

158237



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI**

**TUZ İÇEREN FARMASÖTİK PREPARATLARDA AKIŞA ENJEKSİYONLU
HİDRÜR OLUŞTURMALI ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRİ
(FI-HG-AAS) İLE KURŞUN TAYİNİ**

**DOKTORA TEZİ
Yük.Kim. Aysel BERKKAN**

**TEZ YÖNETİCİSİ
Yrd. Doç.Dr. Nusret ERTAŞ**

ANKARA-2004

**Bu alışma, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi tarafından
(02/2001-15) desteklenmiştir.**

Doktora tez çalışmamı planlayıp yöneten, tüm çalışmalarım sırasında bilgi, tecrübe ve emeğini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yol gösteren ve karşılaştığım tüm sorunların
çözülmesinde yardımcı olan değerli hocam

Sayın Yrd. Doç. Dr. NUSRET ERTAŞ'a,

Çalışmalarım sırasında karşılaştığımız sorunlara bilimsel ve kimyasal katkılarıyla çözüm
bulan değerli hocam

Sayın Prof.Dr. O. YAVUZ ATAMAN'a,

Çalışmalarıma verdiği destekten dolayı değerli hocam

Sayın Prof. Dr. M.TEVFİK ORBEY'e,

Gösterdiği ilgi ve yardımlardan dolayı değerli hocam

Sayın Doç. Dr. NİLGÜN GÜNDEN GÖĞER'e,

İhtiyacım olduğu her an hiç düşünmeden yardımını esirgemeyen sevgili arkadaşım

Sayın H. EDA ŞATANA'ya,

Tüm kalbiyle bana destek olan, dostluğuna her zaman ihtiyaç duyduğum
sevgili eski oda arkadaşım

Sayın B. TOLGA DEMİRCİGİL'e,

Çalışmalarım sırasında esprileriyle bana moral veren, ihtiyaç duyduğum her zaman
yardımına koşan sevgili arkadaşım

Sayın HAKAN DEMİRÖZ'e,

Çalışmalarım sırasında gösterdikleri yardım ve destekler için

Sayın ŞEBNEM YILMAZ'a, Sayın ORKUN ALP'e ve Sayın HASAN BASAN'a,

Numune temin etmemde yardımcı olan

Sayın Prof.Dr. ÜNSAL ÇALIŞ'a ve Sayın SERPİL KARAKAŞ'a

ve

Tüm sıkıntılarımı paylaşan, sevgi ve anlayışlarını benden esirgemeyen
AİLEME, eşim TURGUT BERKKAN'a ve oğlum Y. BARIŞ BERKKAN'a

TEŞEKKÜR EDERİM.

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kurşunun Toksik Etkileri.....	4
2.1.1. Kurşun Hematoksisitesi.....	4
2.1.2. Kurşun Nefrotoksisitesi.....	4
2.1.3. Kurşun Maruziyetinin Üreme Sistemi ve Fötal Dolaşım Üzerindeki Etkileri	4
2.1.4. Kurşunun Sinir Sistemi Üzerindeki Etkileri.....	5
2.1.5. Kurşunun Genotoksik Etkisi.....	5
2.1.6. Kurşunun DNA Onarım Mekanizması Üzerine Etkisi.....	5
2.2. Diyaliz ile Tedavi Yöntemleri ve Bu Yöntemlerde Kullanılan Çözeltiler.....	6
2.2.1. Peritoneal Diyaliz Yöntemi.....	6
2.2.2. Hemodiyaliz Yöntemi	7
2.2.3. Derişik Hemodiyaliz Çözeltilerinin Üretiminde ve Seyreltilmesinde Kullanılan Suların Üretim Yöntemleri ve Taşınması Gereken Özellikler...	8
2.3. Akışa Enjeksiyonlu Sistemler.....	10
2.3.1. Akışa Enjeksiyon Düzeneğinin Temel Bileşenleri.....	10
2.4. Eser Miktarda Kurşun Tayininde Kullanılan Teknikler.....	14
2.4.1. Elektrotermal Atomlaştırmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (ETAAS) Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları.....	14
2.4.2. İndüktif Eşleşmiş Plazma- Kütle Spektrometri (ICP-MS) Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları.....	16

2.4.3. Elektrotermal Buharlaştırma-İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometri (ETV-ICP-MS) Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları.....	17
2.4.4. Hidrür Oluşturmalı İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon/Kütle Spektrometri (HG-ICP-AES/MS) Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları.....	19
2.4.5. Anodik Sıyırma Voltametri Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları.....	21
2.4.6. Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri.....	22
2.4.6.1. Hidrürün Atomlaştırılması.....	26
2.4.6.1.1. İnert Gaz-Hidrojen Difüzyon Alevleri.....	26
2.4.6.1.2. Grafit Fırınli Atomlaştırıcılar.....	27
2.4.6.1.3. Kuvars Tüp Atomlaştırıcılar.....	29
2.4.6.2. Hidrür Sisteminde Girişimler.....	32
2.4.6.3. Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (HG-AAS) Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları.....	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	39
3.1. Reaktifler.....	39
3.2. Cihazlar.....	41
3.3. Akışa Enjeksiyonlu Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (FI-HG-AAS) Kullanarak Derişik Diyaliz Çözeltilerinde Kurşun Tayini	41
3.4. Akışa Enjeksiyonlu Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (FI-HG-AAS) Kullanarak Kalsiyum Destekleyici Tablette Kurşun Tayini.....	43

3.5. Akışa Enjeksiyonlu Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (FI-HG-AAS) Kullanarak Derişik Diyaliz Çözeltilerinin Hazırlanmasında Kullanılan Tuzlarda Kurşun Tayini.....	44
3.6. Doğruluk Çalışmaları.....	44
3.6.1. Derişik Diyaliz Çözeltilerinden Geri Kazanım Çalışması.....	44
3.6.2. Waste Water SCP-EU-L1 (SCP Science, Canada)	
Standart Referans Maddede Kurşun Tayini.....	45
3.6.3. Derişik Diyaliz Çözeltilerinin ETAAS Ölçümlerine Hazırlanması.....	45
4. BULGULAR.....	47
4.1. Optimizasyon Çalışmaları.....	47
4.1.1. HCl Derişiminin Optimizasyonu.....	47
4.1.1.1. Sulu, Sodyum Klorürlü, Asetatlı Ortamlarda ve Derişik Diyaliz Çözeltisinde HCl Derişiminin Optimizasyonu.....	47
4.1.1.2. Kalsiyum Destekleyici Tablette FI-HG-AAS ile Kurşun Tayini için HCl Derişiminin Optimizasyonu.....	49
4.1.2. $K_3Fe(CN)_6$ Derişiminin Optimizasyonu.....	50
4.1.3. $NaBH_4$ Derişiminin Optimizasyonu	51
4.1.4. Argon Gazı Akış Hızı Optimizasyonu.....	53
4.1.5. Numune Hacminin Sinyale Etkisi.....	53
4.1.6. Çözeltilerin Akış Hızının Optimizasyonu.....	54
4.1.7. Reaksiyon Sarmalı Uzunluğunun Optimizasyonu.....	55
4.2. Optimum Deneysel Koşullar.....	56
4.3. Kalibrasyon Çalışmaları.....	57
4.4. Analitik Performans Sayıları.....	61
4.5. Tuz Matriksinin ETAAS Ölçümlerinde Pb Sinyaline Etkisi.....	61

4.6. Kurşun Tayini Çalışmaları.....	64
4.6.1. Derişik Diyaliz Çözeltilerinde ve Üretimde Kullanılan Tuzlarda Kurşun Tayini Çalışmaları.....	64
4.6.2. Kalsiyum Destekleyici Tablette Kurşun Tayini.....	66
4.7. Doğruluk Çalışmaları.....	67
4.7.1. Standart Referans Madde.....	67
4.7.2. FI-HG-AAS ile Geri Kazanım Çalışmaları.....	68
5. SONUÇ ve TARTIŞMA.....	69
ÖZET.....	72
SUMMARY.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	74
Kaynaklar.....	75

TABLoların LİSTESİ

SAYFA NO

Tablo 1. Diyaliz Çözeltisinin Hazırlanmasında Kullanılan Suların İçerisinde Bulunan Kontaminantların Müsaade Edilen Maksimum Derişimleri	9
Tablo 2. Derişik Diyaliz Çözeltilerinin İçerdikleri Tuz Derişimleri.....	40
Tablo 3. Derişik Diyaliz Çözeltilerinin FI-HG-AAS ile Pb Tayini İçin Hazırlanması.....	43
Tablo 4. Derişik Diyaliz Çözeltilerinin ETAAS Tayini İçin Hazırlanması.....	46
Tablo 5. FI-HG-AAS için Optimum Deneysel Koşullar.....	56
Tablo 6. Farklı Matrikslerde Kalibrasyon Doğrularının Eğimlerinin Karşılaştırılması	59
Tablo 7. FI-HG-AAS ve ETAAS ile Derişik Diyaliz Çözeltilerinde Bulunan Kurşun Derişimleri.....	65
Tablo 8. Derişik Diyaliz Çözeltilerinin Üretiminde Kullanılan Tuzlarda FI-HG-AAS ile Bulunan Pb Derişimleri.....	66
Tablo 9. FI-HG-AAS ile Geri Kazanım Çalışması; Derişik Diyaliz Çözeltilerine +7.5 µg L ⁻¹ ve +30 µg L ⁻¹ Pb Eklenmesi ile Geri Kazanım Sonuçları.....	68

ŞEKİLLERİN LİSTESİ**SAYFA NO**

Şekil 1. Akışa Enjeksiyon Sisteminin Temel Düzeneği.....	10
Şekil 2. 6-Geçişli Enjeksiyon Vanasının Çalışma Prensibini Gösteren Açık Şekli.....	12
Şekil 3. Hidrür Oluşturma Yöntemleri.....	22
Şekil 4. Spektral Olmayan Girişimlerin Sınıflandırılması.....	33
Şekil 5. Akışa Enjeksiyonlu Hidrür Oluşturma (FI-HG) Düzeneği.....	42
Şekil 6. HCl Derişiminin Optimizasyonu.....	48
Şekil 7. Kalsiyum Destekleyici Tablette HCl Derişimi Optimizasyonu.....	50
Şekil 8. $K_3Fe(CN)_6$ Derişiminin Optimizasyonu.....	51
Şekil 9. $NaBH_4$ Derişiminin Optimizasyonu.....	52
Şekil 10. Argon Gazı Akış Hızı Optimizasyonu.	53
Şekil 11. Çözeltilerin Akış Hızının Sinyale Etkisi.....	54
Şekil 12. Reaksiyon Sarmalı Uzunluğunun Sinyale Etkisi.....	55
Şekil 13. FI-HG-AAS ile Derişik Diyaliz Çözeltisinde Kurşun İçin Elde Edilen Analitik Sinyal.....	57
Şekil 14. 217 nm ve 283.3 nm Dalgaboylarında FI-HG-AAS ile Sulu Ortamda Pb İçin Elde Edilen Kalibrasyon Doğruları.....	58
Şekil 15. Sulu Standartlarla ve Farklı Sodyum Klorür İçeren Ortamlarda FI-HG-AAS ile Çizilen Kalibrasyon Doğruları.....	60
Şekil 16. Numune 5'in Chelex-100 Reçineden Geçirilmeden ETAAS ile Elde Edilen Analitik Sinyal.....	62
Şekil 17. Numune 5'in Chelex-100 Reçineden Geçirildikten Sonra ETAAS ile Elde Edilen Analitik Sinyal.....	63

Şekil 18. Numune 5'in Chelex-100 Reçineden Geçirildikten Sonra

ETAAS ile Elde Edilen Analitik Sinyal, Numune 5'e

10 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb Standardı Katılmıştır64

Şekil 19. Kalsiyum Destekleyici Tablette Kurşun Tayini İçin Standart

Katma Yöntemi ile Hazırlanan Kalibrasyon Doğrusu.....67



KISALTMALAR

EHAC	Environmental Health Hazard Assesment for California
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometri
ETAAS	Elektrotermal Atomlaştırmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri
ASV	Anodik Sıyırma Voltametri
HG-AAS	Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri
IARC	International Agency for Research on Cancer
AAMI	Association for the Advancement of Medical Instruments
PTFE	Politetrafloroetilen
FIA	Akışa Enjeksiyon Analizi
UV-VIS	Ultra Viyole- Görünür Bölge
IR	Infrared Bölge
ETV	Elektrotermal Buharlaştırma
ETV-ICP-MS	Elektrotermal Buharlaştırma-İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometri
HG-ICP-AES/MS	Hidrür Oluşturmalı İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon/Kütle Spektrometri
DCP-AES	Doğru Akım Plazma Atomik Emisyon Spektrometri
CTAB	Setiltrimetilamonyumbromür
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektrometri
FI-HG-AAS	Akışa Enjeksiyonlu Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri
SRM	Standart Referans Madde

1. GİRİŞ

Kurşun elementine az miktarlarda maruziyetin dahi vücutta biyokimyasal ve nörolojik değişikliklere neden olduğu bilinmektedir^{1,2}. Kurşun, sürekli maruz kalındığında vücutta birikerek bazı dokularda oldukça yüksek derişimlere ulaşabilmektedir³. Çeşitli matrikslerde bu elementin günlük maruziyeti ve kaynaklarını belirleyebilmek için daha güvenilir, seçici ve hassas analitik yöntemlere ihtiyaç vardır⁴. Yakın zamanda bazı ülkelerdeki kuruluşlar gıda kaynaklı günlük kurşun maruziyet sınırını düşürmüşlerdir⁵. EHHAC, "Environmental Health Hazard Assesment for California", tarafından anlamlı risk taşımayan gıda kaynaklı düzey 0,5 µg Pb gün⁻¹ olarak tanımlanmıştır⁶. "European Community" içme sularında kurşun seviyesinin üst sınırı olarak 10 µg L⁻¹'yi kabul etmiştir.

