eser Metaller, Tıbbi Bitkiler.

ABSTRACT

Master Thesis

Cemile Bal (Özcan)

Firat Universty

Graduate School of Natural and Applied Sciences,

Department of Chemistry

2005, Page: 130

In this study, the concentrations of necessary trace and micro elements were determined in the *Rosa canina* fruit and *Urtica dioica* leaves used to medicine purpose for years. For this aim, the samples were digested using microwave oven, and metal analysis were carried out by Atomic Absorption Spectrometry.

In addition, the samples were extracted using various organic solvents and the extracts were examined by GC-MS. The extraction solutions were separated by using silicagel and both chromatograms and spectrums of the solutions were compared to each other.

Keywords: *Urtica dioica*, *Rosa canina*, Extraction, Microwave oven, Atomic Absorption, GC-MS, Trace metals, Herbal plants

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada beni yönlendiren, çalışmalarım süresince büyük ilgi ve anlayışını esirgemeyen ve her konuda yardımcı olan Sayın Hocam Prof. Dr. Mehmet YAMAN'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünün olanaklarından yararlanmamı sağlayan Bölüm Başkanı Sayın Hocam Prof. Dr. Mehmet COŞKUN'a teşekkür ederim.

Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünün olanaklarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Hocam Prof. Dr. Ahmet ŞAHİN'e teşekkür ederim. Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi cihazından faydalanmamı sağlayan Sayın Hocam Doç. Dr. Eyüp BAĞCI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Hakkı Engin AKSU'ya yardımından ötürü teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında her türlü yardımını esirgemeyen araştırma görevlisi Sezgin BAKIRDERE'ye bölüm hocalarımdan Prof. Dr. Misir AHMEDZADE, Prof. Dr. Sait ÇELİK, Doç. Dr. Mehmet ŞEKERCİ, Doç. Dr. Kadir DEMİRELLİ, Doç. Dr. Ahmet CANSIZ, Yard. Doç. Dr. Metin KOPARIR ve Cumhur KIRILMIŞ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında kimyasal madde ve malzemelerin temininde kolaylık sağlayan Abdurrahman ÖKSÜZ'e ve laboratuvar çalışmalarım sırasında ve bu çalışmamın ilerlemesinde bana yardımcı olan eşim Sayın Şeref ÖZCAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Olcay KAPLAN'a, Muharrem İNCE'ye, Gökçe Kaya'ya ve Ersin KILIÇ'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	I
SUMMARY.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
TABLULARIN LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	IX
EKLERİN LİSTESİ.....	XII
KISALTMA VE SEMBOLLER.....	XIII
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Bitkilerden Faydalanma Şekilleri.....	2
2.2. Kurutma yöntemleri.....	2
2.3. Kullanılan Bitkilerin Özellikleri.....	3
2.3.1. Isırgan otu (<i>Urtica dioica L.</i>).....	3
2.3.1.1. Bitkisel Özellikleri.....	3
2.3.1.2. Besin Değeri ve Kullanıldığı Yerler.....	4
2.3.1.3. Isırgan Otunun toplanması.....	5
2.3.2. Kuşburnu (<i>Rosa canina L.</i>).....	5
2.3.2.1. Bitkisel Özellikleri.....	6
2.3.2.2. Besin Değeri Ve Kullanıldığı Yerler.....	6
2.4. Lipitler.....	7
2.5. Bitkilerle İlgili Yapılmış Olan Çalışmalar.....	10
2.6. Örnek çözme Teknikleri.....	10
2.6.1. Yükseltgeyici proseslerle çözme.....	10
2.6.2. Kuru çözme (dry-ashing).....	10
2.6.3. Yaş Çözme (Wet ashing).....	10
2.6.4. Sadece Seyreltmeyle Örneklerin Analize Hazırlanması.....	11
2.6.5. Fotooksidasyonla Çözme.....	11
2.6.6. Kapalı Sistemde (Yüksek basınç altında) Çözme.....	11
2.6.7. Mikrodalga enerjisinin elde edilmesi.....	12
2.6.7.1. Mikrodalga çözünürleştirme sisteminin mekanizması ve klasik çözünürleştirme yöntemiyle karşılaştırılması.....	13

2.6.8. Bitkisel ekstraksiyonları elde etme yöntemleri	19
2.6.8.1. Ekstraksiyon Metodları.....	19
2.6.8.1.1. Ekstraksiyon-anfloranj metodu (soğuk yağla).....	19
2.6.8.1.2. Maserasyon (sıcak yağla ekstraksiyon) metodu.....	19
2.6.8.1.3. Uçucu eriticilerle ekstraksiyon metodu.....	20
2.6.8.2. Destilasyon Yöntemleri.....	20
2.6.8.2.1. Su buharı destilasyonu.....	20
2.6.8.2.2. Su ve buhar destilasyonu	20
2.6.8.2.3. Direkt buhar destilasyonu.....	20
3. ANALİZ YÖNTEMLERİ.....	21
3.1. Kütle Spektrometrisi.....	21
3.1.1. Moleküler Kütle Spektrumları.....	22
3.1.2. Elektron İmpakt Kaynağı.....	24
3.1.2.1. Elektron İmpakt Spektrumları.....	25
3.1.2.2. Çarpışma Ürün Pikleri.....	26
3.1.2.3. Elektron İmpakt Kaynaklarının Üstünlük ve Sakıncaları.....	27
3.1.3. Bilgisayarlı Kütle Spektrometreleri.....	27
3.1.4. Moleküler Kütle Spektrometrisinin Uygulamaları.....	30
3.1.5. Saf Bileşiklerin Teşhisi.....	31
3.1.6. Kütle Spektrumundan Mol Kütlesi Tayini.....	31
3.1.7. Mol Kütlelerinden Molekül Formülleri.....	31
3.1.8. Parçalanma Şeklinden Yapısal Bilgi.....	31
3.1.9. Spektrumların Karşılaştırılması ile Bileşik Teşhisi.....	33
3.1.10. Kütle Spektral Yöntemlerinin Kullanıldığı İkili Tekniklerle Karışımların Analizi.....	34
3.1.11. Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometri.....	35
3.1.12. Kütle Spektrometrisinin Kantitatif Uygulamaları.....	38
3.1.12.1. Moleküler Türlerin Kantitatif Tayini.....	39
3.1.13. Keskinlik ve Doğruluk.....	40
3.1.14. Uygulamalar.....	40
3.2. Spektroskopinin Tanımı ve Sınıflandırılması.....	41
3.3. Atomik Spektroskopi.....	41
3.4. Soğurma İlkeleri.....	42
3.5. Analiz Hattı Seçimi.....	44
3.6. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi.....	44

3.6.1. Işık Kaynakları.....	45
3.6.1.1. Oyuk Katot Lambaları.....	47
3.6.1.2. Elektrotsuz Boşalım Lambaları.....	47
3.6.1.3. Kaynak Modülasyonu.....	48
3.6.2. Atomlaştırıcı.....	49
3.6.2.1. Alev Atomlaştırma.....	49
3.6.2.1.1. Alev Tipleri.....	50
3.6.2.1.2. Alevin Yapısı.....	50
3.6.2.1.3. Sıcaklık Profilleri.....	52
3.6.2.1.4. Alev Absorbans Profilleri.....	52
3.6.2.1.5. Alev Atomlaştırıcılar.....	53
3.6.2.1.6. Yarıcı ve Yükseltgen Ayarlayıcılar.....	54
3.6.2.1.7. Alev Atomlaştırıcıların Performans Özellikleri.....	54
3.6.2.2. Elektrotermal Atomlaştırma.....	55
3.6.2.2.1. Elektrotermal Atomlaştırıcılar.....	55
3.6.2.2.2. Elektrotermal Atomlaştırıcıların Performans Özellikleri.....	54
3.6.2.2.3. Elektrotermal Atomlaştırıcılarla Katıların Analizi.....	55
3.6.2.3. Özel Atomlaştırma Teknikleri.....	55
3.6.2.3.1. Hidrür Atomlaştırma.....	55
3.6.2.3.2. Soğuk-Buhar Atomlaştırma.....	55
3.6.3. Monokromatör (Dalga Boyu Seçicisi) ve Dedektör.....	56
3.7. AAS Cihazı.....	56
3.7.1. Tek-Işın Yollu Cihazlar.....	57
3.7.2. Çift-Işın Yollu Cihazlar.....	57
3.8. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler.....	58
3.8.1. Kimyasal Girişimler.....	58
3.8.1.1. Az Uçucu Bileşiklerin Oluşumu.....	59
3.8.1.2. Ayrışma Dengeleri.....	59
3.8.1.3. İyonlaşma Dengeleri.....	61
3.8.2. Spektral Girişimler.....	63
3.8.2.1. Çift-Çizgi Düzeltme Yöntemi.....	64
3.8.2.2. Sürekli Işın Kaynağı İle Düzeltme Yöntemi.....	64
3.8.3. Fiziksel Girişim.....	65
3.8.4. İyonlaşma Girişimi.....	66

3.9. AAS'de Nicel Analiz.....	66
3.9.1. Kalibrasyon Eğrilerinin Kullanılması.....	66
3.9.2. Standart İlave Yönteminin Kullanılması.....	67
3.9.3. Atomik Absorpsiyon Spektrometri Uygulamaları ve Bazı Analitik Terimler.....	67
3.9.3.1. Gözlenebilme Sınırları	67
3.9.3.2. Doğruluk.....	68
3.9.3.3. Kesinlik.....	69
3.9.3.4. Standart Sapma.....	69
3.9.3.5. Ortalama Değerin Güvenilirliği	69
3.9.3.6. Duyarlılık.....	69
3.9.3.7. Tayin Sınırı ve Dinamik Aralık	69
3.9.3.8. Sinyal/Gürültü Oranı	70
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	71
4.1. Ölçümlerde Kullanılan Düzenekler.....	71
4.2. Standart Çözeltilerin ve Reaktiflerin Hazırlanması.....	71
4.3. Bitki Örneklerin Çözünürleştirilmesi.....	72
4.3.1. Kuru Çözme.....	72
4.3.2. Mikrodalga Fırınında Çözme.....	72
4.4. Kalibrasyon Grafiklerinin Elde Edilmesi	73
4.4.1. Cu ve Fe Kalibrasyon Grafiği	73
4.4.2. Zn Kalibrasyon Grafiği.....	73
4.4.3. Mn Kalibrasyon Grafiği.....	74
4.4.4. Ca ve Mg Kalibrasyon Grafiği.....	75
4.5. Kuru Bitkilerin Metal Analizi	75
4.5.1. Kuru Çözme.....	75
4.5.2. Mikrodalga ile çözme.....	84
4.6. Isırgan Otu ve Kuş burnu Bitkisinin GC-MS İle Analizinin Yapılması.....	92
4.6.1. Ön İşlemler.....	92
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	104
6. KAYNAKLAR.....	106
7. EKLER.....	109
ÖZGEÇMİŞ.....	112

TABLoların LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Lipitlerin Sınıflandırılması.....	8
Tablo 2.2. Mikrodalga enerjide yaygın olarak kullanılan bazı çözücülerin dağılma faktörleri ve fiziksel özellikleri.....	13
Tablo 3.1. Moleküler kütle spektroskopide kullanılan iyon kaynakları.....	22
Tablo 3.2. Bir clektron impakt kaynağındaki bazı tipik reaksiyonlar.....	25
Tablo3.3. Moleküler Kütle Spektrometrinin Uygulamaları.....	30
Tablo 3.4. Atomik Spektral Metotlarının Sınıflandırılması.....	42
Tablo 3.5. Bazı Elementlerin N_i / N_0 Oranlarının Sıcaklıkla Değişimi.....	44
Tablo 3.6. Alevin Özellikleri.....	50
Tablo 3.7. Alev Sıcaklıklarında Metallerin Yoğunlaşma Derecesi	61
Tablo 3.8. Bazı Elementlerin Gözlenebilme Sınırları (ng/ml).....	68
Tablo 4.1. Metaller için Alevli AAS ile ilgili parametreler.....	72
Tablo4.2. Isırgan otundaki kuru çözme ile elde edilen metal konsantrasyonları.....	76
Tablo4.3. Kuş burnu bitkisinden kuru çözme ile elde edilen metal konsantrasyonları...	77
Tablo 4.4. Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlar altında çözünürleştirilmesiyle elde edilen metal miktarları	84
Tablo 4.5. Kuş burnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlar altında çözünürleştirilmesiyle elde edilen metal miktarları	88
Tablo4.6. GC-MS cihazıyla alınan spektrumların tablo olarak gösterimi.....	92

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Mikrodalga enerji kullanımında, çözünürleştirme kaplarının iç kısmında oluşan basınç ve sıcaklığın zamana bağlı olarak değişimi.....	16
Şekil 2.2. Basınç ve sıcaklık kontrollü mikrodalga çözünürleştirme cihazı ile (a)HNO ₃ ile, (b) HNO ₃ /H ₂ O ₂ karışımı kullanılarak yapılan çözünürleştirme işlemi sonucu değişen basınç ve sıcaklık eğrileri	18
Şekil 3.1. Dekanol'ün (a) sert bir kaynakla ve (b) yumuşak bir kaynakla alınmış kütle spektrumları.....	24
Şekil 3.2. Elektron-impakt kaynağının yapısı.....	25
Şekil 3.3 VG Instrument-TRI03 triple kuadropol MS/MS cihazının kontrol ve veri-işleme Şeması.....	28
Şekil 3.4. Bir bilgisayar ekranında kütle spektrumu verileri. Madde kan serumundan kromatografik ekstraksiyonla izole edilmiştir. Spektrum, barbitüratın, pentobarbital olduğunu gösteriyor. Cihaz DuPont Model 21-094 bilgisayarlı kütle spektrometredir.....	29
Şekil 3.5. n-Heptanal'in elektron impakt spektrumu.....	32
Şekil 3.6. Gaz kromatograf/kütle spektrometrenin şematik gösterimi.....	36
Şekil 3.7. Bir jet ayırıcının şeması.....	37
Şekil 3.8. İyon tuzaklı dedektörün şeması.....	38
Şekil 3.9. GC/MS cihazından alınan sinyalleri bilgisayarda çizilmiş kütle spektrumu.....	38
Şekil 3.10. Atomik Spektroskopinin Sınıflandırılması.....	41
Şekil 3.11. Atomlar tarafından bir rezonans çizgisinin absorpsiyonu.....	46
Şekil 3.12. Bir oyuk katot lambasının şematik yan kesiti.....	46
Şekil 3.13. Elektrotsuz Boşalım Lambasının Kesiti.....	48
Şekil 3.14. Atomlaştırma sırasında oluşan süreçler.....	49
Şekil 3.15. Bir alevin bölgeleri.....	51
Şekil 3.16. Bir doğal gaz/hava alevinin sıcaklık profili (°C)	52
Şekil 3.17. Üç elementin alev absorpsiyon profili.....	53
Şekil 3.18. Bir Laminar Akışlı Bek.....	54
Şekil 3.19. Atomik absorpsiyon spektrometri için hidrür oluşumu ve atomlaştırma sistemi	56
Şekil 3.20. Tipik Alev Spektrometreleri: (a) Tek-ışın yollu tasarım (b) Çift-ışın yollu Tasarım	58

Şekil 3.21. Stronsiyumun kalibrasyon eğrisine potasyum derişiminin etkisi.....	63
Şekil 3.22. Sürekli kaynak zemin düzeltme sisteminin şeması	65
Şekil 4.1. AAS ile elde edilen Cu ve Fe Kalibrasyon grafiği.....	73
Şekil 4.2. AAS ile elde edilen Zn Kalibrasyon grafiği.....	74
Şekil 4.3. AAS ile elde edilen Mn Kalibrasyon grafiği.....	74
Şekil 4.4. AAS ile elde edilen Ca ve Mg Kalibrasyon grafiği.....	75
Şekil 4.5. Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Cu konsantrasyonları grafiği.....	78
Şekil 4.6. Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Fe konsantrasyonları grafiği.....	78
Şekil 4.7. Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Zn konsantrasyonları grafiği.....	79
Şekil 4.8. Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Mn konsantrasyonları grafiği.....	79
Şekil 4.9. Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Mg konsantrasyonları grafiği.....	80
Şekil 4.10. Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Ca konsantrasyonları grafiği.....	80
Şekil 4.11. Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Cu konsantrasyonları grafiği.....	81
Şekil 4.12. Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Fe konsantrasyonları grafiği.....	81
Şekil 4.13. Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Zn konsantrasyonları grafiği.....	82
Şekil 4.14. Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Mn konsantrasyonları grafiği.....	82
Şekil 4.15. Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Mg konsantrasyonları grafiği.....	83
Şekil 4.16. Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Ca konsantrasyonları grafiği.....	83
Şekil 4.17. Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Cu konsantrasyonu	85
Şekil 4.18. Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Fe konsantrasyonu	85
Şekil 4.19. Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda	

çözünürleştirilmesiyle elde edilen Zn konsantrasyonu.....	86
Şekil 4.20. ısırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Mn konsantrasyonu	86
Şekil 4.21. ısırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Mg konsantrasyonu	87
Şekil 4.22. ısırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Ca konsantrasyonu	87
Şekil 4.23. Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Cu konsantrasyonu.....	89
Şekil 4.24. Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Fe konsantrasyonu	89
Şekil 4.25. Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Zn konsantrasyonu	90
Şekil 4.26. Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Mn konsantrasyonu.....	90
Şekil 4.27. Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Mg konsantrasyonu.....	91
Şekil 4.28. Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Ca konsantrasyonu.....	91
Şekil 4.29. Tablo 4.6'daki 1 nolu ısırgan otunun ekstraksiyonu sonucu alınan GC kromatogramı.....	93
Şekil 4.30. 1 nolu örneğin 19,69 nolu pikinin kütle spektrumu	93
Şekil 4.31. 1 nolu örneğin 12,18 nolu pikinin kütle spektrumu	94
Şekil 4.32. 1 nolu örneğin 17,77 nolu pikinin kütle spektrumu	94
Şekil 4.33. 1.1 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı.....	95
Şekil 4.34. 1.2 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı.....	96
Şekil 4.35. 1.3 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı.....	97
Şekil 4.36. Tablo 4.6'daki 2 nolu ısırgan otunun ekstraksiyonu sonucu alınan GC kromatogramı.....	98
Şekil 4.37. 2 nolu örneğin 5,72 nolu pikinin kütle spektrumu	98
Şekil 4.38. 2 nolu örneğin 38,91 nolu pikinin kütle spektrumu	99
Şekil 4.39. 2.1 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı.....	99
Şekil 4.40. 2.2 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı.....	100
Şekil 4.41. Tablo 4.6'daki 3 nolu kuşburnunun ekstraksiyonu sonucu alınan GC kromatogramı.....	100

Şekil 4.42. 3 nolu örneğin 5,30 nolu pikinin spektrumu	101
Şekil 4.43. 3.1 numaralı örneğin MS açılımı.....	101
Şekil 4.44. Tablo 4.6'daki 4 nolu kuşburnunun ekstraksiyonu sonucu alınan GC kromatogramı.....	102
Şekil 4.45. 4 nolu örneğin 4,34 nolu pikinin MS spektrumu	102
Şekil 4.46. 4.1 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı.....	103



EKLERİN LİSTESİ

Sayfa No

Ek 1.: Isırgan Otuna İlişkin Ayrıntılar.....	109
Ek 2.: Kuş burnuna ilişkin ayrıntılar.....	110
Ek 3.: Çözülen spektrumların erime ve kaynama sıcaklıkları.....	111



KISALTMA VE SEMBOLLER

°A	:	Angstrom
GC/MS	:	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi
AAS	:	Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
EI	:	Elektron impakt
CI	:	Kimyasal iyonlaştırma
FD	:	Alan desorpsiyonu
ESI	:	Elektrospreyiyonlaştırma
MALDI	:	Matriks yardımcı desorpsiyon/iyonlaştırma
PD	:	Plazma desorpsiyonu
FAB	:	Hızlı atom bombardımanı
SIMS	:	İkincil iyon kütle spektrometri
TS	:	Termospray iyonlaştırma
DCP/MS	:	Doğru Akım Plazma/Kütle Spektrometresi
TOF	:	Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi
TI/MS	:	Termal İyonlaşmalı/Kütle Spektrometresi
TDGC/MS	:	Zaman-Bağımlı-Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
SS/MS	:	Kıvılcım Kaynaklı/Kütle Spektrometresi
SI/MS	:	İkincil İyon/Kütle Spektrometresi
MS/MS	:	Kütle Spektrometri/Kütle Spektrometresi
LM/MS	:	Lazer Mikroskop/Kütle Spektroskopisi
LC/MS	:	Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi
IT/MS	:	İyon Tuzak/Kütle Spektrometresi
ICP/MS	:	İndüktif Eşleşmiş Plazma/Kütle Spektrometresi
GD/MS	:	Akkor Boşalımı/Kütle Spektrometresi
FT/MS	:	Fourier Dönüşümlü/Kütle Spektrometresi
ESI	:	Elektrosprey İyonlaşma/Kütle Spektrometresi
m/z yada m/e	:	Kütle/yük
ppm	:	Bir kilogram veya bir litre çözücünde çözünen maddenin miligram olarak miktarı
g	:	Gram
ml	:	Mililitre

V	:	Volt
W	:	Güç
°C	:	Santigrat derece
mg	:	Miligram
MS	:	Kütle Spektroskopisi



1. GİRİŞ

Bitkilerle tedavi, insanlık tarihi kadar eski olmakla beraber modern tıbbın ve sentetik ilaçların gelişmesine paralel olarak bir gerileme göstermiştir. Ancak bu süreç uzun sürmemiş ve son yıllarda modern tıbbın; sentetik ilaçlar yerine doğal kaynakların da kullanılmasının faydalarını kabullenmesiyle birlikte, tedavi amaçlı kullanılan bitki sayısında ve tüketilen materyal miktarında yıldan yıla bir artış gözlenmektedir. Hatta, bazı Avrupa ülkelerinde, bitkisel tedaviye ödenen bedeller, sağlık giderleri olarak tahsil edilebilmekte ve genel sağlık giderleri içerisindeki payı da yıldan yıla hızlı bir artış trendi göstermektedir. Çünkü; bitkisel tedavinin özellikle yaşlı insanlardaki olumlu etkisinin yüksekliğinden dolayı yaşlanan Avrupa insanı, bitkilerle tedaviye diğer ülke insanlarından daha fazla ihtiyaç duymaktadır.

Bitkisel ilaçların sentetik ilaçlardan üstün özellikleri aşağıdaki şekilde özetlenmiştir.

1. Yan etkilerinin olmaması yada çok az olması,
2. Bitkisel etken maddelere karşı mikropların dayanıklı ırklar oluşturamaması,
3. Bitkisel maddelerin sentetik ilaçların başlangıç maddesi olması ve sentetik ilaçlara model oluşturması,
4. Kullanıldıktan sonra vücutta birikmemesi ve toksik-zararlı etki oluşturmaması,
5. Özellikle yaşlı vücutların sentetik ilaçlara nazaran daha yüksek oranda olumlu tepki vermeleri[1, 2, 3],

gibi üstünlükleri dolayısıyla günümüzde tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve tüketilmesinde hızlı bir artış gözlenmektedir. Bu konuda farklı hastalıklara karşı farklı bitkilerin kullanılması her bir bitkideki yararlı bileşenin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Tıbbi bitkilerdeki yararlı organik bileşiklerin yanı sıra inorganik yararlı elementlerin miktarlarının tayini büyük önem taşımaktadır. Bunlardan özellikle Ca ve Mg gibi majör ve Zn, Fe, Cu, Mn gibi eser elementlerin doğru olarak tayinleri daha da önemlidir.

Bu çalışmada halk arasında tedavi amaçlı kullanılan ısırgan otu yaprağı ve kuşburnu meyvesi n-hegzan, petrol eteri, tetrahidrofuran (THF), etil asetat, asetik asit, dietil eter, etil alkol ve metil alkol gibi çözücülerle ekstrakte edildi. Elde edilen ekstraktlar silikajelden geçirildikten sonra her iki fraksiyonda (silikajelden önceki ve sonraki) Gaz-kütle spektroskopilerinde (GC-MS) tayin çalışmaları yapıldı. Metal analizleri ise atomik absorpsiyon spektroskopisiyle yapıldı.

Çalışmamızda, Elazığ bölgesindeki ısırgan otu ve kuşburnu bitkisinin, Cu, Zn, Fe, Mn, Mg ve Ca konsantrasyonları atomik absorpsiyon spektrofotometresiyle (AAS) tayin edildi. Organik bileşimleri gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) cihazıyla tayin edildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Bitkilerden Faydalanma Şekilleri

İnsanların, çevresindeki bitkilerinden yararlanması, insanlık tarihi kadar eskidir. Yaşamın başlangıcından itibaren insanlar bitkileri; gıda, yakacak, silah ve mesken yapımında kullanmıştır. Ancak, bitkilerin hastalıklara karşı kullanılışı oldukça geç başlamıştır. Bütün topluluklarda olduğu gibi Anadolu insanı da, ilk dönemlerde hastalıkların bir tanrı işi olduğu inancına sahip bulunuyordu. Hititler döneminde uygulanan dinsel törenler bu görüşün kanıtlarıdır [1, 2, 3]. Hastalıkların tedavisi için uzun süre sihirsel ve dinsel tedbirlerden fayda beklenmiştir.

Bitkiler, aynı zamanda besin kaynaklarımızdır. Bu nedenle; beslenirken tedavi olma, tedavi olurken de beslenme olgusu iç içe yaşanmaktadır. Bitkisel ilaçların yan etkilerinin olmaması yada çok az olması, bitkisel etken maddelere karşı mikropların dayanıklı ırklar oluşturamaması, bitkisel maddelerin sentetik ilaçların başlangıç maddesi olması ve sentetik ilaçlara model oluşturması, kullanıldıktan sonra vücutta birikmemesi ve zararlı etki oluşturmaması, özellikle yaşlı vücutların sentetik ilaçlara nazaran daha yüksek oranda olumlu tepki vermeleri vb. gibi üstünlükleri dolayısıyla günümüzde tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve tüketilmesinde hızlı bir artış görülmektedir [1, 2].

Halk, yabani bitkilerden şu hususlarda yararlanmaktadır: gıda, ilaç, baharat, içecek yapımında, tatlı ve helva yapımında, ekmek yapımında, boyama maddesinde, büyü yapmada, sepicilikte, dekoratif ve süs bitkisi olarak, mobilya ve süs eşya yapımında, selüloz sanayinde, parfümeri ve kozmetik sanayinde, hastalık ve zararlılara karşı kullanılmaktadır [1, 2, 4].

2.2. Kurutma yöntemleri

Bitkiler hasat edilir edilmez hcnüz yaş iken işlenmeli yada bunları özelliklerini bozmadan işlenecek zamana kadar muhafaza etmek gerekir. Bu bakımdan bitki materyalini bozulmadan saklamanın en güvenilir yolu kurutmaktır. Kurutmadan maksat, materyaldeki suyun uçurulmasıdır.

Bitki bünyesindeki su miktarı; türler ve bitkinin organlarına, yaşına, gelişme döneminde, yetiştirme ortamına, olgunluk durumuna v.s. bağlı olarak değişiklik gösterir. İlbaharda gelişmenin hızlı olduğu dönemlerde diğer dönemlere göre ve gelişmenin hızlı olduğu organlarda diğer organlara göre su miktarı daha fazladır [2, 5]. Yani, genç doku ve organların ihtiva ettiği su miktarı yaşlı doku ve organlardan fazladır.

Bitkilerde kurutma iki şekilde olur. Doğal kurutma ve suni kurutma.

Doğal kurutma; güneşte kurutma, gölgede kurutma ve cam mekanda kurutmadır.

Suni kurutma ise; Kurutma dolabı, kurutma odası ve kurutma tünclidir.

2.3. Kullanılan Bitkilerin Özellikleri

Isırgan otu, kuşburnu bitkilerini birçok kişi bilir; ancak bir çok kişi dünyamızda bulunan bu bitkilerin tıbbi ilaç olarak kullanıldığının farkında değildi. Sahip olduğumuz şifalı bitkilerin en etkililerinden birinin Isırgan Otu (*Urtica dioica / urens*) bitkisini tanımaya çalışacağız.

2.3.1. Isırgan otu (*Urtica dioica L.*)

Isırgan otu bitkisinin ne kadar şifalı olduğunu bilmiş olsaydık, insanlık alemi ısırgan otundan başka hiç bir şey yetiştirmezdi. Isırgan otu, kökünden başlamak üzere, kökü, yaprakları, tohumları bile şifalı olan bir bitkidir. Eski çağlarda da büyük bir saygınlığa sahipti. Albrecht Dürer (1471 - 1528) bir tablosunda, elinde ısırgan otu olan bir meleğin Tanrı katına uçuşunu canlandırmıştır. İsviçreli botanik bilimci Künzle, bir yazısında, yakıcı özelliği sayesinde (Tüylerde bulunan histamin ve asetilkolin) korunmamış olsaydı, bitkinin kökünün çoktan kurumuş olacağını belirtmiştir [1, 2, 3]. Eğer bitki kendini koruyamamış olsaydı, haşarat ve hayvanlar onu çoktan yok etmişlerdi ve böyle şifalı bir bitkiyle tanışamazdık.

2.3.1.1. Bitkisel Özellikleri

Büyük ısırgan otu (*Urtica dioica L.*), çok yıllık ve otsu bir bitkidir, boyu bazen 1 m'yi geçer, yapraklar koyu yeşil renkli, saplı, dişli kenarlı ve yakıcı tüylüdür. Küçük ısırgan otu (*Urtica urens L.*), bir yıllık ve otsu bir bitkidir. Boyu 60 cm kadar olabilir. Yapraklar açık yeşil renkli, saplı, dişli kenarlı ve yakıcı tüylüdür [1, 6].

Yakıcı tüylerin içerisinde uçucu azotsuz toksin ve karınca asidi, asetil kolin, histamin ve formik asit vardır. Çiçekler, küçük yeşil renklidir. Uç yaprakların koltuklarından püskül gibi toplu olarak çıkar ve demet halinde sarkarlar. Isırgan otu, Mayıs-Eylül ayına kadar çiçek açabilir. Meyvesi ise kuru ve tek tohumludur. Duvar kenarları ve harabeliklerde bol olarak görünür. Her iki türün de yaprakları 2-4 cm uzunlukta, oval veya kalp biçimindedir. Taze iken deri ile temas edince deride kızartı ve yanma yapar [1, 2] (Isırganotunun sebep olduğu

kaşıntıyı önlemek için, işlem sonunda o bölgeler pudralanır). Dızlağan, cımbar, cızlangaç, cızgan, çinçar, daladiken, gazga, geznik, gendişken, dalayan diken ve dikenli ısırgan isimleriyle de bilinmektedir. Ülkemizde (Türkiye) her iki tür de yetişmektedir [1, 5, 6].

2.3.1.2. Besin Değeri ve Kullanıldığı Yerler

Isırganın kuru maddesi; protein, albüminli maddeler ve yağlı maddeler ihtiva eder. Ayrıca C vitamini, karotin ve oksalat içermektedir. Yapraklar; K, vitamin B1, provitamin A, urtisin glikoziti, sistosterin, sepi maddeleri, ksantofil vs. külü ise demir(III)oksit, silisyum, potasyum ve kalsiyum içermektedir [3]. Isırgan otu azotça zengin, verimli topraklarda bol bulunur. Besin maddelerince zengin, aydınlık yerleri, sıcak ve ılıman iklimi sever. Isırgan, bir azot indikatörüdür. Çevreciler, ısırgan otu gübresinc umut bağlamaktalar. Hayvan besicileri; at, kümes hayvanları ve sığıra besleyici yem olarak kurutulmuş ısırgan otu verirler. Özellikle bu durumda sığırın daha fazla süt vermesi beklenir. Avrupalı pamukla tanışmadan önce ısırgan otu sapının liflerinden bir çeşit bez imal ediyordu. İçerdiği çakmak taşı maddesinden dolayı ağaç ve madeni eşyaları parlatmada kullanılır. Sanayide klorofil elde edilmesinde ve sarı renkli boya maddesi elde edilmesinde kullanılır.

Isırgan otu, egzamaların iyileşmesinde, baş ağrılarında böbrek ve mesane taşı oluşumuna karşı kullanıldığı belirtilmiştir. Genellikle böbrek hastalıkları olan kişilerin kuvvetli baş ağrıları bir arada görülmüştür. Egzamalar genellikle dahili bir nedene dayandıklarından, onları içerden, kan temizleyici bitkilerle tedavi etmek gerekir. Isırgan otu, fazla miktarda demir ihtiva ettiği için, başta gelen kan temizleyici ve aynı zamanda kan yapıcı bir bitkidir. Böylece, pankreas üzerinde de çok olumlu etkileri olduğu için, ısırgan otu çayı ile kandaki şeker düzeyi düşürülebilir. İdrar yolları hastalıkları ve iltihapları da bitki çayı ile tedavi edilebilir.

Isırgan otu, karaciğer ve safra kesesi hastalıklarında, dalak hastalıklarında, solunum sistemi balgamlanmasında, mide kramplarında ve ülserlerinde, bağırsak ülserlerinde ve akciğer hastalıklarında öncelikle önerilir. Değerli etken maddeleri (Potasyum tuzları, organik asitler-formik asit, histamin, asetilkolin ve Vitamin C) alabilmek için, çay hazırlanırken, yapraklar yalnızca haşlanır, kaynatılmaz. Isırgan otu, koruyucu olarak da günde bir bardak içilebilir. Mikroplu hastalıklarda ve mikrop salgılanan hallerde de bitki çok iyi bir yardımcıdır. Belirli bir yaştan sonra bedendeki demir miktarı azalmaya başlar. Bu nedenle, yorgunluk ve bitkinlik halleri görülür, kişi yaşlandığını düşünmeye başlar ve verimliliği giderek azalır. İşte bu durumlarda, demir içerikli taze ısırgan otu ile çok olumlu sonuçlar alınabilir. Kişi kendisini eskiye oranla çok daha rahat hisseder, enerji ve çalışma gücü geri

gelir, dış görünüm olarak da belirgin bir düzelme başlar [1, 2]. Ödemelerde, ısırgan otu bedendeki fazla sıvıyı emerek büyük yararlar sağlar. Kan yapıtıcı özelliği sayesinde, kansızlık solgunluklarında, alyuvarlar eksikliğinde, anemi ve daha başka ağır kan hastalıklarında yardımcı olur. Herhangi bir alerji rahatsızlığı çekenler (bahar nezlesi dahil) uzun bir süre ısırgan otu çayı içmelidirler. Bitki, soğuk algınlığına yatkınlığı önler, romatizma ve gut hastalıklarında yardımcı olur.

Her tür saça özellikle iyi gelen ısırgan otu tentürünü herkes kullanabilir. Kafa derisi kepeksiz, saçlar sık, yumuşacık ve parlak olur. Damar tıkanıklıklarında da (baldırlarda), ısırgan otu çok büyük yardımlar sağlar. Bu hastalığı çeken bazı kişiler, eğer zaman geçirmeden, ısırgan otu kökü ayak banyoları yapacak olurlarsa, olası bir bacak empütasyonundan kurtulabilirler. Her tür kramp, nereden gelirse gelsin, kan dolaşımı bozukluğunun habercisidir. Böyle durumlarda, bitkinin kaynama suyuyla masaj veya banyo yapmak gereklidir. Bu durum, kronik damarlarının daralması gibi özel durumlarda da geçerlidir.

2.3.1.3. Isırgan Otunun Toplanması

Isırgan otu bitkisi ilkbaharda, makas ve eldivenle, mayıs ayında toplanır. Kazanılmış olan deneyimlere göre, kullanılan bitki ne kadar taze olursa, tedavi edici gücü de o kadar fazladır. Kış için de kurutulacak ısırgan otlarının en güzel toplama ayı mayıs ve haziran ayının güneşli günleridir.

2.3.2. Kuşburnu (*Rosa canina L.*)

Rosa cinsine ait dünyada 70 kadar, ülkemizde ise 27 türü vardır [1, 3, 7]. Kökeni Anadolu olmasına rağmen ekonomik anlamda son yıllarda konuşılmaya başlanmıştır. Bilhassa Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi kırsalında doğadan toplanan kuşburnu meyveleri aile ihtiyacı için kullanılmaktadır. Tokat, Gümüşhane, Samsun ve Kastamonu'da ticari ve sanayi işletmelerinin de uğraş konusu olmuştur.

2.3.2.1. Bitkisel Özellikleri

Kuşburnu bitkisi halk arasında yabani gül, it burnu ve kuşkonmaz olarak bilinir. Kuşburnu fazla dallanan, dik ve çalı formunda bazen de tırmanıcıdır. Bitkinin boyu 3-4 m kadar olabilir. Güçlü büyüyen gövde ve dalları dikenli, dağmık ve sık yapılıdır. Yapraklar,

almaşıklı ve 5-7 parçacıktan oluşmuş bileşik yapraklardır. Mayıs - Temmuz aylarında yetişir, pembe beyaz renkli çiçekleri 3-5 cm. çapındadır. Meyveler 1.5-3.8 cm büyüklüğündedir. Meyveler Temmuz ayı başında olgunlaşmaya başlar. Meyve renkleri kırmızıya çalan portakal rengindeki oval meyveleridir. Bu meyveler çekirdeklerinden ayrılıp demlenir ve ezilip süzgeçten geçirilerek reçel yapımında kullanılırlar.

2.3.2.2. Besin Değeri ve Kullanıldığı Yerler

Kuşburnu potasyum, sodyum, kalsiyum, fosfor, magnezyum gibi elementler içermesi yanında özellikle yüksek oranda şeker ve protein ihtiva etmektedir. Kuşburnu meyveleri C vitamini (portakal kadar C vitaminine sahiptir), A ve D vitaminleri, şeker ve organik asitler açısından çok zengindir. Kuşburnunda vitamin C 'ye ilave olarak B1 ve B2 vitaminleri, E ve K vitaminleri ve ayrıca karoten olduğu bildirilmektedir [1, 2, 5]. Kuşburnunda hiç bir şekilde insan sağlığına zararlı pestisit ve ağır metallerin (arsenik, kadmiyum, kurşun ve cıva) bulunmayışı, ona güvenli bir şekilde bebek gıdası olma özelliği de kazandırmaktadır [6].

Bugün, ülkemizde kuşburnu aile işletmelerinde marmelat olarak kullanılırken sanayide reçel, şarap, likör, marmelat, komposto, mama, jöle, salata, pulp, nektar ve en kapsamlı olarak da meyve suyu ve çay olarak kullanılmaktadır. Ayrıca C vitamini takviyesi olarak diğer ürünlere katılmaktadır [1, 3, 6].

- İçeriğindeki zengin C vitamini sayesinde güç verir, ateş düşürücüdür, organizmada savunma sistemini güçlendirir.
- Vitamin kompleksi olarak kullanılır.
- Diareye, mide kramplarına, sindirim sistemi bozukluklarına iyi gelir.
- Bağırsakları yumuşatır, kanı temizler.
- Dolaşım sistemini düzenlediği için varis tedavisinde de yararlanır. Kuşburnu'nun 'Gül süngeri' ya da ve "gül uru" denen ve bazı gül sapslarının tepelerinde bulunan saçaklı başları da meyvesi kadar yararlıdır. Gül süngeri tonik olarak kullanıldığında:
- Yara ve yanıkların tedavisinde kullanılır.
- Yüksek ateşte terletici olarak iyi sonuç verir.
- İdrar söktürücü olarak yararlanır.

Kuşburnu bitkisi, drog olarak, yaprakları çay şeklinde, çiçekleri bağırsak yumuşatıcı ve iştah açıcı olarak tüketilmektedir. Bugün dahi şeker hastalığına, ishal, böbrek taşlarına ve diş eti kanamalarına karşı başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Vitamince zengin olduğundan gözleri güçlendirir, vücudun gelişmesini destekler ve romatizma ağrılarına karşı vücudun direncini artırır.

2.4. Lipitler

Bloor'a göre lipitler, yüksek yağ asitlerini, bunların oluşturduğu doğal bileşikleri ve bunlarla kimyasal olarak bağlanan maddeleri kapsayan doğal bir madde grubudur. Ayrıca lipit; suda, seyreltik etanolde erimeyen fakat petrol eteri, eter, benzen gibi polar olmayan organik solventlerde(çözücülerde) çözünen maddeler olup yağ asitleri adı verilen monokarboksilli alifatik asitlerin bir alkolde meydana getirdiği esterlerdir [7, 10]. Yani lipitler organik çözücülerle ekstraksiyon yoluyla elde edilir. Lipitler alkali hidroksitlerle ısıtıldıklarında sabunlaşırlar ve yağ asitlerinin suda çözünen alkali sabunları oluşurken alkolde serbest hale geçer. Basit lipitlerinden alkollü (gliserol) olanlara 'gliserit'adı verilir.

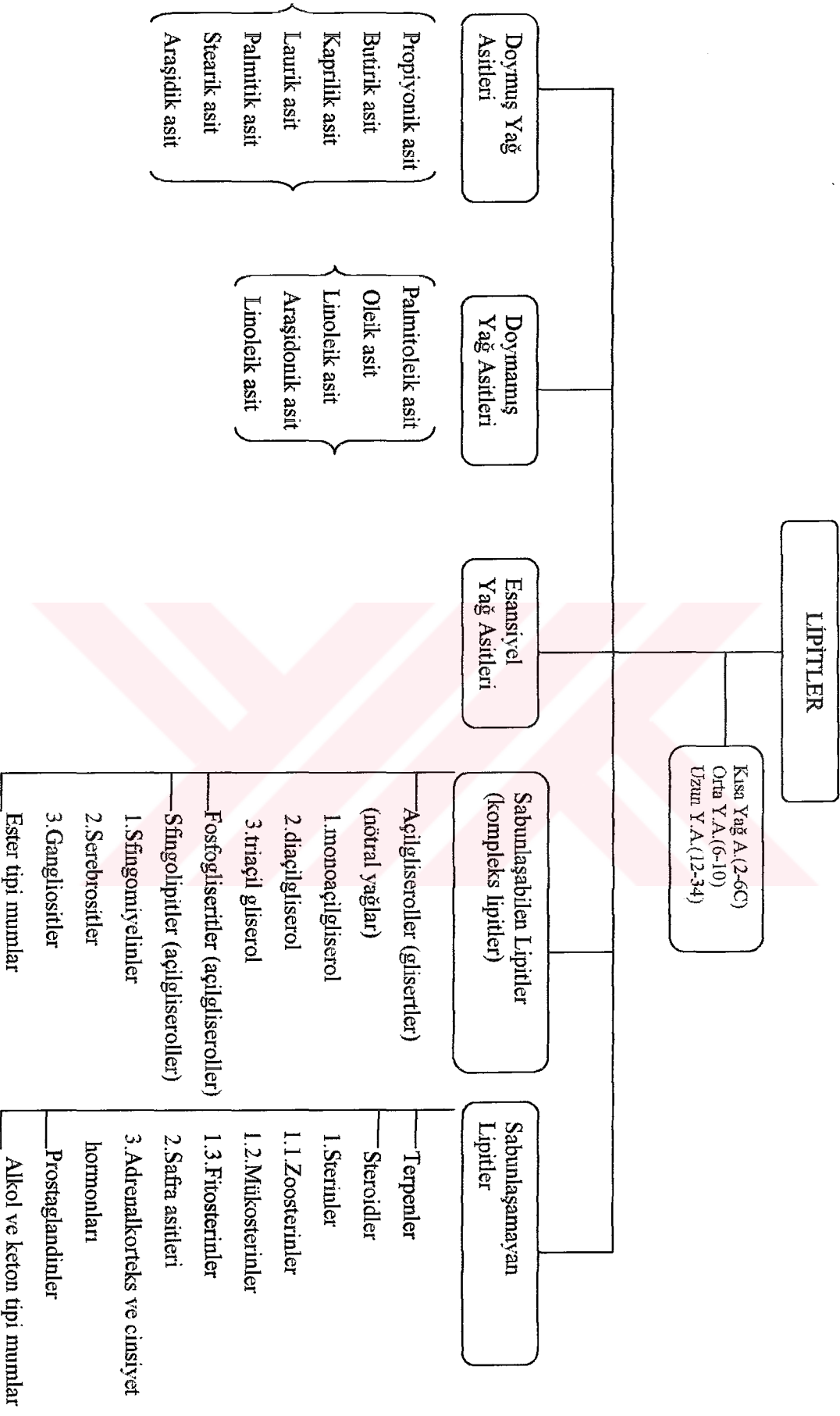
Ayrıca uçucu yağlarda vardır. Bunlar bitkilerin kokulu bileşenleri olup çoğunlukla parfüm sanayisinde kullanılır. Bu tür çalışmalar ticari önemi olan çok sayıda ilacın geliştirilmesini sağlamıştır. Uçucu yağlara terpenler de denir. Uçucu yağlar çiçeklerden ve başka bitki kısımlarından elde edilir. Terpen molekülleri çift bağlar, hidroksil grupları, karbonil grupları ve daha başka işlevsel grup taşıyabilirler.