Kurşun elementine çeşitli endüstriyel ve gıda kaynaklı maruziyetlerin yanısıra klinik tedavilerde de (diyaliz çözeltileri, kalsiyum karbonat içeren destekleyiciler) maruziyet söz konusu olabilmektedir. Bazı çalışmalarda, diyaliz hastalarının diyaliz işlemleri nedeniyle dokularındaki eser element seviyelerinin değişikliklere uğradığı ve buna bağlı rahatsızlıklarının olabileceği ileri sürülmektedir^{7,8}. Krachler ve grubunun⁷ İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometri (ICP-MS) kullanarak yaptıkları çalışmada diyalize giren böbrek hastalarında Ba, Ca, Cu, Pb, Mg, Sr, ve Zn elementlerinin plazma ve diyaliz sıvılarında tayinlerini yapmışlar, Cu seviyesinde bir değişiklik bulunmazken Zn derişiminin düştüğü, Ca, Sr, Mg, Ba ve Pb derişimlerinin ise kontrol grubuna kıyasla arttığı gözlenmiştir. Sampson ve grubu⁹ ise kronik böbrek rahatsızlığı bulunan hastaların sırasıyla kan ve plazmalarında Pb ve Al derişimlerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığını, fakat Pb değerlerinin hala anlamlı risk oluşturan düzeyin altında (380 µg L⁻¹) olduğunu rapor

etmişlerdir. Diyalize giren hastalarda eser element maruziyetinin neden olduğu sağlık riskini azaltmak için, değişik diyaliz çözeltilerinde toksik elementlerin rutin analizleri gereklidir.

Diyaliz hastalarında toksik metal tayinleri ile ilgili çalışmaların büyük kısmı alüminyumun üzerine yoğunlaşmışsa da kurşun, bakır, arsenik, civa, kadmiyum ve çinko gibi diğer birçok elementlerin de diyaliz hastaları için risk oluşturması söz konusudur. Kurşun maruziyeti açısından kontrol edilmesi gereken farmasötik preparatlardan bir diğeri de kalsiyum destekleyicisi olarak kullanılan kalsiyum karbonat tabletleridir. Bourgoin ve grubu¹⁰ birçok kalsiyum destekleyicilerinin önemli miktarda kurşun içerdiğini rapor etmişlerdir. Kurşunun doğada en çok bulunan divalent katyonik formu gerek metabolik gerekse jeokimyasal olarak kalsiyum ile yer değiştirdiğinden, bu bulgu çok şaşırtıcı bulunmamaktadır.

Kurşun elementi +2 oksidasyon basamağında, düşük seviyedeki kalsiyum kaynaklarından %20- 50 oranında absorplanır. Fakat vücuda fazladan alınan kalsiyum varlığında emilim kalsiyum miktarına bağlı olarak yaklaşık 10 kat düşer. Bunun nedeni kurşunun fazla miktardaki kalsiyum ile seyrelmesidir¹¹.

Ross ve grubu¹² yaptıkları çalışmada tüketime sunulmuş 22 kalsiyum destekleyicisinin 8'inde önemli derecede kurşun bulmuşlardır. Çalışma sonucunda doğal kalsiyum destekleyicisi olarak osteoporoz hastaları tarafından kalsiyum doz aralığında alınan bazı ıstiridye kabuğu ve türevleri ile kurşuna maruziyet riskinin 1 µg gün⁻¹'den daha fazla olduğu belirtilmiştir. Bu tür ürünler böbrek hastaları tarafından önerilen dozda alındığında ise günlük kurşun alımı 10 µg gün⁻¹'ün üzerine çıkabilmektedir. Dolayısıyla bu tür ürünlerde, özellikle doğal kaynaklardan (Oyster Shell) hazırlanan kalsiyum karbonat destekleyicilerinde kurşun tayini önem

kazanmaktadır. Kalsiyum karbonat destekleyicilerinde izin verilebilir maksimum kurşun derişimi $3 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak belirtilmiştir^{13,14}.

Düşük düzeylerde kurşun tayini için kullanılan analitik tekniklerde, Elektrotermal Atomlaştırmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (ETAAS), İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometri (ICP-MS), Anodik Sıyırma Voltametri (ASV), yüksek miktarda tuz içeren numunelerde önemli girişimler oluşabilmektedir. Bu nedenle anılan matrikslerde girişimlerden bağımsız, rutin analizlere uygun, ekonomik analitik tekniklere ihtiyaç vardır. Bu çalışmada yüksek miktarda tuz içeren numunelerde Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (HG-AAS) ile kurşun tayini için yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kurşunun Toksik Etkileri

2.1.1. Kurşun Hematoksisitesi

Kurşunun hematopoetik sistem üzerindeki başlıca etkileri eritrositlerin yaşam sürelerinin kısalması, anemi ve hem sentezinin inhibisyonudur. Eritrositlerin yaşam sürelerinin kısalması, hücrelerin su ve potasyum kaybetmeleri sonucu dirençlerinin azalması ve parçalanmaları gerçekleşir ve hemolitik anemi tablosu gelişir¹⁵⁻¹⁷.

2.1.2. Kurşun Nefrotoksisitesi

Kurşunun büyük kısmı böbreklerden atılır. Maruziyetle birlikte kurşun başlıca böbrekler, karaciğer ve kanda lokalize olur. Böylece alınan kurşunun yaklaşık % 20'si böbreklerde bulunur. Renal tübüler bozukluk ve intertisyel nefropati kurşunun böbrekler üzerine başlıca etkileridir¹⁶. Kronik böbrek yetmezliği olan ve kurşuna maruz kalan bireyler daha yüksek kan kurşun seviyelerine sahiptir. Yaklaşık olarak yetişkinlerde 100 µg dL⁻¹, çocuklarda ise 80 µg dL⁻¹ kan kurşun değerlerinde ciddi böbrek hasarlarının olduğu belgelenmiştir¹⁸.

2.1.3. Kurşun Maruziyetinin Üreme Sistemi ve Fötal Dolaşım Üzerindeki Etkileri

Kurşun maruziyetiyle erkeklerde libido azalması, iktidarsızlık ve kısırlık, kadınlarda anormal menstrual sikluslar çok sık görülür. Anne ve babası kurşuna maruz çocuklarda doğum hataları, zihinsel gelişim geriliği, davranış bozuklukları ya da çocuk bir yaşına gelmeden gerçekleşen ölümler sıkça görülür¹⁹.

2.1.4. Kurşunun Sinir Sistemi Üzerindeki Etkileri

Kurşun maruziyetinden hem periferik hem de merkezi sinir sistemi yoğun olarak etkilenir. Gözlenen başlıca etkiler ensefalopati ve periferik nöropatidir. Kurşun ensefalopatisinin başlıca belirtileri; karamsarlık, sinirlilik, huzursuzluk, başağrısı, hafıza kaybı, kas titremeleri ve koordinasyon bozukluklarıdır. Bu belirtiler yüksek maruziyetlerde ($125 \mu\text{g dL}^{-1}$) şiddetli istemsiz kasılmalar, koma ve hatta ölüme kadar gidebilir¹⁸.

2.1.5. Kurşunun Genotoksik Etkisi

1987 tarihli IARC (International Agency for Research on Cancer) raporunda, kurşunun kromozomal aberasyonlarda zayıf indükleyici ve kurşun bileşiklerinin rodentlerde karsinogenik olduğu belirtilir. IARC'ye göre kurşun, insanlarda muhtemelen karsinogeniktir, deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda yeterli verinin bulunmasına karşın insanlar üzerinde yapılan karsinogenite çalışmalarıyla yeterli verinin sağlanamaması nedeniyle bu konuda kesinlik yoktur¹⁹. Birçok çalışmada genotoksik etkileri belirtilmesine karşın kurşunun genetik materyalle etkileşiminin mekanizması tam olarak bilinmemektedir.

2.1.6. Kurşunun DNA Onarım Mekanizması Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmalarda kurşun maruziyetiyle özellikle karaciğer, böbrek ve akciğerde DNA sentezinde artış belirlenmiştir. DNA sentezindeki bu artışın anormal DNA'ların sentezlenmesine neden olabileceği düşünülmüştür²⁰.

2.2. Diyaliz ile Tedavi Yöntemleri ve Bu Yöntemlerde Kullanılan Çözeltiler

Kronik böbrek yetmezliğinde peritonal diyaliz ve hemodiyaliz yöntemleri kullanılır. Diyaliz çözeltisinde sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, asetat, bikarbonat, klorür iyonlarının yanısıra tampon olarak asetat veya bikarbonat bulunur.

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda fazla suyun uzaklaştırılması gerekir. Bu amaçla diyaliz çözeltisine ilave edilen glukoz, diyaliz çözeltisinin ozmotik basıncını arttıracığından kandan suyu osmoz ile çeker.

2.2.1. Peritonal Diyaliz Yöntemi

Normal böbrekte glomerüler filtrasyon alanı 1.8 m^2 iken periton yüzeyinin 2.2 m^2 oluşu periton yüzeyinin diyaliz için uygun ve yeterli bir yüzey olduğunu göstermektedir^{21,22}.

Peritonal diyaliz çözeltileri steril, pirojensiz olarak tıpkı büyük hacimli parenteral çözeltiler gibi hazırlanır ve 37°C 'ye kadar ısıtılır. Seyreltilmeden periton boşluğuna aseptik koşullarda kateter yardımı ile verilir. Abdominal boşlukta 1 saat tutulur sonra tekrar boşaltılır^{21,22}. Diyaliz hastasının diyalizi hijyenik koşullara uymak koşulu ile kendi kendine yapabilmesi, elektrik ve suya gerek kalmadan her yerde yapılabilmesi, kan kaybı olmaması, vasküler girişimlere gerek kalmaması, diyet kısıtlamasının minimal olması, diyaliz malzemelerinin kolay taşınabilir olması da bu uygulama için oldukça büyük avantajdır²¹⁻²⁵. Ayrıca diyabetli hastalarda hipotansiyon oluşturma riski daha az olduğu için tercih edilen bir yöntemdir. Fakat kandan toksik maddelerin atılma hızı hemodiyaliz yöntemine göre 4 kez daha azdır. Hemodiyaliz günde en fazla 4 saat uygulanabilirken periton diyaliz 24 saat boyunca

uygulanabilir^{26,27}. Hergün 4-5 kez değişim yapılması sonucu yüksek peritonit riski mevcuttur ve hasta sürekli kateter taşımak zorundadır^{21,23}. Hijyenik koşullar bu açıdan çok önemlidir.

2.2.2. Hemodiyaliz Yöntemi

Hemodiyaliz yöntemi peritonal diyaliz yönteminden daha yaygın olarak kullanılır ve hasta açısından daha ekonomik bir yöntemdir. Çünkü hemodiyaliz yönteminde kullanılan çözeltiler değişik stok çözeltiler halinde ve sterilize edilmeden üretilmektedir. Bu yöntemde hemodiyaliz çözeltisi ile kan arasındaki madde değişimini sağlayan yarı geçirgen bir membran bulunur. Aralarında membranın bulunduğu bu iki sıvı belirli bir hızda ters yönde sevk edilerek maksimum derişim farkı oluşturulur. Böylece membran ile kan arasındaki kütle transferinde maksimum akış sağlanır.

Hemodiyaliz uygulamasında hastanın kanı vücut dışında diyalizatla direkt temas etmeden diyalizör aracılığı ile gerçekleştiği ve stok çözeltileri mikroorganizmaların barınamayacağı ve üreyemeyeceği kadar yüksek derişimde tuz içerdiği için hemodiyaliz çözeltilerinin sterilize edilmesine gerek yoktur. Fakat mikroorganizma sayısı ve pirojenik materyal içeriği açısından AAMI²⁸ (Association for the Advancement of Medical Instruments) tarafından belirtilen sınır değerlerini aşmaması gerekmektedir²⁹⁻³¹.

Diyaliz tekniğinin mekanizması difüzyon, ultrafiltrasyon ve osmoza dayanır. En etkin mekanizma difüzyondur.