Drog olarak kullanılan lipitlerin etkisi daha çok yağ asitlerinden dolayıdır. Doymuş yağ asitlerinin fizyolojik bir aktivitesi yoktur. Ancak lipitlerin tamamı doymuş yağ asidi esterlerini ihtiva eder. Doymuş yağ asitlerinden en çok bilineni 16 karbonlu palmitik asit ve 18 karbonlu stearik asitleridir. Stearik asit ve Mg Stearat eczalıkta çok kullanılır. Doymuş yağ asitlerinin diğerleri ise Laurik asit (n=12), miristik asit (n=14), arachidikasit (n=20), behenik asit (n=22), ve lignoserik asit (n=24)'tir. Doymamış yağ asitlerinin başlıcaları; oleikasit (n=18,a=1), linoleik asit (n=18,a=3) arasidonik asit (n=20,a=4) ve erusik asit (n=22,a=1)'tir. Linoleik asit, F vitamini adıyla ilaç olarak kullanılır. Bununla beraber, arasidonok asit ve bunun gliseritlerini içeren droglar da kuvvetli F vitamini aktivitesi gösterirler [1, 3, 10].

Doymuş yağ asitleri katı, doymamışları sıvıdır. Doğal yağların hemen tamamı bu ikisinin bir karışımıdır. Burada katı gliseritler, sıvı gliseritler içerisinde çözünmüş haldedir. Normal ısıda katı olan gliseritler ısının yükselmesi ile sıvı hale geçer, sıvı gliseritler de düşük ısıda katılaşır. Tropikal bitkilerin yapıları daha çok doymuş yağ asitlerince zengindir. Fakat tropikal bitkilerin yağları ılıman bölgelerde katıdır. Doymamış yağ asitleri, H ile doyurulduktan sonra acılaşıma eğilimleri azalır. Özellikle, doyurulmuş yağ kullanan toplumlarda linolenik asit (F avitanoz) eksikliği görülür [3].

Bu da derinin kabuklaşması ve saçların dökülmesi ile kendini gösterir. Linoleik, linolenik ve arachidik asitçe zengin yağlar alınarak bu belirtiler ortadan kaldırılır. Bu bakımdan bu asitlere esansiyel yağ asitleri denir. Aynı zamanda bu asitler vücutta, kolesterol taşıyıcı

Tablo 2.1: Lipitlerin Sınıflandırılması



olarak bilinir. Çünkü doymamış yağ asitlerinin yaptığı esterlerden daha hareketlidir. Bundan dolayı mısır ve ayçiçek yağı, arterioskleroza (damar sertliğine) karşı tavsiye edilir.

Ayrıca uçucu yağlar da bitkilerin kokulu bileşenleri olup parfüm sanayisinde de kullanılmaktadır. Bitkilerden kolay elde edilebilen terpenik hidrokarbonların oksijenli türevleri, parfümler ve koku verici ürünler arasında önemli bir grup oluşturur [24]. Bazı terpenik bileşiklerden antiseptik, antimikrobiyal, diüretik etkileri vardır. Uçucu yağlar gıda sanayisinde tat verici olarak kullanılmaktadır [10, 24]. Baharatın besinlere verdiği tat ve koku dışında, koruyucu etkisi de vardır. Bu etki baharatta bulunan uçucu yağdan ileri gelmekte ve uçucu yağların (ör: Farnesol, mentol, kafur, limonen, kumarin, safranal vs.) antiseptik etkisi nedeniyle bakterilerin üremesi yavaşlamakta, besinlerin bozulması gecikmektedir.

Uçucu yağlardan boya hazırlamada çözücü olarak, madencilikte, maden filizlerini yüzdürerek saflaştırma alanında da kullanılmaktadır. Uçucu yağlar çoğunlukla pomat yada solüsyon halinde kullanılmaktadır. Çünkü uçucu yağlar yüksek dozlarda alındığı zaman bağırsak ve böbreklerde bozukluklar meydana getirebilir (sabinen gibi) [10, 24].

Yağlar birçok losyonlarda da kullanılmaktadır; güneş kremleri, tıraş losyonları vb pomat tarzı kremlerde kullanılmaktadır.

2.5. Bitkilerle İlgili Yapılmış Olan Çalışmalar

Al Moaruf Olukayode Ajasa ve arkadaşları 2003 yılında Nijerya'nın şifalı otsu bitkilerinde Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Na, K ve Zn gibi eser elementlerin ve makrobesinlerin durumunu mikrodalga çözünürleştirme yöntemiyle incelemişlerdir.

L. Verschaeve ve arkadaşları 2003 yılında seçmiş oldukları tıbbi bitkilerin diklormetan'la ekstraksiyonu sonucu özütü ayırarak antimutagenic etkisini araştırmışlardır.

Jan L. Corlett ve arkadaşları, 2002 yılında Sacramento'da yaşayan bir mülteci (Hmong) tarafından yetiştirilen ve mutfakta kullanılan tıbbi bitkilerin mineral içeriğine, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn ve Zn, İndüktif Eşleşmiş Plazma-Atomik Emisyon Spektroskopisi (ICP-AES) cihazını kullanarak incelemişlerdir [23].

İlhami Gülçin ve arkadaşları 2003 yılında ısırgan otunun antioksidant, antimikrobiyal, antiülser (ülser önleyici) ve ağrı kesici etkisini araştırmışlardır.

M. Careri, F. Bianchi ve C. Corradini 2002 yılında yeni ilerlemeler ışığında besin türü gıdaların analizi için kütle spektroskopisine başvurmuşlardır. Lipid analizi için; sıvı kromatografisi/kütle spektroskopisi (LC-MS) ve gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi (GC-MS); protein analizi için; matris-yardımlı lazer desorpsiyon/ uçuş zamanlı kütle spektroskopisi/ kütle spektroskopisi (MALDI-TOF-MS) ve sıvı kromatografisi/kütle

spektroskopisi (LC-MS); karbonhidratların analizi için; ; matris-yardımlı lazer desorpsiyon/ uçuş zamanlı kütle spektroskopisi/kütle spektroskopisi (MALDI-TOF-MS), hızlandırılmış atom bombardımanı/ kütle spektroskopisi (FAB-MS), LC-MS, kapiler elektroforez/kütle spektroskopisi (CE-MS) ve GC-MS; vitamin analizi için de LC-MS cihazlarını kullanmışlardır [20].

2.6. Örnek Çözme Teknikleri

AAS ile çözelti halindeki örneklerin absorbans değerleri okunabildiğinden, analizi yapılacak biyolojik örneklerin çözünürleştirilmesi gerekir. Bu amaçla biyolojik örneklere uygulanabilen metodlar şöyle özetlenebilir.

2.6.1. Yükseltgeyici proseslerle çözme

Kuru çözme (dry-ashing), yaş çözme (wet-ashing), açık sistemde çözme, kapalı sistemde çözme şeklinde sınıflandırılabilen bu teknikler aşağıda anlatılmıştır.

2.6.2. Kuru çözme (dry-ashing)

450-550 °C deki bir fırında örnek ısıtılarak beyaz kül elde edilir. Kül örnekleri HNO₃, HCl, veya HNO₃-H₂O₂ karışımında eğer gerekirse kuruluğa kadar ısıtılır ve seyreltik asit çözeltisiyle karıştırılarak elde edilen berrak çözelti analiz edilir. Bu metod basit olması, örnek miktarında sınırlama probleminin olmaması ve daha az çözücü kullanılmasına bağlı olarak daha az kirlenme riski gibi avantajlara sahiptir. Bunun yanı sıra külleme süresince bazı metallerin klorürleri, bazılarının ise organometalik bileşikleri halinde buharlaşması gibi dezavantajlara sahiptir. Kayıplar çözünmeyen kalıntılardan ve kap yüzeyinde adsorpsiyondan da kaynaklanabilir.

2.6.3. Yaş Çözme (Wet ashing)

Kuru çözmedeki buharlaşma ve adsorpsiyon kayıplarının olmadığı bu yöntemde örnekler geri soğutucu takılmış atmosfere açık bir destilasyon balonuna konur. Çözücü olarak HNO₃, H₂SO₄, HClO₄, HNO₃-H₂O₂ karışımı veya bunların karışımları kullanılır. Yaş çözme metodunda sıcaklık 200 °C nin altında olduğundan buharlaşma kayıpları As ve Se gibi bazı mineraller haricinde yoktur. Ancak kuru çözmeyle oranla daha çok çözücü gerektiğinden reaktiflerden gelen kirlenmeler ve örnek sınırlaması ve daha büyük dikkat gösterilmesi

gereği gibi dezavantajlar söz konusudur. Derişik çözeltilerinde ve sıcakta iyi bir yükseltgen olan HClO_4 in kullanıldığı çözümlerleştirmelerde HClO_4 in patlayıcı özelliğinden dolayı örneğin kurummasına müsaade edilmemelidir. Pyrex cam, teflon ve platin kullanılan kapları oluşturur.

Kuru ve yaş çözme tekniklerinin karşılaştırılması

Kuru Çözme

Daha yüksek sıcaklık-daha çok buharlaşma ve tutulma kayıpları

Örnek doğasına daha çok duyarlı

Daha az dikkat gerekir

Daha küçük kör değer

Daha büyük örnekle çalışılabilir

Yaş Çözme

Daha düşük sıcaklık-daha az buharlaşma ve tutulma kayıpları

Örnek doğasına daha az duyarlı

Daha büyük dikkat gerekir

Daha büyük kör değer

Daha büyük örneğe uygun değil

2.6.4. Sadece Seyreltmeyle Örneklerin Analize Hazırlanması

Sıvı örnekler uygun seyreltici maddelerle seyreltilerek AAS ile direk analiz edilebilir. Bu amaçla saf su, 0.1 M HNO_3 , 0.1 M HCl gibi seyreltik asitler, Triton X-100 veya %1'lik sodyum lauryl sülfat gibi ıslatıcı (wetting) reaktifler veya %0.1'lik histidin gibi kelatlayıcılar kullanılabilir. Alevsiz AAS de HNO_3 ve HCl atomlaşma basamağını olumsuz etkileyebilir [15].

2.6.5. Fotooksidasyonla Çözme

Organik bileşikler ultraviyole ışınlarıyla etkileşme sonucu kısmen veya tamamen bozundurulabilir. Radyasyon kaynağı olarak ışıma yapan cıva veya ksenon ark lambasının kullanıldığı bu düzende örnek lambanın etrafını saracak şekilde dizayn yapılmıştır. Biraz cıva veya Fe(III) ilavesiyle ışığın absorplanması artırılabilir. Biraz H_2O_2 ilavesiyle de yükseltgenme reaksiyonları hızlandırılabilir. Daha çok içme ve deniz suyundaki organik bileşiklerin bozundurulması amacıyla kullanılan bu metod da gerekli süre örnek ve cihaza bağlı olarak birkaç dk dan birkaç saate kadar değişir.

2.6.6. Kapalı Sistemde (Yüksek basınç altında) Çözme

Uçucu olan elementlerin buharlaşma kayıplarını önlemek için teflon bombalarda yaş çözme metodunda kullanılan çözücüler kullanılarak etüvde 100 °C civarındaki sıcaklıklarda örnek çözünürleştirilir. Son zamanlarda bu şekilde hazırlanmış teflon bombalar mikrodalga fırına yerleştirilip daha hızlı bir sürede çözünürleştirme sağlanmaktadır [8].

2.6.7. Mikrodalga Enerjinin Elde Edilmesi

Elektromagnetik teori yönünden maddeler iletken ve yalıtkanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Bir iletken, yüksek frekanslı bir alan içerisine sokulduğunda yüzeyinde bir yüzey akımı meydana gelir ve pratik olarak bu akım iletkenin içine nüfuz edemez.

Bir di elektrik madde (yalıtkan), elektriksel bir alan içerisine yerleştirildiğinde yük hareketi olmamasına rağmen, di elektrik içindeki atomların elektron bulutu az da olsa bir yer değiştirmeye maruz kalır ve her atom kendi başına elektrik dipolüne benzer. Bu duruma di elektrik polarize olmuştur denir. Bir elektriksel dipol, aralarında bir uzaklığı bulunan pozitif noktasal yük (çekirdek) ve negatif noktasal yüklerden (elektron) meydana gelmiştir. Di elektrik içinde alanın zamanla değişmesi ile madde içinde oluşan elektrik alanı da değişir ve oluşan dipoller de salınım yaparlar, enerjinin korunumu prensibine göre bu salınımların devam edebilmesi için elektronlar elektromagnetik dalgadan enerji alırlar. Ortamda ısıya dönüşen bu enerjiye "Mikrodalga enerjisi" denir, iyonik iletme, yani elektromanyetik alan uygulandığında iyonların elektroforetik güçleri sonucu oluşan iletme ve dipol dönme ile mikrodalgaın molekülleri doğrudan etkilemesine dayanır, iyonların bu akışı çözeltinin direnciyle ve sürtünmesiyle sonuçlanır ve bunun sonucunda ısı açığa çıkar. Ticari sistemlerde 2450 MHz'de kullanılan frekanslarda dipoller her bir dakikada $4,9 \times 10^9$ kez aynı hizaya gelip, tekrar rasgele dağılırlar. Bu zorlama ile moleküllerin hareketleri ısınmaya sebep olur. Böylece ısıya dönüşen bu enerji, maddenin di elektrik sabiti, sapma açısı, frekansa ve elektrik alanın büyüklüğüne bağlıdır. Çözücünün mikrodalga enerjisi absorplama kabiliyeti ve onu enerji formunda diğer moleküllere aktarması dağılma faktörüyle ilişkilidir. Bu dağılma faktörünü veren denklem $\tan \delta = \epsilon'' / \epsilon'$ şeklinde gösterilebilir. $\epsilon'' =$ di elektrik kaybı (Isıya dönüşen mikrodalga enerjinin veriminin bir ölçüsüdür), $\epsilon' =$ di elektrik sabiti (bir elektrik alanda bir molekülün polarizasyonunun bir ölçüsüdür). Suyun sapma açısı büyük olduğundan mikrodalga ile kurutulmak istenen yiyecek maddeleri içinde ısıya dönüşen güç de büyüktür. Çünkü yiyecek maddeleri içinde büyük oranda su bulunur. O halde kurutma amacıyla kullanılan mikrodalga enerjisinin, kurutulmak istenen maddenin

içinde meydana getirdiği ısısal güç, büyük ölçüde madde içindeki nem ile orantılıdır. Kapalı kaplarda çözücüler kendi kaynama noktalarının çok üstüne ısınabilirler, böylece ekstraksiyon verimi ve hızı arttırılır. Çok sık kullanılan bazı çözücüler Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2. Mikrodalga enerjide yaygın olarak kullanılan bazı çözücülerin dağılma faktörleri ve fiziksel özellikleri

Çözücü	D i elektrik sabiti(ϵ^1) ¹	Dipol Moment ²	Dağılma faktörü $\tan\delta(*1(r)^3$	Kay. Nok. (C^0) ⁴	Teflon kaptaki Sıcaklık ⁵
Aseton	20.7	—	—	56	164
Asetonitril	37.5	—	—	82	194
Etanol	24.3	1.96	2500	78	164
Hekzan	1.89	—	—	69	—
Metanol	32.6	2.87	6400	65	151
2-Propanol	19.9	1.66	6700	82	145
Su	78.3	2.3	1570	100	—
Hekzan-aseton	-	—	—	52	156

¹=20 °C’de belirlenmiştir,

²=25°C’de belirlenmiştir,

³=1 Atm.

⁴=12 Atm.

⁵=Mikrodalga olmaksızın belirlenmiştir.

2.6.7.1. Mikrodalga çözümlendirme sisteminin mekanizması ve klasik çözümlendirme yöntemiyle karşılaştırılması

Mikrodalga, elektromanyetik spektrumda IR ile radyo dalgalarının arasında kalan bölgedir. Dalga boyu 1 mm-1 m olan bu enerjinin, günlük hayatımıza ısıtma etkisi işlemlerinde zamanını kısaltmak olarak görülmektedir. Günümüzde bir çok mutfakta bulunan mikrodalga fırınlarla, ısıtma süreleri 15-30 dakikalardan 2-3 dakikalara indirilmiştir. Örneklerin çözümlendirilmesinde mikrodalga fırınların kullanılması ile kirlenme, buharlaşmayla element kaybı ve çözümlendirme zamanı minimize edilmiştir [11]. Bu avantajlar, mikrodalğanın ısıtma mekanizmasının (dipol dönme ve iyonik iletisim) alışılmış tekniklerden farklı olmasıyla sağlanmaktadır. Klasik ısıtma teknikleri bir kütleyi dıştan içe doğru tabaka-tabaka ısıtırken, mikrodalga tüm kütlenin her yerini aynı anda ısıtır. Modern

laboratuvarlarda çok sayıda örnek ve çoklu element analizi yapma gereksinimi; zaman kavramını çok önemli hale getirdiğinden mikrodalga fırınlar kullanılarak çözünürleştirme süreleri önemli ölçüde kısaltılmıştır.

Mikrodalga tekniği ile örnek çözünürleştirme, analitik kimyada ilk defa 1975'de Abu Samra ve arkadaşları tarafından, biyolojik örneklerin asitlerle hızlı bir şekilde çözünürleştirilmesi amacıyla kullanılmıştır. Sonra bütün örnek çeşitlerinin hazırlanmasında mikrodalga tekniği geliştirilip, yaygın olarak kullanılmıştır. Mikrodalga fırınların kullanımı sadece örnek çözünürleştirmeye sınırlı kalmayıp, bunun yanında özellikle örnek çözeltilerinin buharlaştırılmalarında ve spesiasyonunda, kromogenik reaksiyonlarda, örnek temizlenmesinde, analit adsorpsiyon ve desorpsiyonunda, nemin ölçülmesinde, örnek kurutulmasında, solvent ekstraksiyonunu içeren analitik kimya ve diğer alanlarda da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Daha sonraki yıllarda Qinhan Jin ve arkadaşları tarafından mikrodalga çözünürleştirme tekniği çeşitli örneklerle uygulanmıştır. Bu örnekler; jeolojik, biyolojik, botanik, gıda, tahıl, çevre örnekleri, kül, metalik ve sentetik örnekler ve çeşitli karışım örnekleridir [11, 13, 14].

Ekstraksiyon uygulamaları ise Ganzler ve arkadaşları tarafından 1986'da ilk olarak yapılmış ve özellikle toprak ve pestisit örneklerinde çalışmışlardır; gıdalardan ham yağ ve antibesinler, tohumlardan ilaç, fasulye ve tohumdan pirimidin glukoz ekstraksiyonunu yapmışlardır. Ekstraksiyon için yaygın olarak kullanılan soxhlet çözücü ekstraksiyonuna göre bir çok avantajı olan mikrodalga tekniğiyle 2-3 ml çözücü, 0,5-1,0 g örnek miktarı, ekstraksiyon süresi olarak 5 dk uygulanıp ekstraksiyon başarılı bir şekilde yapılmıştır. 1988'li yıllarda Kingstom ve Jessie mikrodalga altında örnek/çözünürleştirici kimyasallar etkileşiminin mekanizmasının bazı yönlerini ve mikrodalga/örnek etkileşiminin teorik yönlerini açıklamışlardır. 1990'lı yıllarda ise mikrodalga'nın Avrupa ülkelerinde bilgisayar teknolojisi kullanılarak kesikli yada on-line analizlerde değişik alanlarda uygulandığı görülmektedir [15, 16]. Yüksek verimli analitik tekniklerin en önemli basamağı örnek hazırlama basamağıdır. Element analizi için örneklerin çözünürleştirilmesi ve örneklerdeki organik yapıların uzaklaştırılmaları gerekir, aksi takdirde girişim etkisi ve toplam element analizinde kayıplar söz konusu olacaktır. Bu ciddi problemin uzaklaştırılması için organik içeriklerin yok edilmesi gerekir. Organik yapısı uzaklaştırılmaya çalışılan örnek seyreltme, çözme, parçalama ve ayırma gibi bir takım işlemlerden sonra spesifik ölçüm teknikleriyle analizlenebilir. İlk olarak gıda örneklerinde mikrodalga'nın kullanımına HNO_3 , H_2O_2 , HCl asit ve karışımlarıyla başlanılmış ve çözünürleştirme işlemi olumlu sonuç verirken, El Azouzi ve arkadaşları H_2O_2 , HNO_3 , HCl asit ve karışımlarını ilk olarak oda sıcaklığında çalışmışlardır. Özellikle Co, Cr, Se gibi elementlerin dışındaki elementlerde oldukça iyi geri kazanım sonuçları elde edilmiştir. El Azouzi ve arkadaşları, H_2O_2 , HNO_3 , HCl gibi asitleri

doğrudan örnekler üzerinde çalışılmıyıp, bu işlemleri kadımlı olarak iki basamakta ve her basamakta farklı mikrodalga güçler uygulanarak yapılmıştır [16, 17, 18]. Analiz tekniği, örnekteki beklenen derişim, analit ve matrisin türü ölçüm için önemli parametrelerdir.

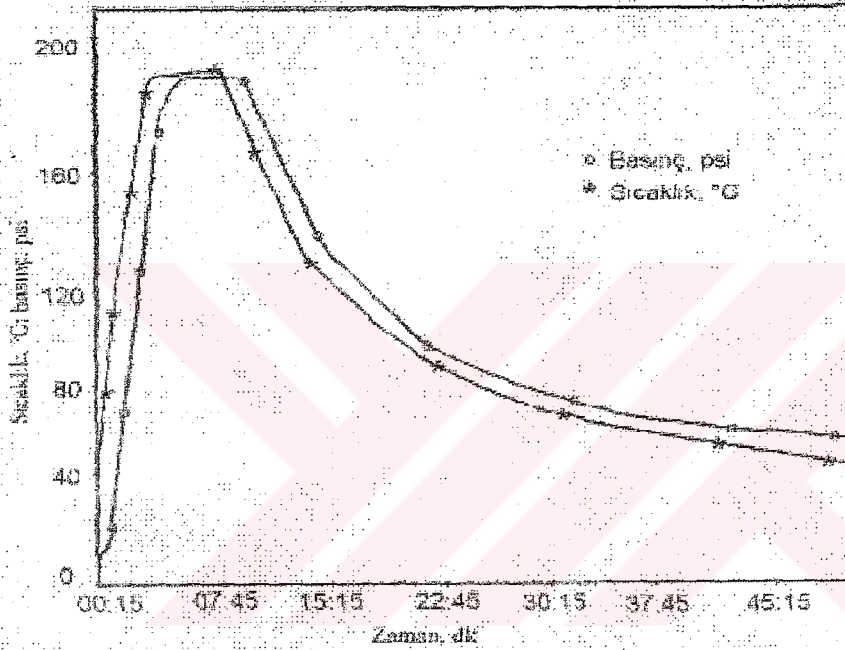
Bir analiz tekniğinde kullanım kolaylığı, doğruluk ve kesinlik, bir sonraki örnekle arasında karşılıklı olabilecek kirlenme ve tepkime oluşumu (bellek etkisi), sistemden örneklerin geri kazanım etkileri, organik materyallerin yükseltgeme etkileri, inorganik materyallerin parçalanma/çözünübilirlik etkileri dikkate alındığında geliştirilen bilgisayar sistemlerin mikrodalga ile birleştirilmesiyle bu elektromanyetik enerjinin kullanımı büyük avantajlar sağlamaktadır. Bazı laboratuarlarda: American Society for Testing Materials (ASTM), the Environmental Protection Agency (EPA) ve the French Association of Standardization (AFNOR) gibi önemli laboratuvarların standart metod olarak tavsiyeleri mikrodalga kullanımını yönündedir. Yapılan birkaç çalışmada referans materyallerin ki bunlar; Certified Reference Materials (CRM), National Institute for Standards and Technology (NIST) ve Bureau of Reference Materials of the European Commission (BCR) iz element analizlerinde mikrodalga çözünüleştirilmeleriyle özellikle toprak, bitki, biyolojik örnek, atık, tahıl, gıda, jeolojik, endüstriyel...vs örnek çeşitlendirmelerinde çoğu elementler için geri kazanım testlerinin oldukça iyi olduğu görülmüştür. Ancak alüminyum ve silikat içeren örneklerde bu yüksek geri kazanım sonuçları elde edilememiştir [18].

Mikrodalga ısıtma mekanizmasının üstünlüğü (dipol dönme, iyonik iletişim) hedef kütledeki bütün molekülleri aynı anda etkileyerek, klasik tekniklerin ısıtmasına göre çok daha kısa bir sürede işlemi tamamlamasından kaynaklanmaktadır. Mikrodalga işleminde enerji aktarımı çok güçlüdür ve verimlidir. Oluşturulan bu mikrodalga ortamında organik moleküller üzerinde kimyasal bir etki oluşmamaktadır. Mikrodalga enerji teflon kaplar tarafından absorbe edilmediğinden enerji kaybı olmaz, sadece enerji örnek ve çözünüleştiriciler tarafından absorbe edilir. Mikrodalga gücü örnek türüne göre uygun bir şekilde seçilebilir, çözünüleştiricilerin derişimi ve eklenecek miktar kolaylıkla kontrol edilebilir [16]. Mikrodalga ısıtması dıştan olduğu gibi içten de olduğundan, enerji moleküller çarpışmadan ziyade polarizasyon yolu ile transfer olur. İç ısıtma örneği mekanik olarak uyarır ve numunenin dış tabakasını bozar, böylece asit ile örnek arasında daha iyi bir temas sağlanır. Kapalı basınç tüpleri örneğin ısını arttırarak çözünürlüğe yardımcı olur. Bu nedenle ihtiyaç duyulan kaynama noktasına daha çabuk ulaşır. Çözünüleştirme süresini 3 dk'ya kadar azaltabildiğinden dolayı da çok yaygınlaşan bir teknik olması sürpriz değildir.

Mikrodalga çözünüleştirme, hidroliz ve ekstraksiyon sistemleri ticari olarak mevcut olanlardır. Son yıllarda önem kazanan bu aletlerin en önemli kısmı çözünüleştirme tüpleridir. Çözeltileri direkt ve hızlı ısıtması, oluşturulan mikrodalga ortamındaki enerjiyi absorblamaması, kirlenmenin olmaması, rahat bir şekilde temizlenebilmesi, kullanılan

asitlerle, reaksiyona girmemesi, yapısında kirlilik bırakmaması nedeniyle önem kazanır [17, 18].

Günümüzde; açık (atmosferik basınç) tüplerde ve kapalı (yüksek basınç) tüplerde olmak üzere iki tür mikrodalga çözünürlüştürme tekniği kullanılmaktadır. Kapalı tüpler yaygın olarak ticari mikrodalga sistemlerinde kullanılır. Çözünürlüştürme boyunca asit karışımının buharından ve ayrışma reaksiyonlarında oluşan gazlardan dolayı basınç yükselir. Bu nedenle atmosfer basıncının üzerinde bir basınç oluşur. Yüksek basınç nedeniyle de sıcaklık çarpıcı olarak artar. Bu nedenle mikrodalga çözünürlüştürme sisteminin çok dikkatli programlanması gerekir [16, 18].



Şekil 2.1. Mikrodalga enerji kullanımında, çözünürlüştürme kaplarının iç kısmında oluşan basınç ve sıcaklığın zamana bağlı olarak değişimi.

Mikrodalga enerji kullanılarak, basınç, sıcaklık ve zaman arasındaki ilişkinin açıklanması için yapılan çalışmalarda da zamana göre ilk 5-10. dakikalarda sıcaklık (°C) ve basınç (psi) değerinde hızlı bir şekilde artış olduğu görülmüş, belli bir maksimuma çıkan sıcaklık ve basınç eğrileri organik yapının parçalanması ve dolayısıyla basınç ve sıcaklık oluşturan gazların azalmasıyla daha sonraki sürelerde dalgalanmalar göstermiş ve üstel bir azalma ile sabit bir değere ulaşmıştır [18]. 1975 yılındaki tanıtımından bu yana mikrodalga ısıtma ile numune hazırlanması çok hızlı bir şekilde gelişip, günümüzde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Klasik olarak bilinen tekniğe göre avantajları;

- Çözünürlüştürme süresi
- Tekrarlanabilirlik

- Minimum enerji ve kimyasal madde sarfıyatı
- Uçucu bileşenlerin ortamda tutulması
- Çevresel kirlenmeden sakınılması
- Basit olması
- Güvenli olması (avantaj ve dezavantajları göz önünde bulundurularak)
- Blank (kör) hacminde azalma olması
- Çözünürleştirilebilir örnek sayısının ve miktarının fazla olması
- Çözünürleştirme kapları (teflon) tarafından mikrodalga enerjisinin absorbe edilmemesi.

Kapalı tüplerde mikrodalga ile örnek hazırlanması analiz laboratuvarlarında çok yararlı araçlar haline gelmiştir.

Çözünürleştirme kaplarında (teflon kaplar) gaz fazı ile sıvı faz termal bir dengede değildir. Teflon kaplar veya diğer Çözünürleştirme kaplarında iç basınç tamamen kontrol altında değildir. Örneğin parçalanması esnasında Çözünürleştirme kabındaki gerçek basınç; kabın cinsine, kullanılan asidin türüne, miktarına, asidin sıcaklığına, çözünürleştirilen örneğin boyutuna ve bileşimine bağlıdır. Çözünürleştirici olarak kullanılan kimyasallar farklı ısı kapasiteleri ve yoğunlukları yüzünden, aynı işlem basamakları altında aynı miktarda enerji absorplamazlar. Kapalı tüp içerisinde atmosferik kaynama noktası üzerindeki asit sıcaklıkları, asidin kısmi basınçlarının artırılmasıyla başarılıdır. Bu artan sıcaklıklarda asidin oksidasyon potansiyeli de söz konusu olduğundan örneğin parçalanma oranı da artar.

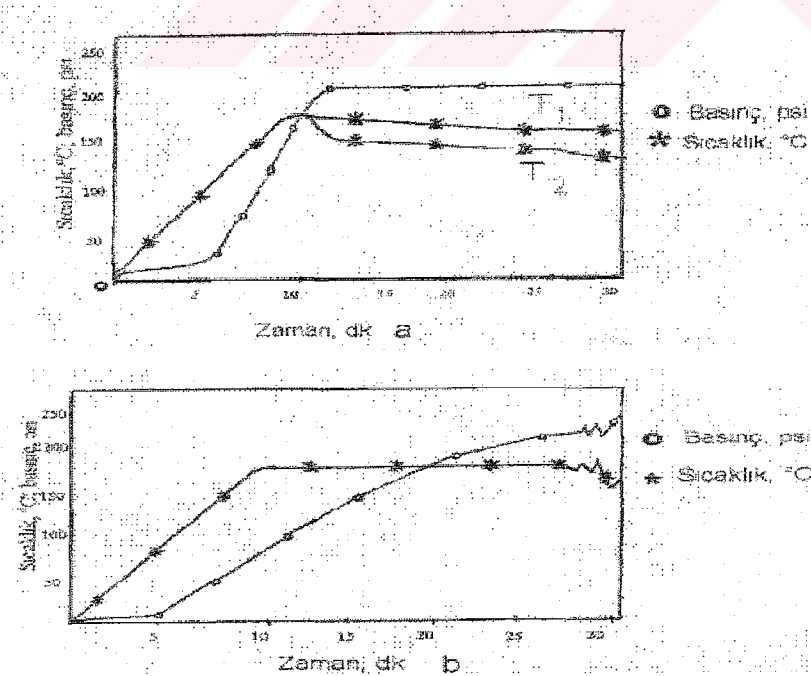
Eğer mikrodalga çözünürleştirmede örnekler kuruluğa kadar buharlaşırsa (gaz sızıntısından veya kabın sıkı sıkıya kapalı olmamasından dolayı) yansıma gücünün artmasından kaçınmak için mikrodalga fırınının içine bir veya birkaç kap içinde 100'er ml su konulur [19]. HNO_3 ile yapılan çözünürleştirmelerde organik maddelerden CO_2 , NO , NO_2 , H_2O gibi gazlar açığa çıkar. Bu olay tüp içindeki toplam gaz hacmini arttırmakta ve belli sıcaklıkta HNO_3 'ün tek başına yapabileceğinden daha yüksek basınçların oluşması yol açmaktadır. İz elementlerin belirlenmesinde HNO_3 ve çözünürleştirmede kullanılan diğer kimyasalların seyreltik olmaları başarılı sonuçlar elde edilmesinde yardımcı olur. Bu hem basit, hem güvenli ve hem de ekonomik açıdan avantajlarının yanında, seyreltik asitler daha çok mikrodalga enerjisiyi absorbe ederler. Bu gibi avantajlar sağlansa da çözünürleştirme süresinin uzaması önemli bir dezavantaj olarak görülür. Her ne kadar seyreltik çözünürleştirme asitleri mikrodalga enerjisiyi iyi absorplasa da, diğer bir taraftan derişik asitli ortamda aşırı bir gaz basıncı olur. Mikrodalga enerjisinin örnek matrisine etkisi artar, oluşan bu yüksek basınç ve sıcaklıkla örnekler çözünürleştirilir. Örnek bütünlüğü de sağlanan bu şekilde yapılan çözünürleştirme işlemlerinde belirlenen % geri kazanma verimi değerleri oldukça iyidir. Ancak örnek çözünürleştirilmesi esnasında ortamın potansiyelinin

tehlikeli patlama potansiyellerinc ulaşmaması için çözünürleştirme sürecinin kısa tutulması ve mümkün olduğu kadar düşük asit hacminde çalışılması gerekir [9, 17].

Tahıl örneklerinin mineralizasyonunda çeşitli asit ve asit karışımları kullanılır, bunlar; HNO_3 , H_2O_2 , HF , HClO_4 , HCl , H_2SO_4 'dir. Polar moleküller ve iyonik çözeltiler (genellikle asitler) mikrodalga enerji tarafından etkilenebilecek sürekli bir dipol moment yüzünden güçlü bir şekilde mikrodalga enerjiyi absorbe eder. H_2SO_4 yüksek sıcaklıklarda PTFE kaplarına zarar verdiği için ve H_2O_2 ile reaksiyonunda ani buharlaşma oluştuğundan dolayı pek fazla tercih edilmez. HClO_4 ise yüksek sıcaklık ve basınçta tehlikeli patlama potansiyeline ulaştığı için dolayı yüksek sıcaklık ve basınçlarda pek tavsiye edilmez. HCl ise Al analizi yapılan çalışmalarda Al ile girişim yaptığı için dolayı bu analizde kullanılmaz.

Shaole ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, örnek sadece 2,5-5 ml HNO_3 ile ve $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ karışımlarıyla çözünürleştirilmiştir. Örneğe bir ön çözünürleştirme işlemi uygulandıktan sonra sıcaklık $120\text{-}200^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanmış ve basınç 200 psi olacak şekilde çözünürleştirme işlemine devam edilmiştir. $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ ve HNO_3 , HClO_4 asit karışımlarının çözünürleştirme yüzdeleri karşılaştırıldığında, $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ asit karışımı ile yapılan çözünürleştirme sonucu elde edilen mineral içeriklerinde %0,01 kadar bir artış olduğu gözlemlenmiştir.

Çözünürleştirme ortamında H_2O_2 'in varlığı oksitlenmeyi ve çözeltinin berraklığını arttırmakta, sınırlı basınç altında yüksek sıcaklığın sürdürülmesine yardımcı olmaktadır.



Şekil 2.2. Basıncı ve sıcaklık kontrollü mikrodalga çözünürleştirme cihazı ile (a) HNO_3 ile, (b) $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ karışımı kullanılarak yapılan çözünürleştirme işlemi sonucu değişen basınç ve sıcaklık eğrileri

Isıtıcı üzerinde materyalin; asitler ve bazlarla ısıtılarak çözünürleştirilmesi analiz için örneklerin hazırlanmasında bilinen bir yöntemdir. Bu yöntem, ağız açık bir sistem olduğu için kaynama esnasında madde kaybını dikkatle önlemeyi gerektiren bir yöntemdir. Çözünürleştirmeyi tamamlama saatlerce sürer ve saatlerce açığa çıkan asit buharları sağlık için problem oluşturur [17]. Bu yöntemlerde tepkime sıcaklığı asitlerin kaynama sıcaklığına kadar yükselir. Bu esnada asit buharları örneğin kirlenmesine yol açabilir, oluşabilecek patlama tehlikeleri, fazla miktarda asit kullanılması ve bu arada her çözünürleştirme işleminde sürekli aynı titizliğin gösterilmesi gerekir. Doğrudan yaş çözünürleştirme işlemlerinde genellikle derişik HNO_3 yada $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ karışımları kullanılarak sıcaklık yükseltilir [11, 16]. Genel olarak bu tekniklerin dezavantajları:

- Çok uzun zaman alması
- Çözünürleştirme sağlanmamışsa daha fazla asit ilavesi, bunun için başında beklenmesi de sık sık kontrolü ve fazla miktarda asit ilavesi
- Asit konsantrasyonunun AAS'ye ve diğer spektroskopik aletlere verilecek sınırın çok üstünde olması halinde kuruluğa kadar buharlaştırma gereği,
- Cam kaplar kullanıldığı hallerde, camın yapısındaki elementlerden gelen kirlenme,
- Mutlaka çöker ocak gerektirmesi, buna rağmen asit buharlarının laboratuvar ortamını kirlenmesi,
- Çok fazla miktarda ve yüksek konsantrasyonda asit kullanılmasıdır.
- Potansiyel kirliliklere açık olması
- Mekanik ve buharlaşma kayıpları olarak sıralanabilir.

2.6.8. Bitkisel Ekstraksiyonları Elde Etme Yöntemleri

2.6.8.1. Ekstraksiyon Metodları

Doğal hayatta yetişen veya kültüre alınabilen tıbbi bitkilerden; ham drog, eczacılık, kimya ve boya endüstrisinde kullanılan bitkisel ekstrakt ve saf aktif maddeler, destilasyon, ekstraksiyon ve mekanik-pres yöntemleri ile elde edilir [1, 2, 27].

Hangi yöntemle olursa olsun, elde edilen yağlar kurutulduktan sonra ağızına kadar doldurulmuş ışık geçirmeyen kaplarda muhafaza edilmelidir

2.6.8.1.1. Ekstraksiyon-anfloranj Metodu (soğuk yağla)

Bitkideki % oranı düşük fakat ekonomik değeri yüksek, kolay esans vermeyen ve yüksek ısıdan etkilenen çiçeklerin uçucu yağlarının elde edilmesi için kullanılır. Uçucu yağlar, kaynama noktaları düşük çözücülerle (petrol eteri, benzol, karbon tetra klorür vs.) çözülür veya uçucu olmayan çözücüler tarafından absorbe edilmeleri ile elde edilmesi esasına dayanır.

2.6.8.1.2. Maserasyon (Sıcak Yağla Ekstraksiyon) Metodu

Bu yöntemde çözücü olarak kullanılan yağ sıcaktır. Maserasyon metodunda, emici olarak kullanılacak yağ, porselen veya emayeli varillere doldurulur. Su, 40-50°C ısıtılır. Çiçek yaprakları tülbentler içerisine konur veya doğrudan doğruya iç varildeki yağa daldırılır. 12-48 saat süreyle beklendikten sonra filtre presle süzülür. Bu işlem aynı yağda 10-20 defa tekrarlanır. İyice kokulandırılmış yağ, alkol vakum destilasyonu ile destile edilip uçucu yağ ayrılır.

2.6.8.1.3. Uçucu Çözücülerle Ekstraksiyon Metodu

Son zamanlarda maserasyon yerine uçucu çözücüler tercih edilmektedir. Bu yöntemin esası; uçucu yağı çıkarılacak bitkiye uygun çözücünün seçilmesidir. Çözücü olarak genellikle petrol eteri, benzen, alkol (kuru materyal için) veya aseton kullanılır. Bu çözücülerle muamele edilen bitkideki uçucu yağ kısa zamanda çözülecek alınır. Bu bakımdan metod tüketme esasına dayanır. Tüketme esasının üstünlüğü ise sabit sıcaklıkta (30-50°C) yapılmasıdır. Böylece, uçucu yağ, doğal kokusuna yakın bir özellikte ve saf olarak elde edilir.

2.6.8.2. Destilasyon Yöntemleri

Bitkilerin değişik organlarındaki farklı bileşikler halinde bulunan uçucu yağların belirli fiziksel şartlara göre yapılan bir izolasyon işlemi olup üç ayrı destilasyon metodu vardır.

2.6.8.2.1. Su Buharı Destilasyonu

Birbiri içinde çözünmeyen uçucu yağların destilasyonu bu usulle yapılır. Kurutulmuş olan ve kaynatmakla bozulmayan bitkisel materyal için uygulanır. Materyal, kazan içine

yerleştirilip üzerine su ilave edildikten sonra ateşe konur. Kazanda direkt kaynar su ile temas halindeki materyalin uçucu yağı su buharı ile beraber soğutucuya taşınır ve burada yoğunlaşarak toplama kabında birikir. Suda çözülmediklerinden, sudan hafif olanlar üstte, ağır olanlar altta toplanır.

2.6.8.2.2. Su ve Buhar Destilasyonu

Taze veya kuru materyalin ısıdan bozulanları için kullanılır. Kuru materyal destile edilecekse materyal önce toz haline getirilip üzerini örtecek kadar su ilave edilerek maserasyona bırakılır. Maseralara su buharı verilerek uçucu yağ ayrılır.

2.6.8.2.3. Direkt Buhar Destilasyonu

Taze olarak toplanan bitkisel materyal, küçük parçalar halinde doğranır. Materyalin bünyesi su bakımından zengin olduğu için maserasyon yapılmaz. Doğranmış materyal bir sepet içerisinde destilasyon kazanlarına yerleştirilir. 20-200 mm basınç altında sıcaklığı 66°C'yi geçmeyen buhar, taze bitkideki uçucu yağ damlacıklarını da sürükleyerek soğutucuya taşır. Burada yoğunlaşan uçucu yağ, toplama kabında birikir.

3. ANALİZ YÖNTEMLERİ

3.1. Kütle Spektrometrisi

Kütle spektrometresi şüphesiz halen kullanımda bulunan tüm analitik yöntemlerin en geniş uygulama alanı olanıdır; ve (a) maddelerin elementel bileşenlerinin belirlenmesinde; (b) İnorganik, organik ve biyolojik moleküllerin yapılarının aydınlatılmasında; (c) karmaşık karışımların kalitatif ve kantitatif analizlerinde; (d) katı yüzeylerinin yapılarının ve bileşimlerinin aydınlatılmasında; (e) bir numunedeki atomların izotopik oranlarının bulunmasında oldukça etkili bir yöntemdir [18, 21].

Kütle spektrometresi, oldukça eski bir analitik yöntem olup, 1918'lerde duyarlılığı kütle ölçümleri yapılabiliyordu. Her teknikte olduğu gibi kütle spektrometresi de yeni yöntemlerin bulunması ve bilgisayar bağlantısı sağlanmasıyla çok gelişmiştir. Bununla birlikte, pahalı oluşu ve özel kullanma tekniğini bilen bir operatörün gerekmesi nedeniyle IR ve NMR spektrometrelerinin aksine ancak büyük araştırma grupları tarafından kullanılmaktadır. Bununla beraber, kütle spektrometresinde çok az miktarda madde kullanılarak yapı analizi yapıldığı gibi, gaz kromatogramına veya sıvı kromatogramına bağlanarak karışımlarında

analizi yapılabildiği için, kütle spektrometresi, organik yapı analizi için tek başına bilgi verebilen çok yararlı bir yöntemdir [21, 26].

3.1.1. Moleküler Kütle Spektrumları

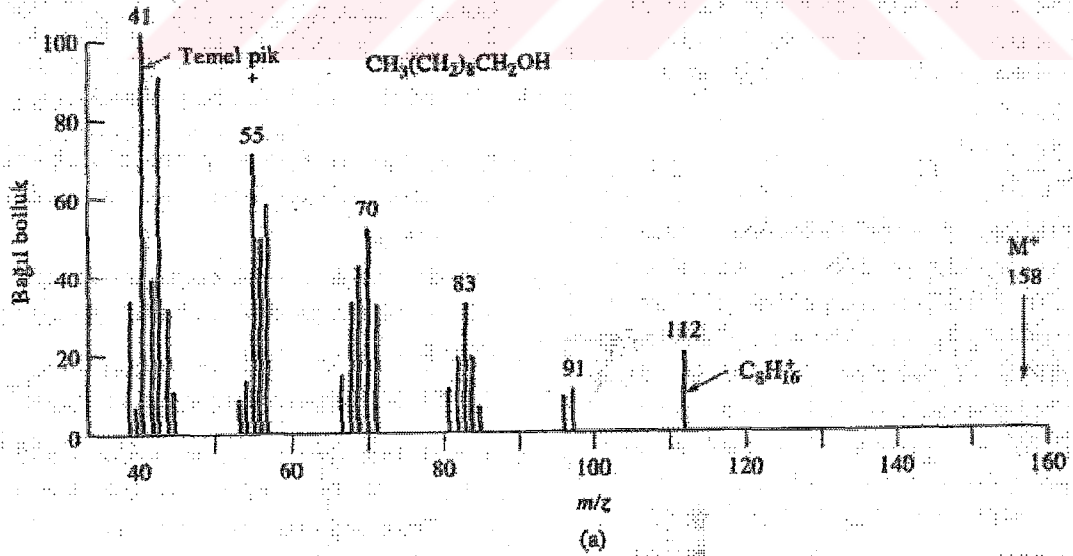
Yüksek enerjili elektronlar ile analit molekülleri arasındaki çarpışmalar molekül, onu uyaracak kadar yüksek enerji verir. Çünkü kütle spektroskopisinde, gaz halindeki örnek, bileşiğin ilk iyonlaşma potansiyelini aşmaya yetecek enerjili elektronlarla bombardıman edilir. Uyarılmış molekülün durulması, sık sık parçalanma şeklinde olur ve daha düşük kaliteli iyonlar ortaya çıkar. Yani diğer yüklü parçalanma ürünleri daha az miktarda oluşur. Elektron çarpması sonucu elde edilen pozitif iyonlar, kütle spektrometrenin slit aralığından geçirilir ve kütle/yük oranına ayarlanmış bir ekranda kütle spektrumu halini alır. Bir organik molekülle, bu yüksek enerjili elektronlardan birinin çarpışmasıyla molekülden bir elektron koparılır ve bir organik iyon oluşur. Yüksek enerjili elektronlarla bombardıman sonucunda oluşan organik iyonlar kararsızdırlar ve daha küçük parçalara yani radikallere ve diğer iyonlara parçalanırlar. Kütle spektroskopisinde, algılanan çoğu parçacıkların iyonik yükü +1'dir. Böyle bir iyonun m/e değeri kütlelerine eşittir. Bu nedenle, kütle spektrumu pratik olarak parçacıkların kütlelerine karşı, bağıl çokluklarının (bolluk) çizimiyle elde edilir [25,26].

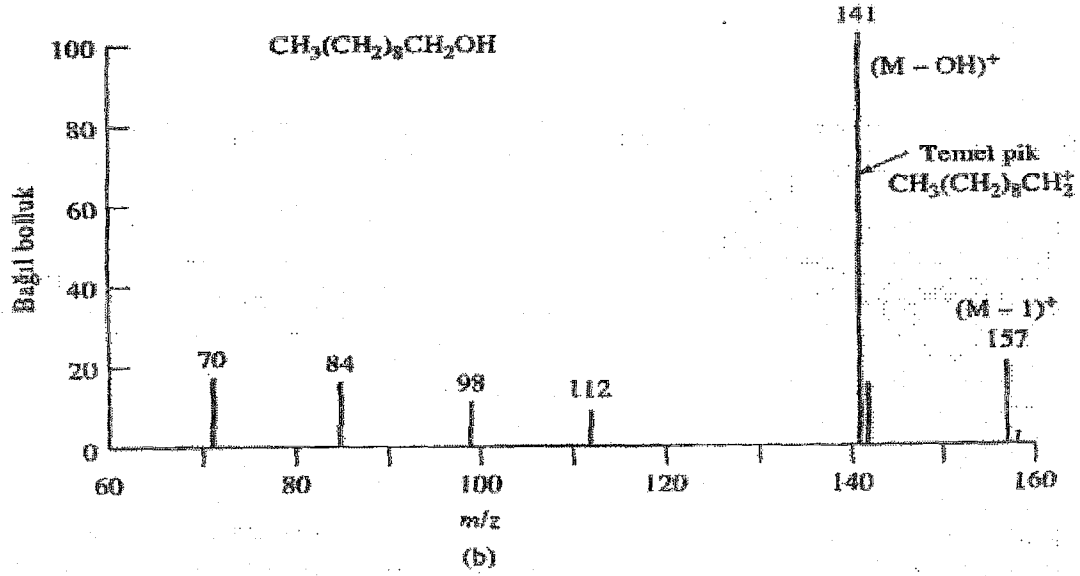
Tablo 3.1.: Moleküler kütle spektroskopide kullanılan iyon kaynakları

Temel Tip	Adı ve Kısaltılması	İyonlaştırıcı
Gaz fazı	Elektron impakt (EI)*	Enerjik elektronlar
	Kimyasal iyonlaştırma (CI)	Reaktif gaz iyonları
	Alan iyonlaştırma	Yüksek-potansiyelli elektrot
Desorpsiyon	Alan desorpsiyonu (FD)	Yüksek-potansiyelli elektrot
	Elektrospreyiyonlaştırma (ESI)	Yüksek elektrik alanı
	Matriks yardımcı desorpsiyon/iyonlaştırma (MALDI)	Lazer demeti
	Plazma desorpsiyonu (PD)	²⁵² Cf'nin fisyon ürünleri
	Hızlı atom bombardımanı (FAB)	Enerjik atom demeti
	İkincil iyon kütle spektrometri (SIMS)	Enerjik iyon demeti
	Termospray iyonlaştırma (TS)	Yüksek sıcaklık

*: çalışmamızda kullanılan yöntem

Tablo 3.1'de moleküler kütle spektrometrelerinde kullanılan iyon kaynakları listelenmiştir. Bu yöntemler iki ana sınıfa ayrılır: gaz faz kaynakları ve desorpsiyon kaynakları. Tabloda yer alan ilk üç yöntem, numunenin önce buharlaştırılması sonra da iyonlaştırılmasına dayanmaktadır. Sonraki yöntemle de katı veya sıvı haldeki bir numunciyi doğrudan gaz iyon haline dönüştürülür. Desorpsiyon kaynaklı kütle spektrometrelerinin avantajı, uçucu olmayan ve termal olarak kararlı numunelere de uygulanabilmesidir. Gaz faz iyon kaynaklarının kullanımı, kaynama noktaları 500°C'den küçük termal olarak kararlı maddelerle sınırlıdır. Çoğunlukla, gaz kaynaklarıyla mol kütleleri yaklaşık 10^3 daltona kadar olan bileşikler incelenebilir. Analitin uçucu olmasının gerekmediği desorpsiyon kaynakları, mol kütlesi 10^5 daltona kadar olan yüksek molekül ağırlıklı analitlere uygulanabilir. İyon kaynakları sert kaynaklar ve yumuşak kaynaklar olarak sınıflanır. Sert kaynaklar yeterli enerjiyi analit moleküllerine aktaran ve molekülleri yüksek enerjili uyarılmış hüllere çıkaran kaynaklardır. Bu moleküllerin durulması bağların kopması şeklinde olur ve kütle/yük oranı moleküller iyonunkinden daha küçük iyonlar ortaya çıkar. Yumuşak kaynaklar analitin daha az parçalanmasına sebep olur. Bunun sonucunda elde edilen kütle spektrumlarında moleküler pik çoğu zaman görülür ve bunun yanında birkaç başka pik bulunur. Şekil 3.1'de görülen spektrum, kütle spektrumlarının genel sunuluş tarzını göstermektedir.





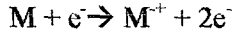
Şekil 3.1.: Dekanol'ün (a) sert bir kaynakla ve (b) yumuşak bir kaynakla alınmış kütle spektrumları.

Sert ve yumuşak iyon kaynaklarının her ikisinde analizlerde kullanılır. Sert kaynaklarla elde edilmiş bir spektrumda gözlenen çok sayıda pik fonksiyonlu grupların tiplerini belirlemede ve analitlerle ilgili yapısal bilgi, dolayısıyla yapı aydınlatmada kullanılır. Yumuşak kaynaklarla alınan spektrumlar ise analiz edilen molekül veya moleküllerin doğru olarak tayin edilmesinde yararlıdır [28].

3.1.2. Elektron İmpakt Kaynağı

Kütle analizlerinin ilk örnekleri elektron impakt ile ortaya çıkmıştır. Bu teknikte, numune yeterince buharlaşabilecek bir sıcaklığa getirilir ve enerjik elektronlarla bombardıman edilerek iyonlaştırılır. Dezavantajına rağmen, bu teknik büyük öneme sahiptir ve kütle spektrumu kütüphanelerin çoğunda bu teknikle elde edilmiş veriler bulunmaktadır [25, 30].

Şekil 3.2, basit bir elektron impakt kaynağının şematik gösterimidir. Elektronlar ısıtılan bir tungsten veya renyum telden yayılır ve yaklaşık 70V'luk bir potansiyel tarafından tel ve anot arasında hızlandırılırlar. Şekilde görüldüğü gibi, elektronların ve moleküllerin yolları birbirine diktir ve yollar, kaynağın merkezinde kesişir ve burada çarpışma ve iyonlaşma olur. Eğer molekülün yüksek enerji seviyesinde bulunan elektronları, elektrostatik etki ile koparabilecek bir enerji aktarımı olursa, ilk ürün tek pozitif yüklü iyonlardır. Elektron impakt ile iyonlaştırma pek verimli bir yol değildir ve aşağıdaki denkleme göre yaklaşık milyonda bir oranında iyonlaşma olur:



Burada, M analit molekülü ve M^+ moleküler iyonudur. Elektron impakt ile meydana gelmiş pozitif yüklü iyonlar, birinci hızlandırıcı plaka tarafından slite çekilirler, bu plaka ile diğer parçalar arasında küçük bir potansiyel farkı vardır (genellikle 5V, Şekil 3.2). Manyetik sektörlü cihazlarda, hızlandırıcı plakalar arasına yüksek potansiyeller (10^3 - 10^4 V) uygulanır. Bu potansiyel altında iyonlar, kütle analizörüne girmeden önce son hızlarını kazanırlar. Ticari elektronik impakt kaynakları Şekil 3.2'de görüldüğü gibi daha karışıktır ve ilave elektrotatik veya manyetik alanlar kullanılarak elektron ve/veya iyon demetleri istenilen şekilde yönlendirilir.

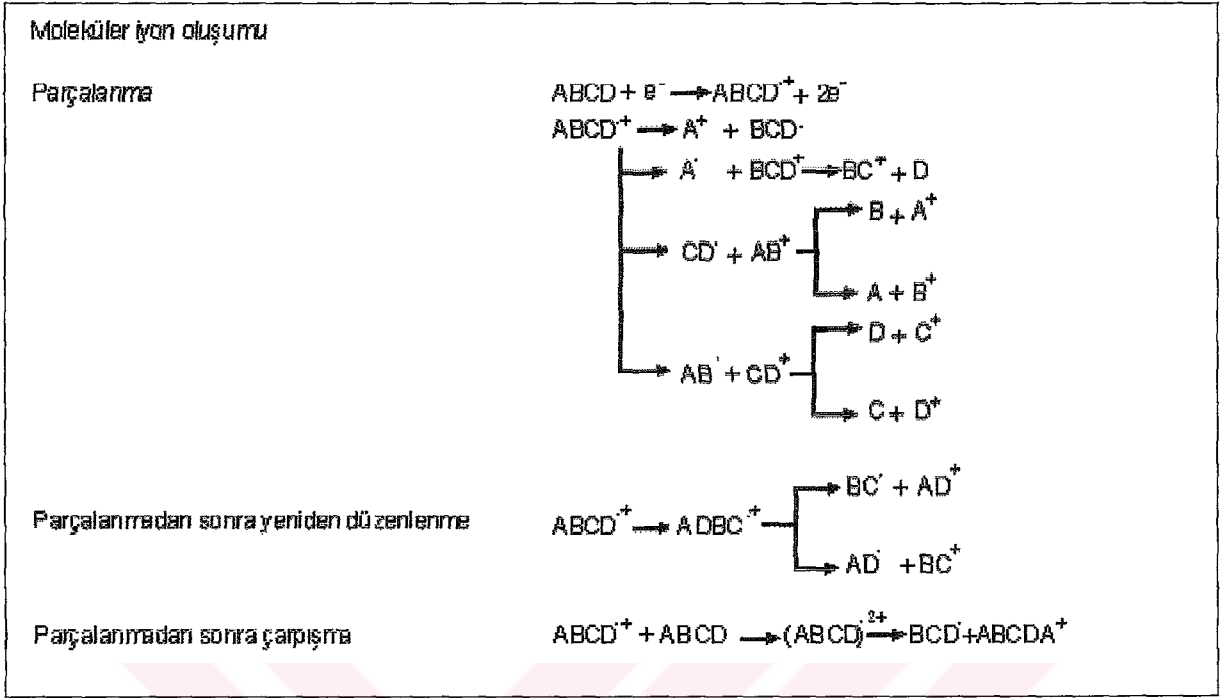


Şekil 3.2. Elektron-impakt kaynağının yapısı [28]

3.1.2.1. Elektron İmpakt Spektrumları

Tekrarlanabilir bir hızda ve çok sayıda gaz iyonları elde etmek için, kaynaktaki telden çıkan elektronların yaklaşık 50 V'dan daha büyük bir potansiyelle hızlandırılmaları gerekir. Küçük kütleli ve yüksek kinetik enerjili bu elektronlar, çarptıkları moleküllerin öteleme enerjilerinde küçük bir artışa neden olurlar. Buna karşılık moleküller, yüksek titreşim ve dönme seviyelerine uyarılırlar. Bunu izleyen durulmada, sık sık yoğun parçalanma görülür, mol kütlesi molekülden daha düşük olan çok sayıda değişik kütleli parça oluşur (bazen kütleli moleküller iyonunkinden büyük olanlara da rastlanır). Bu küçük kütleli iyonlar yavru iyonlar olarak bilinirler. Tablo3.2, hipotetik bir ABCD molekülünün elektron impakt sonucunda oluşturabileceği tipik parçalanma reaksiyonlarını göstermektedir.

Tablo 3.2: Bir elektron impakt kaynağındaki bazı tipik reaksiyonlar



Elektron impakt yöntemiyle elde edilen karmaşık kütle spektrumları çoğu zaman madde teşhisinde kullanılır. Öte yandan, bazı moleküllerde parçalanma yüzünden moleküler iyon ortaya çıkmaz, bu yüzden de analitin tanınması için birinci derecede önemli olan mol kütleleri tespit edilemez. Elektron impakt spektrumlarında temel pik genelde parçalanma ürünlerinin arasından çıkar [30, 31]. Moleküler iyon piki her zaman, analitin mol kütleleri hakkında bilgi verir. Moleküler iyon piki yapının aydınlatılmasında birinci derecede önemlidir, çünkü moleküler pik, bilimciye mol kütlelerini gösterir. Ne yazık ki, her zaman moleküler piki gözlemek mümkün olmaz. Genelde elektron impakt iyonlaştırma molekülerden meydana gelen ana ürün, moleküler iyon değildir [21].

3.1.2.2. Çarpışma Ürün Pikleri

Tablo 3.2'deki son eşitlikle gösterildiği gibi, iyon/molekül çarpışmaları moleküler iyonun kütlelerinden daha büyük kütlede piklerin meydana gelmesine sebep olabilir. Normal numune basınçlarında, önemli sayılabilecek bu tip reaksiyon çeşidi yalnızca bir tanedir ve bu reaksiyonda da iyon bir hidrojen atomu aktararak protonlanmış bir moleküler iyon elde edilir, bunun sonucunda kütleleri daha büyük $(M + 1)^+$ piki ortaya çıkar. Bu aktarım, ikinci dereceden bir reaksiyondur ve ürünün miktarı reaksiyona girenlerin derişimine önemli ölçüde bağlıdır. Sonuç olarak $(M + 1)^+$ pikinin yüksekliği numune basıncının artırılmasıyla

artar ve diğer piklerin yüksekliğinden fazla olabilir; bu reaksiyonun belirlenmesi çoğunlukla mümkündür.

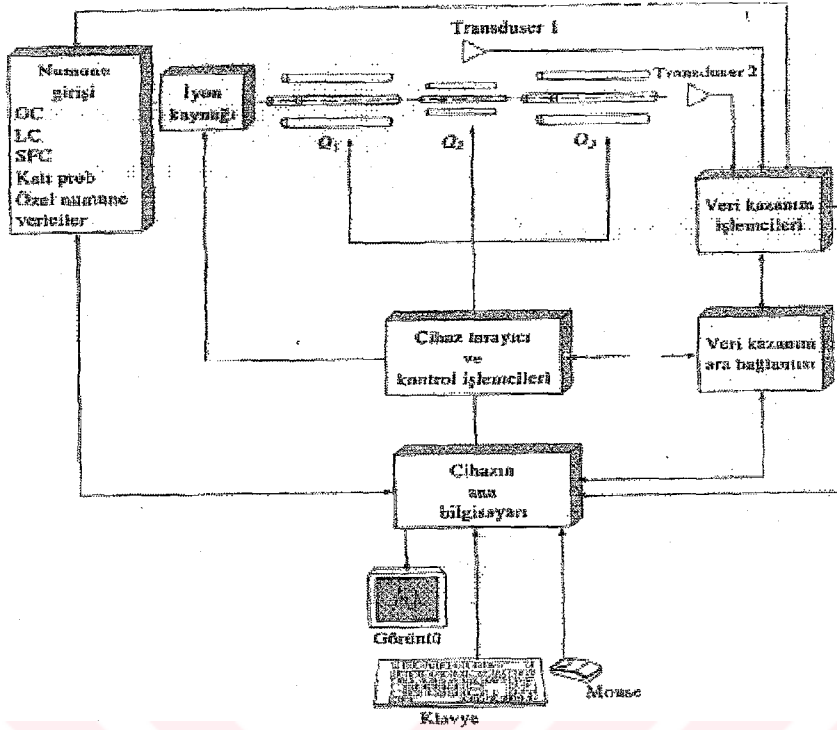
3.1.2.3. Elektron İmpakt Kaynaklarının Üstünlük ve Sakıncaları

Elektron impakt kaynakları kullanışlıdır ve yüksek iyon akımı üretmek için uygundur, bu yüzden duyarlılıkları iyidir. Bu yöntemde görülen aşırı parçalanma ve çok sayıda pik görülmesi de bir üstünlük sayılabilir, çünkü bu durum analiz edilen maddenin şüpheli kısımlarının tanınmasında yardımcı olur. Ancak parçalanmanın sakıncası da vardır; çünkü analitin molekül pikin ortadan kaldırılabileceğinden, mol kütesinin ölçülmesi imkansız hale gelir. Elektron impakt kaynaklarının kullanımını sınırlayan başka bir durum da numuneyi buharlaştırma gereğidir [24, 28, 31]. Bazı analizlerde iyonlaşmadan önce termal bozunma olayı gözlenir. Termal bozunmanın etkileri, bazen ısıtılmış prob spektrometrenin giriş aralığına yakın yerleştirilerek en aza indirilebilir, iyonlaştırma kaynağı civarındaki düşük basınçta, buharlaşma düşük sıcaklıklarda olur. Buna ilaveten, burada termal bozunmanın meydana gelmesi için daha az bir zaman söz konusu olur. Daha önce belirtildiği gibi, elektron impakt kaynakları mol kütlesi 10^3 daltondan küçük moleküllere uygulanabilir.

3.1.3. Bilgisayarlı Kütle Spektrometreleri

Mikrobilgisayarlar ve mikroişlemciler modern kütle spektrometrelerinin ayrılmaz parçalarıdır. Kütle spektrumunun özelliği, sağladığı yapısal verilerin zenginliğidir. Örneğin mol kütlesi 500 olan bir molekül, elektron demetleriyle 100 veya daha fazla iyonlara parçalanabilir ve bu iyonların her biri ayrı bir spektral pik verir. Yapı tayini için her pikin yüksekliği ve kütle/yük oranı tespit edilip depolanır ve görüntülenir. Bilgi çok olduğundan bilgi toplama ve değerlendirmenin hızlı olması gerekmektedir. Bu yüzden bilgisayarlar idealdirler. Ayrıca kütle spektrumu bilgilerinin kullanılabilir olması için bilgi toplama aşamasında birkaç cihaz değişkenin yakından takip edilmesi ve kontrolü gerekir. Bu tür kontrollerde bilgisayarlar ve mikroişlemciler muhakkak ki çok faydalıdır [21, 22, 28].

Şekil 3.3, kuadropol bir kütle spektrometrenin bilgisayarlı kontrol ve bilgi kazanım sisteminin blok diyagramını göstermektedir. Bu şekil, herhangi bir modern cihazda karşılaşılabilecek iki hususu belirtmektedir.



Şekil 3.3: VG Instrument-TRI03 triple kuadrupol MS/MS cihazının kontrol ve veri-ışleme Seması [21].

Bunlardan biri ana cihaz kontrolörü olarak hizmet eden bir bilgisayardır. Operatör ile spektrometre arasında bir klavye aracılığıyla iletişim kurulur. Kullanımı kolay interaktif bir yazılım yardımıyla işletme parametreleri ve şartları seçilir. Bilgisayar ayrıca, bilgi manipasyonu ve çıktılardan sorumlu programları kontrol eder. Hemen hemen tüm cihazlarda bulunan ikinci özellik ise, cihaz kontrolünün belirli yönlerinden ve/veya bilgisayar ile spektrometre arasındaki bilgi akışından sorumlu olan bu dizi mikroışlemcidir (bazen sayıları altıyı bulur).

Bir kütle spektrometre ile bir bilgisayar arasındaki ara bağlantı, yükseltilmiş iyon akım sinyali ile cihaz değişkenlerinin kontrolü için kullanılan diğer bazı sinyalleri sayısallaştırmak için gerekli imkanlara sahiptir. Bu sonuncuya örnek olarak kaynak sıcaklığı, hızlandırma gerilimi, tarama hızı, manyetik alan ve kuadrupol potansiyelleri verilebilir [26].

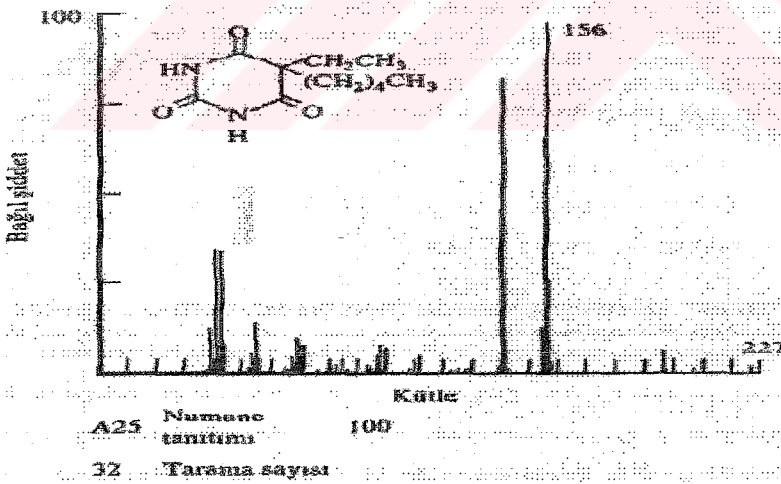
Dijitalleştirilmiş iyon-akım sinyalinin, normal olarak, görüntülenmeden önce önemli ölçüde işlenmesi gerekmektedir. İlk olarak pikler normalize edilmeli, yani her pikin yüksekliği referans bir pike karşı hesaplanmalıdır. Çoğunlukla bir spektrumdaki en büyük pik, temel pik adını alır ve referans pik olarak alınır, bu temel pikin yüksekliği 100 birim kabul edilir (bazen 1000) [30]. Her pik için m/z değeri de bulunmalıdır. Bu tespitte çoğunlukla pikin görünme zamanı ve tarama hızı esas alınır. Manyetik ve/veya elektrik alanların çok dikkatle kontrol edilen taraması sırasında bilgiler zamana karşı şiddet cinsinden toplanır.

Zamanın m/z değerine çevrilmesi dikkatli bir biçimde ve periyodik olarak kalibrasyon yapılmasını gerektirir. Bu amaçla perflorotri-n-butilamin (PFTBA) veya perflorokerosen standart olarak kullanılır. Yüksek ayırma gücü bir çalışma için bu standart, numune ile birlikte sisteme verilebilir. Bilgisayar da, standart piklerini tanıyıp kütle tayininde referans olarak kullanılmak üzere programlanabilir. Düşük ayırma güçlü cihazlar için, piklerin üst üst çakışması olasılığı olduğundan, kalibrasyon genelde numunceden ayrı yapılır.

FAHRE TURATE

SACHE	#	BASE	#	SUBSTR	#
18012	100	2	101		

36	3	61	2	83	32	122	4	133	3	166	1
37	3	62	1	84	13	123	14	134	2	167	2
38	12	63	3	85	38	124	9	135	2	168	3
39	139	64	1	86	8	125	10	136	2	169	5
40	36	65	13	87	9	126	73	137	6	170	1
41	364	66	12	88	1	127	21	138	7	181	4
42	63	67	32	89	3	128	16	139	6	182	7
43	378	68	32	90	3	129	2	140	28	183	2
44	54	69	128	91	4	130	1	141	28	191	1
45	54	70	67	92	21	131	1	142	71	193	1
46	5	71	62	93	17	132	2	143	11	195	2
47	11	72	5	94	29	133	1	144	1	197	63
48	14	73	5	95	32	134	2	151	1	198	12
49	64	74	6	96	127	122	2	152	1	199	2
50	31	75	3	97	9	135	3	153	1	200	1
51	122	76	12	98	3	136	7	154	133	207	5
52	36	77	5	99	3	137	2	156	1220	208	2
53	17	78	12	100	1	138	12	157	272	209	1
54	5	79	22	101	2	139	18	158	28	227	6
55	1	80	12	102	3	140	12	159	3	228	1
56	5	81	13	103	2	141	2	165	1		



Şekil 3.4.: Bir bilgisayar ekranında kütle spektrumu verileri. Madde kan serumundan kromatografik ekstraksiyonla izole edilmiştir. Spektrum, barbitüratın, pentobarbital olduğunu gösteriyor. Cihaz DuPont Model 21-094 bilgisayarlı kütle spektrometredir [21].

Pek çok sistemde bilgisayar, spektrumlar ile ilgili tüm bilgileri bir diskette depolar. Rutin uygulamalarda, normalize edilmiş spektrumların çizgi grafikleri doğrudan yazıcıya

gönderilir. Ancak, pek çok durumda, spektroskopi çalışanları spektrumun yazılı kopyasını almadan önce belirli bilgileri alabilmek için bilgi-indirgeme yazılımını kullanırlar. Şekil 3.4 bilgisayarlı kütle spektrometrenin yazılı çıktısına bir örnektir. Çizelgedeki tek kolonlar m/z değerlerini küçükten büyüğe sıralamaktadır. Çift kolonlar ise bu değerlere karşılık gelen ve 156 kütle değerinde gözlenen en büyük pike göre normalize edilen iyon akımlarını göstermektedir. Bu iyon için akım 1000 sayısı ile gösterilmiş ve diğer bütün pikler bu iyonla göre verilmiştir. Böylece 141 kütledeki pik temel pikin %82,6'sı yüksekliğindedir.

İnfrared ve nükleer manyetik rezonans spektroskopisinde olduğu gibi, kütle spektrumlarına ait çok sayıda bilgi (> 150000 girdi) bilgisayarla uyumlu formatlarda bulunmaktadır. Pek çok ticari kütle spektrometresi bilgisayar sisteminde, analitin spektrumuna aynen uyan veya yakın olan spektrumların tümünü ya da bir kısmını hızla tarama-arama yeteneği vardır.

3.1.4. Moleküler Kütle Spektrometrisinin Uygulamaları

Moleküler kütle spektrometrisinin uygulamaları çok geniş ve kapsamlıdır ve burada kısaca anlatılması mümkün değildir. Tablo 3.3'de, kütle spektrometrisinin bu geniş kullanım alanına fikir vermek üzere, bu uygulamalardan bazıları listelenmiştir. Bu bölümde bu uygulamalardan en çok rastlananlar ile bazı önemli olanlarını anlatacağız.

Tablo3.3.: Moleküler Kütle Spektrometrisinin Uygulamaları

1. Organik ve biyokimyasal moleküllerin yapılarının aydınlatılması.
2. Peptitlerin, proteinlerin ve oligonükleotidlerin mol kütlelerinin tayin edilmesi.
3. İnce tabaka ve kağıt kromatografide ayrılan bileşiklerin tanınması.
4. Polipeptit ve protein numunelerinde amino asit dizilişinin tayini.
5. Kromatografi ve kapiler elektroforez ile ayrılan türlerin belirlenmesi ve teşhisi.
6. Zararlı ilaçların ve bu zararlı ilaçların metabolitlerinin kan, idrar ve tükürükte belirlenmesi.
7. Ameliyat sırasında hastanın nefesindeki gazların izlenmesi.
8. Yarış atları ve olimpik atletlerde doping kontrolü.
9. Arkeolojik numunelerin yaşlarının belirlenmesi.
10. Aerosol oluşturan partiküllerin analizi.
11. Yiyeceklerde pestisit kalıntılarının tayini.
12. Su kaynaklarında uçucu organik maddelerin izlenmesi.

3.1.5. Saf Bileşiklerin Teşhisi

Saf bir bileşiğin kütle spektrumu, bileşiğin teşhisi için gerekli çeşitli veriler sağlar. Bunlardan birincisi mol kütlesi, ikincisi de molekül formülüdür. Ayrıca kütle spektrumunda görülen parçalanma tarzı, değişik fonksiyonlu grupların mevcudiyeti hakkında bilgi verir. Burada son olarak şu söylenebilir: Bir bileşiğin tam anlamıyla teşhisi, kütle spektrumunda çok yakın bir eşleşme elde edinceye kadar bilinen bileşiklerin kütle spektrumlarının karşılaştırılmasıyla olur.

3.1.6. Kütle Spektrumundan Mol Kütlesi Tayini

Daha önce anlatılan yöntemlerden biriyle, moleküler iyon, protonlanmış moleküler iyon veya proton kaybetmiş moleküler iyon vermek üzere iyonlaştırılan bileşiklerde kütle spektrometreleri, mol kütlesi tayini için çözümlenmez cihazlardır. Bu tayin için önce, moleküler iyon pikinin veya bazı durumlarda $(M + 1)^+$ veya $(M - 1)^+$ pikinin belirlenmesi gerekir. Böylece yatay eksen pikinin konumu, diğer yöntemlerle ölçülemeyecek doğrulukla mol kütlesini verir.

Kütle spektroskopisi ile mol kütlesi tayini için moleküler iyon pikinin belirlenmesi konusunda kesin bilgi edinilmelidir. Bu nedenle, elektron impakt kaynaklarıyla çalışmalarda dikkatli olunması gerekir. Elektron impakt yönteminde, moleküler iyon pikleri var olmayabilir veya safsızlıkların verdiği pikler yanında çok küçük olabilir. Şüpheli durumlarda kimyasal, alan veya desorpsiyon ile iyonlaştırma yöntemleriyle alınan spektrumlar özellikle yarar sağlar.

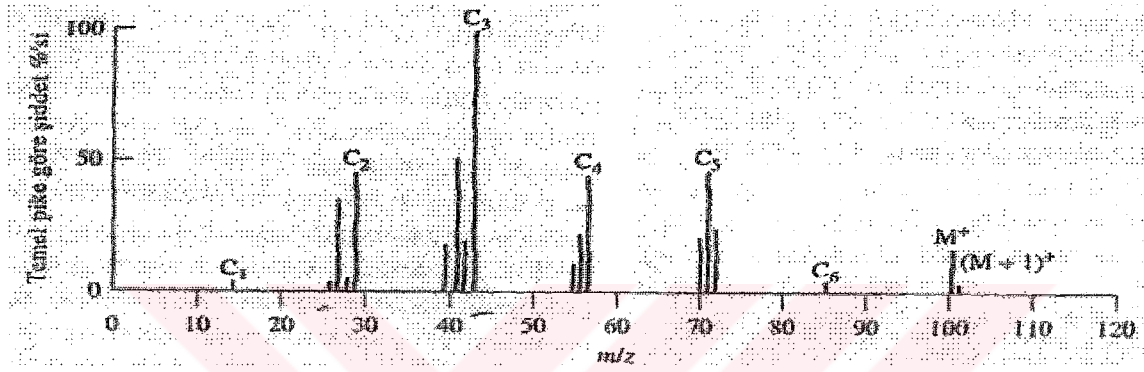
3.1.7. Mol Kütlelerinden Molekül Formülleri

Moleküler iyon pikinin belirlenmesi ve tam kütlelerinin tayin edilebilmesi şartıyla, bir bileşiğin kütle spektrumundan molekül formülleri tayin edilebilir. Ancak, bu uygulama için, birim kütlelerin birkaç binde biri oranındaki kütle farklarını ayırt edebilecek özellikte yüksek ayırma güçlü cihazlara gereksinim vardır. Yüksek ayırma güçlü çift-odaklamalı cihazlarla birkaç ppm civarında kesinliğe ulaşılmaktadır.

3.1.8. Parçalanma Şeklinden Yapısal Bilgi

Saf maddelerin parçalanma şekli üzerine yapılan sistematik çalışmalar, parçalanma mekanizmaları üzerine mantıksal değerlendirmeler, spektrum yorumlanmasına yarayan bir

dizi genel kuralın ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bir spektrumda tüm piklerin sayılması her zaman mümkün olmamaktadır, hatta bu istenen bir durumda değildir. Bunun yerine parçalanmanın karakteristik şekilleri aranır. Örneğin, Şekil 3.5'deki spektrum, kütle farklılıkları 14 olan pik toplulukları şeklinde tanımlanabilir. Bu çeşit bir dizilim, düz zincirli alkanlar için çok tipiktir. Düz zincirli alkanlarda birbirine yakın karbon-karbon bağlarının kopmasıyla, kütle 14 birim olan CH_2 gruplarının yapıdan ayrılması sonucu bu spektrumlar ortaya çıkar. Genel olarak en kararlı hidrokarbon parçaları üç veya dört karbonlu parçalardır, bunlara karşılık gelen pikler en büyük piklerdir.



Şekil 3.5.: n-Heptanal'in elektron impakt spektrumu. Pikler C_6 , C_5 , ... C_1 'e kadar, CH_2 eksilmeleriyle meydana gelen iyonların pikleridir.

Akanlarda parçalanma sonucu CH_2 grupları çıktığından dolayı pik grupları arasında 14 kütle birimlik fark çok karakteristik olarak şekildeki örnekte de görülmektedir.

Alkenlerde özellikle poliolefinik bileşiklerin moleküler piki belirgin olarak görülür. Halkalı olmayan alkenlerde spektrum çözülürken çift bağın yerini saptamak zordur. Çünkü parçalanma sırasında çift bağın yeri sürekli olarak molekül içinde yer değiştirir. Halkasız alkenlerde parçalanma grupları arasında akanlarda ki gibi 14 kütle birimlik (CH_2) fark görülür.

Arenler (aromatik halkalılar); aromatik halka moleküler iyonun kararlılığını artırdığından spektrumda miktarı yüksek olarak görülür. En fazla iyonun m/e 91'de görülmesi alkilenmiş benzenin olduğunu gösterir. En kolay en büyük substitüent ayrılır. m/e 91'deki pik benzil kationundan daha çok tropilyum iyonundan ileri gelir (C_7H_7^+). Bu yapı kararlı olduğu için 91'deki çok şiddetlidir. m/e 65'de görülen pik ise tropilyum iyonundan nötr asetilen molekülünün ayrılmasıdır. Mono alkil benzenlerde ise α - yerinden kopma ve hidrojenin yer değiştirmesi sonucu karakteristik bir grup pik m/e 77 (C_6H_5^+), 78 (C_6H_6^+) ve 79 (C_6H_7^+) görülür.

Karboksilli asitlerde ise en karakteristik pik m/e 60 iyonunun pikidir. Uzun zincirli asitlerde iki seri pik topluluğu ortaya çıkar; zincirdeki her C-C bağının kopması sonucu yük

oksijenli kısımda kalır (m/e 45, 59, 73, 87, 101, 115...) veya alkil grubunda kalır (m/e 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127). Böylece alkil grupları (m/e 27, 28; 41, 42; 55, 56; 69, 70; 83, 84; 97, 98;...) bir seri pik daha verir. Fakat her grupta en büyük pik $C_nH_{2n-1}O_2$ 'ininkidir.

Aromatik esterlerde en fazla iyon (temel pik) OR ve COOR gruplarının ayrılması sonucu olur. Metil esterlerinde bu pikler M-31 ve M-59'da bulunur. Aromatik asitlerin metil esterleri oldukça büyük moleküler iyon verir. Aynı koşullar altında analizi yapılan bileşikler daima aynı şekilde parçalanır.

3.1.9. Spektrumların Karşılaştırılması ile Bileşik Teşhisi

Genel olarak analiz edilen maddenin mol kütlesi tayin edilip, izotop dağılımı ve parçalanma ürünleri incelendikten sonra, deneyimli bir kütle uzmanı, mümkün olabileceği yapıların sayısını birkaç taneyi geçmeyecek şekilde azaltabilir. Referans bileşiklerin kütle spektrumları mevcutsa, bilinmeyen maddenin kütle spektrumunun, referans maddelerinin kütle spektrumlarıyla karşılaştırılmasıyla madde tanınabilir [21, 26]. Bu karşılaştırma, aşağıda belirtilen kabullere dayanmaktadır:

(1) Kütle parçalanma tarzı maddenin kendisine özgüdür. (2) Deneysel koşullar tekrarlanabilirlik için yeterli ölçüde kontrol edilebilmektedir. İlk kabul, stero- ve geometrik izomerlerin spektrumları için çoğu zaman, bazı tip yakın yapılara sahip bileşikler için de kimi zaman geçerli değildir. Farklı bileşiklerin aynı spektrumu verme olasılığı, spektral pik sayısı arttıkça belirgin bir şekilde azalır. Bu nedenle, elektron impact iyonlaştırması, spektrum karşılaştırması için tercih edilen bir yöntemdir.

Ne yazık ki, kütle spektrum piklerinin yüksekliği, elektron ışınının enerjisi, numunenin ışına göre yeri, numune basıncı ve sıcaklığı ve kütle spektrometresinin genel şekli gibi değişkenlere sıkı sıkıya bağlıdır. Bunun sonucu olarak farklı laboratuarda ve farklı cihazlardan alınan spektrumlarda bağlı pik şiddetlerinde önemli farklılıklar görülebilmektedir. Buna rağmen pek çok durumda da değişik cihazlarla alınan spektrumlardan oluşturulan kütüphanelerden yararlanılarak birçok bileşiğin tanınması mümkün olmaktadır. Ancak, genel olarak bir bileşiğin tanınması için aynı şartlar altında ve mümkünse aynı cihazdan alınan spektrumların karşılaştırılması tercih edilen bir durumdur.

Bilgisayarlı Kütüphane Tarama Sistemleri. Kütle spektrumu veri kütüphanelerinin yazılı formları bulunmakla birlikte, pek çok modern kütle spektrometresinde gelişmiş bilgisayarlı tarama sistemi vardır. Günümüzde iki tip kütüphaneye rastlanmaktadır. Geniş kapsamlı olanlar ve spesifik amaçlı küçük tipler. Ticari olarak ulaşılabilen en geniş kapsamlı kütle spektrum kütüphanesi (>150000 spektrum) John Wiley ve Sons tarafından pazarlanmaktadır. Bu derlemenin en önemli özelliği, CD olarak bulunabilmesi ve dolayısıyla PC kullanıcıları

tarafından da arama yapılabilmesidir. Bu amaçla Cornell Üniversitesinin PBM-STIRS yazılımı kullanılmaktadır. Küçük kütüphaneler genellikle, pestisit kalıntısı, ilaç veya adli tıp gibi sınırlı alanda uygulanabilen birkaç yüz ile birkaç bin arasında spektrum verisi içerirler. Bu küçük kütüphaneler, genellikle cihaz üreticileri tarafından teklif edilen opsiyonların bir bölümünü oluşturur, bunun yanı sıra kullanıcıların bu kütüphanelere yeni spektrumlar ekleyerek yeni kütüphane oluşturma olanağı her zaman vardır [26, 28].

Bir karışımın bileşenlerini tanımak amacıyla bir kütle spektrometrenin bir kromatografi sistemiyle birleştirildiği durumlarda elde edilen çok sayıda spektrum için, cihazın bilgisayar sistemine belirli bir numune, ilgili kütle spektrumlarının tümünü yada alt başlıklarını arama talimatı verilebilir. Sonuçlar kullanıcıya bildirilir ve istendiği takdirde referans maddelerin spektrumu yazıcıdan çıkartılabilir veya ekranda görüntülenebilir.

3.1.10. Kütle Spektral Yöntemlerinin Kullanıldığı İkili Tekniklerle Karışımların Analizi

Sıradan bir kütle spektrometresi saf bileşiklerin tanınması için güçlü bir araç olmakla beraber, en basit karışımların analizinde bile farklı m/z değerlerindeki iyonların çokluğu nedeniyle, kullanımı sınırlıdır. Sonuçta ortaya çıkan karmaşık spektrumun yorumu çok zordur. Bu nedenle, kimyacılar kütle spektrometrelerinin değişik ayırma yöntemleri ile birleştirilmesi üzerine yöntemler geliştirmişlerdir, iki veya daha fazla analitik teknik yada cihazın daha etkili bir düzenek oluşturmak üzere birleştirilmesi olayına enstrümantal analizde ikili yöntem adı verilir. Böylece ikili yöntemler adı verilen bu sistemler, kompleks karışımların analizinde güçlü bir araç olarak kullanılır. Kimyacıların kullandığı MS ile birlikte kullanılan cihazlar şöyledir: DCP/MS (Doğru akım plazma/kütle spektrometresi), ESI (ElektroSprey İyonlaşma/kütle spektrometresi), FT/MS (Fourier Dönüşümlü/kütle spektrometresi), GC/MS (gaz kromatografi/kütle spektrometresi), GD/MS (akkor boşalımı/kütle spektrometresi), ICP/MS (İndüktif eşleşmiş plazma/kütle spektrometresi), IT/MS (iyon tuzak/kütle spektrometresi), LC/MS (sıvı kromatografi/kütle spektroskopisi), LM/MS (lazer mikroskop/kütle spektroskopisi), MS/MS (kütle spektrometri/kütle spektrometresi), SI/MS (ikincil iyon/kütle spektrometresi), SS/MS (kıvılcım kaynaklı/kütle spektrometresi), TDGC/MS (zaman-bağımlı-gaz kromatografi/kütle spektrometresi), TI/MS (termal iyonlaşmalı/kütle spektrometresi) ve TOF (uçuş zamanlı kütle spektrometresi) diye 15 çeşit MS cihazı vardır.

3.1.11. Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometri

Gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS), karmaşık organik ve biyokimyasal karışımların analizi için kimyacıların kullandıkları güçlü bir sistem haline gelmiştir. Bu uygulamada kromatografik kolondan çıkan bileşikler için ayrı ayrı spektrumlar toplanır. Bu spektrumlar daha sonra işlenmek üzere bir bilgisayarda depolanır. Kütle spektrometresi ayrıca uçucu olmayan bileşenler içeren numunelerin analizi için sıvı kromatografisi ile de birleştirilmiştir (LC/MS). Her iki ikili yöntemin de geliştirilmesi sırasında çözülmesi gereken en büyük problem, kromatografi sisteminde taşıyıcı gaz ya da sıvı ile büyük ölçüde seyrelmenin olması, yani taşıyıcı miktarının numuneye göre çok olmasıdır [21, 26, 30]. Bu nedenle, numuneyi kütle spektrometreye göndermeden önce, bu gaz ya da sıvıyı uzaklaştırmak için yöntemler gereklidir. GC/MS cihazının uygulamaları ve tarihteki gelişim süreçleri aşağıda anlatılmıştır.

Birçok imalatçı firma, gaz kromatogramlarını hızlı tarama yapabilen çeşitli kütle spektrometrelerine doğrudan bağlanmış olarak piyasaya sürmüşlerdir. 1970'li yılların başlarında özellikle gaz kromatografide dedektör olarak kullanılmak üzere çeşitli kütle spektrometreleri imal edilmiştir. Bunlar genellikle fiyatları 25000 ile 50000 \$ arasında değişen kuadrupol sistemlerdir [21]. Kullanım ve bakımları, çok maksatlı MS sistemlerine göre daha kolaydır.