2.2.3. Derişik Hemodiyaliz Çözeltilerinin Üretiminde ve Seyreltilmesinde Kullanılan Suların Üretim Yöntemleri ve Taşınması Gereken Özellikler

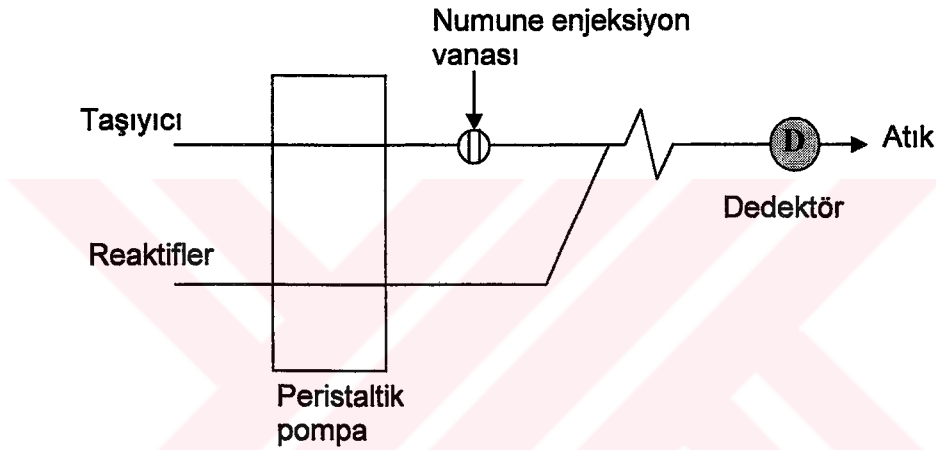
Hemodiyaliz çözeltisinin üretiminde kullanılan saflaştırılmış suyun içme suyu kalitesinde olması gerekmektedir. Genellikle iki yöntem önerilir. Bunlar damıtma ve ters osmoz yöntemleridir. Gerek kuruluş maliyeti, gerekse su maliyeti açısından daha elverişli olduğundan yaygın olarak kullanılan yöntem ters osmoz yöntemidir³²⁻³⁴. Optimum sonuç alınabilmesi için her iki yöntemde de aynı ön arıtma sistemlerinin kurulması gerekir³². Derişik hemodiyaliz çözeltilerinin hazırlanmasında ve seyreltilmesinde, iyon değıştirici reçine kolonlarından geçirilerek elde edilen deiyonize su kullanıldıysa da, günümüzde özellikle mikrobiyolojik kirlilik ve pirojenite nedeni ile deiyonize suyun bu amaçla kullanılmasına izin verilmemektedir. Deiyonize su sistemlerine ters osmoz veya ultrafiltrasyon sistemi eklenerek hemodiyalizde kullanılacak sular elde edilebilir³². Hemodiyaliz çözeltisinin üretiminde kullanılan saflaştırılmış suda metal derişimleri Tablo'1 de verilmiştir.

Tablo 1. Diyaliz Çözeltisinin Hazırlanmasında Kullanılan Suların İçerisinde Bulunan Kontaminantların Müsaade Edilen Maksimum Derişimleri²⁸

Element	Maksimum Derişim ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Maksimum Derişim ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
	<i>AAMI</i>	<i>Avrupa Farmakopesi</i>
Kalsiyum	2	< 2
Magnezyum	4	< 2
Potasyum	8	< 2
Sodyum	70	< 50
<i>Toksik Maddeler</i>		
Arsenik	0.005	-
Baryum	0.01	-
Kadmiyum	0.001	-
Krom	0.014	-
Kurşun	0.005	-
Civa	0.0002	< 0.001
Selenyum	0.09	-
Gümüş	0.005	-
Aluminyum	0.01	0.01
Amonyum	-	0.2
Kloraminler	0.1	-
Serbest Klor	0.5	0.1
Klorür	-	50
Bakır	0.1	-
Florür	0.2	0.2
Nitrat	2	2.0
Sülfat	100	50
Çinko	0.1	0.1
Ağır Metaller	-	0.1

2.3. Akışa Enjeksiyonlu Sistemler

Akışa enjeksiyon yöntemleri günümüzdeki kullanım şekliyle 1970'li yılların ortalarında Danimarka'da Ruzicka ve Hansen tarafından geliştirilmiştir³⁵. Akışa enjeksiyon analizlerinde kullanılan düzeneklerden en basit olanı şekilde gösterilmiştir.



Şekil 1. Akışa Enjeksiyon Sisteminin Temel Düzenegi.

2.3.1. Akışa Enjeksiyon Düzeneginin Temel Bileşenleri

Akışa enjeksiyon düzeneklerini oluşturan bileşenler a) Akış sağlayıcı sistem, b) Numune enjeksiyon ünitesi, c) Taşıyıcı kanal ve reaktörler, d) Dedektör olmak üzere dört temel kısımda incelenebilir.

a. Akış sağlayıcı sistemler

Akışkanların akışa enjeksiyon düzeneginde hareket ettirilmesinde gravitasyon, peristaltik pompa, basınçlı gaz, çeşitli pompalar, elektroozmotik akış gibi farklı mekanizmalar kullanılabilir³⁵.

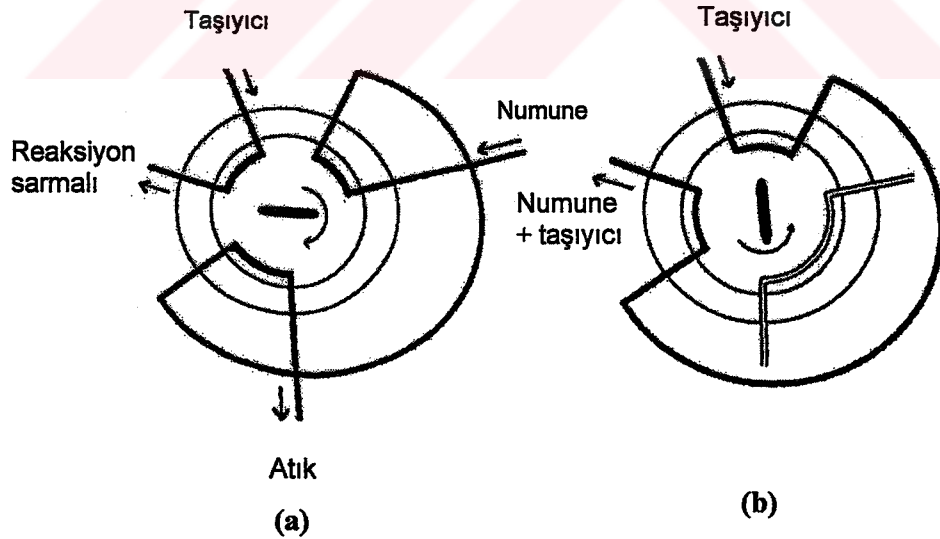
Akışa enjeksiyon analizlerinde (FIA) çözelti genellikle bir peristaltik pompa yardımı ile sistem boyunca taşınır. Peristaltik pompa bir motor vasıtası ile döndürülen ve çeşitli sayıda dönebilen silindirik miller içeren döner başlık kullanır. Döner başlık hareket ettirildiğinde silindirik miller ile döner başlığa simetrik yarım daire şeklinde pürüzsüz bir yüzey arasına yerleştirilmiş esnek peristaltik pompa borusunu sıkıştırır ve diğer uçtaki sıvının emilerek basılmasını sağlar. Akış hızı, döner başlığın dönme hızı ve kullanılan peristaltik pompa borularının iç çapı ile kontrol edilir. Pompa bilgisayar kontrollü olabilir. Peristaltik pompaların en zayıf noktası sağladıkları akışın puls içermesidir. Modern pompalarda pulsun minimize edilmesi için silindirik millerin sayısı 8-10 adettir. Çok küçük pulsaların dahi analitik sinyali etkilediği durumlarda puls azaltıcı aparatlar kullanılır. Diğer bir problem ise peristaltik pompa borularının kullanılan reaktiflerden etkilenmesidir. Tüm reaktiflere inert bir boru malzemesi mevcut değildir. Dolayısı ile kullanılacak reaktiflere göre pompa borusu seçilmelidir. Çok aşındırmayan reaktifler için polivinil klorür (PVC), Tygon borular kullanılabilir. Bazı PVC türevleri organik çözücülerin bir kısmına dirençlidir (solvaflex). Silikon borular hem organik çözücüler hem de asitler için kullanılabilir. Floroplast borular ise derişik asitler ile çalışmaya uygundur. Aynı anda 1-24 veya daha çok kanaldan çözelti pompalayacak şekilde tasarlanmış peristaltik pompalar mevcuttur³⁶.

b. Numune enjeksiyon sistemleri

Akışa enjeksiyon düzeneklerinde numune enjeksiyon sistemleri, numunenin tamamen tekrarlanabilir bir şekilde ve hacimde, taşıyıcının akış hızını değiştirmeden akış halindeki sisteme girmesini amaçlar. Buna ek olarak enjeksiyon sistemi otomasyona uygun, hızlı ve farklı hacimlerle çalışmaya uygun olmalıdır. Numunenin

akan sıvıya eklenmesinde temelde iki yaklaşım mevcuttur; sabit hacim ve sabit zaman. Günümüzde sabit hacimde yapılan enjeksiyonlar daha yaygındır.

Çeşitli tiplerde enjeksiyon vanaları olmasına rağmen 6 geçişli döner vanalar akışa enjeksiyon sistemlerinde en çok kullanılan vanalardır. Vana yükleme pozisyonunda iken, hacmi bilinen bir halka numune ile doldurulur. Bu esnada taşıyıcı çözelti vananın bir ucundan girip diğer ucundan çıkarak numune ile etkileşmeden sisteme katılmaktadır. Vana enjeksiyon pozisyonuna getirildiğinde halka içindeki numune akış halindeki taşıyıcı tarafından sürüklenir. Bu tip döner vanaların yaygınlık kazanması enjekte edilen numune hacminin tekrarlanabilir olması, kullanım kolaylığı, manuel veya otomatik sistemlerle kullanıma uygun olmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 2. 6-Geçişli Enjeksiyon Vanasının Çalışma Prensibini Gösteren Açık Şekli³⁵.

(a) Numune halkasına yükleme pozisyonu. (b) Enjeksiyon pozisyonu.

c) Taşıyıcı kanal ve reaktörler

Taşıyıcı kanalların fonksiyonu, akış sistemindeki reaktiflerin dedektörde tayin edilecek forma dönüştürülene dek gerekli tüm analitik işlemlerin yapılması için çözeltilerin taşınması ve farklı kanallar arasında bağlantıların sağlanmasıdır. Bu amaçla 0.35-1.0 mm iç çaplı PTFE tüpler kullanılır. Analitik işlemler reaktörlerde gerçekleştirilir. Reaktörler genellikle taşıyıcı kanallarla aynı iç çapta PTFE tüplerdir. İki veya daha fazla reaktifin tekrarlanabilir ve verimli bir şekilde karışmaları sağlanmaktadır. Karıştırma verimliliğinin artması için genellikle sarmal, örgülü veya düğüm halinde bağlanırlar. Akışa enjeksiyon düzeneklerinde taşıyıcı kanalların birleştirilmesi genellikle T bağlantısı ile sağlanır. Karıştırma verimliliğini arttırmak için tasarlanmış Y ve W bağlantı noktaları da mevcuttur.

d) Dedektörler

Akışa enjeksiyon analizi metodolojisinin önemli bir avantajı özel dedektör sistemi ile kısıtlı olmamasıdır. Alışılmış uygulamalardan farklı olarak dedektör sisteminde uygun geometri ve boyutlarda akış hücreleri gerektirir. Birçok FIA konfigürasyonunda dedektör, numune enjeksiyon vanasından sonra gelmektedir. Analit doğal formunda veya türevlendirme reaksiyonlarından sonra dedektöre ulaşır. Dolayısı ile numuneden analitik bilgi içeren sinyalin gözlenebilmesi için enjektör, reaktör ve dedektör sıralaması kullanılır. Çok az da olsa dedektörün konumunun farklı olduğu, örneğin numune halkasında veya kapalı sistemde pompa ile enjektör arasına yerleştirildiği, çalışmalar da mevcuttur^{35,36}.

FIA düzenekleri ile kullanılan dedektörler, optik dedektörler (UV-VIS moleküler absorpsiyon, IR absorpsiyon, atomik teknikler, luminesans, optik

rotasyon), elektrokimyasal dedektörler, kütle spektrometreleri gibi çok çeşitlilik göstermektedir.

2.4. Eser Miktarda Kurşun Tayininde Kullanılan Teknikler

2.4.1. Elektrotermal Atomlaştırmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (ETAAS) Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları

Elektrotermal atomlaştırmalı atomik absorpsiyon spektrometri (ETAAS) eser miktarda kurşun tayinde en çok kullanılan analitik tekniktir. Fakat alkali klorürler içeren numunelerde çeşitli girişim etkileri nedeniyle derişik diyaliz çözeltileri gibi numunelerde Pb tayinini imkansız kılmaktadır. Tuzlu ortamlarda ETAAS ile Pb tayininde oluşan girişimler³⁷⁻⁴⁰;

- I. Piroliz aşamasında analitin uçucu bileşikler oluşturarak kaybı,
- II. Analitin matriks klorür mikrokristallerine emilimi sonucu atomlaştırma basamağında atomlaşma kinetiğinin yavaşlaması,
- III. Atomlaştırma sırasında gaz formuna geçen matriks bileşenlerinin genişterek analiti ölçüm hücresinin dışına taşması,
- IV. Analit klorürlerin yoğunlaşmış faz veya gaz faz oluşturması,
- V. Analitik dalga boyunu absorplayan moleküllerin, metal klorürlerin oluşmasıdır.

Kalsiyum ağırlıklı matrikslerde de kalsiyumun kontakt silindirlerde birikmesi sonucu girişim gerçekleşmektedir⁸. Bu tür problemlerin üstesinden gelebilmek için ekstraksiyon, adsorpsiyon, birlikte çöktürme^{41,42}, distilasyon, elektrokimyasal zenginleştirme, önzenginleştirme⁴³⁻⁴⁷, ayırma^{48,49} gibi ön işlemler uygulanarak analit zenginleştirilir ve/veya matriks uzaklaştırılır. Bu işlemler oldukça uzun süren kimyasal işlemler gerektirdiği gibi, analit kaybı ve numune kirlenmesi gibi çeşitli

dezavantajları da vardır. Kimyasal değıştirci^{50,51} kullanımı da kısıtlı çözüm getirebilecek bir yaklaşımdır. Grafit fırında ortaya çıkabilecek muhtemel kimyasal girişimlerin etkilerini azaltmak için i. Zemin düzeltmesi ii. Sabit sıcaklık fırını iii. Grafit platform iv. Probe v. Kapasiteli boşalım ısıtma (capacitive discharge heating) veya kararlı sıcaklık platform fırını (STPF)³⁷, çift buharlaştırmalı-iki aşamalı elektrotermal atomlaştıracı⁵² veya çapraz (transverse) ısıtmalı filtre atomlaştıracı⁵³ gibi tekniklerin kullanımı önerilmektedir.

ETAAS'de NaCl matriksinden kaynaklanan zemin sinyali ve girişimlerin azaltılması için NaCl'ün uzaklaştırılması gerekir. Pritchard ve Reeves⁵⁴ 700 °C'nin üzerindeki sıcaklıkta, birkaç dakikada NaCl'ün grafit tüpün sıcak duvarlarından uzaklaştığını göstermişler, Nakahara ve Chakrabarti⁵⁵ bunun için 950 °C'nin gerekli olduğunu göstermişlerdir. Castro ve grubu⁵⁶ diğer metal klorürlerin ve nitratların aksine NaCl dağılımının bağıl olarak platform yüzeyinde daha büyük tanecikli olduğunu ve NaCl'ün yaklaşık 950 °C sıcaklığa kadar grafit yüzeyde kaldığını ve daha sonra buharlaştığını belirtmişlerdir. Eğer ortamda proton mevcutsa NaCl moleküllerinin daha düşük sıcaklıklarda parçalandığını veya buharlaştığını söylemişlerdir. Hoeing ve grubu⁵⁷ deniz suyundan tuzların uzaklaştırılması için külleme sıcaklığının 1100-1300 °C'den fazla olması gerektiğini, 1700 °C'de bile grafit tüpte NaCl bulunabileceğini belirtmişlerdir. Tuz matriksinden gelebilecek muhtemel girişimlerden kaçınabilmek için yüksek külleme sıcaklığı gerekmektedir⁵⁰. Yüksek külleme sıcaklıklarında ise analitin matriks ile birlikte kaybı gerçekleşebilmektedir.

2.4.2. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometri (ICP-MS) Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları

İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometri eser ve ultra eser metal tayinlerinde ($\mu\text{g L}^{-1}$ - ng L^{-1}) kullanımı yaygınlaşan diğer bir yöntemdir. Yüksek duyarlılığı, multielement tayin özelliği, izotop tayinlerinin yapılabilmesi gibi oldukça önemli avantajları mevcuttur. ICP-MS ile tuz içeren ortamlarda yapılan çalışmalar genellikle deniz suyu numunelerinde yoğunlaşmıştır. Deniz suyunda en önemli matriks bileşeni sodyum klorürdür. Bu nedenle sodyum klorür matriksinde yapılan çalışmalarda karşılaşılan problemlere değinmekte fayda görülmüştür.

Deniz suyunun herhangi bir ön işlem yapılmadan ICP-MS'e püskürtülmesi çeşitli girişimlere neden olmaktadır⁵⁸. Bu girişimler;

- I. Plazma ile kütle spektrometre arasındaki numune girişi konisinde biriken matriks bileşenleri, koni girişini tıkamakta ve analit aktarımını azaltarak sinyalin zaman içinde düşmesine neden olmaktadır.
- II. Matriks/analit oranının çok yüksek olduğu durumlarda, iyon lenslerinde boşluk yükü (space charge) etkisi nedeni ile özellikle düşük kütleli iyonların tayininde girişim yapmaktadır.
- III. Plazmada aşırı miktarda kolay iyonlaşan elementlerin varlığı, plazmanın iyonlaştırma potansiyelini azaltarak sinyalin bastırılmasına neden olmaktadır.
- IV. Bir çok geçiş elementlerinde, poliatomik iyonlar oluşturarak spektral örtüşmeye neden olmaktadır.

Girişim yapan iyonlar genellikle deniz suyunda bol miktarda bulunan sodyum, klorür, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve karbon bileşikleridir. Plazmayı

oluşturan argon iyonları da matriks kaynaklı iyonlar ile poliatomik iyon girişimleri oluşturmakta ve sonuçta 10-100 kat hatalı analiz sonuçları elde edilmesine neden olabilmektedir⁵⁸. Space-charge etkilerini azaltmak için son zamanlarda kullanılan en ilginç yaklaşım ekstraksiyon lensleri ile sıyırıcı (skimmer) konisi arasında elektron derişimini arttırmaktır⁵⁹. Fakat bu sadece space-charge etkilerinden kaynaklanan analit sinyalinin bastırılmasını engellemekte etkilidir, bu yöntemle sinyal artışlarının nedeni açıklanamaz. Spektroskopik girişimler yüksek ayırmalı kütle spektrometre kullanarak çözülebileceği gibi dinamik reaksiyon hücresi, çarpışma/reaksiyon hücresi veya taşıyıcı gaza ilave edilen moleküler gazın bulunduğu karıştırılmış-gaz plazmaları kullanarak azaltılabilir⁶⁰. Fakat bu yaklaşımların hiç biri spektroskopik olmayan girişimleri etkilemediği için alternatif kalibrasyon stratejilerinin kullanılması gereklidir⁶¹. Sodyum klorür matriksinin ICP-MS ölçümlerinde neden olduğu spektral olmayan girişimler bir çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir⁶²⁻⁶⁶. Fakat bu çalışmalarda girişimlerin etkileri konusunda fikir birliği oluşmamıştır. Aynı matriks derişimi için (1 g L⁻¹ Na) ve aynı analit elementi için sinyalin % 60 bastırıldığı ya da % 100 arttırıldığı yönünde farklı sonuçlar gösteren yayınlar mevcuttur⁶⁰. Girişimlerin mekanizmalarının açıklanmasına yönelik çalışmalar da mevcuttur⁶⁷⁻⁷⁰. Fakat ortak bir görüş oluşmamıştır. Bütün çalışmalarda varılan ortak sonuç ise matriks etkisinin çalışma koşullarına bağlı olduğudur⁶⁰.

2.4.3. Elektrotermal Buharlaştırma-İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometri (ETV-ICP-MS) Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları

Yüksek oranda çözünmüş katı içeren numuneler, indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometri (ICP-MS) kullanarak eser elementlerin direkt çözelti püskürtme ile tayinini engeller. Ara yüzeylere taşınan matriks iyonları iyonlaşma ve boşluk yük

etkisi (space charge effect) ile büyük ölçüde sinyalin bastırılmasına sebep olurlar. Bu tür numunelerde ICP-MS ile tayinde matriksin ayrılması ve/veya önzenginleştirme işlemlerine gerek duyulur. Elektrotermal buharlaştırma, numunenin ICP-MS'e aktarılmasında kullanılan alternatif bir yöntemdir. Yöntem grafit tüpteki termal önişlem ile analitin tuz matriksinin yerinde ayrılmasına imkan sağlar⁷¹.

Elektrotermal buharlaştırma tekniği ile indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometri birleştirildiğinde, μL hacimli numuneler ile analiz imkanı ve düşük gözlenebilme sınırı sağlar. Özellikle püskürtmeli ICP-MS ile tayinlerde girişim yaratacak matrikslerde, doğrudan püskürtülmesi mümkün olmayan numunelerde (kan, yüksek vizkositeli sıvılar, toplam çözünmüş madde miktarı yüksek çözeltiler ve katı numuneler gibi) uygun sıcaklık programı ve kimyasal değiştiriciler kullanarak matriksin analitten ayrılması işleminin grafit tüpte gerçekleştirilmesi, böylece ICP-MS tekniğinde girişimlerin azaltılması hedeflenir. ETV-ICP-MS'te engellenmesi güç en önemli girişimler düşük iyonlaşma potansiyeline sahip elementlerin sinyali bastırması, aktarma aşamasında analit buharının yoğunlaşması ve space-charge etkisidir. Ancak, ETV ile numune aktarılmasında, matriksin piroliz aşamasında uzaklaştırılmasının mümkün olduğu durumlarda avantaj sağlamaktadır. Kurşun için ise kullanılabilecek piroliz sıcaklıkları NaCl matriksinin uzaklaştırılmasına uygun değildir. Akışa enjeksiyon ve ETV gibi kesikli numune aktarma yöntemleri, sürekli püskürtülerek yapılan analizlere göre plazmaya ve kütle spektrometrenin konisine ulaşan toplam sodyum klorür miktarını azaltarak tıkanmayı engelliyorsa da sinyalin izlendiği integrasyon süresinde plazmadaki matriks (NaCl) derişiminin yüksek olması nedeni ile plazmanın fiziksel özelliklerinin değişmesini engellememektedir. Ayrıca oldukça karmaşık, pahalı ve kesinliği göreceli olarak düşük bir tekniktir.

Yüksek klorür matrisinde kurşun tayini için analit, kurşun klorür molekülü olarak klasik ETAAS'deki kurşun atomlaştırma sıcaklığından daha düşük sıcaklıkta buharlaştırılabilir ve plazmada 283.3 nm dalga boyunda atomik (kapasitif olarak eşleşmiş plazma atomizasyon, CCP) çizgisi üzerinden tayin edilir⁴⁰. Kurşun klorürün yüksek klorürden tercihli buharlaştırılması temiz zemin sinyaline sebep olur. Buhar faz girişimi engellenir çünkü plazma buharlaşmış kurşun klorürü ayrıştırır ve kurşun ve klorürün bir araya gelmesini engeller. Ancak sinyal izlendiği süre içinde plazmaya ulaşan matrisin plazmanın fiziksel özelliklerinin kontrol altında tutulması gereklidir.

2.4.4. Hidrür Oluşturmalı İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon/Kütle Spektrometri (HG-ICP-AES/MS) Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları

Eser element analizinde hidrür oluşturma verimli bir yöntemdir. Hidrür oluşturma işlemleri süresince analit hidrür olarak biriktirilirken aynı zamanda matriksten de ayrılmış olur. Bu yüzden hassasiyet ve gözlenebilme sınırı iyileştirilirken spektral girişimler de azaltılır. Alkali ve toprak alkali gibi kolay iyonlaşan elementler varlığında doğru akım plazma atomik emisyon spektrometri (DCP-AES) ile eser metal tayinlerinde analitik sinyallerde genellikle artış görülür. Bu da farklı numune matrislerinde farklı derişimlerdeki kolay iyonlaşan elementler varlığında DCP-AES ile doğru tayin yapmayı zorlaştırır. Kolay iyonlaşan elementlerin sebep olduğu girişimleri azaltmak için çeşitli yöntemler kullanılabilir. Bunlar; i. Numune, kör ve standartların matrikse benzetilmesi, ii. Standart veya iç standart katma, iii. Kolay iyonlaşan element tamponları, iv. İyon değıştiricilerle kolay iyonlaşan elementlerin uzaklaştırılması. Kolay iyonlaşan elementlerin neden

olduğu sinyal artışı, bu elementlerin elektron verme eğilimlerinin yüksek olması sonucu plazmada iyonlaşan analit miktarındaki azalmadır. Fakat daha sonra yapılan çalışmalarda kolay iyonlaşan elementler varlığında atomik ve iyonik emisyon şiddetindeki artışın elektron yoğunluğundan çok fazla etkilenmediği belirtilmiştir. Hidrür oluşturma ve doğru akım plazma birlikte kullanıldığında kolay iyonlaşan element girişiminin hidrür oluşturan elementlerin gözlenebilme sınırı ve hassasiyet artışına olumlu katkısı vardır. Kurşun tayininde Ca, Sr ve Ba analit sinyalini arttırırken, Mg'un sinyali bastırdığı görülmüştür⁷².

Hidrür oluşturma, atomik spektrometrik analitik yöntemlerin hassasiyetini arttırmada analitin gaz fazında aktarılması için kullanılan ve geniş oranda kabul görmüş bir yöntemdir. Bu yöntemle analit aktarma özellikle indüktif eşleşmiş plazma kütle atomik emisyon spektrometri için yararlıdır. Çünkü tipik sisleştirciler %1-2 verimle çalışırken hidrür oluşturarak hassasiyette 10'un katları şeklinde artış sağlanır.

Temprano ve grubunun⁷³ indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometri ile yaptığı çalışmada setiltrimetilamonyumbromür (CTAB) veya heksadesildimetilamonyumbromür miselleri kullanımının kurşun hidrür (plumbane) oluşum hızını arttırdığı gözlenmiştir.