Eselden, ikili yöntemlerde kromatografik kolondan gelen eluat, maddeyi parçalamayan veya seçici olmayan bir dedektörden geçirildikten sonra soğuk tuzakta fraksiyonlar halinde tutulurdu. Her fraksiyon, daha sonra nükleer manyetik rezonans, infrared, veya kütle spektrometresi veya elektroanalitik yöntemlerle analiz edilirdi. Bu yöntemin en büyük sakıncası toplanan fraksiyonlardaki maddelerin miktarlarının mikromol dolayında olmasıdır. Bunlara rağmen, bu genel yöntemler çok bileşenli karışımların kalitatif analizinde güçlü yöntemlerdir. Şöyle de belirtebiliriz ki gaz kromatografisi organik bileşiklerin ayrılması; kütle spektrometresi ise nitel tayin için kullanılır.

Şimdilerde yaygın kullanılan ikinci genel bir yöntem, kolon çıkışında maddeleri seçici bir dedektörle izlemektir. Bu yöntemlerde bilgisayar kullanımı gerekir. Böylece bilgisayar hafızasındaki spektral veriler ve kromatogramlar kullanılabilir.

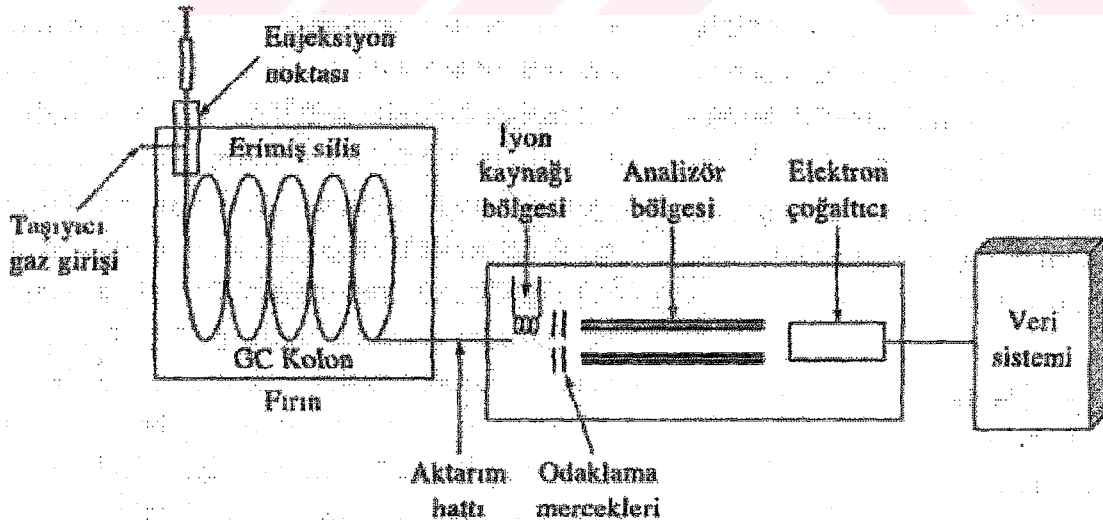
Kılcal kolonlardan gelen eluatın akış hızı genellikle küçük olduğu için, madde doğrudan kütle spektrometrenin İyonlaşma bölgesine verilebilir. Bu tür bir sistemin şematik görünümü Şekil 3.6'da verilmiştir. Dolgulu kolonlar ve kapiler kolonlar için Şekil 3.7'de olduğu gibi taşıyıcı gazın büyük bir kısmını analitten ayıran camdan mamul bir jet ayırıcı sisteminin kullanılması gerekir. Bu sistemde kolon gazları jet ayırıcının uçundan çıkarken,

ağır analit molekülleri yüksek momentum kazanır ve bunların yaklaşık %50'si karşı tüpe girerken, hafif helyum atomları vakum tarafından emilir

Kuadropol ve manyetik sektörlü kütle spektrometreleri gaz kromatografisine bağlı olarak kullanmayı sağlayan donanım ile birlikte satılmaktadır. Açıklanan Fourier-dönüşümlü kütle spektrometre de gaz kromatografisine bağlanarak kullanılır hale getirilmiştir. Hızının yüksekliği ve duyarlılığı uygulamalarda üstünlük olarak görülmektedir.

Gaz kromatografisi ile kullanılan en basit kütle dedektörü iyon-tuzak dedektörüdür (ITD). Bu dedektörde, kolondan gelen gaz, elektron bombardımanı veya kimyasal iyonlaşma ile iyonlaştırılır ve radyo frekans manyetik alanında depolanır (Şekil 3.8). Tutulan iyonlar daha sonra elektron çoğaltıcı dedektöre sevk edilir. Bu sevk, kütle/yük oranının taramasının yapılabilmesi için kontrollü gerçekleşir. İyon tuzak dedektörü, kuadropol cihazlara göre daha derli toplu ve daha ucuz bir sistemdir.

Kütle spektrometrik dedektörler genellikle iki tip sinyal görüntüsü verebilirler: anında sinyal görüntüleri ve bilgisayarda yeniden biçimlendirilmiş sinyal görüntüleri. Bunların her birinde aşağıdaki seçimler yapılabilir. (a) Toplam iyon akımı kromatogramları (zamana göre tüm iyon akımlarının grafiği), (b) Seçimli iyon akımı kromatogramları (zamana karşı bir veya birkaç iyonun oluşturduğu akımlar), (c) Bazı kromatografik piklerin kütle spektrumları. Gerçek-zamanlı kütle spektrumu kütle işaretleyicileri bulunan osiloskop ekranında görülür. Anında kütle spektrumları kütle belirleme imkânları ile donatılmış bir osiloskop ekranında belirir; kütle kromatogramı da osiloskop ekranına çıkarılabilir, veya ayırma esnasında grafik çıktı olarak kaydedilebilir [24, 30].

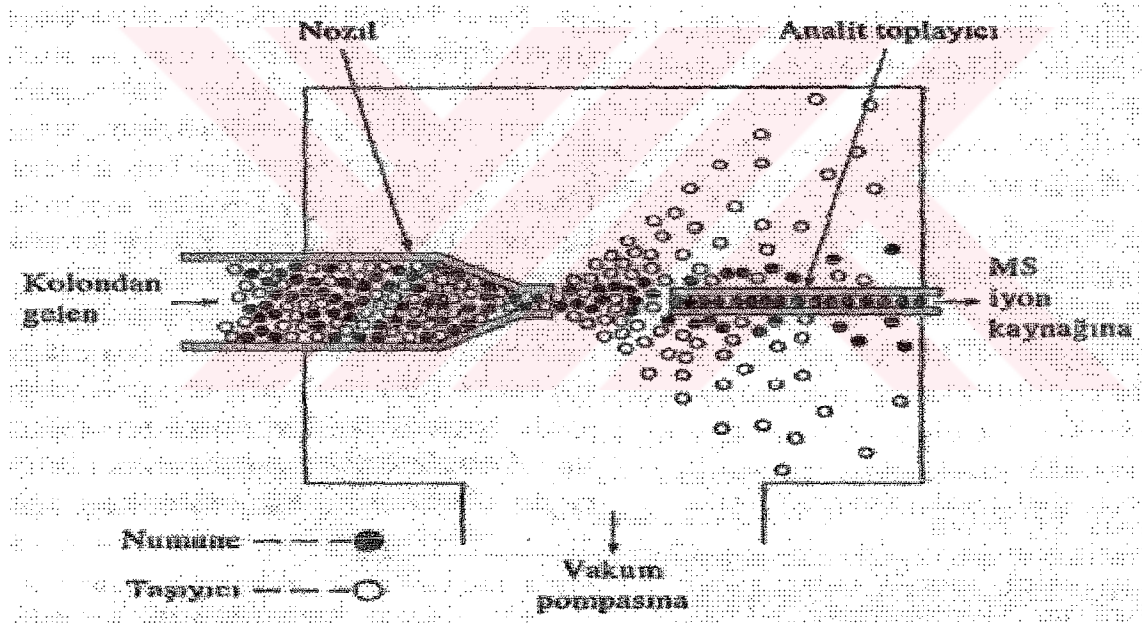


Şekil 3.6.: Gaz kromatograf/kütle spektrometrenin şematik gösterimi.

Ayırım olayı tamamlandıktan sonra bilgisayar ile oluşturulmuş kromatogramları ekrana yansıtmak veya yazıcıda grafiklemek mümkündür. Kromatogramdaki her pik için kütle spektrumunu da osiloskopta gözlenebilir veya yazıcıdan alınabilir. Bazı cihazlarda bilgi bankası da bulunabilir ve maddeleri tanımda yardımcı olur.

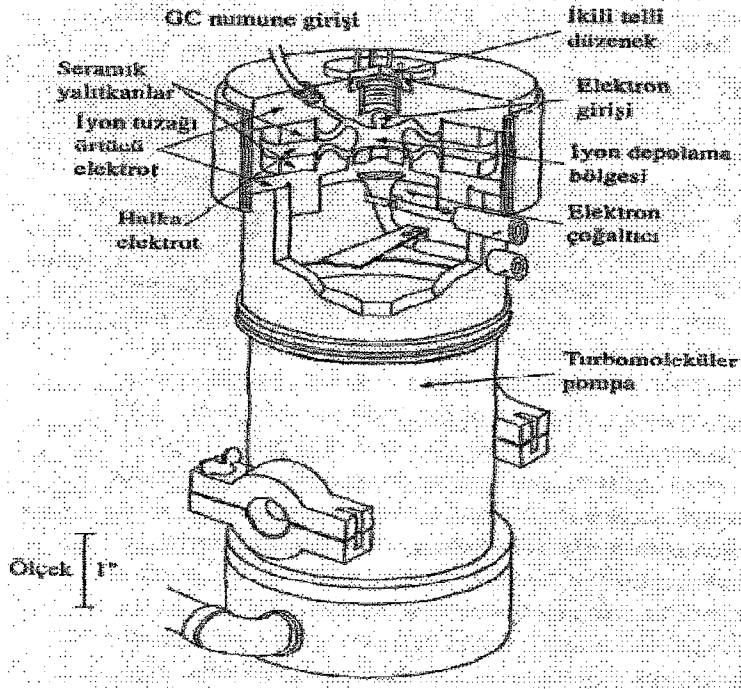
Gaz kromatografisi/kütle spektrometresi sistemi biyolojik veya doğal sistemlerdeki yüzlerce maddeyi aynı anda tanımak amacıyla kullanılmaktadır. Örneğin, gıdalardaki tat ve koku veren maddelerin, su kirleticilerin tayininde, nefesle dışarı verilen eser halde maddelerden yararlanan tıbbi teşhislerde ve ilaç ve uyuşturucu metabolitlerinin incelenmesinde kullanılır.

GC/MS sisteminin kullanımına ait bir örnek Şekil 3.9'da verilmiştir. Üstteki şekil, yanma geciktirici bir kimyasal madde ile işlem görmüş giysinin yakılması sırasında oluşan gazların kromatogramını bir bilgisayarda yeniden çizilmiş olarak vermektedir. Dikey eksen toplam iyon akımı, yatay eksen ise alıkonma zamanı olarak alınmıştır.

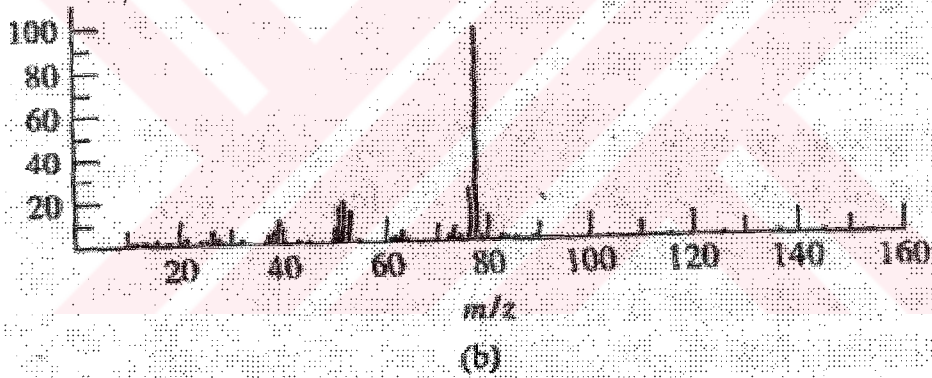


Şekil 3.7.: Bir jet ayırıcının şeması (DuPont instrument Systems, Wilmington, D.E.)

Altta şekilde kromatogramdaki 12 numaralı pikin kütle spektrumunu görülmektedir. Bu şekilde kütle numarasına karşı bağıl iyon akımları grafiğe geçirilmiştir.



Şekil 3.8.: İyon tuzaklı dedektörün seması [21]



Şekil 3.9.: GC/MS cihazından alınan sinyalleri. Bilgisayardan yeniden elde edilen bir kromatogramdır. Pikler şunlara karşılık gelir: (1) Hava, (2) Su, (3) Hidrojen siyanür, (4) Bilinmeyen, (5) Asetaldehit, (6) Etanol (7) Asetonitril, (8) Aseton, (8b) Bilinmeyen, (9) Karbon disülfür, (10) Bilinmeyen, (11) Bilinmeyen, (12) Benzen, (13) Toluen, (14) Ksilen. [26].

3.1.12. Kütle Spektrometrinin Kantitatif Uygulamaları

Kantitatif analiz için kütle spektrometri uygulamaları iki gruba ayrılır. Birincisi organik, biyolojik ve zaman zaman da inorganik numunelerdeki moleküler türlerin veya tiplerinin kantitatif tayinidir. İkincisi ise inorganik ve daha da az olarak organik ve biyolojik

numunelerdeki elementlerin derişimlerinin tayinidir. Birinci tip analizde tablo 3.1'de listelenen tüm iyonlaştırma kaynakları kullanılır.

3.1.12.1. Moleküler Türlerin Kantitatif Tayini

Kütle spektrometresi petrol ve ilaç sanayi ile çevre araştırmalarında karşılaşılan kompleks organik (bazen de inorganik) karışımların bir veya daha fazla bileşenin kantitatif tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır. Halen bu analizler, numunenin kromatografik veya kapiler elektroforetik kolondan geçilerek kütle spektrometreye gönderilmesiyle yapılmaktadır. Uygun bir m/z değerine ayarlanan spektrometre ile, iyon akımı zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilmektedir. Bu tekniğe seçilmiş iyon izleme tekniği denir. Bazı durumlarda üç veya dört ayrı m/z değerine sahip akımlar, bir pikten diğerine hızlı bir geçişle dönüşümlü olarak izlenir. Bilgiler bir dizi pik olarak kaydedilir. Her pik, seçilmiş m/z değerlerinin iyonlarını veren numune bileşenlerinden bir tanesine özgü olan zaman değerinde ortaya çıkar [21, 30]. Genel olarak piklerin altında kalan alanlar bileşenlerin derişimleri ile doğru orantılıdır ve böylece bu alanlar analitik birer parametre gibi iş görürler. Bu tip işlemlerde, kütle spektrometresi yalnızca, kantitatif kromatografik veya elektroforetik analizler için, gelişmiş bir seçici dedektör gibi iş görür.

Kütle spektrometresinde moleküler türler için kullanılan ikinci kantitatif analiz tarzında, piklerin yükseklikleri doğrudan kullanılır. Basit karışımlar için bazen her bir bileşene karşılık gelen m/z değerinde bir pik bulmak mümkündür. Bu şartlarda derişime karşı pik yükseklikleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri hazırlanır ve bilinmeyenlerin analizinde kullanılabilir. Belirli miktarda bir iç standart maddesi numuncye veya kalibrasyon standardına ekleyerek daha doğru sonuçlar da elde edilebilir. Analitlerin pik şiddetinin iç standardın pik şiddetine oranı analit derişiminin fonksiyonu olarak çizilir, İç standart numune hazırlama ve cihaza verme aşamasında karşılaşılan belirsizlikleri ortadan kaldırır. Kütle spektrometresinde çok az miktarda numune kullanıldığından, bu belirsizlikler çoğunlukla belirsiz hataların ana kaynağını oluşturmaktadır, İç standartlar GC/MS ve LC/MS'de de kullanılır ve burada pik alanlarının oranı analitik parametre olarak alınır.

En iyi iç standart analiz edilen maddenin benzeri, kararlı ve izotopik olarak işaretlenmiş bir madde olabilir. Genellikle işaretleme döteryum, karbon-13 veya azot-15 atomlarından biri veya birkaçının moleküllere eklenmesiyle yapılır. Analiz esnasında işaretlenmiş moleküllerin diğerleriyle aynı tarzda hareket ettiği varsayılır. Kütle spektrometreleri bu iki molekülü kolaylıkla birbirinden ayırabilir.

Bir diğer tip iç standart, tayini yapılan maddenin parçalanmasına benzer parçalanma veren bir homolog maddedir.

Düşük ayırma güçlü cihazlarda bir karışımın her bir bileşenine özgü piklerin yerini belirlemek her zaman mümkün olmamaktadır. Bu durumlarda, analizi tamamlayabilmek için numune bileşenlerinin sayısına eşit veya daha fazla sayıda farklı m/z değerlerine sahip piklerin şiddetlerini ölçüp kaydetmek yoluna gidilir. Daha sonra her m/z değerinin şiddeti, her bileşenin bu şiddete katkısı olduğu varsayılarak, bir denklem geliştirme kullanılır ve böylece, bileşen sayısı kadar denklem türetilir. Bu denklemlerin çözümü, istenilen kantitatif bilgiyi verir [30].

3.1.13. Kesinlik ve Doğruluk

Yukarıda anlatılan işlemde kantitatif kütle spektrumu ölçümlerinin kesinliği %2-%10 arasında değişmektedir. Analitik doğruluk, analiz edilen karışımın ne kadar karmaşık olduğuna ve bileşenlerinin özelliğine bağlı olarak önemli ölçüde değişir. 5-10 bileşen içeren gaz halindeki hidrokarbon karışımlar için, mol cinsinden %0,2-0,8 mertebesinde mutlak hatalar tipik değerlerdir.

3.1.14. Uygulamalar

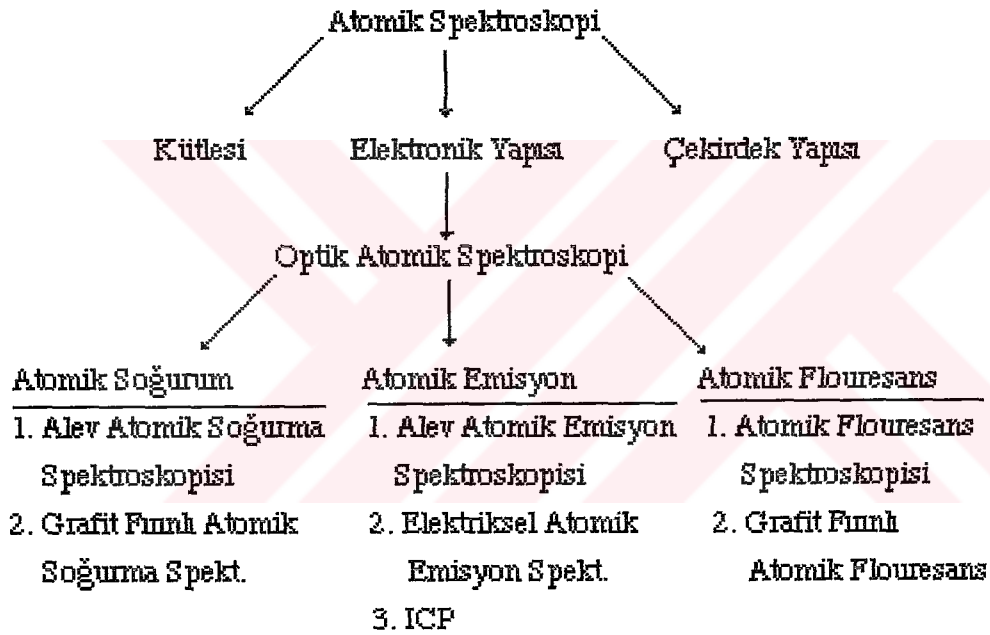
Kütle spektrometresinin kantitatif uygulamaları ile ilgili ilk literatür bilgileri çok geniştir ve bir özet çıkarmak zordur. Melpolder ve Brown tarafından toplanan tipik uygulamalar listesi yöntemin ne kadar kullanışlı olduğunu göstermiştir. Örneğin, numune ısıtılmadan analiz edilen bazı karışımlar arasında doğal gaz, C₃—C₅ hidrokarbonlar, C₆-C₈ doymuş hidrokarbonlar, C₁-C₄ klorür ve iyodürler, florohidrokarbonlar, tiyofenler, atmosfer kirliliği yaratan maddeler, egzoz gazları ve diğerleri bulunmaktadır. Daha yüksek sıcaklıklarda C₁₆-C₂₇ alkoller, aromatik asitler ve esterler, steroidler, Horlanmış polifenoller, alifatik amidler, halojenli aromatik türevleri ve aromatik nitriller için başarılı analitik yöntemler literatürde rapor edilmiştir.

Kütle spektrometresi ayrıca yüksek mol kütleli polimer yapıdaki maddelerin analizi ve tanınması için kullanılmaktadır. Bu uygulamada numune ilk olarak pirolize tabi tutulur, daha sonra uçucu ürünler inceleme için kütle spektrometreye verilir [31]. Buna alternatif olarak doğrudan giriş sisteminin probu ısıtılabilir. Bazı polimerler, esas olarak tek bir parçalanma ürünü verirler; örneğin doğal kauçuktan izopren, polistirenden stiren, polietilenden etilen ve Kel-F'den CF₂=CFCl elde edilir. Diğer polimerler, miktarı ve tipi piroliz sıcaklığına ve ortamına bağlı olarak iki veya daha fazla ürün verirler. Sıcaklık etkileri üzerine yapılan çalışmalar bir çok bağın kararlılığı ve mol kütleleri dağılımı hakkında yaklaşık fikir verir.

3.2. Spektroskopinin Tanımı ve Sınıflandırılması

Madde ile elektromagnetik dalganın etkileşmesi ile soğurma (absorpsiyon) ve yayılım (emisyon) olaylarını dikkate alan fiziksel yöntem "Spektroskopi" olarak tanımlanır [10]. Madde safken, elementlerde yapı taşları atom, bileşiklerde molekül olduğundan, Spektroskopiyi de "Atomik" ve "Moleküler" olmak üzere iki gruba ayırabiliriz. Şekil 3.1.'de atomik spektroskopinin sınıflandırılması verilmiştir [18, 27].

Şekil 3.10. Atomik Spektroskopinin Sınıflandırılması



3.3. Atomik Spektroskopi

Atomik spektroskopi, nicel ve nitel analizler için oldukça fazla kullanılır. X-ışını, morötesi veya görünür bölge ışınının soğurma ve yayılımı ilkesine dayanır.

Morötesi veya görünür bölgedeki atomik spektrum, örneğin atomlara ayrışmasıyla elde edilir. Bileşiği oluşturan moleküller, bir işlemlerle bozularak atomlarına ayrıştırılır ve element gaz taneciklerine dönüştürülür. Atom halindeki elementin hem yayılım hem de soğurma spektrumu her element için karakteristik olup birbirinden farklı dalga boylarında ve genişliği birkaç Å'dur. Bu dalga boylarından herbirine atomun hattı denir.

Gaz içerisinde molekül ve kompleks iyonlarının bulunmadığı ortamda titreşim ve dönme

hareketleri bulunmadığından dolayı band spektrumu gözlenemez. Böylece hatlar bağıl olarak sadece az sayıdaki geçişlere karşılık gelir.

Tablo 3.4. atomik yayılım ve atomik soğurum ilkesine dayanan çeşitli yöntemleri göstermektedir [15]. Bu yöntemler hızlı, kolay, büyük duyarlık, geniş uygulanabilirlik gibi üstünlüklere sahiptir. Bu yöntemler bütün analitik işlemlerin en seçici olanları arasında yer almaktadır. Bu yöntemlerle 70 kadar element tayin edilebilir. Genellikle duyarlılıkları ppm ile ppb arasındadır. Atomik spektroskopik yöntemde bir analiz çoğu kez birkaç dakikada tamamlanabilir.

Tablo 3.4. Atomik Spektral Metotlarının Sınıflandırılması

Bilinen İsim	Atomlaştırma Yöntemi	Radyasyon kaynağı	Numunenin Verilişi
Ark Spektroskopisi	Elektrik arki	Arktaki örnek	Örnek elektroda konur.
Spark Spektroskopisi	Elektrik sparkı	Sparktaki örnek	Örnek elektroda konur.
Alev Emisyon veya Atomik Emisyon	Alev	Alevdeki örnek	Örnek çözeltisi alevde püskürtülür.
Atomik Fluoresans	Alev	Bozunma lambası	Örnek çözeltisi alevde püskürtülür.
X-Işınlı Fluoresans	Gerekmez	X-Işınlı tüpü	Örnek X-ışınlarında tutulur
<i>Soğurma Yöntemleri</i>			
Alev Soğurma veya Atomik Soğurma	Alev	Oyuk katot lambası	Örnek çözeltisi alevde püskürtülür
Alevsiz soğurma	Isıtılmış yüzey	Oyuk katot lambası	Örnek ısıtılmış yüzeye püskürtülür
X-ışınları soğurma	Gerekmez	X-ışınları tüpü	Örnek X-ışınlarında tutulur

3.4. Soğurma İlkeleri

Atomik soğurma spektrumunun ilk temel prensipleri 1860 gibi çok uzun yıllar önce saptanmıştır [18]. Daha sonra Walsh ve arkadaşları [36] tarafından ilk olarak ortaya kondu ve 1955 yılından sonra geliştirilerek modern bir alet haline getirildi. 1960 yılında ise ticari bir alet olarak piyasaya sürüldü. Bundan böyle laboratuarlarda birçok alanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Çözeltideki metallerin tayini için yaş metotların yerini almıştır. Atomik soğurma spektrometresi ile 60-70 kadar iz seviyedeki metallerin miktarı tayin

cdilbilmektedir.

Kuantum mekanik kuramına göre, $h\nu$ enerjili foton, atom tarafından absorplanırsa, atomun temel enerji seviyesindeki değerlik elektronları uyarılır. Daha sonra yüksek enerjili düzeye geçer, geçiş için gerekli enerji [21]; Bu geçiş;

$$E_i - E_0 = h\nu = hc / \lambda \quad (1)$$

(1) eşitliği ile verilmektedir.

E_i : Uyarılmış seviyedeki enerji

E_0 : Temel seviyedeki enerji

h : Plank sabiti

ν : Fotonun frekansı

c : Işık hızı

λ : Fotonun dalga boyu

Soğurulan foton tek dalga boyundadır (monokromatik). Bu dalga boyu atomik hat olarak isimlendirilir. Soğurulan ışığın şiddeti Lambert - Beer yasasına göre;

$$I = I_0 e^{-k_0 l} \quad (2)$$

eşitliği ile verilmektedir.

I : Örnekten çıkan ışık şiddeti

I_0 : Gelen ışık şiddeti

k_0 : ν frekansdaki soğurum katsayısı

l : Soğurum ortamının uzunluğu

(2) eşitliğinin her iki tarafının logaritmasını alıp düzenlersek,

$$A = \log I_0 / I = 0.4343 k_0 l \quad (3)$$

şeklini alır.

Burada A'ya soğurum, k_0 frekansı ise; atom sayısına ait hat genişliğini belirleyen fiziksel olaylara (Doppler ve Lorentz genişlemesi gibi), ortamdaki atom sayısına ve hat osilatör kuvvetine bağlıdır.

3.5. Analiz Hattı Seçimi

Atomik soğurum spektrometresinde atom buharı elde etmek için alçı, grafit fırın gibi atomlaştırıcılar kullanılmaktadır. Atomlaşma sıcaklığı 2000 - 3000°C arasındadır. Sıcaklığın yüksek olmasından dolayı atomların uyarılması söz konusu ise de bu sıcaklık aralığında büyük oranda temel seviyede bulunur.

Herhangi bir i seviyesindeki uyarılmış atomların sayısı Boltzman eşitliği ile verilmektedir.

$$N_i = N_0 g_i / g_0 e^{-E_i / kT} \quad (4)$$

N_i : Uyarılmış seviyedeki atom sayısı

N_0 : Temel seviyedeki atom sayısı

g_i : i seviyedeki statistik ağırlık

g_0 : Temel seviyedeki statistik ağırlık

E_i : i seviyesindeki uyarma enerjisi

T : Sıcaklık (°K)'dir.

k : Boltzman sabiti

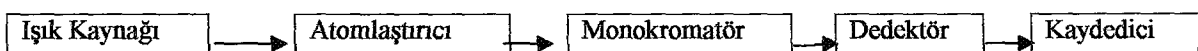
(4) eşitliğinden görüldüğü gibi herhangi bir i seviyede uyarılmış atom sayısı T 'ye ve E_i 'ye bağlıdır. Tablo 3.5.'de bazı elementlerin N_i / N_0 oranlarının sıcaklıkla değişimi verilmiştir.

Tablo 3.5. Bazı Elementlerin N_i / N_0 Oranlarının Sıcaklıkla Değişimi

Element	Hat (Å°)	g_i / g_0	E_i (eV)	2000 K	3000 K	4000 K	5000 K
Cs	8521	2	1.46	$4.4 \cdot 10^{-4}$	$7.2 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$6.8 \cdot 10^{-2}$
Ca	4227	3	2.93	$1.2 \cdot 10^{-7}$	$3.7 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$3.3 \cdot 10^{-3}$
Na	5891	2	2.11	$9.9 \cdot 10^{-6}$	$5.6 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$1.5 \cdot 10^{-2}$
Zn	2139	3	5.80	$7.3 \cdot 10^{-15}$	$5.6 \cdot 10^{-10}$	$1.5 \cdot 10^{-7}$	$4.3 \cdot 10^{-6}$

3.6. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

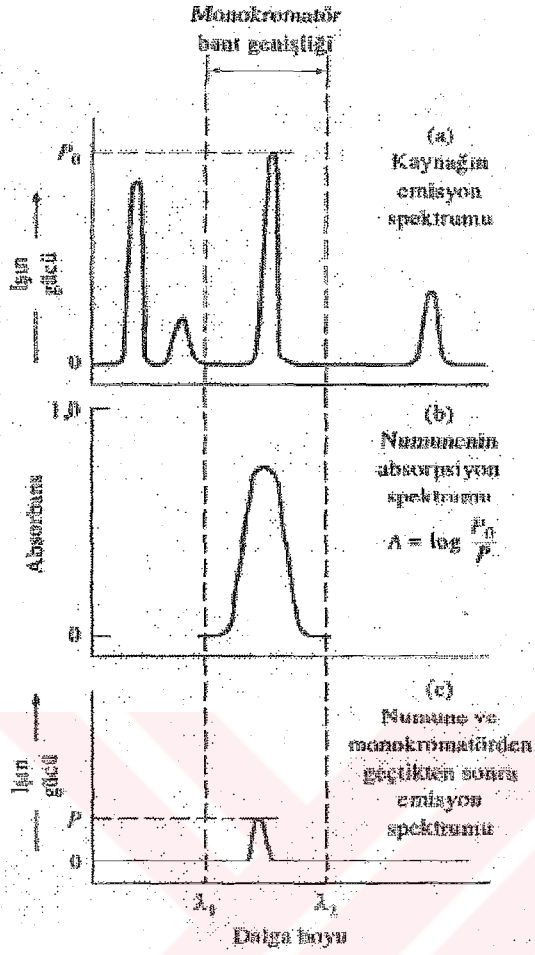
Atomik absorpsiyon spektroskopisinin şeması aşağıdaki gibidir:



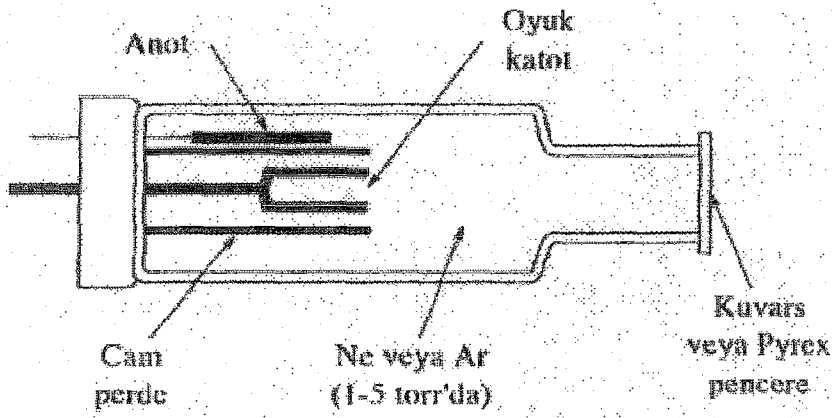
3.6.1. Işık Kaynakları

Atomik absorpsiyonu esas alan analitik yöntemler, elektronik geçiş enerjilerinin her elemente özgü ve atomik absorpsiyon çizgilerinin önemli derecede dar olması (0,002-0,005 nm) sebebiyle oldukça spesifiklerdir. Diğer yandan, sınırlı çizgi genişliği moleküler spektroskopide karşılaşmadığımız bir problem getirir. Analitik sinyal (absorbans) ve derişim arasında doğrusal bir ilişki olması için ışık kaynağının bant genişliğinin bir absorpsiyon pikinden daha dar olması gerekir. İyi kalite monokromatörler dahi, atomik absorpsiyon çizgilerinin genişliğinden önemli derecede geniş etkin bant genişliğine sahiptir. Sonuç olarak, atomik absorpsiyon ölçümleri, sürekli ışık kaynaklı yaygın spektrometrelerle yapıldığı zaman, doğrusal olmayan kalibrasyon eğrileri kaçınılmazdır. Üstelik bu cihazlarla elde edilen kalibrasyon eğrilerinin eğimleri küçüktür, çünkü monokromatör slitinden geçen ışığın yalnızca küçük bir kesri numune tarafından absorplanır; sonuç zayıf duyarlıktır.

Atomik absorpsiyon piklerinin sınırlı genişliğinden oluşan problem, absorpsiyon piklerinden daha dar bant veren çizgi kaynaklarının kullanımıyla çözülmüştür. Örneğin, 589,6 nm'deki sodyum pikinin absorbansı, sodyum tayini için kullanılacaksa, aynı dalga boyunda sodyum emisyon piki izole edilip bu amaçla kullanılır. Bu durumda, çizgi, elektriksel boşalım ile sodyum atomlarının uyarıldığı bir sodyum buharı lambası vasıtasıyla oluşturulur. Kaynaktan yayılan diğer sodyum çizgileri filtreler ile veya nisbeten ucuz monokromatörler ile süzülür. Kaynağın çalışma şartları, yayılan çizgilerin Doppler genişliğinin alev veya diğer atomlaştırıcılarda oluşturulan absorpsiyon pik genişliğinden daha az olacak şekilde seçilir. Yani kaynak sıcaklığı atomlaştırıcı sıcaklığın altında tutulur. Şekil 3.11a, dört dar çizgi içeren tipik bir atomik lamba kaynağının emisyon spektrumunu gösterir. Uygun filtre veya monokromatör ile bu çizgilerden birisi hariç hepsi süzülür. Şekil 3.11b, λ_1 ve λ_2 dalga boyları arasında analitin absorpsiyon spektrumunu gösterir. Bant genişliğinin, emisyon pik genişliğinden önemli derecede daha büyük olduğuna dikkat ediniz. Şekil 3.11c'de gösterildiği gibi, kaynaktan gelen çizginin alev içinden geçerken şiddeti P_0 'dan P 'ye azalır; absorbans, numunedeki analit derişimleriyle doğrusal olarak ilişkili olan ($\log P_0/P$) ile verilir. Açıklanan yöntemin dezavantajı, her bir element için (veya birkaç element için) ayrı bir lamba gerekmesidir.



Şekil 3.11. Atomlar tarafından bir rezonans çizgisinin absorpsiyonu



Şekil 3.12. Bir oyuk katot lambasının şematik yan kesiti

3.6.1.1. Oyuk Katot Lambaları

Atomik absorpsiyon ölçümleri için en yaygın kaynak Şekil 3.12'de gösterilen oyuk katot lambalarıdır. Bu tip lambalar 1-5 torr basınçta argon veya neon ile doldurulmuş bir cam tüp içinde, bir tarafı kapalı silindirik katot ve bir tungsten anottan ibarettir. Katot, spektrumu istenen metalden veya bu metalin bir tabakasını desteklemede kullanılan başka bir metalden imal edilir.

Elektrotlar arasına 300 V civarında bir potansiyel uygulanınca, inert gaz atomları iyonlaşır. İyonlar ve elektronlar elektrotlara geçerken, 5-15 mA'lık bir akım oluşur. Potansiyel farkı yeterli ise, yüksek hızla katoda çarpan katyonlar, katot yüzeyindeki atomlardan bazılarını koparıp gaz fazına geçirir. Bu süreç, sıçratma adını alır. Sıçratılan metal atomların çoğu uyarılmış haldedir ve bunlar temel hallerine dönerken karakteristik ışın yayarlar. Sonuçta, metal atomları geri katot yüzeyine difüzenir veya tüpün cam duvarlarında birikir.

Katodun silindirik yapısı, metal tüpün sınırlı bir bölgesinde ışını yoğunlaştırır; bu tasarım, cam duvardan çok katot yüzeyinde atomların birikme olasılığını artırır.

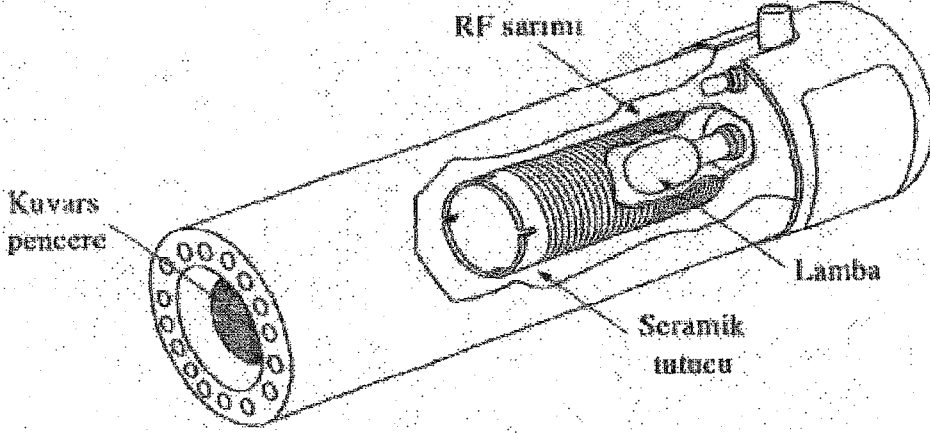
Oyuk katot lambasının verimi onun geometrisine ve çalışma potansiyeline bağlıdır. Yüksek potansiyel, dolayısıyla yüksek akım, daha büyük şiddette ışımaya yol açar. Bu avantaja karşılık, lambada oluşan çizgilerin Doppler genişlemesi problemi artar. Ayrıca, daha büyük akım, atom bulutu içinde uyarılmamış atomların sayısında bir artış oluşturur. Uyarılmamış atomlar, uyarılmış atomlardan yayılan ışınları absorplama yeteneğindedir. Bu self-absorpsiyon, daha düşük şiddet demektir ve özellikle emisyon bandının merkezinde oluşur.

Çeşitli oyuk katot lambaları piyasada satılmaktadır. Bazılarının katodu birkaç metalin karışımını içerir; bu lambalar tek bir element yerine birkaç elementin tayininde kullanılır.

3.6.1.2. Elektrotsuz Boşalım Lambaları

Elektrotsuz boşalım lambaları (EDL), atomik çizgi spektrumlarının yararlı kaynaklarıdır ve oyuk katot lambalarından onlarca katla yüzlerce kat daha büyük ışın şiddetleri oluşturur. Tipik bir lamba spektrumu ilgilenilen metalin (veya tuzun) küçük bir miktarını ve birkaç torr basınçta argon gibi inert bir gazı içeren kapalı kuvars tüpden yapılıdır. Bu lambalar elektrot içermez; onun yerine, şiddetli bir radyo-frekansı veya mikro dalga ışınının sağladığı alanla atomlar uyarılır. Önce argon atomları iyonlaşır; bu iyonlar, uygulanan alanın yüksek frekans bileşeni tarafından hızlandırılır; hızlı iyonlar, spektrumu istenen atomlara çarpıp onları uyarırlar.

Elektrotsuz boşalım lambaları 15 veya daha fazla element için ticari olarak mevcuttur. Performansları oyuk katot lambalarındaki kadar iyi değildir. Şekil 3.13, 27 MHz'lik radyo frekans kaynağı ile çalışan bir ticari elektrotsuz boşalım lambasının şemasıdır.



Şekil 3.13. Elektrotsuz Boşalım Lambasının Kesiti

3.6.1.3. Kaynak Modülasyonu

Tipik atomik absorpsiyon cihazında, alev tarafından yayılan ışının sebep olduğu girişimleri gidermek gerekir. Elbette bu yayılan ışının çoğu monokromatör tarafından süzülür. Fakat, alevdeki uyarılmış atomların emisyonu ile oluşan ve monokromatörün ayarlandığı dalga boyuna denk gelen ışınlar, dedektöre ulaşan ışın şiddetini artırır. Alevden gelen ışınların etkisini gidermek için, kaynaktan gelen ışını modüle etmek, yani şiddetini sabit frekansla periyodik olarak değiştirmek gerekir. Bu takdirde, dedektöre iki tip sinyal ulaşır; kaynaktan gelen modüle edilmiş ışınlar ve alevden gelen sürekli ışınlar. Bu sinyaller, karşılık gelecekleri elektriksel sinyale dönüştürülür. Bir basit yüksek geçirgenlikli RC filtre , modüle olmamış de sinyallerini uzaklaştırmak ve yükseltmek için AC sinyallerini geçirmek için kullanılır.

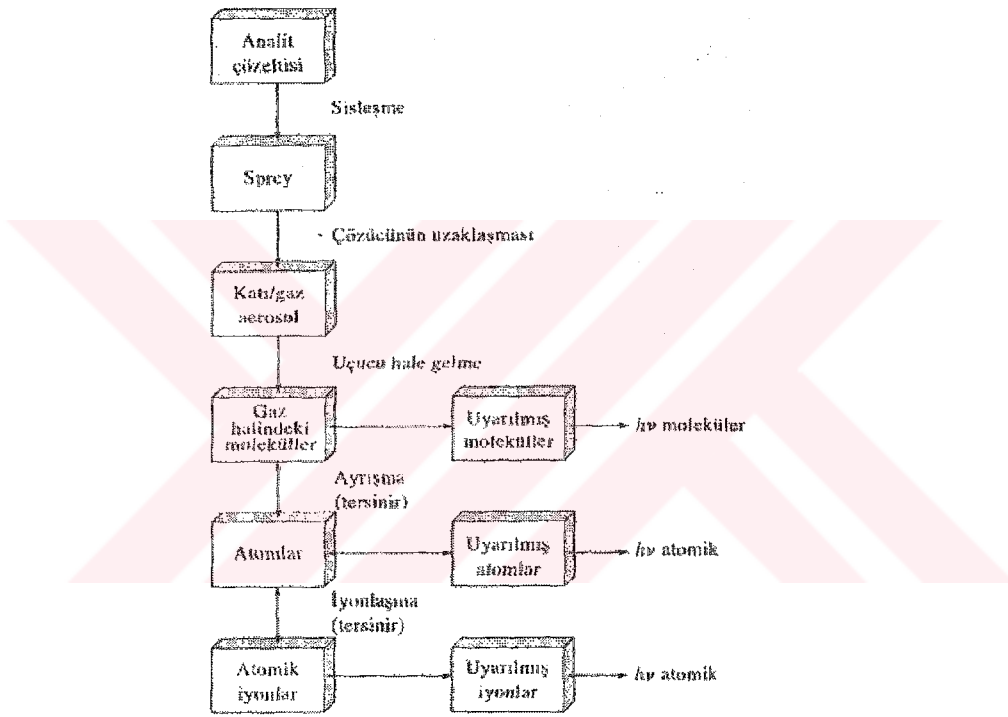
Kaynak modülasyonu için basit ve tam yeterli bir yol, ışın yolunda, kaynak ve alev arasına, bir dairesel metal disk veya kesici koymaktır. Bu diskin çaprazındaki dörtte birlik parçalar ışının geçmesi için uzaklaştırılır. Sabit, bilinen bir hızda dönen disk istenen aralıklarla kesilen bir demet oluşturur. Alternatif olarak, kaynağı besleyen güç, sabit frekansta açılıp kapanarak, ışın kaynağı modüle edilebilir [21].

3.6.2. Atomlaştırıcı

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde karşılaşılan numune atomlaştırma tekniklerinden en yaygın kullanılan: Alev atomlaştırma ve elektrotermal atomlaştırma teknikleridir.