ICP-MS'te analit plazmaya genellikle pnömatik sisleştirci kullanarak aerosol formunda gönderilir. Pnömatik sisleştirci ile düşük aktarma verimliliği, matriks etkisi ve numune giriş deliklerinin tıkanması gibi sorunlar ortaya çıkar. Numunenin gaz halinde gönderildiği hidrür oluşturmali ICP-MS hidrür oluşturan elementler için (As, Se, Sn, Te, Sb, Ge, Bi, Pb) sıkça kullanılmaktadır. Pnömatik püskürtme ile karşılaştırıldığında hidrür oluşturma, tayini hedeflenen elementlerin plazmaya

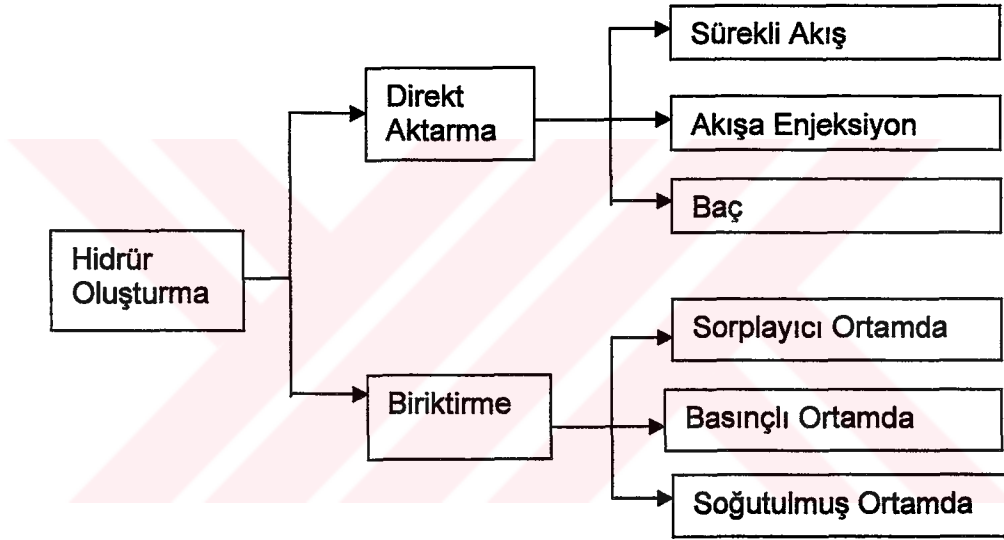
aktarılmasında verimlilik artışı ve bunun sonucu duyarlık artışı sağlanmaktadır. Ayrıca analitin seçici olarak gaz fazına alınıp matriksten ayrılması girişimleri azaltmaktadır. İlk çalışmalar arsenik ve selenyum gibi kolay hidrür oluşturan elementler üzerine yoğunlaşırken, kurşun ile ilgili çalışmalar daha azdır⁷⁴. Hidrür oluşturmali ICP-MS girişimlerin engellenmesi ve duyarlılık açısından avantajlar sağlamakla birlikte, hidrür oluşturan elementlerin farklı kimyasal ortam gerektirmeleri multielement çalışmayı engellemektedir.

2.4.5. Anodik Sıyırma Voltametri Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları

Kurşun tayininde kullanılan diğer bir yöntem de anodik sıyırma voltametridir. Bu yöntemde analit genellikle karıştırılan bir çözeltide önce bir mikroelektrot üzerine biriktirilir. Hassas şekilde ölçülen bir süre sonunda elektroliz ve karıştırma durdurulur. Anodik sıyırma yöntemlerinde mikroelektrot, biriktirme basamağı sırasında bir katot olarak; analitin ilk haline tekrar yükseltgendiği sıyırma basamağında da bir anot olarak davranır. Biriktirme basamağında, analit elektrokimyasal olarak önzenginleştirildiğinden düşük gözlenebilme sınırı sağlar. Derişik diyaliz çözeltilerinin anodik sıyırma voltametri ile analizinde, analit doğrudan veya matriks uzaklaştırıldıktan sonra tayin edilebilir. Fakat bu tip numunelerde anodik sıyırma voltametri ile doğrudan analiz çok zaman alıcı bir tekniktir. Her ölçüm sonrası elektrodun ve hücrenin en az bir gece temizlenmesi gerekmektedir⁴⁴. Fagioli ve grubunun⁷⁵, diyaliz çözeltilerinde Diferansiyel Pulse Anodik Sıyırma Voltametri ile yaptıkları çalışmada kurşun ve kadmiyum analizinde standart katma yönteminin gerekli olduğu görülmüştür.

2.4.6. Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri

Hidrür oluşturma yöntemi iki şekilde sınıflandırılabilir⁷⁶: i. Numune çözeltisinden açığa çıkan hidrürün atomlaştırıcıya doğrudan gönderildiği direkt aktarma yöntemi, ii. Hidrürün toplama bölümünde tuzaklandığı ve daha sonra hepsinin birden atomlaştırıcıya gönderildiği biriktirme yöntemi. Şekil 3'te iki yöntemin de çeşitleri gösterilmiştir.



Şekil 3. Hidrür Oluşturma Yöntemleri

Sürekli akış sistemlerinde sabit hızla akan numune çözeltisi yine sabit hızla akan tetrahidroborat çözeltisi ve taşıyıcı gaz ile karıştırılır. Sıvı ve gaz ayrıldığında gaz fazında metal hidrür, hidrojen gazı ve taşıyıcı gaz atomlaştırıcıya yönlendirilir. Sıvı ise atık kısmından gravitasyon veya pompa yardımıyla atılır. Akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturmada sistem sürekli akış sistemine çok benzemekle birlikte numunenin sürekli olarak pompalanması yerine sabit akışta taşıyıcı asit çözeltisine enjekte

edilir. Bilinen hacimde numune, taşıyıcı asit akışına enjekte edildiğinde, asit çözeltisi ile birlikte taşınarak sürekli akış sisteminde olduğu gibi tetrahidroborat ile karıştırılır.

Sürekli akış hidrür oluşturma sistemleri 1973 yılında önerilmiş⁷⁷, kısa sürede hidrür oluşturma sisteminin en önemli parçası olmuştur. Akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturma sistemi ilk defa 1982'de Aström⁷⁸ tarafından açıklandı. Sürekli akış sistemlerinin bazılarında numune ve asit ayrı kanallardan gönderilir ve reaksiyon sarmalında karıştırılır. Fakat bir çok durumda numune asit içinde hazırlanır. Her iki yöntemde de asitlendirilmiş numune veya taşıyıcı asit çözeltisi indirgeyici çözelti ile karıştırılarak hidrür oluşumuna yeterli süre tanınması için reaksiyon sarmalından geçirilir. Taşıyıcı gaz, reaksiyon sarmalı ile enjeksiyon vanası arasında veya gaz sıvı ayırıcısından eklenir. Birçok tasarımda, taşıyıcı gaz ikiye bölünerek hem reaksiyon sarmalından önce hem de gaz sıvı ayırıcısına bağlanır. Taşıyıcı gazın reaksiyon sarmalında oluşan hidrürün gaz fazına geçmesine katkısı olduğu düşünülmektedir. Taşıyıcı gazın akış hızı deneysel yolla seçilir. Reaksiyon sarmalı veya taşıma amaçlı kullanılan borularda ve bağlantı noktalarında kullanılan malzemelerin iç çapı genellikle 0.3-1.0 mm arasındadır. Dar boru çapları sistemdeki basıncı arttırmakta, geniş çaplı borular ise sistemin hacmini arttırarak analiz süresini uzatmakta ve kimyasal tüketimini arttırmaktadır. Sonuçta reaksiyon sarmalının uzunluğu analit hidrürünün salınım hızına, analitin türüne, asit değişimine ve numunenin bileşimine, tetrahidroborat değişimine, akış hızına, taşıyıcı gazın akış hızına, reaksiyon sarmalının iç çapına ve gaz-sıvı ayırıcısının geometrisine bağlıdır. Çok kısa reaksiyon sarmalları hidrür salınımının tamamlanamamasına, çok uzun reaksiyon sarmalı ise sıvı faz girişimlerine neden olabilmektedir. Dolayısıyla reaksiyon sarmalının uzunluğu deneysel olarak optimize edilmelidir. Akıştaki düzensizlikler sinyalin tekrarlanabilirliğini önemli ölçüde etkilediğinden sistemde

oluşan aşırı miktarda hidrojen gazının neden olduğu basınca bağlı düzensiz akışın minimize edilmesi oldukça önemlidir.

Çeşitli tipte gaz-sıvı ayırıcıları sürekli ve akışa enjeksiyonlu sistemler ile kullanılmıştır. Gaz-sıvı ayırıcıları genel olarak hidrostatik, emmeli ve membranlı olmak üzere üç sınıfa ayrılır. Hidrostatik gaz-sıvı ayırıcıları basitliklerinden dolayı en sık kullanılanlardır. Çoğunlukla U şeklinde olup, sıvı atık seviyesi atık borusu ile dengelenir. Sıvının fazlası sifon oluşturup atık borudan akar. Hidrostatik ayırıcıların bir dezavantajı basıncın yükseldiği durumlarda hidrürün taşıyıcı gaz ile birlikte kaçırılması ve ölü hacmin yüksek olmasıdır. Emmeli ayırıcılar genelde yüksek basınçlı ortamlarda daha iyi performans gösterirler ve ölü hacimleri daha küçüktür. Fakat reaksiyona girmiş çözeltilerin atık yolundan pompa bağlanarak emilmesi gerekmektedir. Atomlaştırıcı yoluna sıvı gitmemesi için emiş hızı reaktiflerin akışlarının toplamından bir miktar yüksek tutulmalıdır. Bu durumda gaz akış hızına bağlı olarak bir miktar hidrürün atık yoluna gitmesi nedeniyle analit kaybına neden olur. Membranlı ayırıcılar göreceli olarak yenidir, gazın mikroporoz yapıdaki membrandan difüz etmesi temeline dayanır. Çoğunlukla, sadece gaz geçirgen olan politetrafloroetilen (PTFE) veya silikon-lastik tüpler kullanılır. Böylece sıvı, membran tüp vasıtası ile atığa taşınırken argon ile taşınan hidrür membrandan difüz ederek atomlaştırıcıya taşınır ve membran hem reaksiyon sarmalı hem de gaz-sıvı ayırıcısı görevi görmektedir. Bu tip gaz-sıvı ayırıcısının önemli avantajı, diğer ayırıcılarda oluşan ve atomlaştırıcıya taşınan aerosolün oluşmamasıdır. Basınçlı ortamlarda ise membran ayırıcıların verimliliği emmeli sistemlere göre %50-60 oranına düşmektedir. Diğer bir dezavantajı ise çalışma öncesi membranın şartlanması için 15-20 ölçüm yapılması gerekmektedir ve membran tüpün ömrü yaklaşık 100 ölçüm civarındadır⁶⁹.

Hidrür oluşturma yöntemi olarak akışa enjeksiyonlu ve sürekli akış yöntemleri kullanım kolaylığı, otomasyona uygunluğu, duyarlılığı ile en uygun yöntemlerdir. Akışa enjeksiyon yönteminin sürekli akış yöntemine göre dezavantajı ise duyarlılığın biraz daha kötü olması ve sistemin biraz daha karmaşık olmasıdır. Fakat akışa enjeksiyonlu sistemler örnek hacminin artırılması ile kolaylıkla sürekli akış sistemine dönüştürülebilir. Baç tipinin avantajı ise çok daha basit bir düzenele kurulabilmesidir. Baç tipi, gaz-sıvı ayırıcısına benzer plastik veya camdan yapılmış reaktörden oluşur. Asitlendirilmiş numune baç reaktörün alt kısmına konur ve indirgeyici reaktif pompa veya enjektör yardımı ile numune üzerine gönderilir. Taşıyıcı gaz, reaktörün ya ölü hacmine ya da sıvı düzeyinin altına uygulanarak hidrürün reaksiyon karışımından süpürülmesi sağlanır. Açığa çıkan hidrür hidrojen gazı ile birlikte taşıyıcı gaz yardımı ile atomlaştırıcıya gönderilir. Hidrür oluşumu tamamlandıktan sonra reaksiyon karışımı atılır, reaktör temizlenir ve yeni numune ilave edilir. Akış sistemlerinde tekrarlanabilirliğin daha iyi olması ve ticari ürünlerin de akış sistemleri üzerine yoğunlaşmaları nedeniyle baç sistemlerinin kullanımı azalmıştır.

Zenginleştirme yöntemlerinden basınçlı toplama, baç ve sürekli akış biçimlerine göre önemli bir duyarlılık artışı sağlamaması ve oldukça karmaşık olması nedeniyle kullanılmamaktadır. Grafit fırında tuzaklama yöntemi daha basit ve ticari olarak mevcut elektrotermal atomlaştırıcı ile çalışılabildiğinden sıvı azot ile soğutulmuş ortamda tuzak sisteminin yerini almaktadır. Sıvı azot ile soğutulmuş ortamda zenginleştirmenin avantajı türlene çalışmalarına uygun olmasıdır.

2.4.6.1. Hidrürün Atomlaştırılması

Hidrür atomlaştırıcılarının en az seyreltme ile numune bileşiminden bağımsız olarak maksimum verimlilikle analit hidrürü serbest atomlara dönüştürmesi, serbest atomları ışık yolunda uzun süre tutabilmesi ve yüksek duyarlılık sağlayabilmesi beklenmektedir⁷⁶.

Atomik absorpsiyon spektrometre ile kullanılan hidrür atomlaştırıcıları;

- i. İnert gaz-hidrojen difüzyon alevleri
- ii. Grafit fırınlı atomlaştırıcılar
- iii. Kuvars tüp atomlaştırıcılar

2.4.6.1.1. İnert Gaz-Hidrojen Difüzyon Alevleri

Hidrür oluşturmali atomik absorpsiyon spektrometrinin geliştirildiği ilk yıllarda argon-hidrojen alevi yaygın olarak kullanılmıştır⁷⁹. Oluşturulan hidrür, taşıyıcı gaz ile birlikte aleve aktarılmıştır. Alevli atomik absorpsiyon spektrometrenin standart alev başlığının dışında bir düzenek gerektirmemektedir. Bu alev tipinin hava-asetilen alevine kıyasla avantajı, düşük dalga boylarında çalışılan hidrür elementlerinde zemin sinyalinin çok daha az olmasıdır. Buna rağmen zemin düzeltme tekniklerinin kullanımı zorunludur. Alevin kararlılığını artırarak gürültüyü azaltmak amacıyla yalıtılmış alev kullanılmıştır. Difüzyon alevinin hidrür ile kullanımında önemli bir dezavantaj ise hidrürün alev gazları ile önemli derecede seyrelmesidir. Bu nedenle günümüzde daha az zemin sinyali fakat daha yüksek duyarlılık sağlayacak atomlaştırıcılar tercih edilmektedir.

2.4.6.1.2. Grafit Fırınlı Atomlaştırıcılar

Grafit fırlınlı atomlaştırıcıların hidrür atomlaştırıcısı olarak kullanılması hidrür oluşturma tekniğinin geliştirildiğı ilk yıllara kadar uzanır. İlk uygulamanın yayınlanması 1973 yılındadır⁸⁰. Grafit fırın kullanımında iki yaklaşım mevcuttur. Bunlar; oluşturulan hidrürün grafit tüpte tuzaklanması ve sürekli atomlaştırma yöntemleridir.

a) Hidrürün grafit tüpte tuzaklanması

Ticari olarak mevcut grafit fırının tuzak yüzeyi ve atomlaştırıcı olarak kullanımı ilk kez Drasch ve grubu⁸¹ tarafından açıklanmıştır. Hidrür gaz-sıvı ayırıcısından taşınarak 200-600 °C'deki ısıtılmış grafit tüpte tuzaklanmış, daha sonra ise genellikle 2000 °C'nin üzerinde bir sıcaklıkta atomlaştırılmıştır. Atomlaştırma öncesi temizleme basamağı, su buharı ve hidrojen gazının uzaklaştırılması (600 °C de 20 sn), grafit tüpün ömrünün uzatılması (100-500 ölçüm) için gerekli görölmüştür.

Analit hidrürünün grafit tüpe aktarma kayıplarını minimize edecek ve normal grafit tüp atomlaştırmasındaki basamakları engellemeyecek şekilde taşınması gereklidir. Grafit tüpün iç yüzeyinin geometrisi, kalitesi, tuzak sıcaklığı, taşıyıcı gazın akış hızı, hidrür tuzağının verimliliğini etkileyen deneysel parametrelerdir. Oluşturulan hidrür, ticari grafit atomlaştırıcının internal gaz girişinden veya enjeksiyon deliğinden grafit, kuvars veya politetrafloroetilen uç takılarak grafit tüpün iç yüzeyine aktarılır.

Grafit tuzaklarda kaplanmamış grafit tüp, pirolitik kaplı, Zr kaplı veya Pd ile muamele edilmiş yüzeyler yaygın olarak hidrür tuzağı ve atomlaştırıcı olarak

kullanılmıştır. Pd ile muamele edilmiş yüzeyde anlamlı derecede duyarlılık artışı ve yüksek kesinlikte sonuçlar elde edilmiştir⁸².

Anlamlı duyarlılık artışı sağlaması, reaksiyon kinetiğinden etkilenmemesi, atomlaştırma girişimlerinin daha az olması gibi nedenlerden dolayı grafit tüp tuzaklamalı sistemler, tüm hidrürler için en avantajlı atomlaştırıcı olarak kabul edilmiş ve oldukça yoğun çalışılmıştır.

b) Grafit tüpün sürekli atomlaştırıcı olarak kullanımı

Bu yaklaşımda oluşturulan hidrür, atomlaştırma sıcaklığına ısıtılmış grafit tüpe doğrudan aktarılmaktadır⁸³. Sürekli akış hidrür oluşturma sisteminin grafit fırına bağlanmış tasarımlarının yanı sıra çoğunlukla sıvı azot ile soğutulmuş ortamda (krayojenik) toplama yöntemleri ile birlikte kullanılır. Oluşturulan hidrür, atomlaştırıcıya ticari olarak mevcut grafit fırınların internal gaz girişinden taşınmaktadır. Bu tasarım oldukça basit olsa da analit hidrürü soğuk metal ve grafit bağlantılarda yoğunlaşarak tutulabilmektedir. Alternatif yöntem ise hidrürü kuvars veya boronitrit tüpler ile enjeksiyon deliğinden göndermektir. Kuvars, bir gaz akışı ile soğutulduğunda uygun süreler için grafit fırının 2300 °C'ye kadar ısıtılmasına dayanabilmektedir.

Doğal olarak sürekli atomlaştırılmalı grafit fırın ile elde edilen duyarlılık, tuzaklamalı sisteme göre daha kötüdür. Atomlaştırma yöntemi olarak uygulamaları oldukça yenidir. Fakat hidrürün doğrudan aktarılmasında kaçınılmaz olarak grafit atomlaştırıcıya taşınan hidrojen gazı, fırının gaz çıkış noktalarında alev oluşturabilmekte ve 2000 °C'nin üstündeki sıcaklıklarda asetilen oluşmasına neden olmaktadır. Grafit tüpün ömrünü kısaltmanın yanında özellikle arsenik ve selenyum

elementlerinin çalışıldığı düşük dalga boylarında (193.7 nm - 196 nm) zemin sinyali oluşturmaktadır.

2.4.6.1.3. Kuvars Tüp Atomlaştırıcılar

Literatürde atomlaştırıcı olarak kullanılan değişik kuvars tüp tasarımları mevcuttur. Kuvars tüp atomlaştırıcılar genellikle atomik absorpsiyon spektrometrenin ışık yoluna yerleştirilmiş T-bağlantılı kuvars tüplerdir⁸⁴. Kuvars atomlaştırıcılar iki temel grupta incelenebilir.

a) Tüp içinde alevli atomlaştırıcılar

Dışarıdan ısıtılması gerekli değildir. Oluşturulan hidrür hidrojen gazı ile süpürülerek atomlaştırıcıya taşınır. Diğer bir bağlantıdan oldukça düşük akış hızında oksijen gazı gönderilerek T bağlantısında kılcal borunun ucunda hemen hemen gözle farkedilemeyecek küçüklükte bir hidrojen alevi oluşturulur⁸⁵.

b) Dışarıdan ısıtılmalı tüpler

Işık yolundaki uzunluğu 10-15 cm, ortasından T bağlantısı ile hidrür girişi olan kuvars tüplerdir. Isıtma elektrikle⁸⁶ veya tüpün hava-asetilen⁸⁷ alevinin üzerine yerleştirilmesi ile olabilmektedir. Bazı tasarımlarda ışık yoluna yerleştirilmiş atomlaştırıcı tüpün iki ucu kolaylıkla çıkarılıp takılabilen kuvars pencerelerle kapatılmıştır. Atomlaştırıcının ısıtılmasında alev kullanıldığında kuvars pencereler grafit conta yardımı ile sabitlenmektedir. Kuvars pencereler ve grafit conta tüpün iç kısımlarına yayılan hidrojen gazının yanmasını engelleyerek özellikle As ve Se için gürültü oluşmasını gidermektedir. Elektrikle ısıtılan kuvars atomlaştırıcılar direnç teli

ile sarılarak ve dış yüzeyi sıcaklık kaybını azaltacak şekilde yalıtılır. Çoğu zaman aynı tasarımlar hem elektrikle hem alevde ısıtılarak kullanılabilir.

Kuvars tüplerin sıcaklıkları kuvarsın termal dayanıklılığına, elektrikle ısıtılarda ise ısıtıcı aparata bağlıdır. Maksimum duyarlılıklar grafit fırınla ulaşılabilen sıcaklıklardan daha düşük sıcaklıklarda elde edilir.

Tüp içinde alevli atomlaştırıcılarda uygulanan sürekli hidrojen akışı dışarıdan ısıtmalı sistemlerde gerekli değildir. Fakat verimli atomlaştırmanın sağlanması için hidrojen gazının gerekli olduğu bilinmektedir. Dışarıdan ısıtmalı atomlaştırıcılarda tetrahidroboratın asit çözeltisi ile reaksiyonunda açığa çıkan hidrojen gazı yeterli olmaktadır.

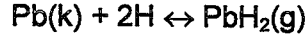
Prensip olarak kuvars dışında malzemelerden yapılmış, alumina, seramik tüp gibi, atomlaştırıcılar da kullanılabilir. Fakat bu materyallerin performanslarını kıyaslayacak yeterli veri mevcut değildir⁸⁶.

Günümüzde kuvars tüpler en sık kullanılan atomlaştırıcılardır. Alevli ve sürekli atomlaştırmalı grafit fırına kıyasla daha yüksek duyarlılık sağlamaktadır. Önemli dezavantajları ise kuvars yüzeyinin atomlaştırma sırasında neden olduğu girişimlerdir. Geleneksel hidrür oluşturma akış sistemi ile elde edilen kurşun hidrür buharı, gaz-sıvı ayırıcısı ile silika-T-tüp arasına yerleştirilen dıştan ısıtmalı silika tüpte 500 °C'de tuzaklanırken 750 °C'nin üzerinde bırakılarak $ng\ L^{-1}$ derişim seviyesinde kurşun tayini yapılmıştır⁸⁸.

Dıştan ısıtmalı atomlaştırıcılarda atomlaştırmak için iki mekanizma ileri sürülür: hidrürün termal parçalanması ve radikal oluşumu.

Welz ve Melcher⁸⁹ ısıtılmış kuvars tüpte arsinin parçalanması ve atomlaşması ile ilgili çalışmalarında şunları savunmuşlardır. 1000 °C'ye ısıtılmış kuvars tüpte hidrür oluşturan elementlerin atomlaşmasında hidrojenin önemli rolü vardır ve gereklidir. Daha düşük sıcaklıkta (600 °C), hidrojen varlığında oksijen atomlaşmaya katkıda bulunur. Oksijen varlığında kuvars tüpteki etkin buhar faz sıcaklığı saf argonunkinden daha düşüktür. Hidrojenin olmadığı durumda arsin parçalanır, fakat ısıtılmış kuvars tüpte atomlaşmaz. Isı ile parçalanma sonucu kısmen uçucu arsenik türleri oluşur ve/veya hidrojen varlığında tekrar buharlaştırılır ve atomlaştırılır. Hidrürün 1000 °C sıcaklıkta ısı yoluyla parçalanma ihtimali atomlaşma mekanizması olarak kabul edilmeyebilir. Agterdenbos ve Bax⁹⁰ dıştan ısıtmalı atomlaştırıcılarda, ısı ile parçalanmadan ve radikal oluşumundan farklı $\text{SeH}_2 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{Se} + \text{H}_2\text{O}$ gibi bir reaksiyon mekanizmasının olabileceğini önerdiler ve reaksiyonun katalizlenmesi için radikallerin gerekliliğini savundular. Agterdenbos ve Bax oksijen gazı derişiminin NaBH_4 'ün parçalanmasıyla açığa çıkan hidrojen gazı derişiminin %50'sine yaklaştığında kurşun sinyalinin sıfıra düştüğünü belirtmişlerdir. Bu kadar yüksek oksijen derişiminde suyun oluştuğunu ileri sürmüşler, fakat bunun yeterli bir kanıt olmadığını çünkü düşük oksijen derişiminde de bu tip bir reaksiyonun olacağını belirtmişlerdir.

Forsyth ve Marchall⁹¹ ısıtılmış kuvars tüpte alkilkurşun bileşiklerinin parçalanması ve atomlaşması ile ilgili çalışmışlar ve fırında analitin maksimum atomlaşması için hidrojen gazının bulunması gerektiğini, oluşan hidrojen radikallerinin alkilkurşunların başlangıçtaki parçalanma ürünü olan metalik kurşunların taşınmasında görev aldığını belirtmişlerdir. Fırına hidrojen ilave eder etmez keskin bir sinyal oluştuğunu bildirmişlerdir. Önerilen mekanizma:



Ayrıca, 800 °C'nin üzerindeki sıcaklık değişimlerinin duyarlılığı etkilememesi, ısıyla ilgili olmayan işlemlerin belirtisidir.

Difüzyon alevli atomlaştırıcıların duyarlılıklarının kötü olmasına rağmen atomlaşma girişimlerinin en az olduğu atomlaştırıcı tipidir. Sürekli atomlaştırmalı grafit fırın atomlaştırıcılar, atomlaşma girişimlerini oldukça azaltmasına rağmen hidrürün atomlaşma sıcaklığındaki atomlaştırıcıya transferi en zayıf noktasıdır.