3.6.2.1. Alev Atomlaştırma

Bir alev atomlaştırıcıda, atomlaşmanın olduğu bir alev içine numune çözeltisi yanıcı gaz ile karışan yükseltgen gaz akışıyla taşınır ve püskürtülür. Şekil 3.14'de



Şekil 3.14. Atomlaştırma sırasında oluşan süreçler

gösterildiği gibi alevde, birbirleriyle bağlantılı olarak oluşan karmaşık bir grup süreç söz konusudur. İlk olarak çözücü buharlaşır ve çok ince dağılmış bir moleküler aerosol oluşur. Bu olaya "çözücünün uzaklaşması" denir. Sonra bu moleküllerin çoğunun ayrışması sonucu, bir atomik gaz oluşur. Bu şekilde oluşan atomların çoğu, katyonlar ve elektronlar vermek üzere iyonlaşır. Yanıcı gazın numunedeki çeşitli türlerle ve yükseltgenle etkileşimi sonucu alevde, başka molekül ve atomlar da oluşur. Şekil 3.14'de belirtildiği gibi, alevin ısıyla moleküller, atomlar ve iyonların bir kısmı da uyarılır. Bu yüzden atomik, iyonik ve moleküler emisyon spektrumları oluşur. Oluşan çok karmaşık işlemler göz önüne alınırsa, alev spektroskopisinde, atomlaştırmanın, en kritik basamak olması ve yöntemin kesinliğini de bu basamağın sınırlaması sürpriz değildir. Atomlaşma basamağının kritik özelliği gereği,

alevin özelliğini ve bu özellikleri etkileyen değişkenleri anlamak önemlidir.

3.6.2.1.1. Alev Tipleri

Tablo 3.6'da alev spektroskopisinde kullanılan yanıcı gazlar ve yükseltgenler ile bu karışımların her biriyle ulaşılan yaklaşık sıcaklık aralıkları belirtilmiştir. Yükseltgen olarak hava kullanıldığında, çeşitli yanıcılarla 1700°C-2400°C sıcaklıklar elde edilir. Bu sıcaklıklarda, sadece kolaylıkla bozulan numuneler atomlaştırılır. Daha refrakter numuneler için, oksijen veya nitroz oksit yükseltgen olarak kullanılmalıdır. Yaygın olarak kullanılan yanıcılar, bu yükseltgenle 2500-3100°C sıcaklık oluşturur.

Tablo 3.6'nın dördüncü sütununda belirtilen yanma hızları, alevlerin yalnızca belirli aralıklardaki gaz akış hızlarında kararlı olması nedeniyle önemlidir. Gaz akış hızı yanma hızını aşmazsa, alev bek içinde kendi kendine geriye ilerler. Akış hızı arttıkça, akış ve yanma hızlarının eşit olduğu bir noktaya ulaşmaya kadar alev yükselir. Bu bölge alevin kararlı olduğu yerdir. Yüksek akış hızlarında, alev yükselir ve sonunda bek içinde söndüğü noktaya ulaşılır. Bu faktörler, yanıcı/yükseltgen karışımının akış hızını kontrol etmenin önemini gösterir. Bu akış hızı, yanıcı cinsine ve kullanılan yükseltgene oldukça bağlıdır.

Tablo 3.6. Alevin Özellikleri

Yanıcı	Yükseltgen	Sıcaklık	Maksimum Hızı (cm s ⁻¹)	Yanma
Doğal Gaz	Hava	1700-1900	39-43	
Doğal gaz	Oksijen	2700-2800	370-390	
Hidrojen	Hava	2000-2100	300-440	
Hidrojen	Oksijen	2550-2700	900-1400	
Asetilen	Hava	2100-2400	158-266	
Asetilen	Oksijen	3050-3150	1100-2480	
Asetilen	Nitroz Oksit	2600-2800	285	

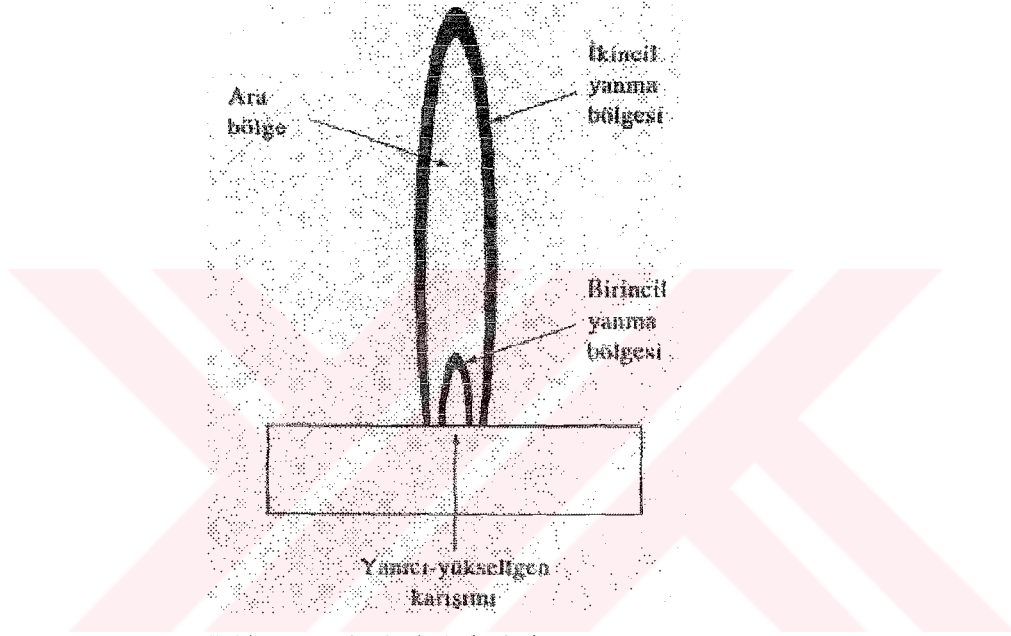
3.6.2.1.2. Alevin Yapısı

Şekil 3.15'de gösterildiği gibi, bir alevin önemli bölgeleri birincil yanma bölgesi, ara bölge ve ikincil yanma bölgesidir. Bu bölgelerin görünümü ve bağlı büyüklüğü yanıcı/yükseltgen oranına olduğu kadar, yanıcı ve yükseltgenin tipine de bağlıdır. Bir hidrokarbon alevinde, birincil yanma bölgesi C₂, CH ve diğer radikallerden yayılan mavi luminesansla fark edilir. Bu bölgede termal dengeye ulaşılmaz ve bu yüzden de alev

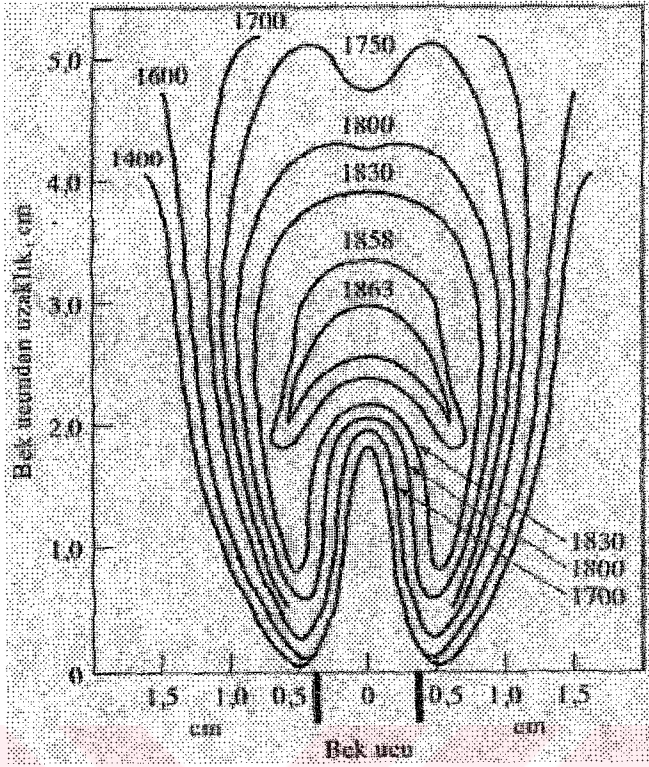
spektroskopisinde nadiren kullanılır.

Stokiyometrik hidrokarbon alevlerinde bağıl olarak dar olan ara bölge alanı, yanıcı yönünden zengin asetilen/oksijen veya asetilen/nitroz oksit alevlerinde, yükseklik olarak birkaç santimetreye ulaşabilir. Bölge çoğu zaman serbest atomlar yönünden zengindir ve spektroskopide alevin en yaygın şekilde kullanılan kısmıdır. ikincil reaksiyon bölgesinde, iç merkezin ürünleri, kararlı moleküler oksitlere dönüşür ve bunlar, alev dışına dağılır.

Bir alev profili (kesiti), alevin farklı kısımlarında yürüten işlemler hakkında yararlı bilgiler oluşturur;



profil, belli parametreler bakımından benzer değerlere sahip olan alev bölgelerinin gösterildiği, bir dış hat eğrisidir. Bu parametrelerden bazıları, sıcaklık, kimyasal bileşim, absorban, ışın veya floresans şiddetidir.



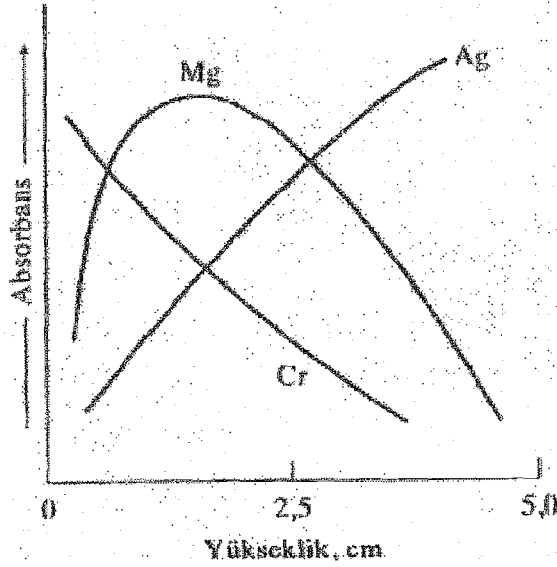
Şekil 3.16. Bir doğal gaz/hava alevinin sıcaklık profili (°C) [21]

3.6.2.1.3. Sıcaklık Profilleri

Şekil 3.16, atomik spektroskopide tipik bir alev sıcaklık profilidir. Maksimum sıcaklık, birincil yanma bölgesinin yaklaşık 2,5cm yukarısında görülür. Özellikle emisyon yöntemlerinde bütün kalibrasyon ve analitik ölçme işlemlerinde giriş slitinin önüne alevin aynı kısmının odaklanması için özen gösterilmelidir.

3.6.2.1.4. Alev Absorbans Profilleri

Şekil 3.17, üç elementin tipik absorbans profillerini gösterir. Magnezyum, iki zıt etki sebebiyle, aşağı yukarı alevin ortasında absorbansda bir maksimum gösterir. Tabandan uzaklaştıkça absorbansdaki artış, alev ısısına daha uzun maruz kalarak oluşan magnezyum atomları sayısındaki artıştan ileri gelir, ikinci yanma bölgesine ulaştığı zaman, kayda değer miktarda magnezyum yükseltgenmeye başlar. Bu süreç, sonuçta absorbansda azalmaya yol açar, çünkü oluşan oksit tanecikleri kullanılan dalga boyunda absorpsiyon yapmaz. Maksimum analitik duyarlık elde etmek için, maksimum absorbans elde edilinceye kadar alev, ışın yoluna göre aşağıya ve yukarıya hareket ettirilmelidir.



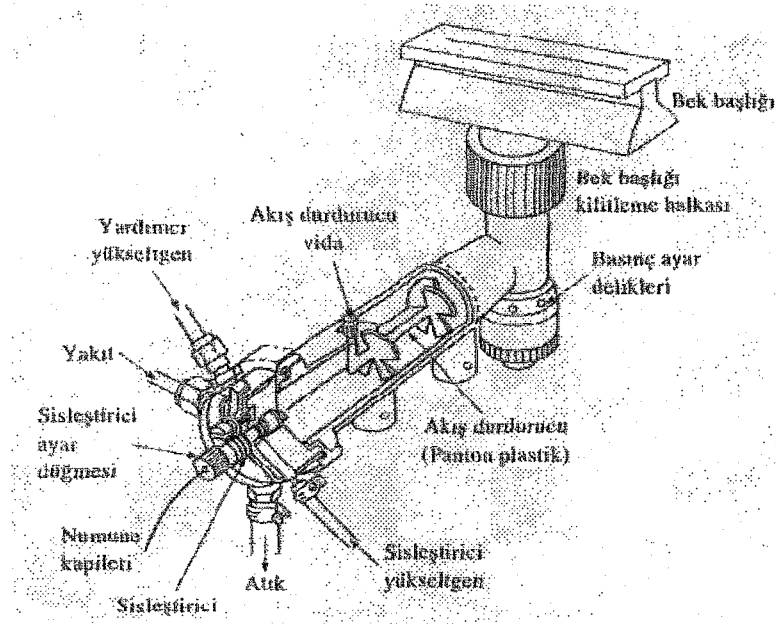
Şekil 3.17. Üç elementin alev absorbands profili

Kolaylıkla yükseltgenmeyen gümüşün davranışı oldukça farklıdır; Şekil 3.17'de gösterildiği gibi, atomların sayısındaki sürekli artış nedeniyle, absorbands da alev tabanından dış üst çizgilerine kadar artar. Buna karşılık çok kararlı oksit oluşturan kromun absorbandsı, bekin ucundan başlayarak sürekli azalma gösterir. Bu gözlem, başlangıçtan itibaren oksit oluşumunun egemen olduğunu ifade eder. Açıkçası, bu elementlerin her birinin analizi için alevin farklı kısımları kullanılır. Alev spektroskopisi için daha ileri cihazlar, alevin nispeten küçük bir bölgesinden gelen ışını ayıran monokromatörle donatılır, bu nedenle monokromatör giriş slitine göre alevin pozisyonunun ayarlanması önemlidir.

3.6.2.1.5. Alev Atomlaştırıcılar

Alev atomlaştırıcılar atomik absorpsiyon, floresans ve emisyon spektroskopide kullanılır. Şekil 3.18'de gösterildiği gibi bir eş-merkezli boru sisleştirici kullanılan, tipik ticari laminar akışlı bekin diyagramıdır. Yükseltgen akışı ile oluşan aerosol, yanıcı ile karışır ve çok küçük damlacıklar dışındaki sıvı damlalarını bertaraf etmek için, bir seri yüzeye çarptırılır. Çarpmalar sonucu numunenin büyük çaplı damlaları, karışma odasının dibinde toplanır ve oradan bir atık kabına gider. Aerosol, yükseltgen ve yanıcı, genellikle 5-10 cm uzunluğunda bir alev oluşturan yarıklı bir bekin içinde yakılır.

Laminar akışlı beklar, sakin bir alev ve uzun ışın yolu oluşturur. Bu özellikleri, duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği iyileştirir. Bu tip beklere karıştırma odası, akış hızları çok düşürülürse, alevin içe çekilmesiyle tutuşabilen patlayıcı bir karışım içerir. Şekil 3.18'deki laminar akışlı beklar, bu tehlikeye karşı, basınç ayar delikleri ile donatılmıştır.



Şekil 3.18. Bir Laminar Akışlı Bek

3.6.2.1.6. Yanıcı ve Yükseltgen Ayarlayıcılar

Alev spektroskopide kontrolü gerekli önemli bir değişken, yükseltgen ve yakıt gazların akış hızlarıdır. En uygun atomlaşma koşulları deneysel olarak her iki gazın akış hızları, geniş bir aralıkta değiştirilip ayarlanarak bulunur. Yanıcı ve yükseltgen, uygun stokiyometrik oranlarda karıştırılır. Bununla beraber kararlı oksitler oluşturan metal tayinleri için, yanıcının aşırısını içeren bir alev, daha uygundur. Akış hızları, genelde cihazdaki çift diyaframlı basınç düzenleyiciler ve sonra iğneli musluklar ile kontrol edilir. Akış hızlarının ölçümünde en yaygın kullanılan düzenek rotametredir. Rotametre, dikey konumlandırılmış, ucu aşağıda, konik, saydam ve taksimatlı bir borudur. Hafif ağırlıkta, konik veya küresel bir şamandıra gaz akışı ile kaldırılır; onun dikey pozisyonu akış hızının göstergesidir.

3.6.2.1.7. Alev Atomlaştırıcıların Performans Özellikleri

Tekrarlanabilirlik bazında, alev atomlaştırma, şimdiye kadar atomik absorpsiyon spektrometride sıvı numune girişi için geliştirilen diğer tüm yöntemlerden üstün görünür. Numune verme verimi ve dolayısıyla duyarlık yönünden ise, diğer atomlaşma yöntemleri,

belirgin olarak daha iyidir. Alevin düşük numunc verme verimi, iki sebebe dayandırılır. Birincisi, numunenin büyük bir kısmı atığa geçer, ikincisi, alev içindeki optik yolda tek tek atomların kalma süresi kısadır ($\approx 10^{-4}$ sn).

3.6.2.2. Elektrotermal Atomlaştırma

İlk defa 1970'lerde piyasada görülen elektrotermal atomlaştırıcılar, genel olarak kısa sürede tüm numuncnin atomlaştırılması ve optik yolda atomların ortalama kalma sürelerinin bir saniye veya daha fazla olması nedeniyle, duyarlılıkta artış sağlar. Elektrotermal atomlaştırıcılar, atomik absorpsiyon ölçümleri için kullanılır, fakat genel olarak emisyon spektrumlarının doğrudan oluşturulmasında uygulanmaz. Bununla beraber, bu atomlaştırıcıların, indüktif eşleşmiş plazma emisyon spektroskopide numunc verilmesi için kullanımı başlamıştır.

Elektrotermal atomlaştırıcılarda, grafit bir kapsülde veya Şekil 3.19b'dekine benzer, elektriksel olarak ısıtılmış grafit bir tüpte, önce numunenin birkaç mikrolitresi kurutulur ve sonra kül edilir. Kül edildikten sonra, yaklaşık 2000°C - 3000°C 'a yükselen sıcaklığa neden olan akım, hızla birkaç yüz ampere artırılır; numunenin atomlaşması birkaç milisaniyeden saniyelere kadar değişen periyotla oluşur. Atomlaşan taneciklerin absorpsiyonları ısıtılmış yüzeyin hemen üzerindeki bölgede ölçülür.

3.6.2.3. Özel Atomlaştırma Teknikleri

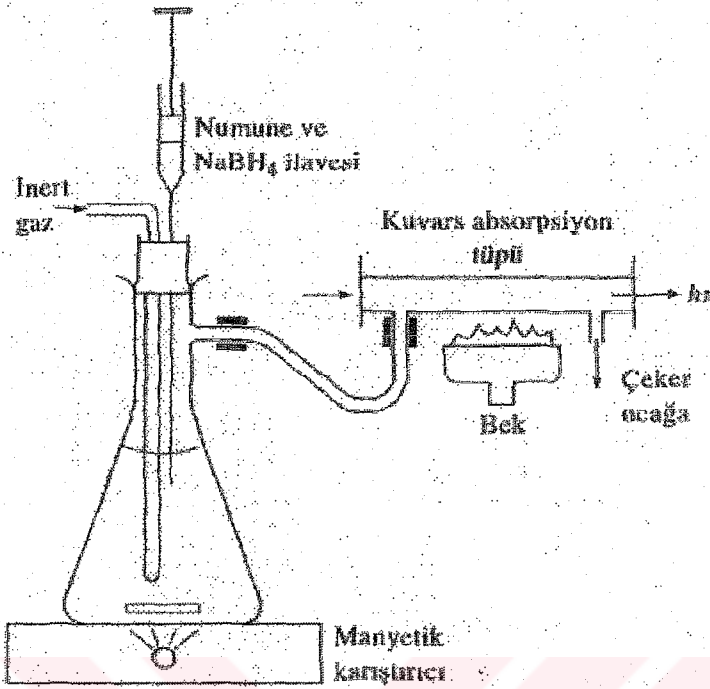
3.6.2.3.1. Hidrür Atomlaştırma

Şekil 3.19'da gösterildiği gibi kuvars bir tüpte ısıtılması yeterlidir.

3.6.2.3.2. Soğuk-Buhar Atomlaştırma

Soğuk buhar tekniği, yalnızca cıva tayinine uygulanan bir atomlaştırma tekniğidir; çünkü cıva, düşük sıcaklıklarda yeterli buhar basıncına sahip olan tek metalik elementtir. Çeşitli organik cıva bileşiklerinin zehirli olması ve çevredeki geniş dağılımları sebebiyle, birçok numunede cıva tayini hayati öneme sahiptir. Bu analiz için seçilen yöntem, soğukta buharlaştırma ve sonra da atomik absorpsiyon spektrometri ile analiz etmektir. Bu yöntemde cıva, önce bir yükseltgen karışımla muamele edilerek Hg^{2+} haline dönüştürülür; sonra SnCl_2 ile metalik hale indirgenir. Elementel cıva, olduğu karışımdan, bir inert gaz akımıyla uzun absorpsiyon tüpü içine sürüklenir. Analiz, $253,7$ nm'de absorbans ölçümü ile tamamlanır.

Gözlencibilme sınırı ppb aralığındadır.



Şekil 3.19. Atomik absorpsiyon spektrometri için hidrür oluşumu ve atomlaştırma sistemi

3.6.3. Monokromatör (Dalga Boyu Seçicisi) ve Dedektör

AAS'de monokromatör olarak prizmadan yapılmış düzenekler kullanılır. Prizmalarda dalga boyunun seçilmesi farklı dalga boylarındaki ışığın prizmaya girişte ve çıkışta farklı miktarlarda kırılması ilkesine dayanır. Prizma ışık kaynağına göre döndürülerek çeşitli dalga boyu değerlerine sahip ışığın bir aralıktan geçerek madde ile etkileşmesi sağlanır. Cornu tipi prizmalarda, prizma içine kırılmaya uğrayan ışık, prizmanın öteki yüzünden çıkarak çeşitli dalga boylarına dağılır. Littrow prizmasında ise prizmanın bir yüzü Al ayna ile kaplıdır ve prizmaya giren ışık, aynı yüzden çeşitli dalga boylarına ayrılarak prizmayı terkeder.

Dedektör olarak fotoçoğaltıcı tüpler kullanılır. Fotoçoğaltıcı tüplerde fotokatot yüzeyinden foton çarpması ile fırlatılan elektronlar dinot denilen yüzeylere doğru elektriksel alanda hızlandırılır ve dinoda çarpan her bir elektron, dinot yüzeyinden 3-5 elektron daha koparır. Böylece sayıları giderek artan elektronlar en sonunda bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir.

3.7. AAS Cihazı

Atomik absorpsiyon cihazları birçok firma tarafından üretilmektedir. Tek ve çift-ışın yollu cihazlar mevcuttur. Genelde, cihaz analizin duyarlılığını azaltan veya girişim yapan

diğer çizgilerden ölçüm çizgisini ayırmak için yeterli dar bant genişliği sağlayabilmektedir. Görünür bölgede birkaç geniş aralıklı rezonans çizgisine sahip olan alkali metallerin bazıları için bir cam filtre yeterlidir. Kolaylıkla değiştirilebilir girişim filtresiyle donatılmış cihazlar piyasada mevcuttur. Her bir element için ayrı bir filtre ve kaynak kullanılır. 22 metalin analizinde yeterli sonuçlar alındığı bilinmektedir. Bununla beraber pek çok cihaz, 1A° mertebesinde bant genişliğine ulaşılabilen iyi-kalite ultraviyole/görünür bölge monokromatörüyle donatılmıştır.

Çoğu atomik absorpsiyon cihazlarında fotoçoğaltıcı tüpler kullanılır. Elektronik sistem, alevden gelen sürekli sinyal ve kaynaktan gelen modüle sinyal arasındaki ayırmayı yapacak durumdadır. Piyasadaki pek çok cihaz verileri işlemek, kontrol etmek ve cihaz değişkenlerinin kontrolü için kullanılan mikrobilgisayar sistemlerine bağlıdır.

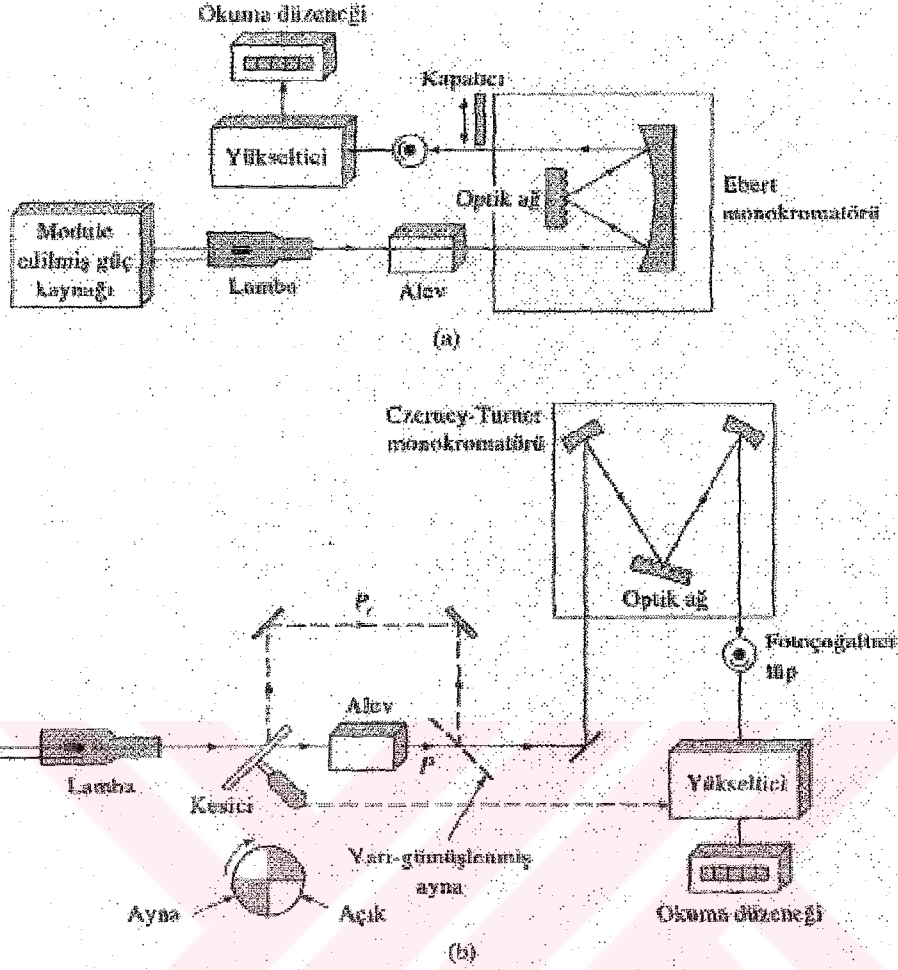
3.7.1. Tek-Işın Yollu Cihazlar

Şekil 3.20a'de gösterildiği gibi, tek-ışın yollu tipik bir cihaz birkaç oyuk katot kaynağı, bir kesici veya pulslu güç kaynağı, atomlaştırıcı ve bir fotoçoğaltıcı transduser ile basit bir optik ağdan oluşmuştur. Yani karanlık akım, dedektörün önü kapatılarak sıfırlanır. % 100 geçirgenlik ayarı bir tank çözelti alev emilirken veya alevsiz atomlaştırıcıda yakılırken yapılır. Sonunda, geçirgenlik tank ile numune yer değiştirilerek elde edilir.

3.7.2. Çift-Işın Yollu Cihazlar

Şekil 3.20b, çift-ışın yollu tipik bir cihazın semasıdır. Oyuk katot kaynağından gelen ışın demeti, yarısı alev içinden diğer yarısı dışarıdan geçecek şekilde aynalı bir kesici ile yarılr. İki demet, daha sonra yarı gümüşlenmiş ayna ile birleştirilir ve Czerney-Turner tipi optik ağı bir monokromatöre girer. Dedektör olarak bir foto-çoğaltıcı kullanılır. Dedektörden çıkan sinyal, ışını modüle eden kesici ile eş zamanlı çalışan bir yükselticiyle beslenir. Referans ve numuneden geçen ışınlardan gelen sinyaller burada yükseltilir ve sonra, dijital veya göstergeli bir okuyucuya gönderilir.

Atomik çift-ışın yollu bir cihazda referans ışını alev içinden geçmez ve bu yüzden, bizzat alev tarafından saçılmalar ve absorpsiyon nedeniyle ışın gücü kayıpları düzeltilemez.



Şekil 3.20. Tipik Alev Spektrometreleri: (a) Tek-ışın yollu tasarım (b) Çift-ışın yollu tasarım

3.8. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler

Atomik absorpsiyon yöntemlerinde iki tip girişimle karşılaşılabilir. Girişim yapan türlerin absorpsiyon veya emisyon çizgileri, analitin esas çizgisiyle örtüşürse veya monokromatörün ayıramayacağı kadar ona yakın olduğu zaman spektral girişim ortaya çıkar. Kimyasal girişimler, analitin absorpsiyon karakteristiklerin değiştiren ve atomlaşma sırasında oluşan çeşitli kimyasal işlemlerden ileri gelir.

3.8.1. Kimyasal Girişimler

Kimyasal girişimler, spektral girişimlerden daha yaygındır. Kimyasal girişim etkileri çoğunlukla uygun çalışma koşulları seçimiyle minimuma indirilebilir.

Hem teorik hem deneysel veriler, alev içinde oluşan olayların bir çoğunun yaklaşık dengede olduğunu düşündürmektedir. Sonuç olarak, yanan gazlar, termodinamik

hesaplamaların uygulanabildiği, bir tür çözücü ortamı olarak düşünülebilir, ilgilenilen temel dengeler, düşük uçuculuktaki bileşiklerin oluşumu, ayrışma reaksiyonları ve iyonlaşmayı kapsar.

3.8.1.1. Az Uçucu Bileşiklerin Oluşumu

Genelde en yaygın girişim, analit ile uçuculuğu az bileşikler oluşturan ve böylece atomlaşmayı geciktiren anyonların girişimidir. Düşük sonuçlar elde edilir. Artan sülfat veya fosfat derişimleriyle kalsiyum absorbansında gözlenen azalma buna bir örnektir. Örneğin, belirli bir kalsiyum derişiminde anyon/kasyon oranı yaklaşık 0,5 oluncaya kadar artan sülfat veya fosfat derişimiyle, absorbans yaklaşık doğrusal olarak azalır; sonra absorbans, orijinal değerin % 30-50'sinde dengelenir ve anyon derişiminden bağımsız olur.

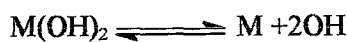
Kasyon girişimi ile ilgili örnekler de bilinmektedir. Örneğin, alüminyumun ısıya dayanıklı alüminyum/magnezyum bileşiği oluşumunun sonucu olarak, magnezyum tayininde düşük sonuçlara yol açmaktadır.

Düşük uçuculuktaki türlerin oluşumundan dolayı girişimler çoğu zaman daha yüksek sıcaklık kullanımıyla giderilebilir veya azaltılabilir. Alternatif olarak, girişim yapan türle tercih reaksiyon veren veya analitle onun etkileşimini önceden bir kasyon olan serbestleştirici reaktifler kullanılır. Örneğin aşırı stronsiyum veya lantan iyonu ilavesi, kalsiyum tayininde fosfat girişimini giderir. Alüminyum varlığında magnezyum tayini için, serbestleştirici reaktif olarak aynı maddeler kullanılmıştır. Her iki durumda da strosinyum veya lantan, girişim yapan türlerle oluşan bileşiklerdeki analitle yer değiştirir.

Koruyucu reaktifler, analitle kararlı fakat uçucu tür oluşturarak girişimi önler. Bu amaçla kullanılan üç genel reaktif EDTA, 8-hidroksikinolin ve 1-pirolidin karboditiyonik asidin amonyum tuzu olan APDC'dir. EDTA'nın kalsiyum tayininde alüminyum, silisyum, fosfat ve sülfat girişimini giderdiği gösterilmiştir. Benzer olarak, 8-hidroksikinolin kalsiyum ve magnezyum tayininde alüminyum girişimini önler.

3.8.1.2. Ayrışma Dengeleri

Alev veya fırının sıcak, gaz halindeki çevresinde yer alan, sayısız ayrılma ve birleşme reaksiyonu metalik bileşenlerin elemental hale dönüşmesine yol açar. Bu reaksiyonların en azından bir çoğu tersinirdir ve termodinamik yasalarla incelenmeleri mümkündür. Bu yüzden, M analit atomunun yer aldığı bir dengeyi



ile göstermek mümkündür.

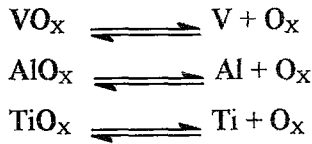
Pratikte, kantitatif değerlendirmede kullanmak için alevdeki kimyasal reaksiyonların karakteri, sulu çözeltilerdeki gibi yeterince bilinmez. Bunun yerine ampirik gözlemlere başvurulur.

Metal oksitleri ve hidroksitlerini içeren ayrışma reaksiyonları, bir element için emisyon ve absorpsiyon spektrumlarının karakterinin tayininde önemli bir rol alır. Örneğin, toprak alkali oksitleri 5 eV'u aşan ayrışma enerjisiyle, nispeten karardır. Alevdeki metal oksitler veya hidroksitlerin varlığından ortaya çıkan moleküler bantlar, bu maddelerin spektrumlarının belirgin bir özelliğini oluşturur. Çok yüksek sıcaklıklar hariç, bu bantlar, atom veya iyon çizgilerinden daha şiddetlidir. Buna karşılık alkali metallerin oksitleri ve hidroksitleri, nispeten düşük sıcaklıklarda bile çok kolay ayrıştığı için, bu elementlerin çizgi şiddetleri yüksektir.

Oksijenden başka anyonları içeren ayrışma dengelerinin de, alev emisyon ve absorpsiyonunu etkilemesi olasıdır. Örneğin, sodyumun çizgi şiddeti, aşırı HCl varlığında azalır. Bunun en muhtemel açıklaması, dengesine, kütle-etkisidir. İlave edilen HCl'den oluşan klor atomları atomik sodyum derişimini azaltır ve böylece çizgi şiddeti düşer.



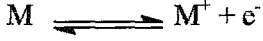
Bu tür girişimlerin diğer bir örneği, alüminyum veya titan yanında vanadyumun absorpsiyonunun yükselmesidir. Bu girişim, yakıtı az alevden ziyade yakıt yönünden zengin alevlerde önemli derecede kendini gösterir. Bu etkiler, alevde daima bulunan O ve OH gibi türlerle üç metalin etkileştiği düşünülerek kolaylıkla açıklanır. Oksijen-verici türler O_x genel formülü ile verilirse, bir seri denge reaksiyonu şöyle yazılabilir:



Yakıtça zengin, yanma karışımlarında O_x derişimi zaten düşüktür ve numunelerde alüminyum veya titan mevcut olduğu zaman iyice düşer ki, O_x derişimi yeterince azalır. Bu, ilk dengenin sağa kaymasına neden olarak metal derişimini ve dolayısıyla absorbansı da artırır. Diğer taraftan, yakıtça fakir karışımlarda, O_x derişimi, metal atomlarının toplam derişimine oranla çok yüksektir. Bu yüzden alüminyum veya titan ilavesi O_x derişimini hemen hemen değiştirmez. Bu yüzden, ilk denge önemli derecede bozulmaz.

3.8.1.3. İyonlaşma Dengeleri

Atom ve moleküllerin iyonlaşması, yükseltgen olarak hava içeren yanma karışımlarında küçüktür ve genellikle ihmal edilebilir. Bununla beraber, yükseltgen olarak oksijen ve nitroz oksidin kullanıldığı alevlerin yüksek sıcaklıklarında iyonlaşma önemlidir ve dengesinin sonucu olarak, önemli miktarda serbest elektron oluşur. Burada M nötral atom ve molekülü ve M^+ onun iyonunu gösterir [21].



Yukarıdaki reaksiyon için K denge sabiti şöyledir:

$$K = \frac{[M^+] \cdot [e^-]}{[M]}$$

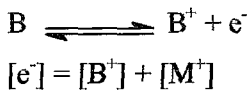
Alevde diğer elektron kaynaktan yoksa, bu eşitlik

$$K = \left(\frac{\alpha^2}{1 - \alpha} \right) \cdot p$$

şeklinde yazılır. Burada α , M 'nin iyonlaşma kesridir ve p iyonlaşmadan önce gaz halindeki çözücüde, metalin kısmi basıncıdır.

Tablo3.7, alev emisyon spektroskopide kullanılan yaklaşık koşullar altında birkaç metal için hesaplanmış iyonlaşma kesrini gösterir. Sıcaklıklar sırasıyla hava/asetilen ve oksijen/asetilen alevlerinde var olan koşullara karşılıktır.

İyonlaşmayı bir denge olarak ele alırsak (ürünlerden birisi serbest elektronlardır) alevde diğer iyonlaşabilir metallerin varlığından, bir metalin iyonlaşma derecesinin kuvvetle etkileneceğini hemen düşünmek gerekir. Yani, ortam yalnızca M türlerini içermez, B türlerini içerir ve B , eşitliğine göre iyonlaşırsa, M 'nin iyonlaşma derecesi, B 'den oluşan elektronların kütle etkisi gereği azalacaktır. Bu koşullar altında iyonlaşma derecesinin tayini, B için ayrışma sabiti ve kütle denkliği ifadesini içeren hesaplamayı gerektirir.

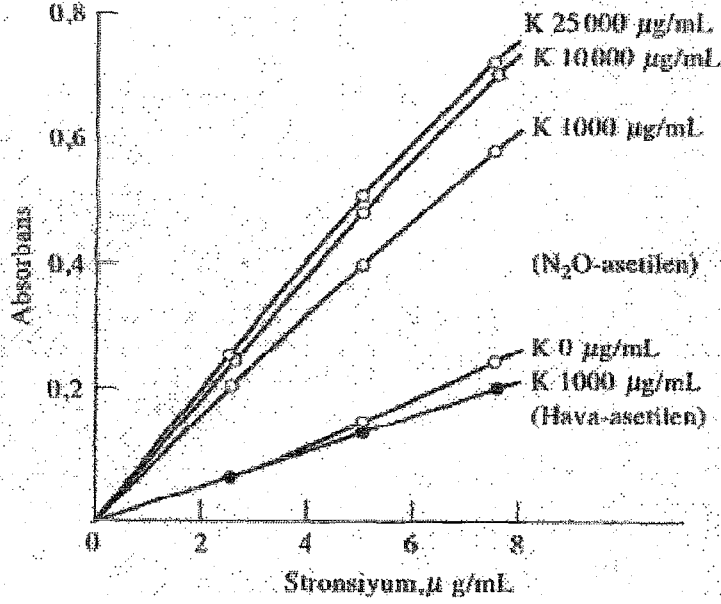


Tablo 3.7. Alev Sıcaklıklarında Metallerin Yoğunlaşma Derecesi

Element	İyonlaşma Potansiyeli, eV	Belirtilen Basınc ve Sıcaklıkta İyonlaşma Kesri			
		P=10 ⁻⁴ atm		P=10 ⁻⁶ atm	
		2000 K	3500 K	2000 K	3500 K
Cs	3,893	0,01	0,86	0,11	>0,99
Rb	4,176	0,004	0,74	0,04	>0,99
K	4,339	0,003	0,66	0,03	0,99
Na	5,138	0,0003	0,26	0,003	0,90
Li	5,390	0,0001	0,18	0,001	0,82
Ba	5,210	0,0006	0,41	0,006	0,95
Sr	5,692	0,0001	0,21	0,001	0,87
Ca	6,111	3x10 ⁻⁵	0,11	0,0003	0,67
Mg	7,644	4x10 ⁻⁷	0,01	4x10 ⁻⁶	0,09

Alevdeki atom/iyon dengesinin varlığı, alev spektroskopide önemli bir sonuçtur. Örneğin alkali metallerinin özellikle potasyum, rubidyum ve sezyum için atomik emisyon ve absorpsiyon çizgilerinin şiddeti, karmaşık bir şekilde sıcaklıktan etkilenir. Boltzman eşitliğine göre, artan sıcaklıklarda, uyarılmış atomların popülasyonunda bir artış olur. Bununla beraber, bu etkiye karşılık iyonlaşma sonucu atomların derişiminde bir azalma olur. Bu yüzden, bazı koşullar altında, daha sıcak alevlerde emisyon ve absorpsiyonda bir azalma gözlemlenir. Daha düşük uyarma sıcaklıklarının çoğu zaman, alkali metal analizlerinde uygun olmasının sebebi budur.

İyonlaşma dengesindeki kayma etkileri, alevde bağıl olarak yüksek derişimde elektron oluşturan iyonlaşma bastırıcı eklenerek sık sık giderilebilir. Bu işlem sonucu, analitin iyonlaşma kesri azalır. Bastırma etkisi, Şekil 3.21'de verilen stronsiyumun kalibrasyon eğrisinde görülebilir. Stronsiyum iyonlaşması, potasyum iyonları ve elektronların artan derişimi ile azaldığı için, bu eğrilerin eğimlerinde büyük artış olur. Yükseltgen olarak hava yerine nitroz oksit kullanımında duyarlılık artar. Nitroz oksitle ulaşılan yüksek sıcaklık, plazmadaki stronsiyum bileşiklerinin buharlaşma ve bozunma hızını artırır.



Şekil 3.21. Stronsiyumun kalibrasyon eğrisine potasyum derişiminin etkisi[24]

3.8.2. Spektral Girişimler

Oyuk katot kaynaklarının emisyon çizgilerinin çok dar olması nedeniyle, çizgilerin örtüşmesinden ileri gelen girişim az görülür. Böyle bir girişimin oluşması için iki çizgi arasında $0,1 \text{ A}^\circ$ dan daha az fark olması gerekir. Örneğin, alüminyumun $3082,15 \text{ A}^\circ$ daki absorpsiyon çizgisine dayanan bir analizde, $3082,11 \text{ A}^\circ$ daki bir vanadyum çizgisi girişim yapar. Girişim, alüminyum için bu çizgisi yericine $3092,7 \text{ A}^\circ$ daki çizgisi kullanılarak önlenir.

Spektral girişimler, ışınların saçılmasına sebep olan katı tanecikli ürünlerden veya geniş bant absorpsiyonu oluşturan yanma ürünlerinden de ileri gelir. Her ikisi de gelen ışın gücünü zayıflatır ve pozitif analitik hataya yol açar. Bu ürünlerin kaynağı yalnızca yanıcı ve yükseltgen karışımı olduğunda, düzeltmeler bir tanık çözelti alev püskürtülerek absorbans ölçümünün yapılmasıyla kolayca sağlanabilir. Bu düzeltmenin tek-ışın yollu cihazda olduğu gibi, çift-ışın yollu cihazlarda da yapılması gerekir; çünkü referans ışını alev içinden geçmez (Şekil 3.20b).

Çok daha sıkıntılı problemler, absorpsiyon ve saçılmanın kaynağı numune matriksi ise, ortaya çıkar. Bu durumda, geçen ışın gücü P , matriks bileşenleri tarafın-dan azaltılır, fakat gelen ışın gücü P_0 azaltılmaz; sonuçta absorbans, dolayısıyla derişimde pozitif hata olur. Absorpsiyondan ileri gelen potansiyel matriks girişiminin bir örneği, toprak alkalilerin karışımında baryum tayininde görülür. Atomik absorpsiyon analizinde kullanılan baryum çizgilerinin dalga boyu, Ca(OH)_2 'den kaynaklanan geniş absorpsiyon bandının merkezinde yer alır. Baryum analizinde, kalsiyumun girişim yapacağı açıktır. Bu özel problem,

Ca(OH)₂'in bozunması ve ona ait absorpsiyon bandının giderilmesi için daha yüksek bir sıcaklık, ve bunun için yükseltgen olarak hava yerine nitroz oksidin seçilmesiyle kolayca yok edilir.

Ti, Zr, W gibi, refrakter oksitler veren bazı metallerin derişik çözeltileri alıvc püskürtülünce, atomlaşma ürünleri arasında, ışınları saçabilen katı tanecikler de oluşur ve böyle hallerde de spektral girişim görülür. Katı taneciklerin boyutu, ışının dalga boyundan büyükse, bu saçılmalar olur.

Saçılmadan ileri gelen girişimler, numuncinin organik türler içerdığı veya numuncyi çözmede organik çözücüler kullanıldığında da bir problem olabilir. Burada, organik matriksin tam olmayan yanma ürünleri, ışın saçılmasına sebep olan karbonlu tanecikler bırakır.

Alıvc atomlaştırmada, matriks ürünlerinin spektral girişimleriyle, geniş ölçüde karşılaşmaz ve çoğu zaman sıcaklık ve yanıcı/yükseltgen oranı gibi analitik değişkenler ile önlenabilir. Alternatif olarak, girişimin kaynağı bilirse, girişim yapan maddenin aşırısı numune ve standartlara ilave edilebilir. Standart numuneye eklenen matriks derişiminin, numunc matriksi derişimine göre büyük olması halinde, numunc matriksinin kalkışı öncemsiz olacaktır. İlave edilen maddeye bazen ışın tamponu denir.