2.4.6.2. Hidrür Sisteminde Girişimler⁷⁶

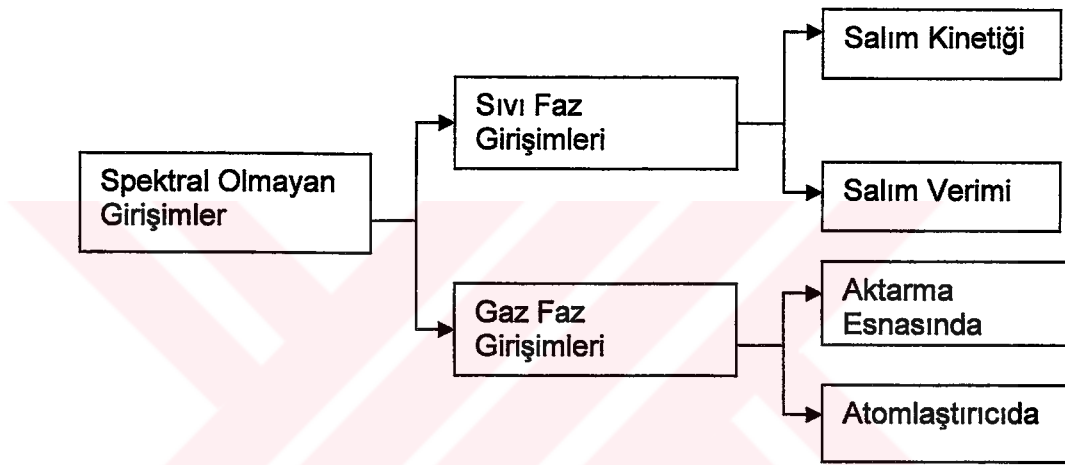
Atomik Absorpsiyon Spektrometride spektral ve spektral olmayan girişimler olarak iki tip girişim gözlenir. Spektral girişimler analitin serbest atomlarından farklı türler tarafından ışığın absorplanması kaynaklıdır. Spektral olmayan girişimler analit sinyalini etkileyen fiziksel ve kimyasal içeriklerden kaynaklanır.

Hidrür oluşturmali atomik absorpsiyon spektrometride analit gaz hidrür formunda matriksten ayrıldığı için genellikle bu sistemlerde spektral girişimler daha azdır. Hidrür sistemi ile zemin sinyali ancak atomlaştırıcıya önemli miktarda matriks türleri taşındığı durumlarda gözlenir; çizgi girişimleri meydana gelmez. Bu numune matriksindeki hidrür oluşturan diğer elementlerin fazla miktarda bulunması veya susuz ortamlarda hidrür oluşturulması halinde gözlenir.

Biriktirme ve baç tipi hidrür reaktörlerindeki gaz akış biçimindeki ve hızındaki değişimler dedektöre ulaşan ışık şiddetinin değişmesine, dolayısıyla zemin sinyalinde kaymalara neden olabilir. Ayrıca oksijen düşük dalga boylarında zemin

absorbansına neden olur. Bu dalga boylarında, moleküler oksijenin yapısal zemin absorbansına neden olduğu gösterilmiştir.

Spektral olmayan girişimler hidrürün oluşumu ve hidrürün çözeltiden taşınması sırasında sıvı fazda (sıvı faz girişimi) veya gaz fazında olabilir (gaz faz girişimleri).



Şekil 4. Spektral Olmayan Girişimlerin Sınıflandırılması

Sıvı faz girişimleri hidrürün sıvı fazdan salınım hızındaki değişimlerden (salınım kinetiği girişimi) ve/veya hidrür salınım veriminin azalmasından (salınım verimi girişimi) kaynaklanır. Bu tip girişimlere numune çözeltisinde bulunan matriks bileşenleri neden olur.

Gaz fazı girişimleri uçucu türlerden, çoğunlukla diğer hidrür oluşturan elementlerden veya hidrür reaktöründeki aeresolden kaynaklanır. Bu tip girişimler reaktörün yüzeyinde veya ölü hacminde, bağlantı tüplerinde ve/veya atomlaştırıcıda meydana gelir. Gaz fazı girişimleri doğrudan (eğer girişim etkisi hidrür oluşumu ile

aynı anda gözleniyorsa) veya hafıza etkisi (eğer girişim yapan türün aktarılması tamamlandıktan sonra da gözleniyorsa) olarak gözlenebilir.

Gaz fazı girişimlerinden aktarma girişimleri, hidrürün numune çözeltisinden atomlaştırıcıya aktarılması sırasında meydana gelir. Bu da hidrürün taşınması esnasında gecikmesinin sebep olduğu taşıma kinetiği girişimi veya taşıma sırasında hidrür kaybının söz konusu olduğu taşıma verimi girişimi şeklinde olabilir.

Atomlaştırıcıdaki girişimler hidrürün atomlaşma mekanizmasına ve analitin atomlaştırıcı içinde dağılımına bağlıdır. Bu tip girişimler H radikallerinin derişimini azaltarak toplam atomlaşma verimini düşürebilir (atomlaşma verimi girişimi) veya analitin atomlaşmasını geciktirebilir. Birinci durumdaki girişimler daha fazla radikal oluşturarak azaltılabilir. İkinci durumda analit atomlarının kuvars yüzey ile teması veya gaz fazında matriks ile temas azaltılarak kısmen engellebilir. Atomlaştırıcıdaki girişimler çoğunlukla diğer hidrür oluşturan elementlerden kaynaklanır. Johansson ve grubu⁹² atomlaştırıcının uç kısımlarına doğru serbest kurşun atomlarının yoğunluğunda keskin azalış olduğunu ve bu azalışın atmosferik oksijen nedeniyle oluşan kurşun oksitten kaynaklandığını belirtmişlerdir. Taşıyıcı gaz olarak karbon monoksitin hassasiyeti arttırmada hidrojen kadar etkili olduğu, çünkü her iki durumda da atomlaştırıcıdaki oksijen kısmi basıncı düşerek kurşun atomlaşmasının arttığı görülmüştür.

Sıvı faz girişimleri; I. Analitin kimyasal formu nedeniyle girişimler ii. Matriks girişimleri olarak ikiye ayrılır.

Analitin kimyasal formu nedeniyle olan girişimler, numunedeki analit, standart çözeltiden kısmen farklı formda olduğunda numunede ve standartta hidrür

salınımının farklılık göstermesinden kaynaklanır. Bu tip girişimler standart katma yöntemiyle bile engellenemezler.

Matriks girişimleri, matriks bileşenlerinin hidrür salınım verimini etkilediğinde görülür. Fiziksel ve kimyasal işlemler analitin hidrüre dönüşümünü veya oluşan hidrürün reaksiyon karışımından salınımını etkiler. Standart katma yöntemi ile matriks kaynaklı girişimler engellenebilir. Bazı girişimler elemente özgüdür.

Hidrür aktarılması sırasında olası girişimler ancak hidrür aktarma verimliliği %100'den az ise veya atomlaştırıcıya aktarma hattındaki yüzeylerde geciktirici bir etkileşim gerçekleşiyorsa anlamlı bir risk taşır. Fakat numune ve standart çözelti ile oluşturulan hidrürde hidrür kaybı veya aktarma gecikmesi farklı büyüklüklerde ise bu girişim olarak değerlendirilebilir. Aktarma girişimleri riskini azaltmanın en iyi yolu hidrür aktarımının mümkün olduğunca hızlı ve verimli yapılmasıdır.

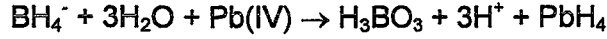
2.4.6.3 Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (HG-AAS)

Kullanarak Pb Tayin Çalışmaları

Analitlerin zenginleştirilmesine ve zemin absorpsiyonuna sebep olan muhtemel matriks girişiminin engellenmesine olanak sağladığı için hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon spektrometri sıklıkla kullanılmaktadır⁹³. Kurşun elementinin hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon spektrometri (HG-AAS) ile tayini ETAAS yöntemine göre oldukça yeni bir yöntemdir. Bunun nedeni geçmişte, kurşun hidrürün düşük verim ve düşük stabilitesinden dolayı oluşan zorluklardan kaynaklanmaktadır⁹⁴. İlk kez 1974 yılında Thomson ve Thomerson⁹⁵ tarafından analitik amaçla kurşun hidrür oluşturulduğu bildirilmiştir. Daha sonraki çalışmalar kurşun hidrür verimliliğini arttırmayı ve ETAAS'ye alternatif olabilecek çalışmalar

yapılmasını amaçlamıştır. Düşük kararlılık ve uçuculuk kurşun hidrür hakkında fiziksel, kimyasal ve termodinamik özellikleri açısından yeterli veri elde edilememesine neden olmuştur⁹⁴. Castillo ve grubunun⁹⁶ yaptığı çalışmada yükseltgeyici reaktiflerin E^0 değerleri ile atomik kurşun sinyalin logaritması arasında doğrusal bir ilişki olduğu bulunmuştur. Günümüzde, bazı asidik ortamlarda yükseltgeyicilerin indirgenme basamağından önce ilave edilmesinin reaksiyon kinetiğini hızlandırıp kurşun tayininde hassasiyeti arttırdığı görülmüştür⁹⁷. Hassasiyet ve seçicilik ortama, yükseltgeyici reaktife ve kullanılan atomlaştırıcı sistemine bağlıdır. Laktik asit-potasyum dikromat ortamında hassasiyet 0.44 ng, amonyum peroksidisülfat-nitrik asit ortamında 20.0 ng ve hidrojen peroksit-nitrik asit ortamında 10.0 ng olarak bulunmuştur⁹⁸. Kurşun hidrür, asidik numune ile yükseltgeyici reaktifin ve aşırı miktardaki tetraborohidrürün etkin reaksiyonu ile oluşur. İlave edilen yükseltgeyicinin Pb(II)'yi yarı kararlı, oldukça aktif Pb(IV) türüne dönüştürdüğü yönünde varsayımlar vardır⁹⁴. Wang ve Barnes⁹⁹, kurşun üzerinde hidrojenin neden olduğu aşırı potansiyelin kurşunun sodyum borohidrür ile reaksiyonunu anlamlı derecede yavaşlattığını, yükseltgeyici reaktiflerin bu aşırı potansiyeli azaltan depolarizör olarak görev yaptığını öngördüler.

Kurşun hidrür oluşturmak için H_2O_2 ^{96,100}, $(NH_4)_2S_2O_8$ ^{96,101}, $K_2Cr_2O_7$ ⁹⁶⁻⁹⁸, $K_3Fe(CN)_6$ ¹⁰²⁻¹⁰⁴, $Ce(IV)$ ⁹⁶ ve $KMnO_4$ ⁹⁶ gibi yükseltgeyiciler kullanılmış, yükseltgeyici reaktif olarak $K_3Fe(CN)_6$ kullanıldığında hassasiyetin arttığı görülmüştür^{6,103}. Ferrisiyanürün diğer reaktiflere göre yükseltgeme potansiyelinin düşük olması, kurşun hidrürün yükseltgenmeden farklı bir mekanizma ile oluştuğunu düşündürmektedir¹⁰⁴. $NaBH_4$ 'ün kurşun hidrür oluşumundaki rolü, yarıkararlı Pb(IV) bileşiklerine hidrojen iyonu sağlamaktır. Kurşun şelat oluşumu, sistemin E^0 değerini düşürerek Pb(II)'yi Pb(IV)'e çevirmek ister.



Nitrozo-R tuzu (2-nitroso-1-naftol-3,6-disülfonik asit, disodyum tuzu)¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ veya PAN-S (1-(2-piridilazo)2-naftol-6-sülfonik asit)¹⁰⁷ reaksiyon ortamlarında da kurşun hidrür olduğu bildirilmiştir. Bu tür ortamlarda kurşun hidrür oluşum mekanizması çözülememesine rağmen analizler başarılı şekilde gerçekleştirilmiştir¹⁰⁴.

Hidrür oluşturma tekniğinin 2 önemli avantajı vardır⁹⁴:

I. Analit numune matriksinden ayrılır. Bu da potansiyel girişimleri azaltır.

II. Gözlenebilme sınırı $\mu\text{g L}^{-1}$ veya daha düşük düzeylere getirilmiştir. Çünkü 1-50 mL numunedeki analitin tamamı birkaç saniyede atomlaştırıcıya gaz olarak gönderilir.

HG-AAS'nin tuzlu ortamlardan ETAAS'ye göre çok daha az etkilendiği bildirilmiştir¹⁰⁸. Hidrür oluşturma yöntemi akışa enjeksiyon ve ETAAS ile birleştirildiğinde analitin matriksten ayrılması ile birlikte yüksek hassasiyet ve düşük gözlenebilme sınırı sağlar. %20 NaCl varlığında akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturma elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometri ile selenyum tayininde sinyalin %127'ye kadar arttığı ve bu artışın nedeni olarak da çözünmüş tuzların varlığında gazların çözünürlüğünün azalması (salting-out etkisi) gösterilmiştir. Yüksek elektrolit derişimleri varlığında sinyal artışını engelleme yöntemi olarak ya borohidrür derişimi artırılabilir veya analiz sırasında reaktiflere matriks ilave edilerek standartlar matrikse benzetilir¹⁰⁸. Benzer matriks etkisi gösteren CaCO_3 tabletlerinde ve kolay iyonlaşabilen elementler varlığında akışa enjeksiyonlu hidrür sistemiyle oluşturulan kurşun hidrürün doğru akım plazma⁷² ve grafit tüp tuzaklı AAS⁶ ile tayini

önerilmiştir. Bu çalışmalarda ETAAS ile yapılan tayinlerde karşılaşılan analitik problemlere kapsamlı çözüm mevcut ise de hem hidrür oluşturma sistemi hem de ETAAS aksesuarları birlikte kullanıldığından bu teknikler karmaşık, yavaş ve pahalı tekniklerdir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Reaktifler

Tüm çözeltilerin hazırlanmasında direnci 18 M Ω cm (Milli-Q Water Purification System) deiyonize su kullanıldı. Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan cam ve polietilen kaplar %10 (h h^{-1}) HNO₃ (Aklar Kimya) içeren temizleme tanklarında en az 48 saat bekletildikten sonra önce distile su, sonra da deiyonize su ile yıkanarak hazırlandı. Kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, standartlar ve numune çözeltileri HCl (Riedel de Haen) ve K₃Fe(CN)₆ (Merck) içinde hazırlandı. Standart kurşun çözeltileri 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Pb standart çözeltisinin (Fisher Scientific U.K.) seyreltilmesiyle hazırlandı. İndirgeyici reaktif olarak NaOH içinde NaBH₄ (Aldrich) çözeltisi kullanıldı. Taşıyıcı olarak HCl (Riedel de Haen) ve K₃Fe(CN)₆ (Merck) içeren çözelti kullanıldı. NaCl matriksinin analitik sinyale etkisini incelemek için yüksek saflıkta NaCl (Merck) kullanıldı.