3.8.2.1. Çift-Çizgi Düzeltme Yöntemi

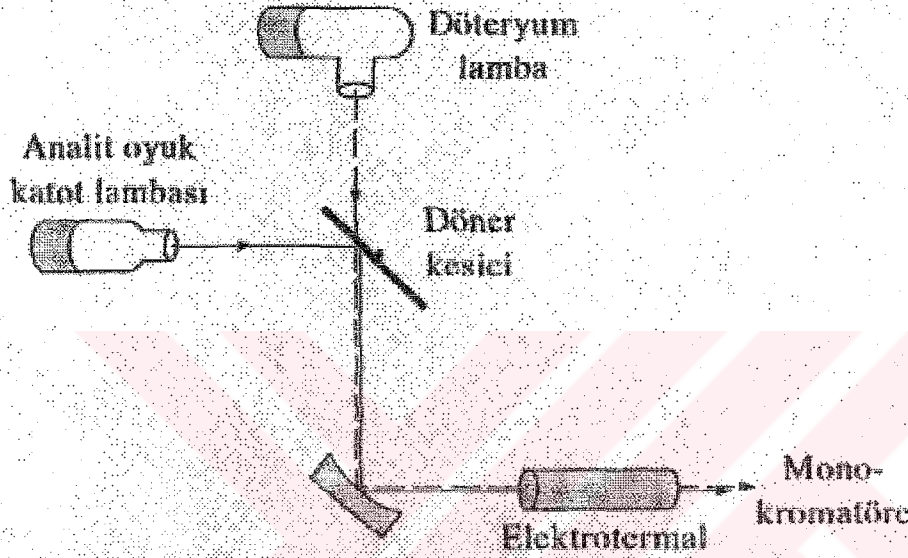
Çift-çizgi düzeltme yönteminde referans olarak, kaynaktan gelen bir çizgi kullanılır. Bu çizgi, analit çizgisine mümkün olduğu kadar yakın olmalı, fakat analit tarafından absorplanmamalıdır. Bu koşul sağlanırsa, kalibrasyon süresince gözlenen referans çizginin gücündeki herhangi bir azalmanın, numunc matriks ürünleri tarafından saçılma veya absorpsiyondan ileri geldiği düşünülür. Işın gücündeki bu azalma, analit çizgisinin absorbansını düzeltmede kullanılır.

Referans çizgisi, lambanın katodundaki bir safsızlıktan, lambadaki neon veya argon gazından gelebilir veya tayin edilmekte olan elementin rezonans çizgisi dışındaki bir emisyon çizgisi olabilir. Ne yazık ki, her analiz için böyle her zaman uygun bir referans çizgisi bulunamaz.

3.8.2.2. Sürekli Işın Kaynağı İle Düzeltme Yöntemi

Şekil 3.22, zemin düzeltmede yaygın olarak kullanılan ikinci bir yöntemi gösterir. Bu teknikte, döteryum lamba, ultraviyole bölgesindeki sürekli ışın kaynağını oluşturur. Sürekli ışın kaynağı ve oyuk katot lambasından gelen ışınlar yol üzerindeki kesicinin tasarımı

sayesinde, grafit-tüp atomlaştırıcıdan sıra ile geçerler. Döteryum ışınının absorbanı, analit ışınının absorbanından çıkarılır. Numune atomları tarafından absorplanan sürekli ışın kesri ihmal edilsin diye slit genişliği, yeterince geniş tutulur. Böylece, atomlaşmış numune içinden geçişi sırasında, sürekli ışının gücündeki azalma, yalnızca numune matriks bileşenleri tarafından saçılma veya geniş bant absorpsiyonunu yansıtır. Böylece bir zemin düzeltme yapılır.



Şekil 3.22. Sürekli kaynak zemin düzeltme sisteminin şeması

Birçok cihaz üreticisi sürekli kaynak zemin düzeltme sistemi üretip pazarlamaktadır; ancak, bu düzeneklerin performansı bazı sistemlerde eksik düzeltme ve bazılarında aşırı düzeltmeye yol açtığından ideal olmaktan uzaktır. Hata kaynaklarından birisi, sisteme lamba ve kesicinin eklenmesine ilişkin olarak sinyal/gürültü oranının bozulmasıdır. Diğer bir kaynak, sıcak gaz ortamının katı tanecik dağılımından ve kimyasal bileşimindeki yüksek heterojen dağılımından ileri gelir; bu yüzden iki lamba iyi ayarlanmadığı zaman da ya pozitif ya da negatif hataya sebep olabilen hatalı düzeltme olur. Son olarak, görünür bölgede döteryum lambanın ışın çıkışı, 350 nm'den daha büyük dalga boylarında, bu düzeltme işleminin kullanımını imkansız kılacak kadar düşüktür.

3.8.3. Fiziksel Girişim

Fiziksel girişimler, çözeltilerin viskozite, yüzey gerilimi ve özgül ağırlık gibi fiziksel özelliklerinin örnek ve referans maddede farklı olması nedeniyle ortaya çıkar. Çözeltilerin sisleşme verimi; yüzey gerilimi, viskozite ve yoğunluğa bağlıdır. Çünkü bu özellik damlacık

boyutunu tayin eder. Eğer bir çözeltinin viskozitesi fazla miktarda tuz eklenmesiyle artarsa daha az örnek emilir ve damlacıklar büyür, aleve ulaşan örnek miktarı azalır. Organik çözücülerin viskozite ve özgül ağırlığı sudan daha az olduğu için bunların püskürtülmeleri kolay olur. Daha düşük yüzey gerilimi sislesmenin daha iyi olmasını ve dolayısıyla birim zamanda daha fazla örneğin aleve ulaşmasını sağlar. Fiziksel girişimler, örnek ve standart çözeltilerin fiziksel özellikleri birbirine benzetilerek giderilebilir veya standart ekleme yöntemi uygulanarak bu problem giderilebilir [21].

3.8.4. İyonlaşma Girişimi

Özellikle sıcak alevlerde bir çok element az veya çok iyonlaşır; böylece temel düzeydeki toplam atom sayısı da azalacağından duyarlılık da azalır. İyonlaşma girişimi iki yöntemle giderilebilir. Atomlaşma daha düşük sıcaklıktaki bir alevde yapılabilir. Örneğin, alkali metalleri hava/asetilen alevinde önemli ölçüde iyonlaştıklarından daha soğuk olan hava/hidrojen alevinde iyonlaşmadan atomlaştırılabilirler. Ancak bu yöntem elementlerin çoğu için uygun değildir. Çünkü soğuk alevde atomlaşma verimi azalır ve kimyasal girişimler ortaya çıkar. İyonlaşma girişimi giderilmesi için örnek ve standart çözeltilere potasyum veya sezyum gibi kolaylıkla iyonlaşan elementler eklenebilir. Böylece iyonlaşma girişimi giderilebilir [21]

3.9. AAS'de Nicel Analiz

3.9.1. Kalibrasyon Eğrilerinin Kullanılması

Teorik olarak, atomik absorpsiyon, absorbansın doğrudan derişimle orantılı olduğu Beer's yasasına uyar. Bununla beraber, gerçekte doğrusallıktan sapma ile sık sık karşılaşılır ve doğrusal ilişkinin olup olmadığını deneysel olarak belirlemeden atomik absorpsiyon analizlerini gerçekleştirmek bir hayli zordur. Bu sebeple, periyodik olarak, numunede bulunan derişim aralığını kapsayan bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmalıdır. Ayrıca atomlaşma ve absorbans ölçümlerinde kontrol edilemeyen birçok değişken bulunduğu için, bir analiz gerçekleştirilirken, en az bir standart çözeltinin absorbansı ölçülmelidir (daha doğrusu analit derişimini kapsayan iki standart kullanılmalıdır). Orijinal eğriden standardın herhangi bir sapması analitik sonucu düzeltmede kullanılabilir.

3.9.2. Standart İlave Yönteminin Kullanılması

Standart ilave yöntemi, numune matrisi tarafından oluşturulan kimyasal girişimlerin etkisini tamamen veya kısmen gidirmek için atomik absorpsiyon spektroskopisinde yaygın olarak kullanılır. Ancak analiz edilecek örnek miktarının az olması veya analiz basamaklarındaki analitik işlemlerin uzun ve yorucu olması durumunda standart ilave yönteminin kullanılması bazen mümkün olmayabilir.

3.9.3. Atomik Absorpsiyon Spektrometri Uygulamaları ve Bazı Analitik Terimler

Atomik absorpsiyon spektrometri 60'dan fazla metal veya yarı-metalin kantitatif tayini için duyarlı bir araçtır. Metalik olmayan elementlerin rezonans çizgileri genellikle 200 nm'nin altında bulunur, bu yüzden de spektrometrinin vakumda olmaması nedeniyle onların tayini yapılamaz.

3.9.3.1. Gözlenebilme Sınırları

Tablo3.8'in ikinci ve üçüncü sütunları, alev ve elektrotermal atomik absorpsiyonla tayin edilen elementlerin bir çoğu için gözlenebilme sınırları hakkında bilgi oluşturur. Karşılaştırma amacıyla diğer atomik yöntemlerin çoğu için de gözlenebilme sınırları verilmiştir. Belirtilen değerler arasındaki küçük farklar önemli değildir. Şöyle ki, büyüklüğün mertebesi 2-3 katı aşarsa önemli olur.

Birçok element için, alev atomlaştırılmalı atomik absorpsiyon spektrometrinin gözlenebilme sınırları 1-20 ng/ml (0,001-0,020 ppm) aralığında bulunur; elektrotermal atomlaşmada, ilgili rakamlar 0,002-0,01 ng/ml (2×10^{-6} - 1×10^{-5} ppm)'dir. Bazen bu aralığın dışında da gözlenebilme sınırlarına rastlanır.

Tablo 3.8. Bazı Elementlerin Gözlenebilir Sınırları (ng/ml)

Element	AAS	AAS	AES	AES	AFS
	Alev	Elektrotermal	Alev	ICP	Alev
Al	30	0,005	5	2	5
As	100	0,02	0,0005	40	100
Ca	1	0,02	0,1	0,2	0,001
Cd	1	0,0001	800	2	0,01
Cr	3	0,01	4	0,3	4
Cu	2	0,002	10	0,1	1
Fe	5	0,005	30	0,3	8
Hg	500	0,1	0,0004	1	20
Mg	0.1	0,00002	5	0,05	1
Mn	2	0,0002	5	0,06	2
Mo	30	0,005	100	0,2	60
Na	2	0,0002	0,1	0,2	-
Ni	5	0,02	20	0,4	3
Pb	10	0,002	100	2	10
Sn	20	0,1	300	30	50
V	20	0,1	10	0,2	70
Zn	2	0,00005	0,0005	2	0,02

3.9.3.2. Doğruluk

Ölçümlerin gerçek veya kabul edilen değere yakınlığını belirtir. Doğruluk ve kesinlik arasında farklılıklar vardır. Doğruluk bir sonuç ile gerçek değer arasındaki yakınlığı ölçer. Kesinlik ise aynı yolla ölçülen bir çok sonuç arasındaki yakınlığı açıklar. Kesinlik, bir ölçmenin basit olarak tekrarlanmasıyla tayin edilir. Diğer taraftan, bir büyüklüğün gerçek değeri hiçbir zaman tam olarak bilinmediğinden, doğruluk tam olarak tayin edilemez. Doğru değer yerine doğru kabul edilen değer kullanılmalıdır. Doğruluk, mutlak yada bağıl hata terimleriyle ifade edilir.

Mutlak hata: Bir X_i büyüklüğünün ölçümündeki mutlak hata $E=X_i - X_t$ eşitliği ile verilir. Buradaki X_t , söz konusu büyüklüğün gerçek değer kabul edilen değeridir.

Bağıl hata: Genellikle mutlak hatadan daha faydalı bir büyüklüktür. Yüzde bağıl hata şu eşitlikle ifade edilir.

$$E = \frac{(X_i - X_t)}{X_t} \cdot 100$$

3.9.3.3. Kesinlik

Ölçümlerin tekrarlanabilirliğini, yani tamamen aynı yolla elde edilen sonuçların yakınlığını gösterir. Genellikle standart sapma ile verilir.

3.9.3.4. Standart Sapma

Çok sayıda verinin kesinliğinin bir ölçüsü olan standart sapma şu eşitlikle verilir.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \mu)^2}{N-1}}$$

3.9.3.5. Ortalama Değerin Güvenilirliği

Genel olarak laboratuvar koşullarında sonuçlar az sayıda analiz yapılarak değerlendirilir. Bu durumda elde edilen ortalama değer gerçek değerden farklı olabilir. Verilen sonuç değerinin hangi güvenilirlik seviyesinde ve verilen hata sınırları içerisinde kabul edilebilirliğinin belirtilmesi gerekir. Güvenilirlik sınırları % kaç olasılıkla, verilen ortalama değerinin belirtilen standart sapma değerleri arasında olduğunu gösterir. Genelde kullanılan güvenilirlik seviyesi %95'dir. Ve buna karşı gelen hata sınırları $\pm 1,96 S$ 'dir.

3.9.3.6. Duyarlılık

Derişim (C)'ye karşı, sinyal (I) değişiminin eğimi DC/DI değeri duyarlılık olarak tanımlanır. AAS için duyarlılık 1/Eğim olarak alınır ve genelde 0,0044 Absorbans veren derişim duyarlılık olarak tanımlanır.

3.9.3.7. Tayin Sınırı ve Dinamik Aralık

Gözlenebilme sınırı 3S ile verilirse dahi çok düşük olduğundan gerçek tayinler için sınır standart sapma değerinin eşdeğer derişimin bazen 5 veya 10 katı olarak alınır ki, bu değer tayin sınırı olarak tanımlanır. Sinyalin derişimle doğrusal olarak değiştiiği aralığa dinamik

aralık denir. Gencl olarak sinyal-derişim eğrisi yüksek derişimlerde doğrusallıktan sapar ve eğim azalır. Pek çok yöntem için dinamik aralık tayin sınırı ile bükülmenin başladığı nokta olarak kabul edilir.

3.9.3.8. Sinyal/Gürültü Oranı

Yapılan ölçümlerin tekrarlanabilirliği sinyal/gürültü olarak (S/N) oranının yüksek olmasına bağlıdır. S/N oranı azalırsa % Bağıl Standart Sapma artar ve tekrarlanabilirlik azalır. S/N oranı cihazın özelliklerine, kullanım ömrüne ve örneklemedeki başarıya bağlıdır.



4.DENEYSEL ÇALIŞMALAR

4.1. Ölçümlerde Kullanılan Düzenekler

Metal analizleri için ATI UNICAM 929 Model atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS) kullanıldı. Örneklerin çözünürleştirilmesi için Kenwood firmasına ait MW 311 mikrodalga fırın kullanıldı. Organik maddeler Hewlett Packard (HP-Agilent 5973 N model GC-MS ile 6890 GC model) GC-MS ile analiz edildi. Bu amaçla DB-5 MS kolonu (30m*0,25mm iç çap ve 0,25µm'lik film kalınlığında), Helyum taşıyıcı gaz ile birlikte kullanıldı. Enjektör sıcaklığı 250°C ve akış hızı 1ml/dk olacak şekilde ayarlandı. GC fırın sıcaklığı 2 dk süreyle 70 °C'de tutuldu ve 10 °C/dk'lık hızda 150 °C'ye programlandı. Sonra 15 dk süreyle 150 °C'de sabit tutuldu ve 5 °C/dk'lık bir hızla 240 °C'ye ayarlandı.

Analiz edilen metallerin alevli AAS ile ilgili parametreleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Kullanılan diğer yardımcı gereçler şunlardır.

- a. Su banyosu
- b. Vorteks
- c. Santrifüj
- c. Elektronik Terazi
- d. Etüv
- e. Değişik büyüklükte pipet, beher, erlen, mezür, balon joje, geri soğutucu, balon, ayırma hunisi, v.s. cam malzeme.
- f. Mikrodalga fırın
- g. GC-MS için teflon kapaklı 3 cc'lik vial tüp
- h. Manyetik ısıtıcılı karıştırıcı
- i. Süzgeç kağıdı
- j. Teflon bomba

4.2. Standart Çözeltilerin ve Reaktiflerin Hazırlanması

Metallerin stok çözeltileri: Metallerin nitrat tuzlarının uygun miktarı 1M HNO₃' de çözülüp litreye tamamlanarak 1000 mg/L lik metal çözeltileri hazırlandı.

Tablo 4.1. Metaller için Alevli AAS ile ilgili parametreler

	<u>Cu</u>	<u>Zn</u>	<u>Fe</u>	<u>Mn</u>	<u>Mg</u>	<u>Ca</u>
Analiz Hattı(nm)	324.8	213.9	248.3	279,5	285.2	422.7
Oyuk Katot Lambası Akımı(mA)	3.0	7.5	15	11,5	15	6
Kullanılan Alev	hava/as.	hava/as.	hava/as.	Hava/as.	hava/as.	N ₂ O/as.
Yarık Genişliği(nm)	0.5	0.5	0.2	0,2	0.5	0.5

4.3. Bitki Örneklerin Çözünürleştirilmesi

En uygun çözme tekniğini belirlemek için bitki örnekleri farklı çözme metotlarıyla çözünürleştirilmiştir.

4.3.1. Kuru Çözme

0,3-0,5 gr'lik kuru ısırgan otu yaprağı ve kuşburnu meyvesi etli kısımları 50 ml'lik beherlere konulup bek alevinde yakıldıktan sonra 480 °C deki fırında 2, 3, 4, 6, 8, 10 ve 15 saat süreleriyle kül edildi. Kül örneklerine derişik HNO₃ /H₂O₂'nin 1/1'lik karışımında 1,5 ml eklenerek kuruluğa kadar ısıtıldı. Kalıntıya 1 M HNO₃'ten 2 ml eklenerek santrifüjlendi. Berrak çözeltinin metal absorbanları AAS cihazı ile ölçüldü.

4.3.2. Mikrodalga Fırında Çözme

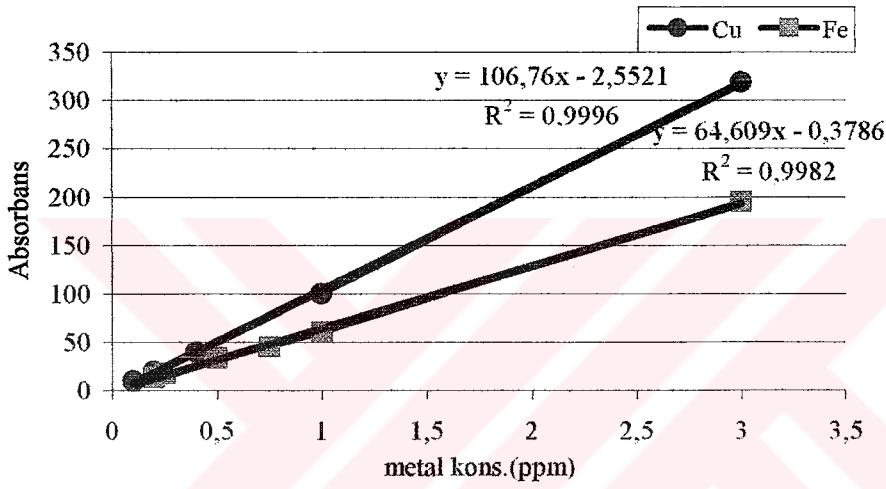
0,3-0,5 gr kuru bitki örneklerine yukarıda adı geçen derişik asit karışımlarından 2/1 ve 1/1 oranlarında 2.0-2.5 ml eklenerek su banyosunda 70°C'de 30 dk süreyle ara sıra karıştırılarak bekletildi. Buharlaşmayla hacmi azalan örneğe 1.0-1.5 ml daha aynı çözücü karışımından eklenerek teflon bombaya konup mikrodalga fırında 270 watt, 360 watt ve 450 watt uygulanarak 3+3 dk süreyle ışınladı. 2 dk'lık beklemeden sonra 1 M HNO₃ ile 2.0 ml ye seyreltilerek santrifüjlendi. Berrak kısmın absorban değeri AAS de okundu.

Aynı yöntemle kör analizler de yapıp örnekler için okunan absorbanlardan çıkarıldı.

4.4. Kalibrasyon Grafiklerinin Elde Edilmesi

4.4.1. Cu ve Fe Kalibrasyon Grafiği

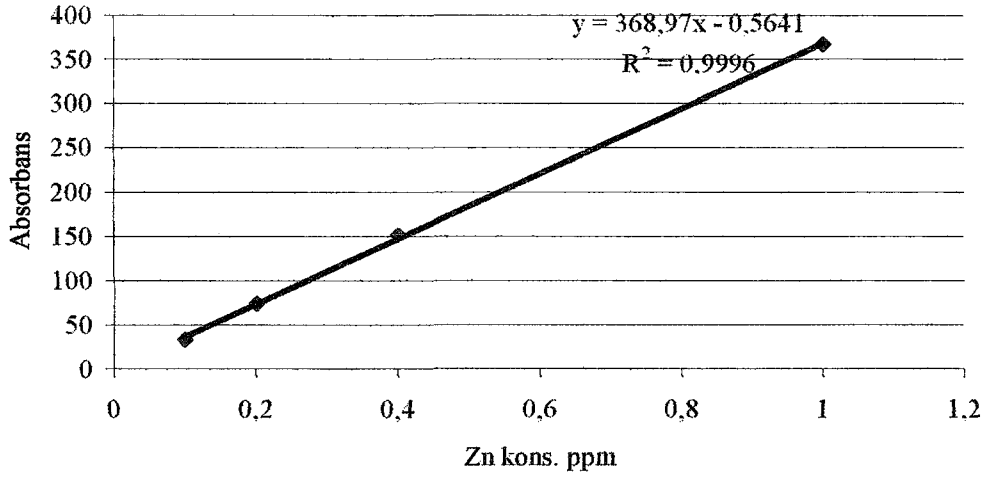
Cu stok çözeltilisinden hazırlanan 0.1, 0.2, 0.4, 1, 1,5 ve 3 ppm'lik Cu çözeltilerinin ve Fe stok çözeltilisinden hazırlanan 0.2, 0.25, 0.5, 0.75, 1 ve 3 ppm'lik Fe çözeltilerinin Alevli AAS'de absorbsansları okunarak Şekil 4.1 elde edilmiştir.



Şekil 4.1. AAS ile elde edilen Cu ve Fe Kalibrasyon grafiği

4.4.2. Zn Kalibrasyon Grafiği

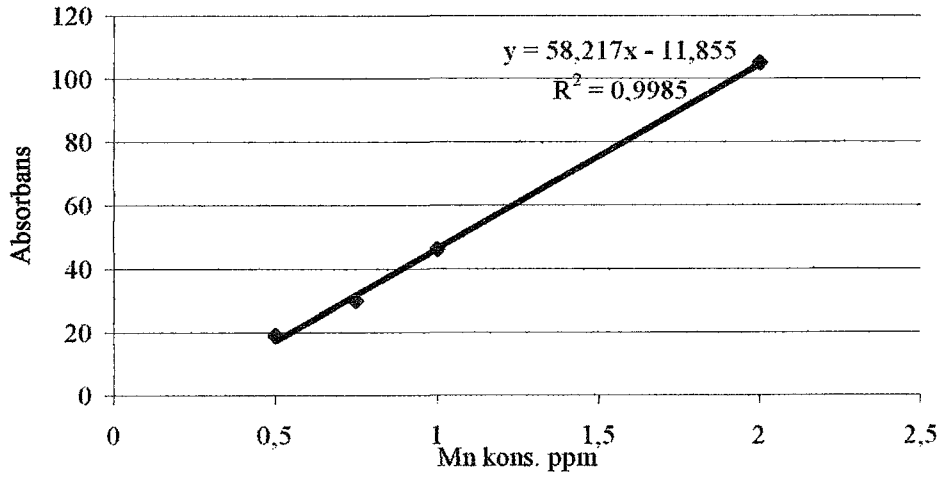
Zn stok çözeltilisinden hazırlanan 0.1, 0.2, 0.4 ve 1 ppm'lik Zn çözeltilerinin Alevli AAS'de absorbsansları okunarak Şekil 4.2 elde edilmiştir.



Şekil 4.2. AAS ile elde edilen Zn Kalibrasyon grafiği

4.4.3. Mn Kalibrasyon Grafiği

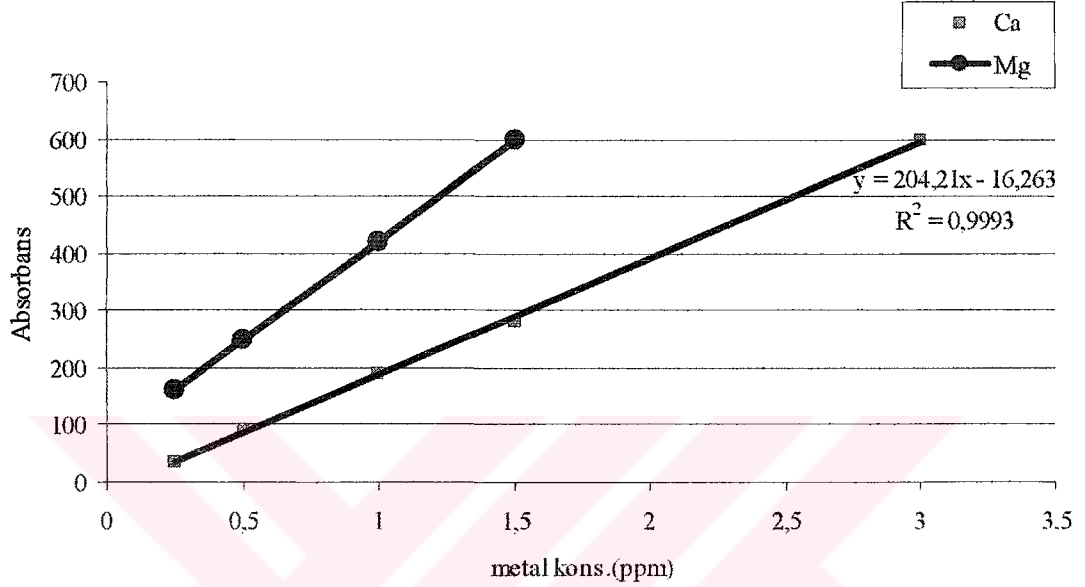
Mn stok çözeltisinden hazırlanan 0,5, 0,75, 1 ve 2 ppm'lik Mn çözeltilerinin Alevli AAS'de absorbansları okunarak Şekil 4.3 elde edilmiştir.



Şekil 4.3. AAS ile elde edilen Mn Kalibrasyon grafiği

4.4.4. Ca ve Mg Kalibrasyon Grafiği

Ca stok çözeltilisinden hazırlanan 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3 ve 4; Mg stok çözeltilisinden hazırlanan 0.25, 0.5, 1 ve 1.5 ppm'lik Ca ve Mg çözeltilerinin Alevli AAS'de absorpsanları okunarak Şekil 4.4 elde edilmiştir.



Şekil 4.4. AAS ile elde edilen Ca ve Mg Kalibrasyon grafiği

4.5. Kuru Bitkilerin Metal Analizi

4.5.1. Kuru Çözme

0,3 gr ısırgan otu yaprağı ve 0,5 gr kuşburnu meyvesinin etli kısım örnekleri 50 ml'lik beherlere konulup bek alevinde yakıldıktan sonra 480 °C deki fırında 2, 3, 4, 6, 8, 10 ve 15 saat süreleriyle kül edildi. Kül örneklerine derişik HNO₃ /H₂O₂'nin 1/1'lik karışımında 1,5 ml eklenerek kuruluğa kadar ısıtıldı. Kalıntıya 1 M HNO₃'ten 2 ml eklenerek santrifüjlendi. Böylece elde edilen berrak çözeltiler için gerekli seyreltmeler yapıp metal (Zn, Fe ve Mn için 10 kez, Mg ve Ca için 2500 kez) absorpsan değerleri AAS cihazı ile ölçüldü.

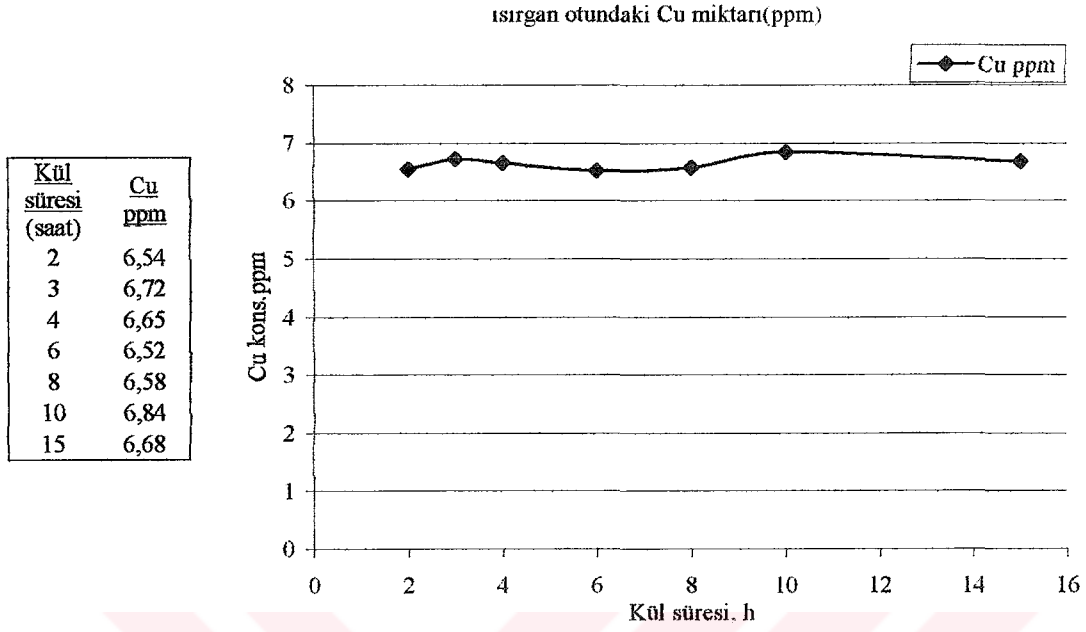
Tablo 4.2.: Isırgan otundaki kuru çözme ile elde edilen metal konsantrasyonları (kuru esasa göre)

<u>480 °C</u> <u>deki küll</u> <u>süresi</u> <u>(saat)</u>	<u>Metal ppm (mg/kg)</u>					
	<u>Cu</u>	<u>Fe</u>	<u>Zn</u>	<u>Mn</u>	<u>Ca</u>	<u>Mg</u>
2	6,54±0,09	148,4±4,7	22,1±1,8	45,15±0,60	50160,7±3345,8	6939,1±599,9
3	6,72±0,02	158,5±15,4	23,3±2,3	43,56±3,87	54771,9±1135,8	8093,4±632,3
4	6,65±0,24	170,6±2,1	22,7±1,6	43,28±2,14	52470,7±3335,8	8518,2±684,6
6	6,52±0,13	166,0±2,1	23,3±0,4	41,25±4,02	51462,2±2517,5	8816,5±239,4
8	6,58±0,05	158,9±11,9	22,5±1,2	42,73±1,89	45747,3±3034,1	8325,2±259,3
10	6,84±0,18	176,5±10,1	21,8±1,9	43,84±3,88	45133,1±3270,7	7352,5±619,0
15	6,68±0,25	172,1±5,4	21,7±2,1	44,39±1,92	43113,8±3516,8	7253,3±702,5

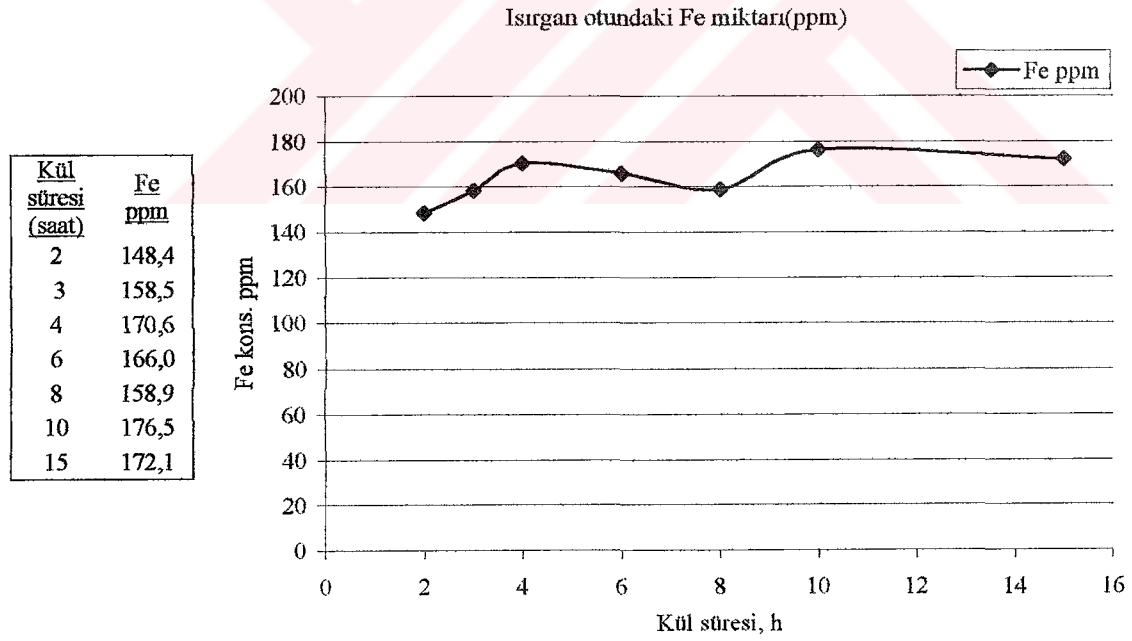
Tablo 4.3.: Kuş burnu bitkisinden kuru çözme ile elde edilen metal konsantrasyonları (kuru esasa göre)

<u>480 °C</u> <u>deki kül</u> <u>süresi</u> <u>(saat)</u>	<u>metal ppm (mg/kg)</u>					
	<u>Cu</u>	<u>Fe</u>	<u>Zn</u>	<u>Mn</u>	<u>Mg</u>	<u>Ca</u>
2	2,55±0,17	7,17±0,45	6,26±0,22	36,58±1,23	1356,0±98,5	8362,7±235,2
3	2,65±0,22	7,25±0,65	6,34±0,37	35,61±1,85	1489,0±35,7	10506,6±920,5
4	2,79±0,05	7,26±0,37	6,65±0,02	37,65±2,23	1530,5±110,8	11656,0±1005,3
6	2,75±0,00	7,17±0,28	6,75±0,37	38,92±1,01	1490,0±74,8	10989,5±284,4
8	2,85±0,22	7,40±0,55	6,70±0,12	39,38±0,32	1543,2±146,2	10658,2±741,8
10	2,90±0,02	7,41±0,30	6,67±0,18	40,99±2,90	1534,1±45,60	9809,2±865,2
15	2,88±0,15	7,42±0,55	6,65±0,23	41,52±0,66	1532,7±152,3	9344,8±231,9

Bu verilerin ayrı ayrı grafikleri şöyle bulunmuştur;

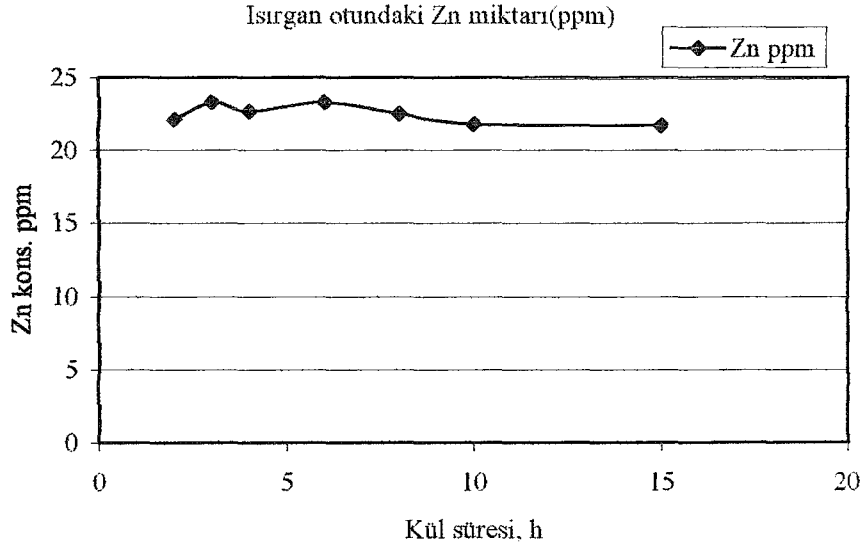


Şekil 4.5.: Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi , Cu konsantrasyonları grafiği



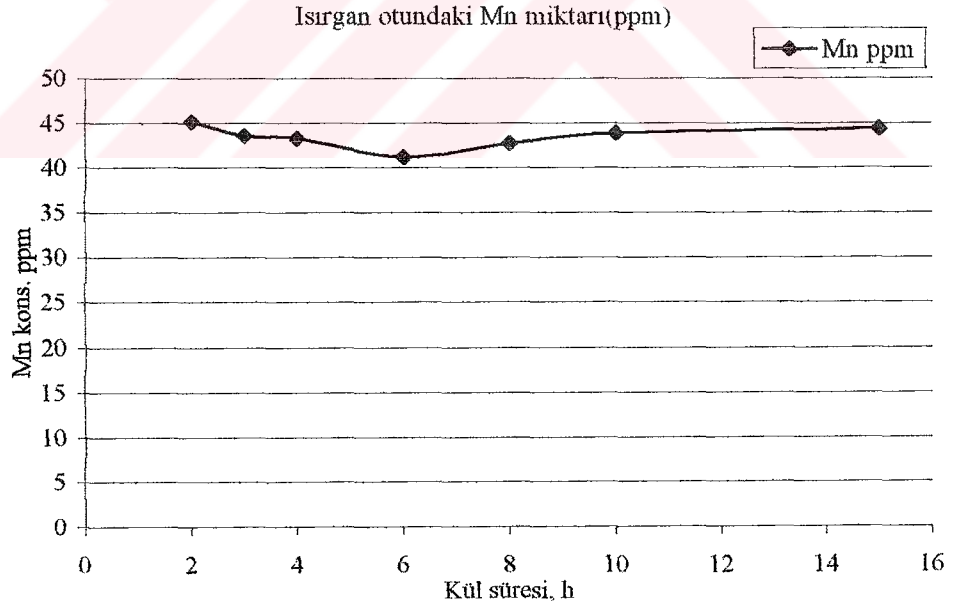
Şekil 4.6.: Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Fe konsantrasyonları grafiği

Kül süresi (saat)	Zn ppm
2	22,1
3	23,3
4	22,7
6	23,3
8	22,5
10	21,8
15	21,7



Şekil 4.7.: Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Zn konsantrasyonları grafiği

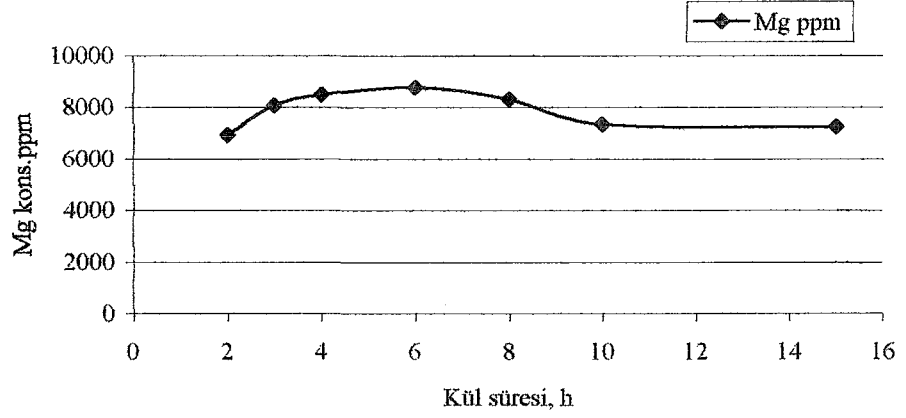
Kül süresi (saat)	Mn ppm
2	45,15
3	43,56
4	43,28
6	41,25
8	42,73
10	43,84
15	44,39



Şekil 4.8.: Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Mn konsantrasyonları grafiği

Isırgan otundaki Mg miktarı (ppm)

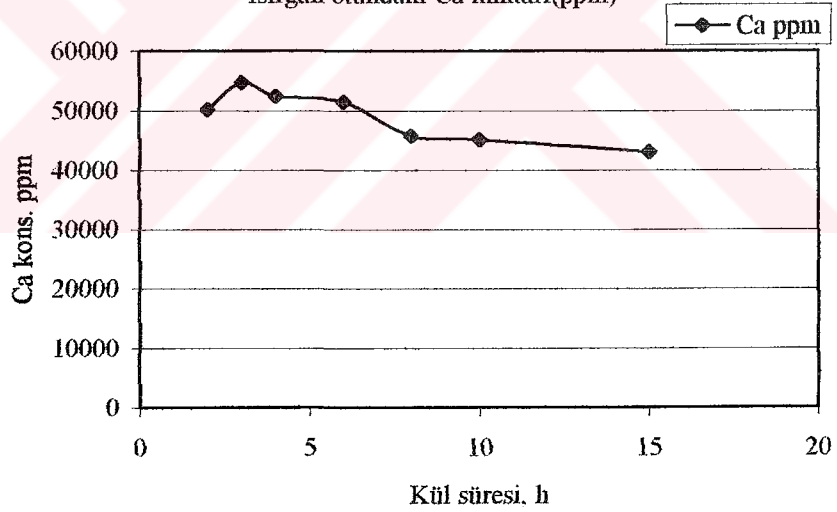
Kül süresi (saat)	Mg ppm
2	6939,1
3	8093,4
4	8518,2
6	8816,5
8	8325,2
10	7352,5
15	7253,3



Şekil 4.9: Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Mg konsantrasyonları grafiği

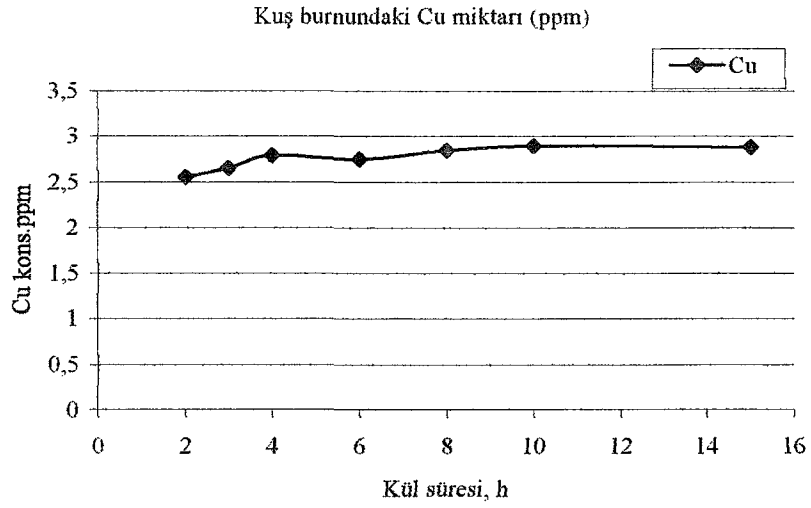
Isırgan otundaki Ca miktarı (ppm)

Kül süresi (saat)	Ca ppm
2	50167
3	54771,9
4	52470,7
6	51462,2
8	45747,3
10	45133,1
15	43113,8



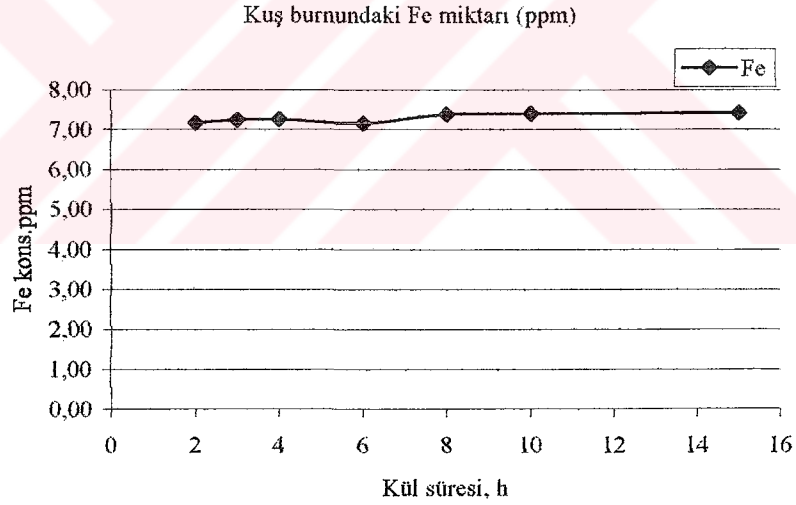
Şekil 4.10.: Isırgan otunun kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Ca konsantrasyonları grafiği

<u>Kül süresi (saat)</u>	<u>Cu ppm</u>
2	2,55
3	2,65
4	2,79
6	2,75
8	2,85
10	2,9
15	2,88



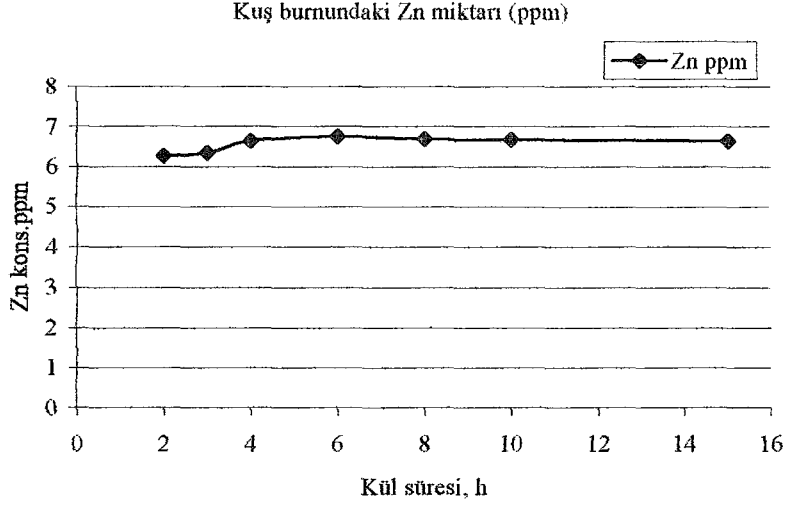
Şekil 4.11.: Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Cu konsantrasyonları grafiği

<u>Kül süresi (saat)</u>	<u>Fe ppm</u>
2	7,17
3	7,25
4	7,26
6	7,17
8	7,40
10	7,41
15	7,42



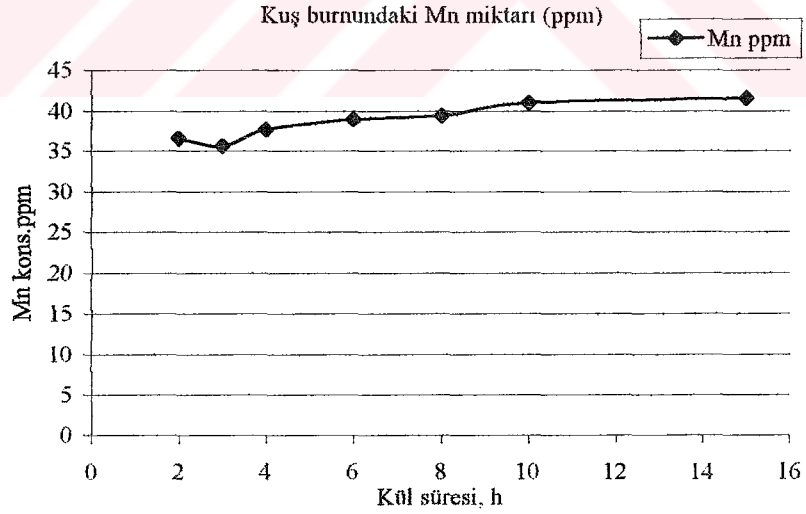
Şekil 4.12.: Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Fe konsantrasyonları grafiği

Kül süresi (saat)	Zn ppm
2	6,26
3	6,34
4	6,65
6	6,75
8	6,70
10	6,67
15	6,65



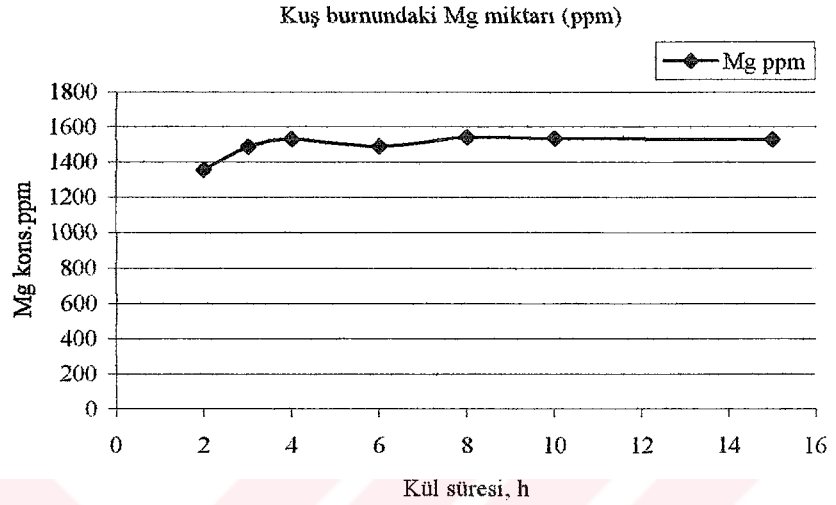
Şekil 4.13.: Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Zn konsantrasyonları grafiği

Kül süresi (saat)	Mn ppm
2	36,58
3	35,61
4	37,65
6	38,92
8	39,38
10	40,99
15	41,52



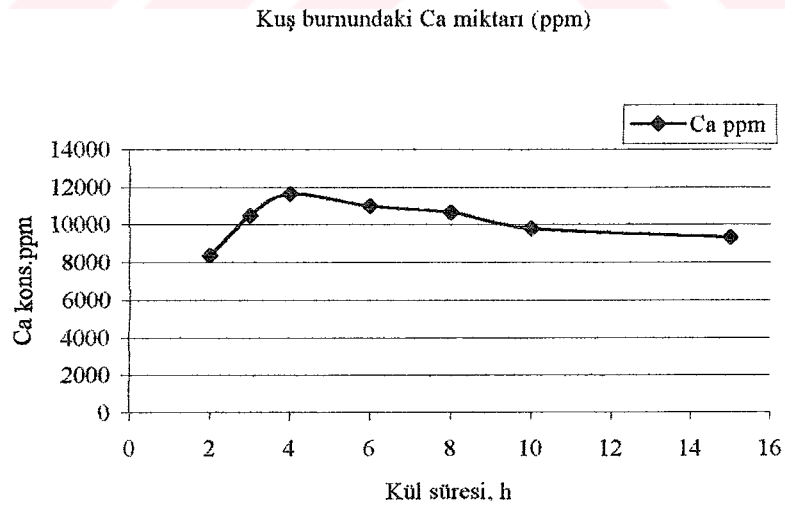
Şekil 4.14.: Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Mn konsantrasyonları grafiği

<u>Kül</u> <u>süresi</u> <u>(saat)</u>	<u>Mg ppm</u>
2	1356,0
3	1489,0
4	1530,5
6	1490,0
8	1543,2
10	1534,1
15	1532,7



Şekil 4.15.: Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Mg konsantrasyonları grafiği

<u>Kül</u> <u>süresi</u> <u>(saat)</u>	<u>Ca ppm</u>
2	8362,7
3	10506,6
4	11656,0
6	10989,5
8	10658,2
10	9809,2
15	9344,8



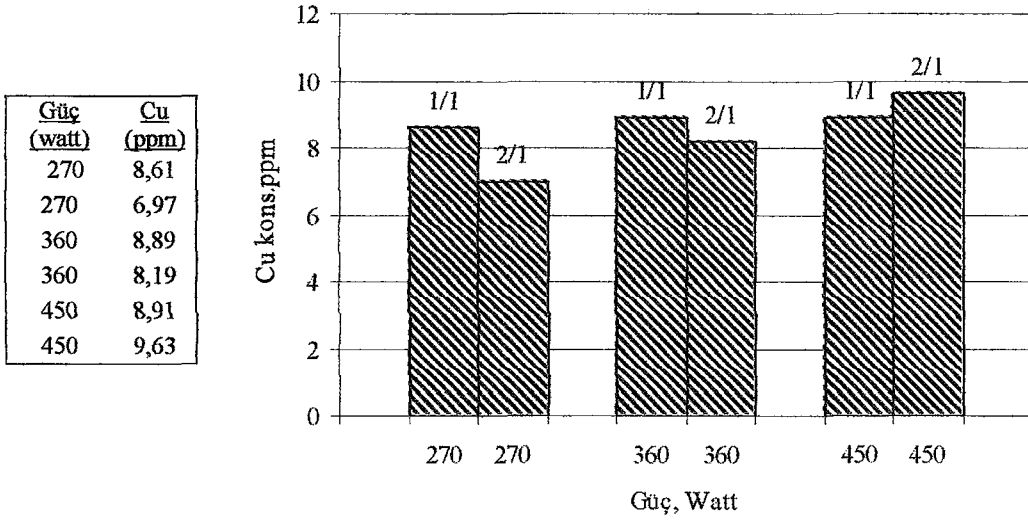
Şekil 4.16.: Kuş burnu bitkisinin kuru çözme ile çözünürleştirilmesi üzerine kül etme süresinin etkisi, Ca konsantrasyonları grafiği

4.5.2. Mikrodalga ile çözme: 0.3-0.5 gr'lık bitki örneklerine 3-4 ml HNO₃/H₂O₂ eklenerek (0.3gr'lık ısırgan otu için 4 ml, 0,5 gr'lık kuşburnu için 3 ml asit karışımı harcandı) su banyosunda 30 dk süreyle ara sıra karıştırılarak bekletildi. Buharlaştırma ile hacmi azalan örneğe 1ml HNO₃ / H₂O₂'nin 1/1'lik ve 2/1'lik çözücü karışımından eklenerek teflon bombaya konuldu. Mikro dalga fırında 270 watt, 360watt ve 450 watt uygulanarak 3+3 dk süreyle ışınladı. Fırından çıkarılan örneğe 2 dk'lık beklemeden sonra 1 M HNO₃ ile 2ml'ye seyreltilerek santrifüjlendi. Böylece elde edilen berrak çözeltide gerekli seyreltmeler yapıp (Zn, Fe ve Mn için 10 kez, Mg ve Ca için 2500 kez) absorbans değerleri AAS'de okundu. Şekil 4.3-4.6'daki grafikler yardımıyla absorbans değerleri konsantrasyonlara dönüştürülüp bulunan sonuçlar Tablo 4.4'de ve Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo4.4.: Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlar altında çözünürleştirilmesiyle elde edilen metal miktarları ppm (mg/kg)

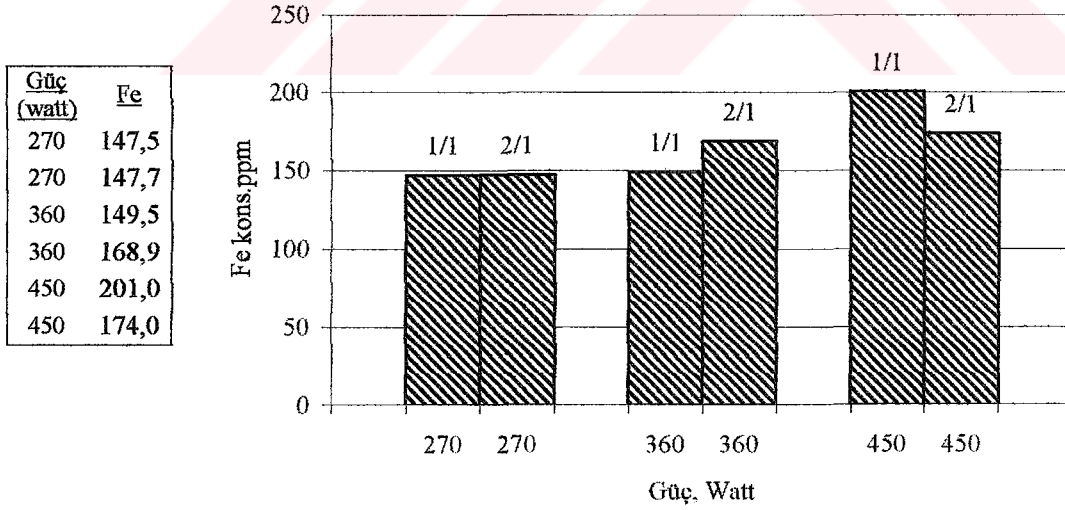
Örnek	Güç Watt	HNO ₃ /H ₂ O ₂ asit karışımı	Cu ppm	Fe ppm	Zn ppm	Mn ppm	Mg ppm	Ca ppm
Isırgan otu	270	1/1 oranı	8,61	147,5	21,5	35,98	5745	44386,5
	270	2/1 oranı	6,97	147,7	20,2	37,57	5490,1	36790,6
	360	1/1 oranı	8,89	149,5	29,0	37,33	5494,9	39273,2
	360	2/1 oranı	8,19	168,9	27,7	39,96	5964,7	28831,8
	450	1/1 oranı	8,91	201,0	33,5	43,51	8265,4	56135,5
	450	2/1 oranı	9,63	174,0	25,6	37,57	6160,1	35388,1

1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması



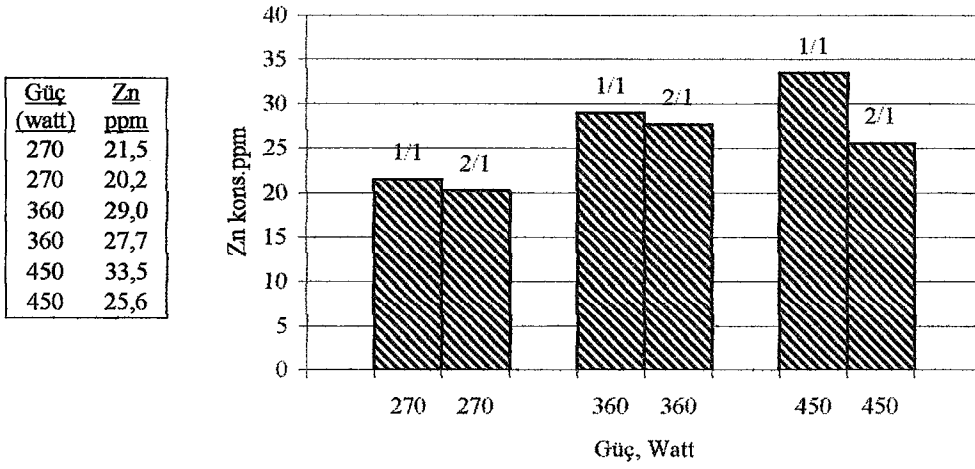
Şekil4.17.:Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Cu konsantrasyonu ppm (mg/kg)

1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması



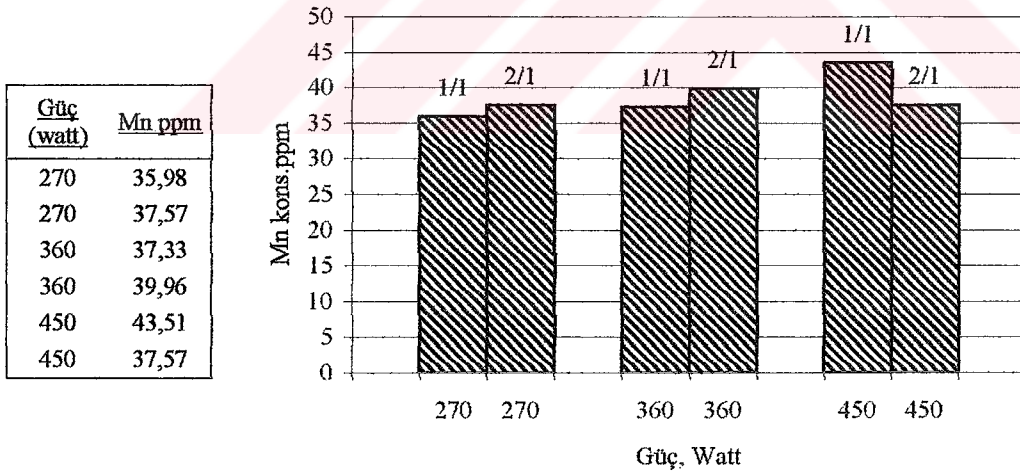
Şekil4.18.:Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Fe konsantrasyonu ppm (mg/kg)

1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması



Şekil4.19.:Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Zn konsantrasyonu ppm(mg/kg)

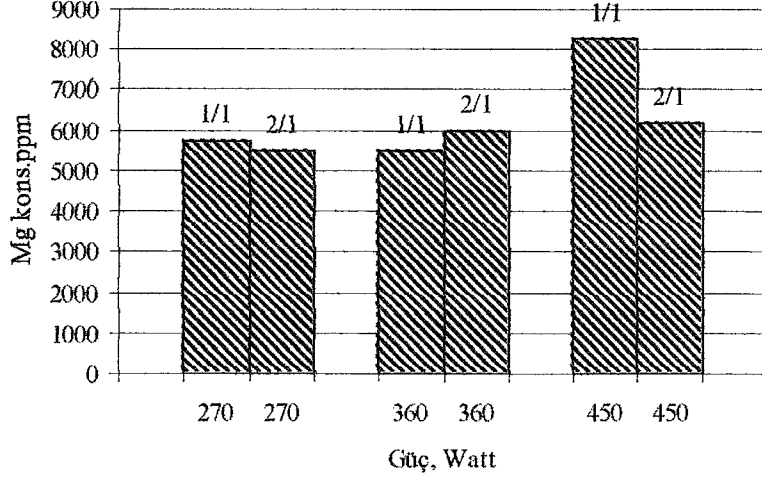
1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması



Şekil4.20.:Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Mn konsantrasyonu ppm(mg/kg)

1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması

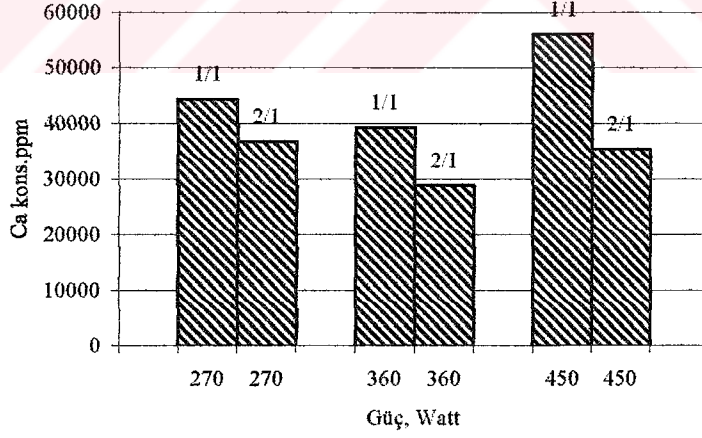
Güç (watt)	Mg ppm
270	5745,0
270	5490,1
360	5494,9
360	5964,7
450	8265,4
450	6160,1



Şekil4.21.: Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Mg konsantrasyonu ppm (mg/kg)

1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması

Güç (watt)	Ca ppm
270	44386,5
270	36790,6
360	39273,2
360	28831,8
450	56135,5
450	35388,1



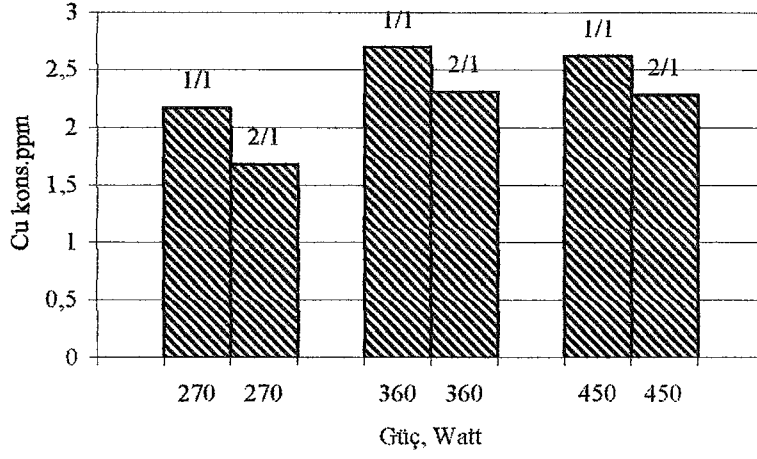
Şekil4.22.: Isırgan otu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Ca konsantrasyonu ppm (mg/kg)

Tablo 4.5.: Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlar altında çözünürleştirilmesiyle elde edilen metal miktarları ppm (mg/kg)

<u>Örnek</u>	<u>Güç Watt</u>	<u>HNO₃/H₂O₂ asit karışımı</u>	<u>Cu ppm</u>	<u>Fe ppm</u>	<u>Zn ppm</u>	<u>Mn ppm</u>	<u>Mg ppm</u>	<u>Ca ppm</u>
Kuşburnu	270	1/1 oranı	2,17	6,44	5,00	40,9	1790,5	10589,2
	270	2/1 oranı	1,68	6,33	3,17	36,4	1583,2	6898,7
	360	1/1 oranı	2,70	8,34	4,04	42,3	1801,0	11665,0
	360	2/1 oranı	2,31	6,79	3,24	38,1	1653,0	7161,0
	450	1/1 oranı	2,62	8,43	4,69	45,8	1865,0	12426,1
	450	2/1 oranı	2,28	8,45	4,67	41,6	1675,9	8354,3

1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması

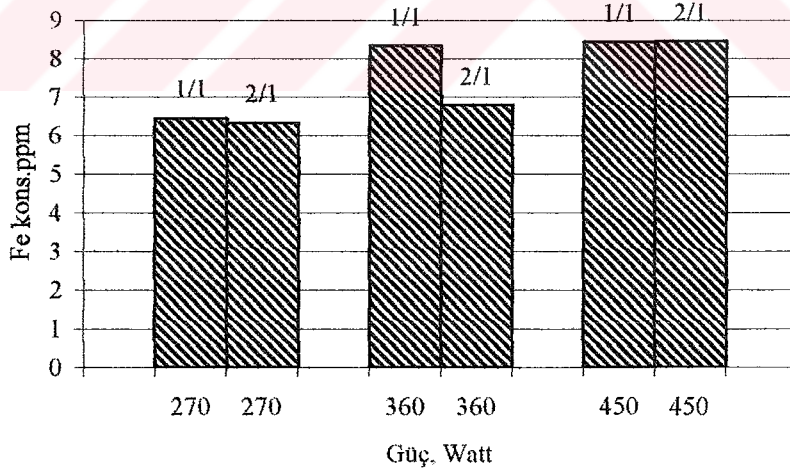
Güç (watt)	Cu ppm
270	2,17
270	1,68
360	2,70
360	2,31
450	2,62
450	2,28



Şekil4.23.: Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Cu konsantrasyonu ppm (mg/kg)

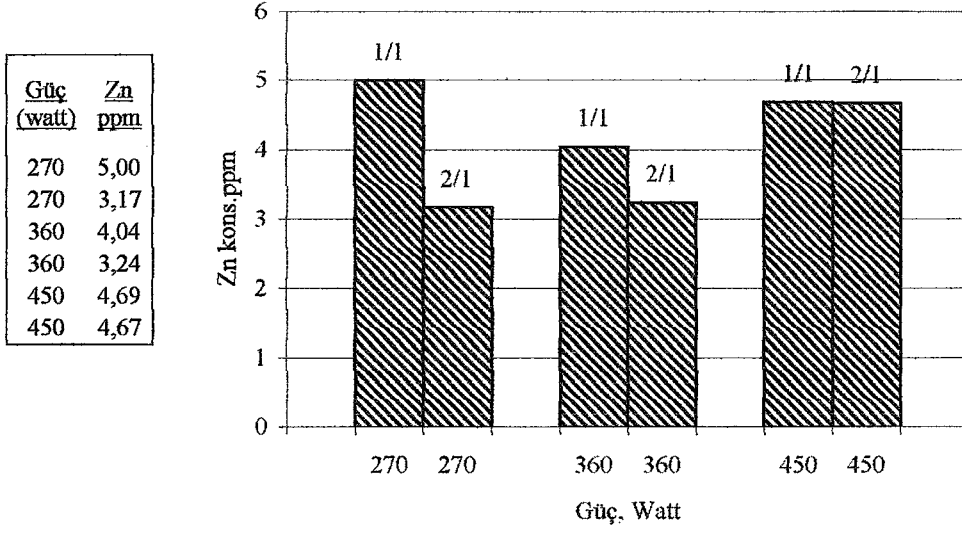
1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması

Güç (watt)	Fe ppm
270	6,44
270	6,33
360	8,34
360	6,79
450	8,43
450	8,45



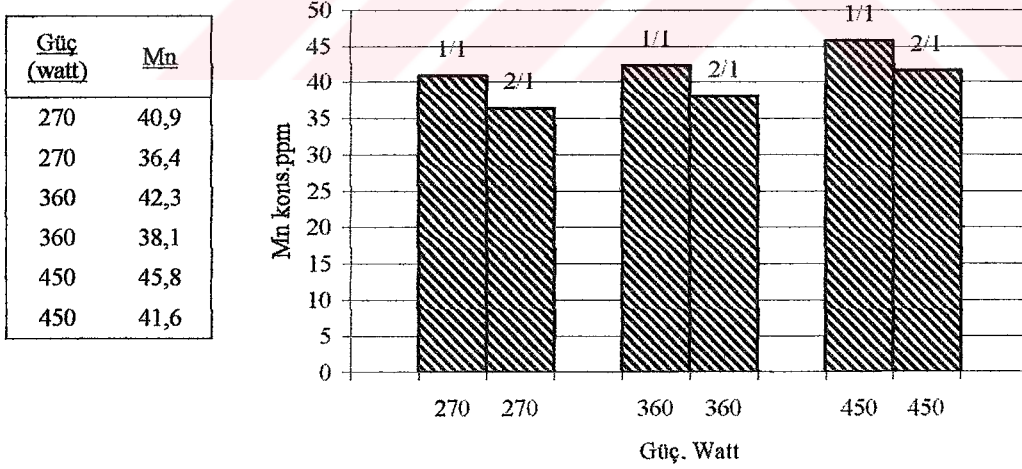
Şekil4.24.: Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Fe konsantrasyonu ppm (mg/kg)

1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması



Şekil4.25.: Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Zn konsantrasyonu ppm (mg/kg)

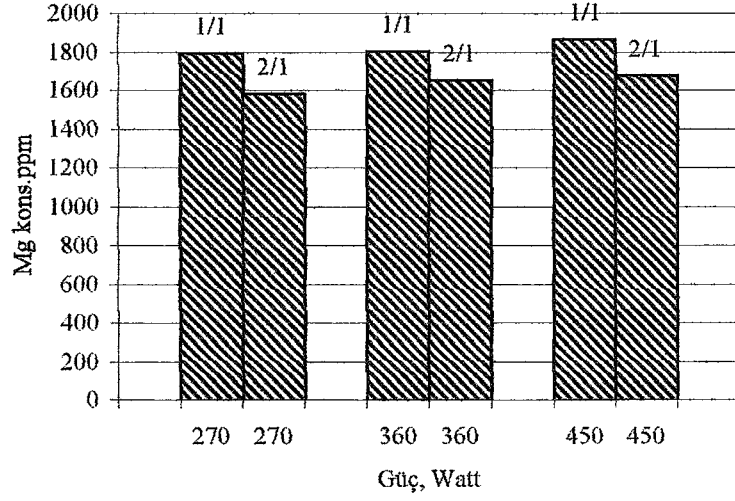
1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması



Şekil4.26.: Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Mn konsantrasyonu ppm (mg/kg)

1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması

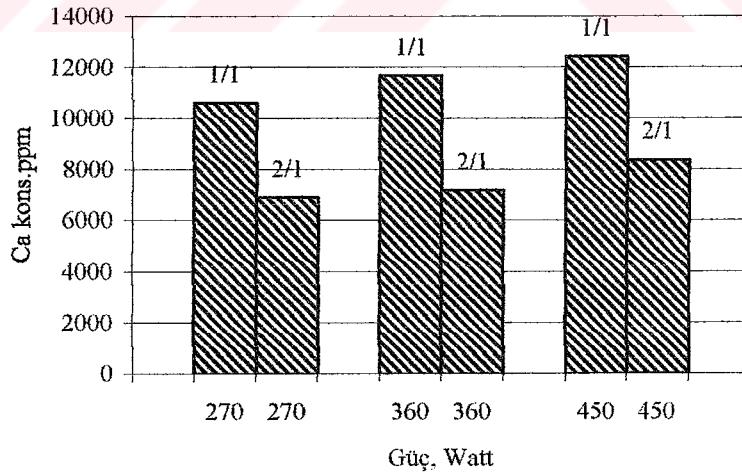
Güç (watt)	Mg
270	1790,5
270	1583,2
360	1801,0
360	1653,0
450	1865,0
450	1675,9



Şekil4.27.: Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Mg konsantrasyonu ppm (mg/kg)

1/1 ve 2/1'lik asit karışımı karşılaştırılması

Güç (watt)	Ca
270	10589,2
270	6898,7
360	11665,0
360	7161,0
450	12426,1
360	8354,3



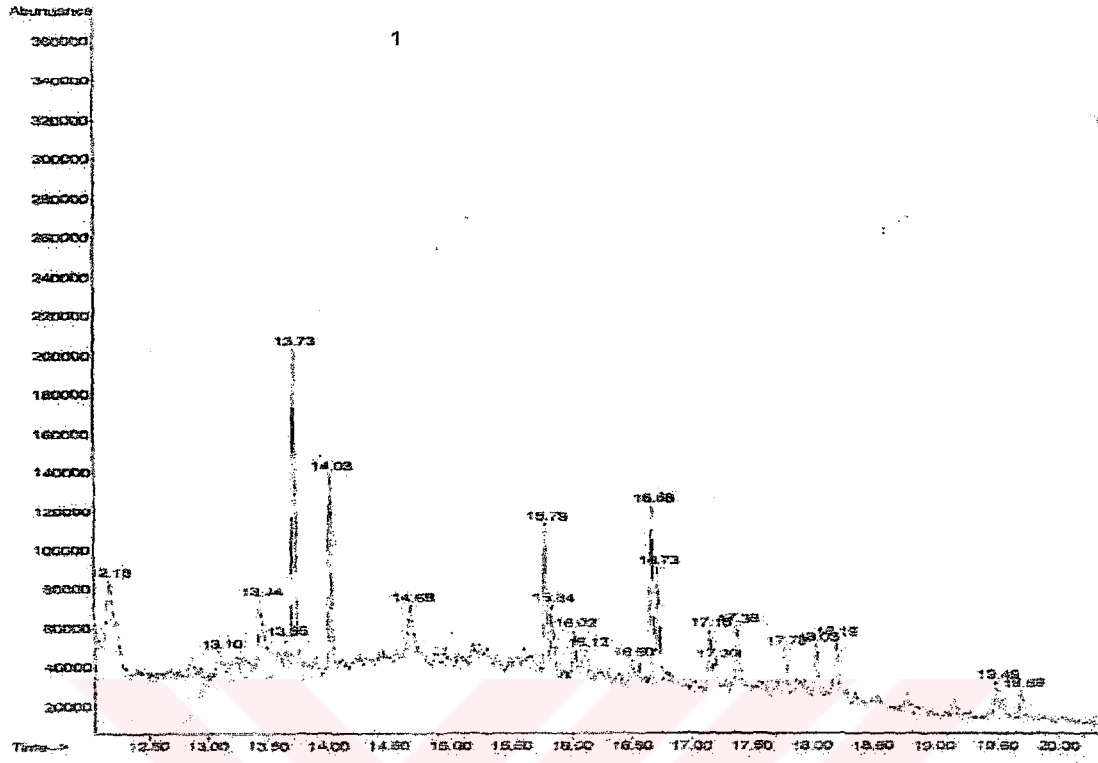
Şekil4.28.: Kuşburnu bitkisinin farklı asit karışımlarıyla ve farklı şartlarda çözünürleştirilmesiyle elde edilen Ca konsantrasyonu ppm (mg/kg)

4.6. Isırgan Otu ve Kuşburnu Bitkisinin GC-MS İle Analizinin Yapılması

4.6.1. Ön İşlemler: Kırsal alandan temin edilen ısırgan otu ve kuş burnu örnekleri musluk suyu ve saf su ile yıkandıktan sonra 60 °C'de sabit tartıma gelinceye kadar (yaklaşık 48 saat) etüvde kurutuldu. Havanda toz haline getirilmiş olan ısırgan otu yaprağı ve kuş burnunun etli kısmının yaklaşık olarak 10 gr tartılarak çift yollu musluklu Gorsuch cihazının 250 ml'lik balonuna alındı. Aşağıda tablo 4.6'da ki organik çözücülerden ayrı ayrı kısımlara 150 'şer ml eklendikten sonra 33,5±2 °C'de geri soğutucu altında 1-1.5 saat süreyle ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerinde tekrar tekrar aynı çözücü ile etkileştirilerek ekstrakte edildi. Süzülerek ayrılan ekstraksiyon çözeltilisinin hacmi ölçüldü ve GC-MS cihazıyla spektrumları alındı. Ekstraktan 10-15 ml alınarak silikajelden geçirildi ve bununda süzütüsünün GC-MS cihazıyla spektrumu alındı. Bu spektrumların GC ve MS spektrumları, ayrıca yorumlanan spektrumlardan elde edilen bileşiklerin MS açılımları aşağıdaki gibidir.

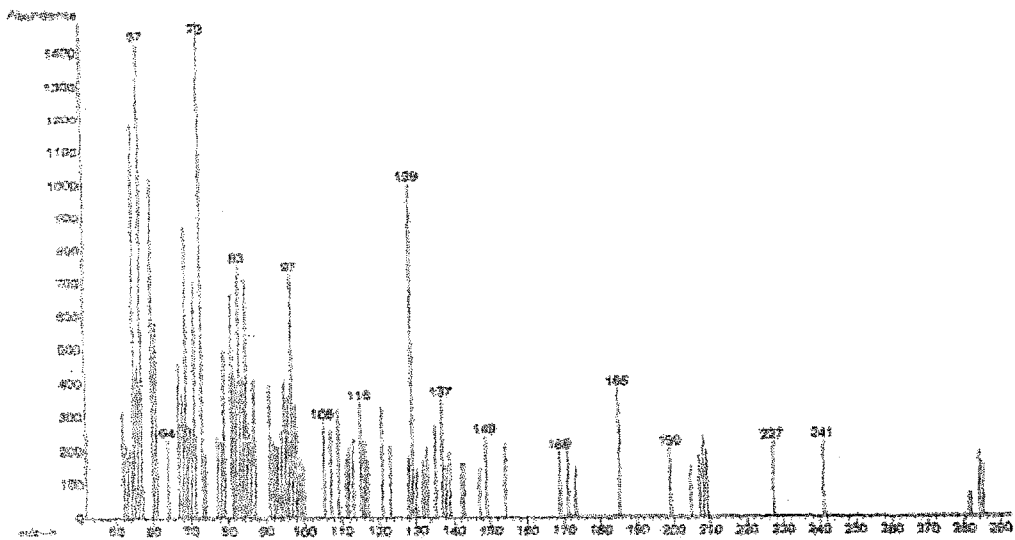
Tablo4.6.: Bitki örneklerinin ekstraksiyonunda kullanılan organik çözücüler

Örnek	Spektrum	Çözücü (K.N. °C)	İşlem
Isırgan otu	1	Etil Asetat (77 °C)	yok
Isırgan otu	2	n-hegzan (69 °C)	yok
Kuş burnu	3	Asetik asit (118 °C)	yok
Kuş burnu	4	Metil Alkol (65 °C)	Yok



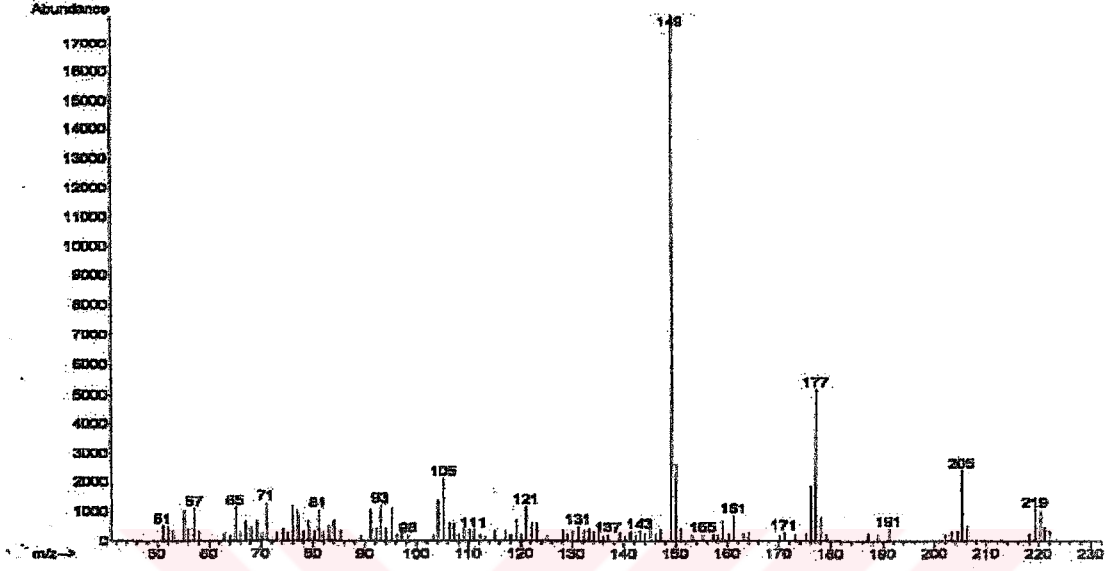
Şekil 4.29.: Tablo 4.6'daki 1 nolu ısırgan otunun ekstraksiyonu sonucu alınan GC kromatogramı

1.1



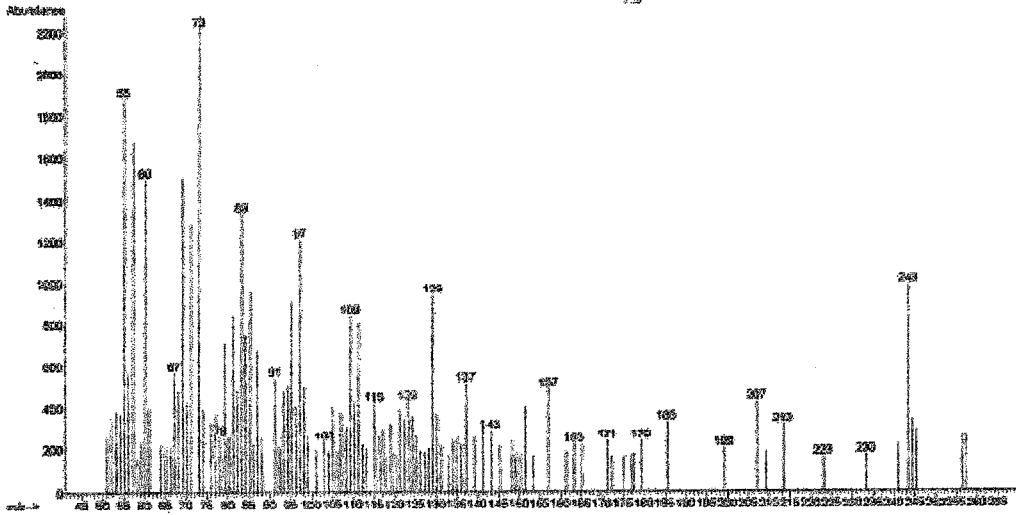
Şekil 4.30.: 1 nolu örneğin 19,69 nolu pikinin kütle spektrumu (1.1)

1.2



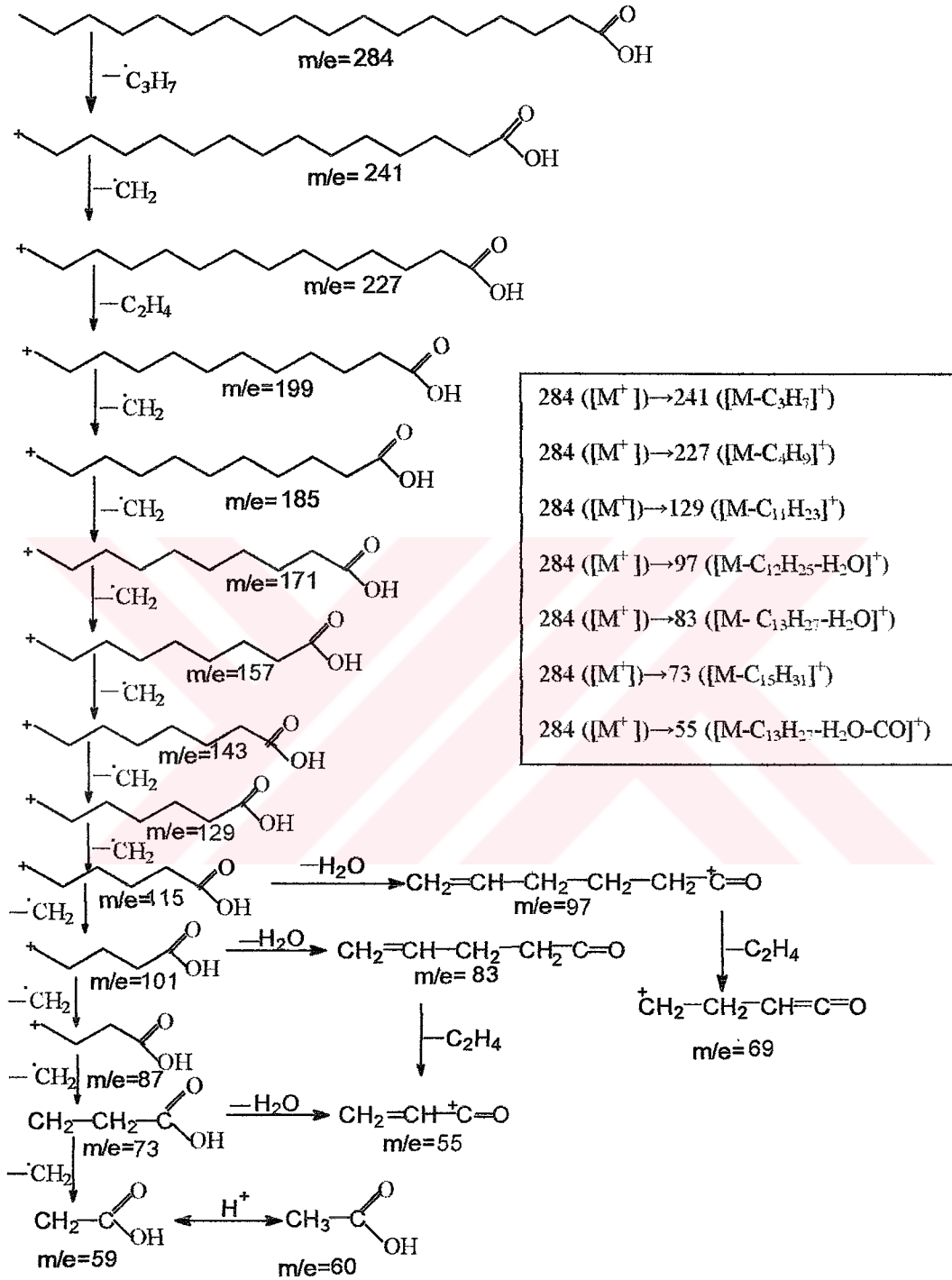
Şekil 4.31.: 1 nolu örneğin 12,18 nolu pikinin kütle spektrumu (1. 2)

1.3

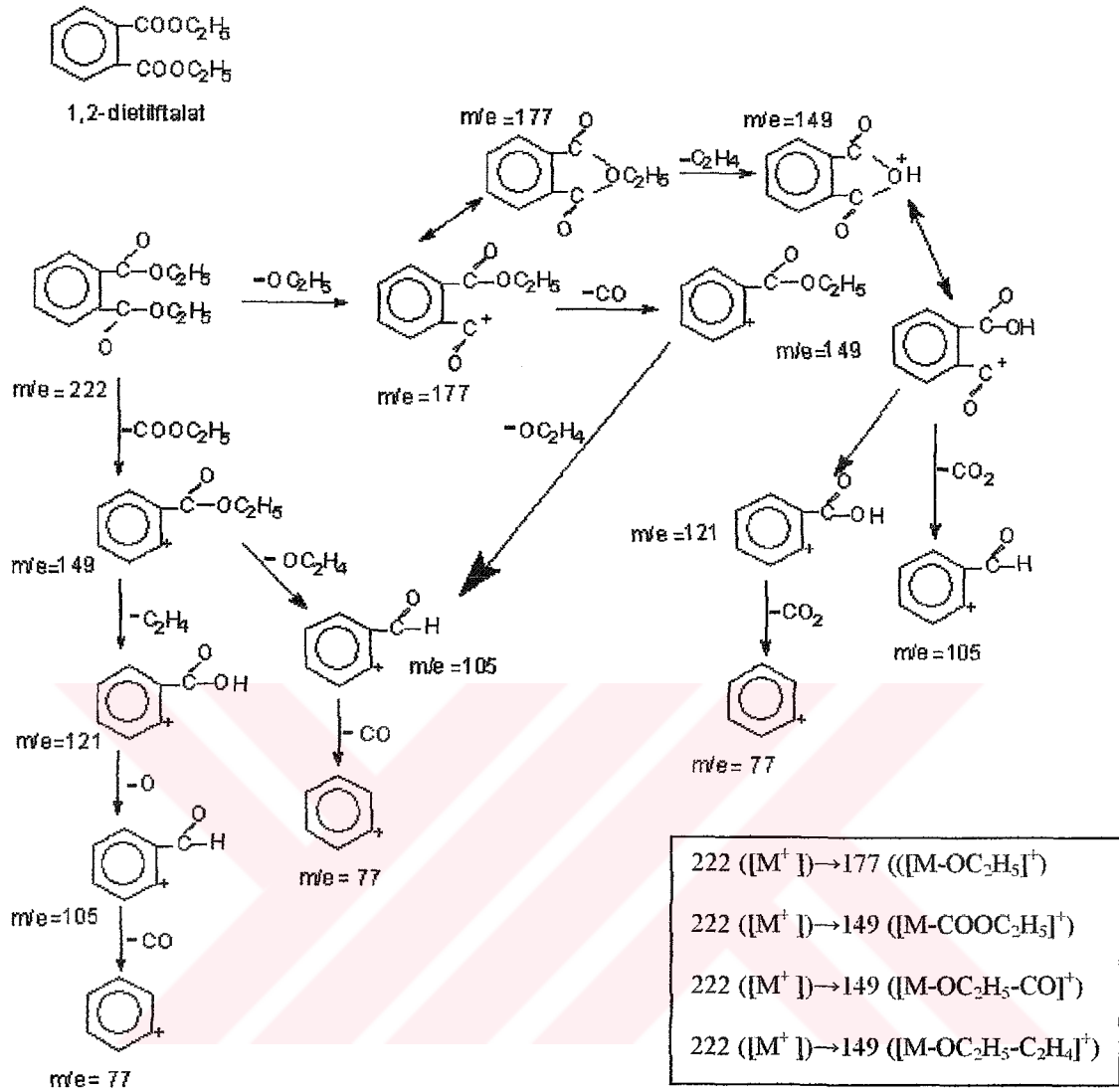


Şekil 4.32.: 1 nolu örneğin 17,77 nolu pikinin kütle spektrumu (1. 3)

Stearik Asit (oktadekanoik asit) $C_{18}H_{36}O_2$

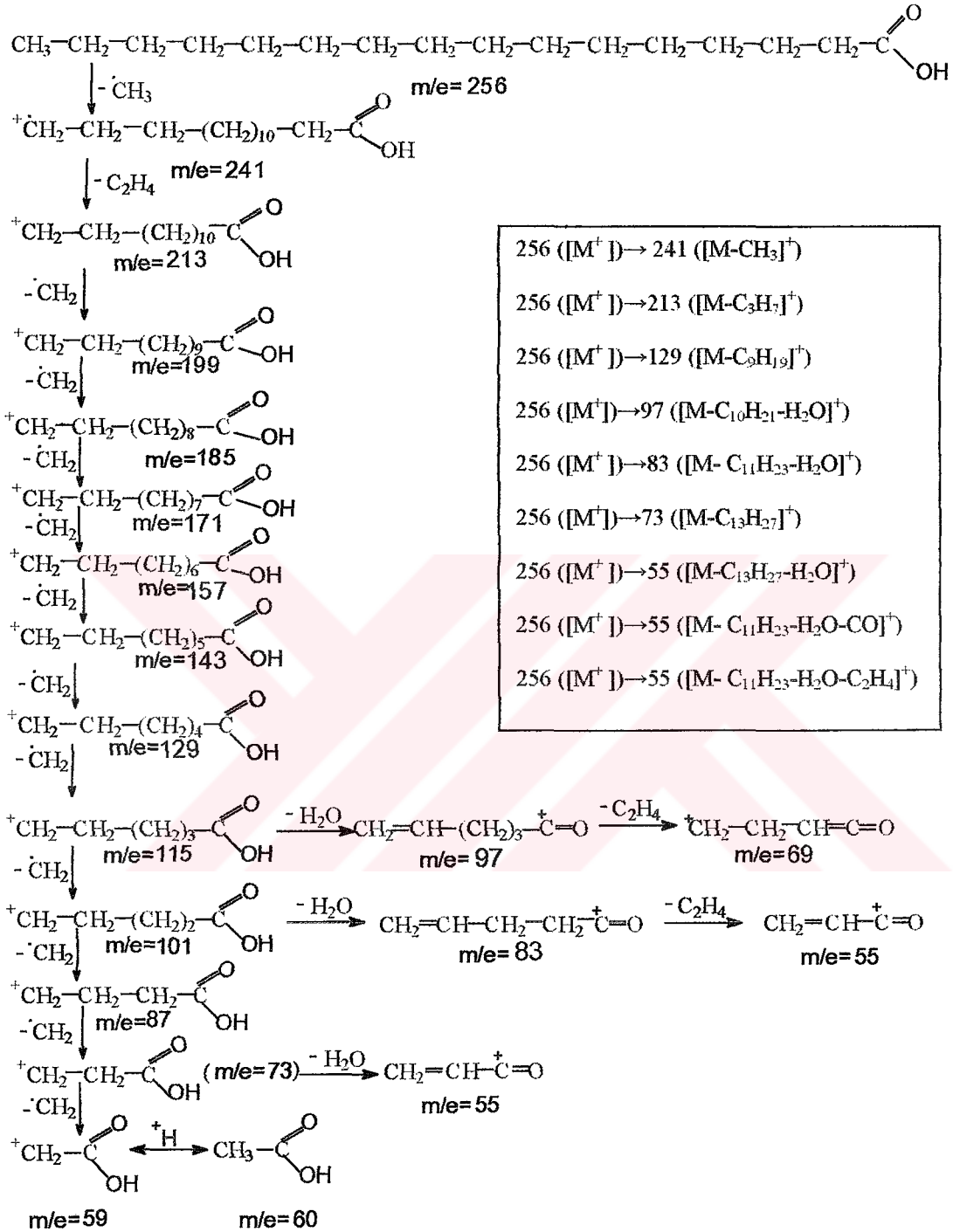


Şekil 4.33.: 1.1 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı

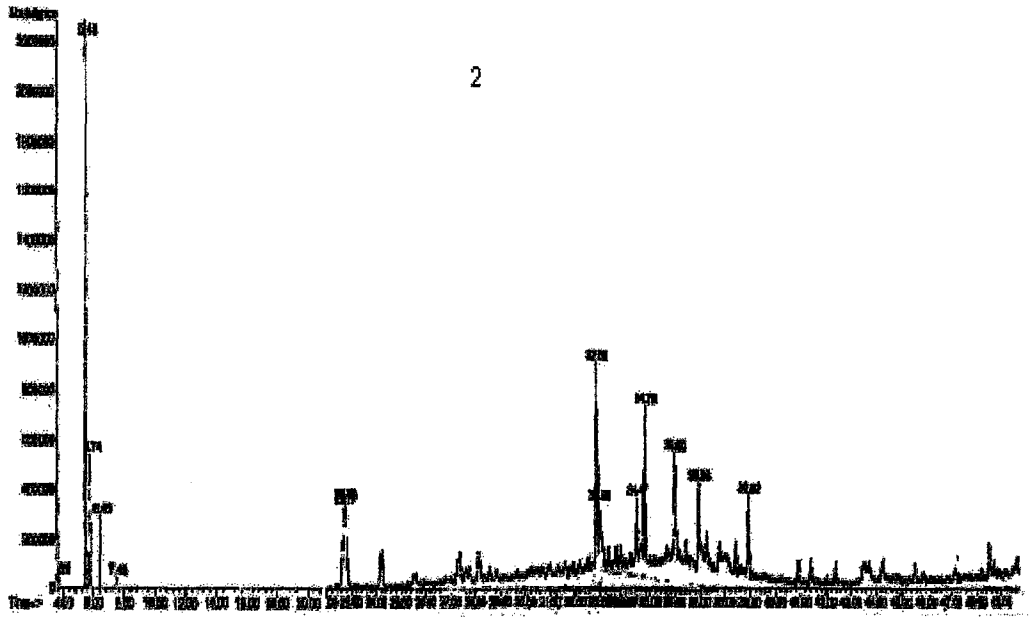


Şekil 4.34.: 1.2 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı

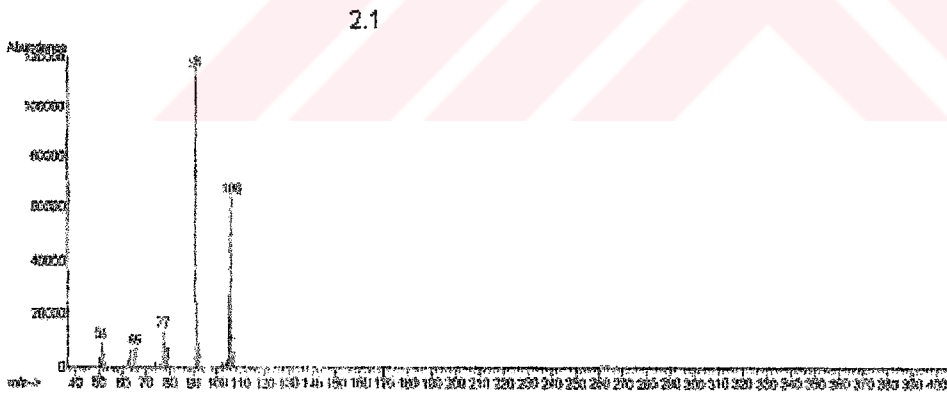
Palmitik Asit (C₁₆H₃₂O₂)



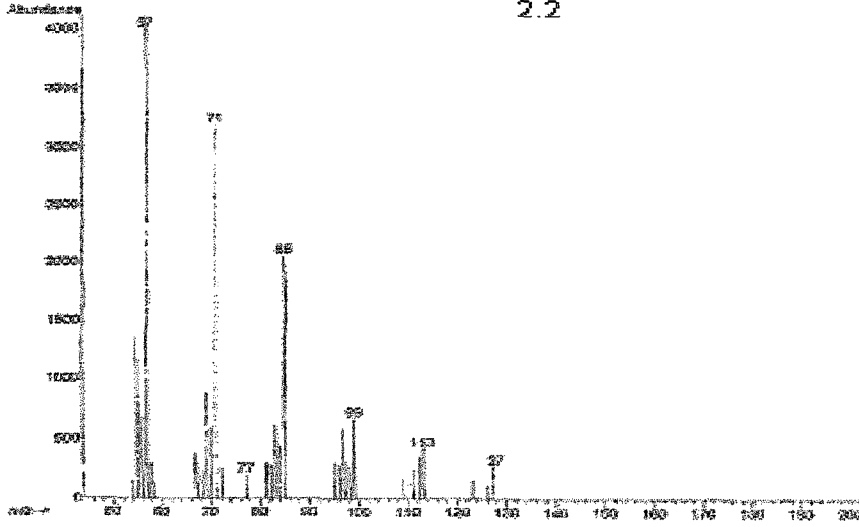
Şekil 4.35.: 1.3 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı



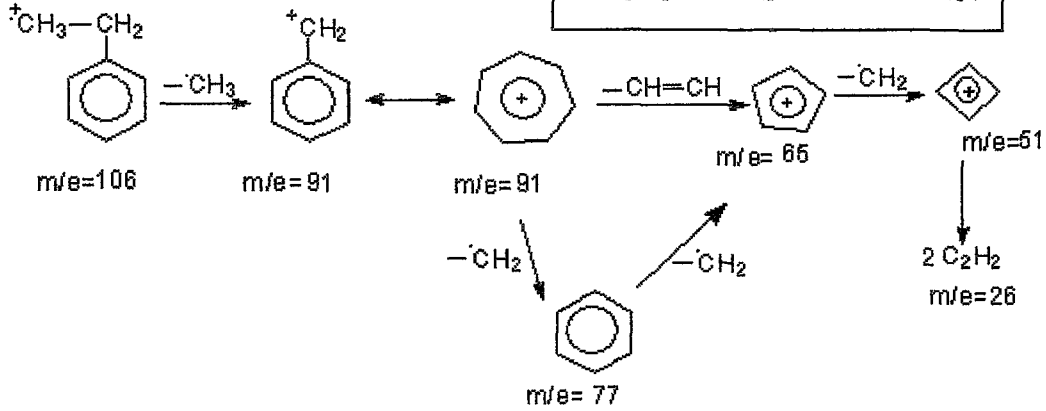
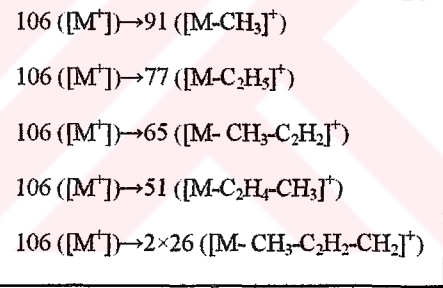
Şekil 4.36.: Tablo 4.6'daki 2 nolu ısırğan otunun ekstraksiyonu sonucu alınan GC kromatogramı



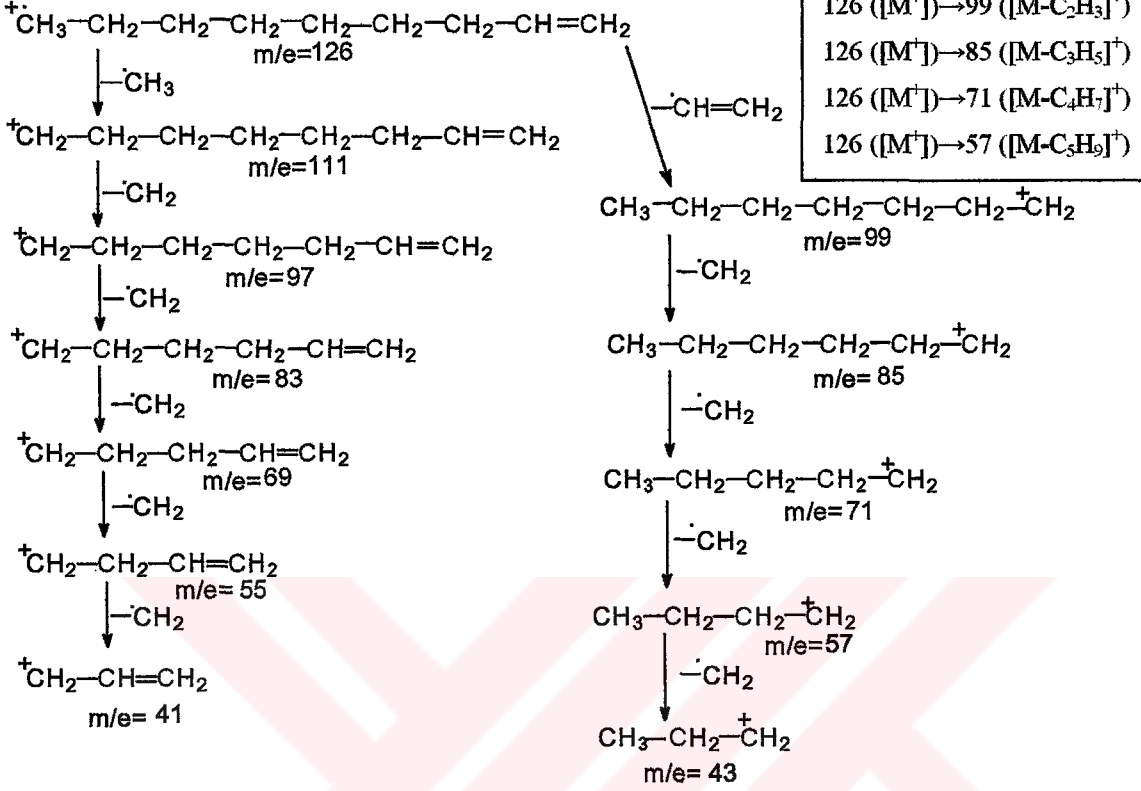
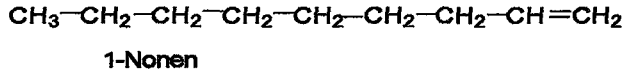
Şekil 4.37.: 2 nolu örneğin 5,72 nolu pikinin kütle spektrumu (2.1)



Şekil 4.38.: 2 nolu örneğin 38,91 nolu pikinin kütle spektrumu (2.2)

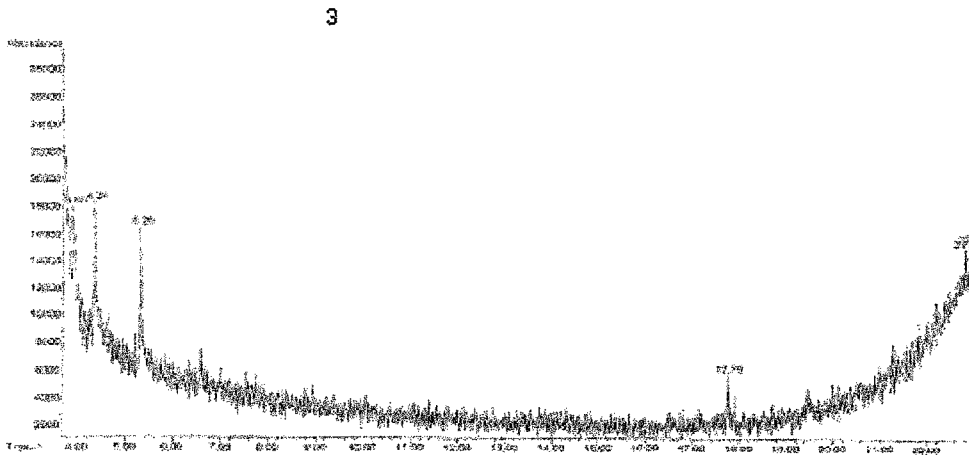


Şekil 4.39.: 2.1 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı



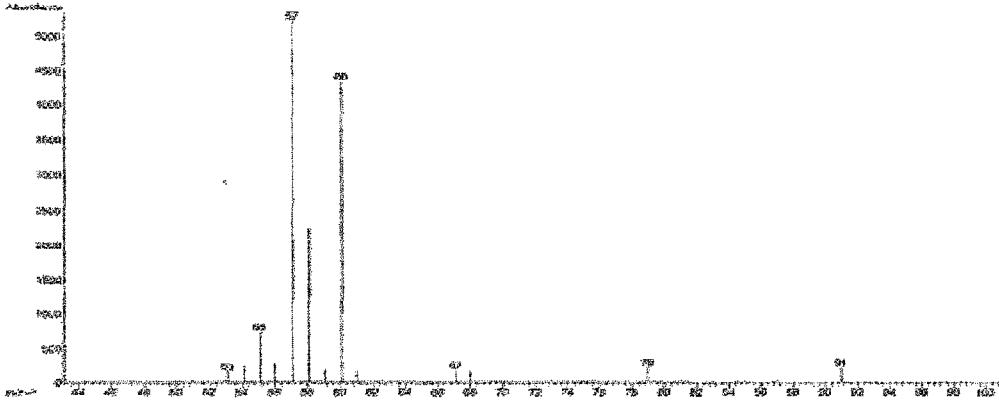
- | |
|--|
| 126 ([M ⁺]) → 111 ([M-CH ₃] ⁺) |
| 126 ([M ⁺]) → 55 ([M-C ₂ H ₄ -CH ₃] ⁺) |
| 126 ([M ⁺]) → 97 ([M-C ₂ H ₅] ⁺) |
| 126 ([M ⁺]) → 99 ([M-C ₂ H ₃] ⁺) |
| 126 ([M ⁺]) → 85 ([M-C ₃ H ₅] ⁺) |
| 126 ([M ⁺]) → 71 ([M-C ₄ H ₇] ⁺) |
| 126 ([M ⁺]) → 57 ([M-C ₅ H ₉] ⁺) |

Şekil 4.40.: 2.2 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı

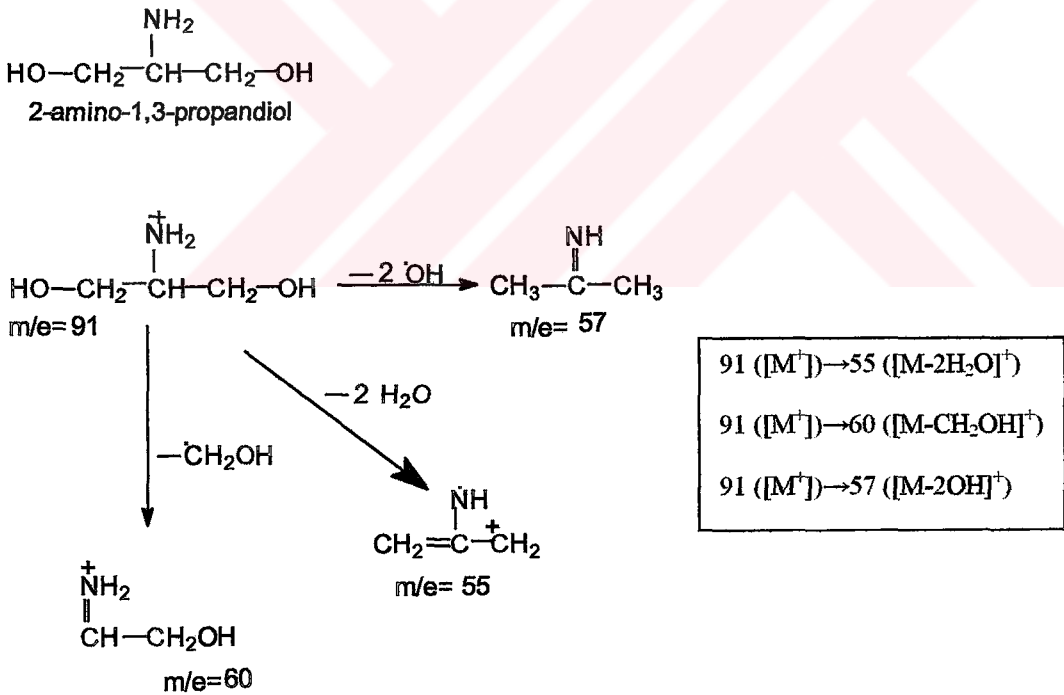


Şekil 4.41.: Tablo 4.6'daki 3 nolu kuşburnunun ekstraksiyonu sonucu alınan GC kromatogramı

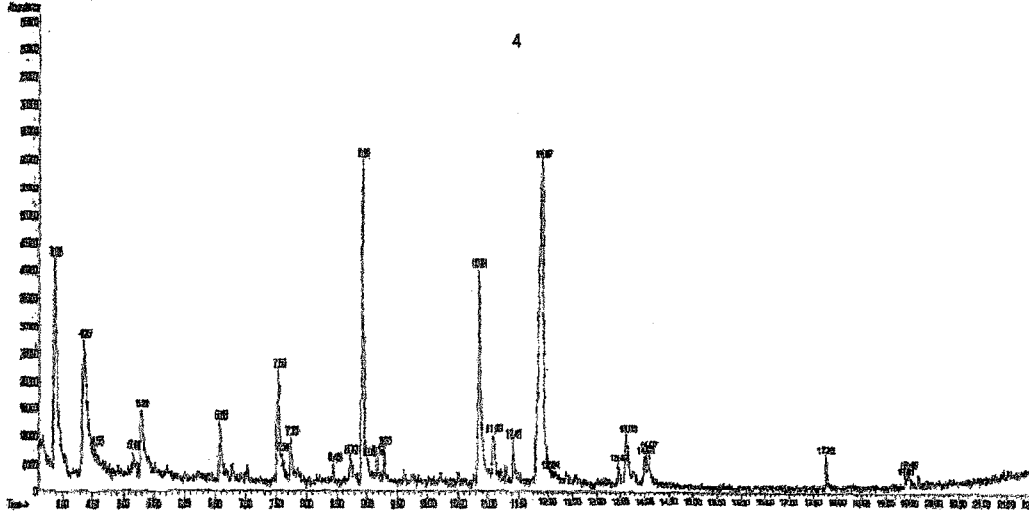
3.1



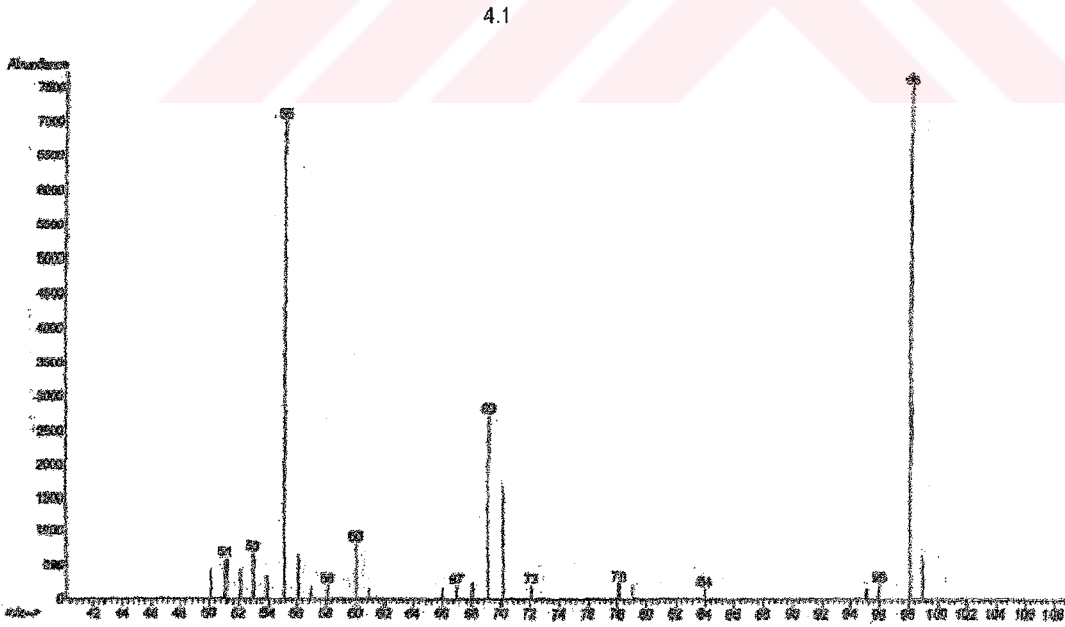
Şekil 4.42.: 3 nolu örneğin 5,30 nolu pikinin MS spektrumu (3.1)



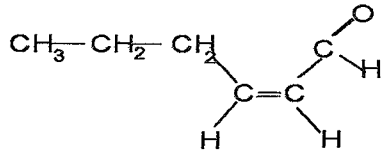
Şekil 4.43.: 3.1 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı



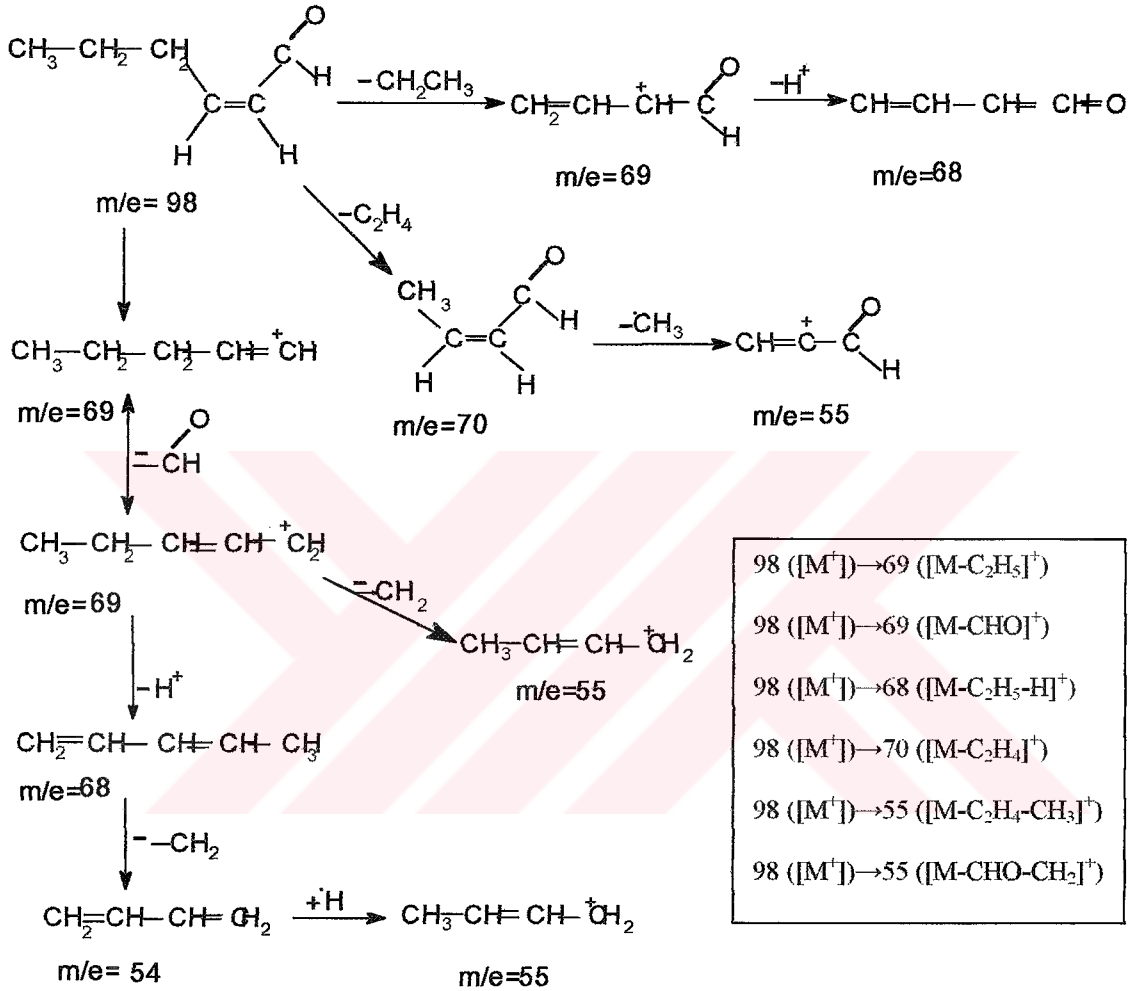
Şekil 4.44.: Tablo 4.6'daki 4 nolu kuşburnunun ekstraksiyonu sonucu alınan GC kromatogramı



Şekil 4.45.: 4 nolu örneğin 4,34 nolu pikinin MS spektrumu (4.1)



2-hexenal,(E)m/e= 98



Şekil 4.46.: 4.1 numaralı örneğin kütle spektrumunun MS açılımı

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Isırgan otu örneklerinin kuru yakma işleminde 480 °C'de 6 saatten sonra Ca kayıpları gözlenmektedir. Diğer metaller için ise 15 saate kadar kayıpların olmadığı gözlenmiştir. Mikrodalga (MW) ile çözmede ise çalışılan bütün elementlerin kayıplarının olmadığı ve kuru yakmadan daha iyi sonuçlar alındığı görülmüştür. Çözme işlemi için en ideal yöntemin MW olduğu tespit edilmiştir. Çünkü metal kayıpları yok denecek kadar azdır ve daha az sürede örnek çözünürleştirilebilmektedir. Çalışılan örneklerde eser elementlerin analizleri bağlı standart sapmasıyla beraber ek 1'de ve ek 2'de verildi.

Majör ve eser metal analizlerinden görüldüğü gibi ısırgan otunda kuşburnuna göre Fe, Zn, Mg ve Ca oldukça yüksek bulunmaktadır. Isırgan otu ve kuşburnundaki Mn derişimi ise literatürde çalışılan diğer bitkilere göre daha yüksek bulundu [32].

Isırgan otu bitkisinde Fe miktarının kuşburnuna göre yüksek olduğu (≈ 170 ppm) tespit edildi. Bu yüzden de ısırgan otu çayı içirilerek [1, 4, 6] kansızlık tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca Zn yüksekliği ısırgan otunun yaraları iyileştirici etkisini kanıtlamaktadır [3].

Organik analizi için de bitki örneklerinin içerisindeki nemi uzaklaştırmak için 60 °C' de etüvde kurutuldu. Benzer benzeri çözer ilkesinden faydalanarak organik çözücülerle ekstraksiyon yapıldı ve ekstraktlar ayrıldı. Ayrılan ekstraktların bir kısmı ayrı ayrı silikajelden geçirilerek büyük molekül ağırlıklı maddeler ayrıldı yada azaltıldı. Bu ekstraktların (direk ve silikajelden geçirilmiş olan) GC-MS cihazıyla GC kromatogramları ve MS spektrumları alınıp MS spektrumları yorumlandı. Yorumlanan organik maddelerin fiziksel özellikleri ek 3'de verildi.

Kütle spektrumlarından Şekil 4.33 (Stearik asit) ve Şekil 4.35 (Palmitik asit) gibi karboksilli asitlerde ise en karakteristik temel pik m/e 73 iyonunun pikidir. Bunlar gibi uzun zincirli asitlerde (18 C, 16 C'lu) iki seri pik topluluğu ortaya çıkar; zincirdeki her C-C bağının kopması sonucu yük oksijenli kısımda kalır (m/e 45, 59, 73, 87, 101, 115...) veya alkil grubunda kalır (m/e 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127). Böylece alkil grupları (m/e 27, 28; 41, 42; 55, 56; 69, 70; 83, 84; 97, 98;...) bir seri pik daha verir. Fakat her grupta en büyük pik $C_nH_{2n-1}O_2$ 'inikidir. Spektrumlar incelendiği zamanda pik değerlerinin aynı olduğu görüldü.

Şekil 4.34 (1,2-Dietilfталat) Aromatik esterlerde en fazla iyon (temel pik) OR ve COOR gruplarının ayrılması sonucu olur. Metil esterlerinde bu pikler M-31 ve M-59'da bulunur. Bizim yapımız Etil esteri olduğu için bu pikler OC_2H_5 yapısı, M-45 (177) ve $COOC_2H_5$

yapısı, M-73 (149)'a en şiddetli pikler görülmektedir. Spektrum çözüldüğü zamanda bu görülmüştür.

Şekil 4.39 (Etil benzen) aromatik halkalı olduğu için ve aromatik halka rezonanstan dolayı moleküler iyonun kararlılığını artırdığından spektrumda miktarı yüksek olarak görülür. En fazla iyonun m/e 91'de görülmesinin nedeni alkilenmiş benzenin olduğunu gösterir ve m/c 91'deki pik benzil katyondan daha çok tropilyum iyonundan ileri gelir ($C_7H_7^+$). Bu yapı kararlı olduğu için 91'deki çok şiddetlidir. m/e 65'de görülen pik ise tropilyum iyonundan nötr asetilen molekülünün ayrılmasıdır. Mono alkil benzenlerde ise α -yerinden kopma ve hidrojenin yer değiştirmesi sonucu karakteristik bir grup olarak m/e 77 ($C_6H_5^+$), 78 ($C_6H_6^+$) ve 79 ($C_6H_7^+$)'da pikler görülür.

Şekil 4.40 (1- Nonen) Halkalı olmayan alkenlerden olduğu için (yani düz zincirli) spektrum çözüldürken çift bağın yerini saptamak zordur. Çünkü parçalanma sırasında çift bağın yeri sürekli olarak molekül içinde yer değiştirir ve halkasız alkenlerde parçalanmış gruplar arasında 14 kütle birimlik (CH_2) farklar görülür.

Şekil 4.43 (2-Amino-1,3-propandiol)'de de yapıdan 2OH grubunun ayrılmasıyla oluşan M-28 (57)'deki pik çok şiddetlidir. Ayrıca yapıdan CH_2OH grubunun ayrılmasıyla da M-31 (60)'daki pikte şiddetli olarak görülmektedir.

Şekil 4.46 (2-Hekzenal)'da ise en karakteristik pik $CH_2=CH-O$ kaybetmesiyle oluşan M-43 ($98 - 43 = 55$) piki çok karakteristiktir. Ayrıca $C_2H_5^+$ (M-29) ve C_2H_2 (M-28) pikleri de şiddetli olarak görülür. Bütün bu yukarıda anlatılanlar yapılarımızın doğruluğunu da kanıtlamaktadır.

Ayrıca AAS ile eser analizlerde bağıl standart sapma %10'dan küçük olmalıdır. Sonuçlardan da görüldüğü gibi bitki örneklerimiz için bulduğumuz standart sapma % 10'dan küçüktür.

KAYNAKLAR

- [1] Baytop, T., "Türkiye'de Bitkilerle Tedavi", İ. Ü. Eczacılık Fakültesi, vol. 3-258.
- [2] Koç, H., 2002, "Bitkilerle Sağlıklı Yaşama", T. C. Kültür Bakanlığı, Ankara, vol. 10-256.
- [3] Tanker, M., Tanker, N., 2003, "Farmakognozi, cilt I, II ", Ankara Üniv. Ecz. Fak. Yayınları, Ankara, vol. 1-11, 285-308.
- [4] Eskioğlu, A. N., Anadol, C., 1998, "Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi", vol. 211-314.
- [5] Cevdet Nergiz, 1987, "Kuşburnu nedir?" Celal Bayar Üniv. Gıda Müh. Böl., <http://biriz.biz/kuşburnu/kuş3.htm>.
- [6] Erdoğan, S., 2002. "Çeşitli Bakliyat Ürünlerinde Bazı Metallerin (Cu, Mn, Zn, Fe) Spektroskopik Tekniklerle Analizleri, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Malatya.
- [7] Orhan, İ., Küsmenoğlu, Ş., Şener, B., 2002, "Taze ve Kurutulmuş Muz (*Musa sapientum* L. var. *Cavendishii* Lamb.) Kabuk Yağlarının Yağ Asidi Profili", Ankara Eczacılık Fak. Derg., vol. 13-19.
- [8] Zhou, C. Y., Wong, M. K., Koh, L. L., Wee, Y. C., 1996, "Mikrowave Assisted Dilute Acid Extraction of Trace Metals From Biological Samples For Atomik Absorption Spektrometric Determination", Journal of Analitical Atomic Spectrometry, vol. 11, 585-590.
- [9] Walas, S., Wojtowicz, M., Mrowiec and Zegar, W., 2004, "Comparison of wet Microwave Digestion Methods of plant Materials for the Determination of Metals by Flame Atomic Absorption Spectrometry", Intern. J. Environ. Anal. Chem., vol. 1023-1032.
- [10] Keha, E., Küfrevioğlu, Ö.İ., 1997, "Biyokimya", Şafak Yayınevi, Erzurum, vol. 182-200.
- [11] Dolgoplova, A., Weiss, D. J., Seltmann, R., Stanley, C., Coles, B., and Cheburkin, A. K., 2004, "Closed-Vessel Microwave Diğetion. Technigue for Lichens and Leaves Prior to Detarmination of Trace Elements (Pb, Zn, Cu) and Stable Pb Isotope Ratios" Intern. J. Environ. Anal. Chem., vol. 889-899.
- [12] Matusiewicz, H., 1994, "Development of a High Pressure/Tempratura Focused Microwave Heated Teflon Bomb For Sample Preparation", Anal. Chem., vol. 66, 751-755.
- [13] Jin, Q., Liong, F., Zhao, L., Huan, Y., Song, D., 1999, "Application of Microwave Technigues in Analitical Chemistry", 18;7, 479-484.
- [14] Burguera, M., Burguera, J.L., 1998, "Microwave-Assisted Sample Decomosition in Flow Analysis", Analytica Chimica Acta, 366, 63-80.
- [15] Schelkoph, G. M., Milne, D.B., 1988, "Anal. Chem.", 60, 2060-2062.

- [16] Filguerias, A., Carelo, J., Lavilla, I., Bendicho, C., 2000, "Comparison of Ultrasound-Assisted Extraction and Microwave-Assisted Digestion For Determination of Mg, Mn and Zinc in Plant", Samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry Talanta, 53, 433-441.
- [17] Ajasa, A.M.O., Bello, M.O., Ibrahim, A.O., Ogunwande, I.A., Olawore N.O., 2004, "Heavy Trace metals and macronutrients status in herbal plants Nigeria", Food Chemistry, vol. 67-71.
- [18] Lattimer, R. P., and Schulten, H. R., 1989, "Anal. Chem.", vol. 61, 1201A.
- [19] Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö. İ., Oktay, M., Büyükokuroğlu, M. E., 2004, "Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica L.*)," Journal of Ethnopharmacology, Vol. 205-215.
- [20] Careri, M., Bianchi, F., Corradini, C., 2002, "Recent advances in the application of mass spectrometry in food-related analysis", Journal of Chromatography A., vol. 3-7, 17.
- [21] Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., 1997, "Principles of Instrumental Analysis", Bilim Yayıncılık, vol. 206-720.
- [22] Stafford, G.C., Kelley, P.E., and Stafford, D.C., 1983, "Amer. Lab.", 15(6), 51.
- [23] Corlett, J.L., Clegg, M.S., Keen, C.L., and Grivetti, L.E., 2002, "Mineral content of culinary and medicinal plants cultivated by Hmong refugees living in Sacramento, California", International Journal of Food Sciences and Nutrition, vol. 117-128.
- [24] Bilge Şener, 16-19 Mayıs 1986, "VI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı" Ankara, 207, 208, 209, 210, 218.
- [25] White, F. A., Wood, G. M., 1986. "Mass Spectrometry", Applications in Science and Engineering. New York: Wiley-Interscience,
- [26] R. J. Fessenden, J. S. Fessenden, 1988, "Organic chemistry", vol. 970-980, 1039-1053.
- [27] Cotter, R. J., "Anal. Chem.", 60, 781A.
- [28] Kitson, G. F., Larsen, S. B., McEven, N. C., 1996, "Gas Chromatography and Mass Spectrometry" San Diego, California.
- [29] Gamiz-Gracia, L., Lupuc de Castro, M. D., 2000, "Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques", Talanta, vol. 1179-1185.
- [30] Walsh, A., Shelton, J. P., Russell, B. J., 1957, "Spectrochimica Acta B", 317.
- [31] Darasar, P., Moravcova, J., 2004, "Recent advances in analysis of Chinese medical plants and traditional medicines", Journal of Chromatography, vol. 13.
- [32] Filguerias, A. V., Capelo, J. L., Lavilla, I., 2000, "Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry", Talanta, 53: 433-441.

Ek 1. Isırgan otuna ilişkin ayrıntılar. (0,3 gr ısırgan otu kuru külleme yöntemiyle çözüldükten sonra son hacim 2 ml'ye alındı.)

<u>Metal</u>	<u>En yüksek bağıl std değeri</u>	<u>En düşük std değeri</u>
<u>Cu</u>	3,7	0,2
<u>Fe</u>	9,7	1,2
<u>Zn</u>	9,8	1,7
<u>Mn</u>	9,7	1,0
<u>Ca</u>	8,1	4,2
<u>Mg</u>	9,6	2,7

Ek 2. Kuş burnuna ilişkin ayrıntılar. (0,5 gr kuş burnu meyvesi kuru külleme yöntemiyle çözüldükten sonra son hacim 2 ml'ye alındı.)

<u>Metal</u>	<u>En yüksek bağıl std değeri</u>	<u>En düşük std değeri</u>
<u>Cu</u>	8,30	0,00
<u>Fe</u>	8,97	3,91
<u>Zn</u>	5,84	0,30
<u>Mn</u>	7,07	0,81
<u>Ca</u>	8,82	2,48
<u>Mg</u>	9,94	2,40

Ek 3.: Çözümlenen spektrumların erime ve kaynama sıcaklıkları

Organik maddeler	Erime sıcaklığı °C	Kaynama sıcaklığı °C (tüstel olarak mm Hg)
Stearik asit	69	383 ⁷⁶⁰ , 232 ¹⁵
1,2-Dietilftalat	-40	295, 172 ¹²
Palmitik asit	62	351 ⁷⁶⁰ , 267 ¹⁰⁰
Etil benzen	-94,97	136,2 ⁷⁶⁰ ; 25,8 ¹⁰
1- Nonen	-50	150
2-Amino-1,3-propandiol	265 ⁷³⁹
2-Hekzenal	146 ⁷⁶⁰ , 43 ¹²

ÖZGEÇMİŞ

06.04.1978 yılında Elazığ merkezde doğdum. İlkokulu Elazığ 50. yıl ilkokulunda okuduktan sonra öğrenimime beş yıl ara verdim. Beş yıllık aradan sonra orta kısmı dışarıdan bitirme imtihanıyla aldım ve 1994-1995 eğitim öğretim yılında Elazığ Fatih Lisesinde öğrenimime tekrar başladım. 1997 yılında mezun oldum. 1998 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde Yüksek öğrenimime başladım. 2002 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında (Analitik Kimya) yüksek lisansa başladım, halen yüksek lisans eğitimime devam etmekteyim. Evliyim ve bir çocuk annesiyim.