ETAAS ölçümlerinde analiti matriksten ayırmak için Chelex-100 (BioRad) reçine, ortamın pH'sını ayarlamak için CH₃COONH₄ (Riedel-De Haen), CH₃COOH (Merck) ve NH₃ (Merck) çözeltileri, matriks değiştirici olarak da Mg(NO₃)₂.6H₂O kullanıldı. Doğruluk çalışması Waste Water SCP-EU-L1 (SCP Science, Canada) standart referans madde ile yapıldı.

12 değişik diyaliz çözeltisi iki farklı üreticiden temin edildi. Bu numunelerin içerdikleri tuz değişimleri Tablo 2'de verilmektedir.

Tablo 2. Derişik Diyaliz Çözelttilerinin İçerdikleri Tuz Derişimleri

	NaCl (g/L)	KCl (g/L)	CaCl ₂ .2H ₂ O (g/L)	MgCl ₂ .6H ₂ O (g/L)	CH ₃ COONa.3H ₂ O (g/L)	NaHCO ₃ (g/L)	CH ₃ COOH (g/L)	Dekstroz (g/L)
Numune								
1	215.0	-	9.0	7.1	166.6	-	-	35.0
2	210.9	2.6	6.4	7.1	-	-	6.3	35.0
3	204.0	5.2	9.0	7.1	166.6	-	-	35.0
4	215.0	5.2	9.0	7.1	166.6	-	-	35.0
5	204.0	-	9.0	7.1	166.6	-	-	35.0
6	202.7	5.2	9.0	7.1	28.6	-	4.2	-
7	183.1	3.7	3.7	3.4	103.9	-	-	83.3
8	198.5	5.1	8.7	6.7	97.5	-	-	34.0
9	161.3	5.5	9.2	3.8	-	-	11.1	-
10	-	-	-	-	-	84.0	-	-
11	-	-	-	-	-	84.0	-	-
12	30.6	-	-	-	-	66.0	-	-

3.2. Cihazlar

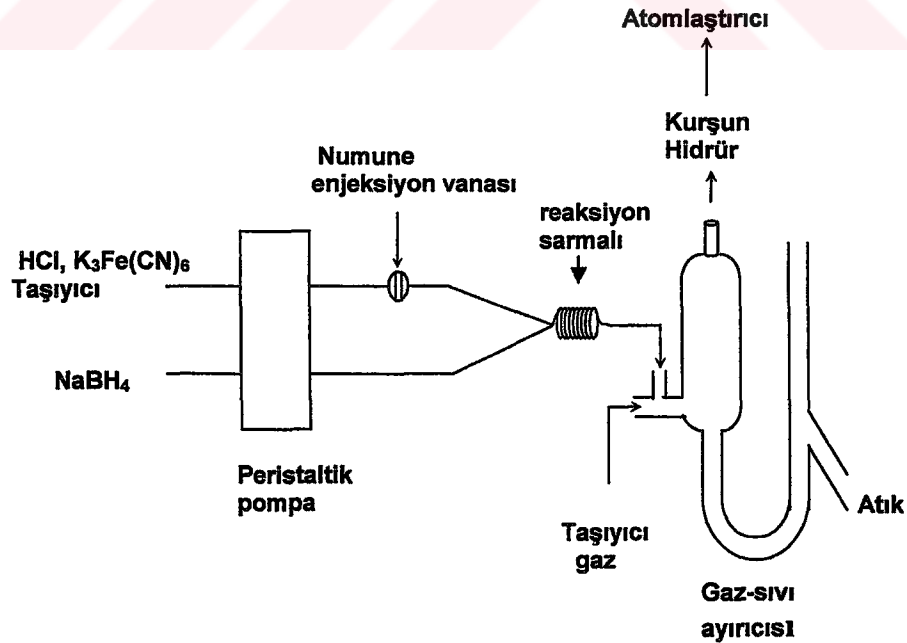
Tüm ölçümler 5 cm alev başlıklı ATI-UNICAM 939 atomik absorpsiyon spektrometrede, hava-asetilen alevinde yapıldı. UNICAM data kodlu Pb oyuk katot lambası ile 7.5 mA'de, 283.3 nm dalga boyunda ve 0.5 nm spektral bant genişliğinde çalışıldı. Zemin sinyali düzeltilmesinde Döteryum zemin düzeltme yöntemi kullanıldı. Taşıyıcı ve indirgeyici çözeltilerin pompalanması için ALITEA VS-3 midi peristaltik pompa kullanıldı. Akışa enjeksiyon sistemi Tygon peristaltik pompa tüpleri (1.8 mm iç çaplı) kullanarak 6.6 mL d⁻¹ akış hızı sağlayacak şekilde kuruldu. Bağlantılar için 0.8 mm iç çaplı PTFE tüpler kullanıldı. Standartların ve numunenin tatbiki için 500 µL numune hacimli Rheodyne Model 5020 düşük basınçlı enjeksiyon vanası kullanıldı. Gaz-sıvı ayırıcı olarak UNICAM VP 90 standart U-tipi gaz-sıvı ayırıcı kullanıldı. Kurşun hidrürü atomlaştırıcıya taşımak için argon gazı kullanıldı. Atomlaştırıcı olarak kullanılan silika tüpler ODTÜ Kimya Bölümünün cam atölyesinde yaptırıldı. Silika atomlaştırıcı 10 mm iç çaplı, 13 cm uzunluğunda, T bağlantısı 4 mm iç çapında, 8 cm uzunluğundadır.

ETAAS ölçümlerinde UNICAM GF 90 atomlaştırıcı ve FS plus grafit fırın örnekleyicisi ve pirolitik kaplı grafit tüpler kullanıldı

3.3. Akışa Enjeksiyonlu Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (FI-HG-AAS) Kullanarak Derişik Diyaliz Çözeltilerinde Kurşun Tayini

Çalışmamızda standart çift yollu akışa enjeksiyon düzeneği kullanılmıştır (Şekil 5). Birinci kanalda taşıyıcı olarak kullanılan 0.1 M HCl ve % 2.0 (a h⁻¹) K₃Fe(CN)₆ çözeltisi, ikinci kanalda ise % 0.1 (a h⁻¹) NaOH içeren % 1.0 (a h⁻¹) NaBH₄

indirgeyici çözelti peristaltik pompa yardımı ile pompalanmakta ve reaksiyon sarmalında karışarak gaz-sıvı ayırıcısına gönderilmektedir. Derişik diyaliz çözeltileri son derişim 0.1 M HCl ve % 2.0 (a h⁻¹) K₃Fe(CN)₆ olacak şekilde 2.5 kez seyreltilerek hazırlandı (Tablo 3). Hazırlanan numune çözeltilerinin 500 µL'lik hacmi, 6-geçişli vana yardımı ile akış halindeki 0.1 M HCl ve % 2.0 (a h⁻¹) K₃Fe(CN)₆'den oluşan taşıyıcı çözeltilisine enjekte edildi ve diğer kanaldan gelen NaBH₄ çözeltisi ile karıştırılarak gaz-sıvı ayırıcısına gönderildi. Karıştırma sırasında oluşan gaz halindeki kurşun hidrür gaz-sıvı ayırıcısında sıvı fazdan ayrıştırılarak argon gazı vasıtası ile alevli atomik absorpsiyon spektrometrenin alev başlığının üzerine yerleştirilmiş kuvars T-tüpe taşınarak kurşunun atomlaşması sağlandı ve 283.3 nm dalga boyunda kurşun absorbans değerleri pik yükseklikleri dikkate alınarak ölçüldü. Tüm ölçümler 3 paralel numune ile 3'er kez ölçülerek yapıldı. Tayinlerde standart katma yöntemi kullanıldı.



Şekil 5. Akışa Enjeksiyonlu Hidrür Oluşturma (FI-HG) Düzeneği

Tablo 3. Derişik Diyaliz Çözeltilerinin FI-HG-AAS ile Pb Tayini İçin Hazırlanması

Numuneye katılan Pb derişimi, $\mu\text{g L}^{-1}$	Numune miktarı, mL	500 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb standardı, μL	% 5 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ + 0.25 M HCl, mL	V_T , mL
+ 0	4	0	4	10
+ 5	4	100	4	10
+ 10	4	200	4	10
+ 20	4	400	4	10
+ 40	4	800	4	10
Kör	0	0	4	10

3.4. Akışa Enjeksiyonlu Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (FI-HG-AAS) Kullanarak Kalsiyum Destekleyici Tabletlerinde Kurşun Tayini

Kalsiyum destekleyici tabletlerinde akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon spektrometri kullanarak kurşun tayini için 20 adet kalsiyum destekleyici tablet toz edildi. Homojenize tablet tozundan yaklaşık 1.0 gram tartılıp 2.75 mL 12.08 M HCl ile çözülerek hacim 100.0 mL'ye deiyonize su ile tamamlandı. Buradan alınan 7.5 mL çözelti, içinde % 2.0 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ olacak şekilde %10 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ katılarak deiyonize su ile 10.0 mL'ye seyreltilti. Hazırlanan bu çözeltinin 500 μL 'lik hacmi 0.25 M HCl ve % 2 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ içeren taşıyıcı çözelti ve % 0.1 (a h^{-1}) NaOH içinde % 1.0 (a h^{-1}) NaBH_4 indirgeyici reaktif varlığında akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon spektrometre kullanılarak 283.3 nm dalga boyunda kurşun absorbans değerleri pik yükseklikleri dikkate

alınarak ölçüldü. +0 ile +40 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb derişim aralığında standart katma yöntemi ile kalibrasyon doğrusu çizilerek kalsiyum karbonat destekleyici tabletindeki kurşun tayin edildi. Tüm ölçümler 3 paralel numune ile 3'er kez yapıldı. Çalışmalarda iki farklı kalsiyum destekleyici tablet kullanıldı.

3.5. Akışa Enjeksiyonlu Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (FI-HG-AAS) Kullanarak Derişik Diyaliz Çözeltilerinin Hazırlanmasında Kullanılan Tuzlarda Kurşun Tayini

Derişik diyaliz çözeltilerinin imalatında kullanılan tuzlar üretici firmadan temin edildi. Bu numunelerde FI-HG-AAS ile Pb tayini, % 10-20 (a h^{-1}) hazırlanan tuz çözeltileri $\frac{1}{2}$ oranında seyreltilerek FI-HG-AAS yöntemi için belirlenen optimum koşullarda standart katma yöntemi kullanılarak yapıldı.

3.6. Doğruluk Çalışmaları

Derişik diyaliz çözeltilerinde FI-HG-AAS ile elde edilen sonuçların doğruluğu için 3 ayrı çalışma yapıldı: (i) Üzerine kurşun standart çözeltisi katılmış derişik diyaliz çözeltilerinden geri kazanım çalışması (ii) FI-HG-AAS yönteminin doğruluğunu belirlemek için Waste Water SCP-EU-L1 (SCP Science, Canada) standart referans maddesinde kurşun tayini (iii) Chelex-100 (BioRad) reçine ile tuz matriksi analitten ayrıldıktan sonra ETAAS ile kurşun tayini⁴⁶.

3.6.1. Derişik Diyaliz Çözeltilerinden Geri Kazanım Çalışması

Derişik diyaliz çözeltilerinden geri kazanım çalışmasında, 0.1 M HCl ve % 2.0 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ içerecek şekilde 2.5 kez seyreltilmiş numune çözeltilerinin üzerine $7.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $30 \mu\text{g L}^{-1}$ kurşun standardı katıldı. FI-HG-AAS için belirlenen optimum

koşullarda standart katma yöntemi ile 0- 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb derişim aralığında kalibrasyon doğrusu çizilerek 7.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ kurşun derişimleri için % geri kazanım hesaplandı.

3.6.2. Waste Water SCP-EU-L1 (SCP Science, Canada) Standart Referans Maddede Kurşun Tayini

Waste Water SCP-EU-L1 (SCP Science, Canada) Standart Referans Madde (SRM) 1:100 oranında seyreltilti. Buradan alınan 3.0 mL seyreltik SRM çözeltisi toplam hacim 10.0 mL olacak şekilde 0.1 M HCl ve % 2.0 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ içinde hazırlandı. Standart katma yöntemi kullanılarak optimum koşullarda FI-HG-AAS ile Pb tayin edildi.

3.6.3. Derişik Diyaliz Çözeltilerinin ETAAS Ölçümlerine Hazırlanması

10.0 veya 20.0 mL numune çözeltilerine 3.0 mL 2.0 M $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tampon çözeltisi katılarak pH 6.0'a 1.0 M NH_3 veya 1.0 M CH_3COOH ile ayarlandı. 5 veya 10 mL deiyonize su ilave edildi. 4 mm iç çaplı teflon kolonlara 0.4 g Chelex-100 doldurularak kolonun uçları süngerle kapatıldı. Hazırlanan bu kolon peristaltik pompa tüplerine bağlanarak sırasıyla 5 mL 2 M HNO_3 ile temizlendi, 10 mL pH 6.0 $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tampon çözeltisi ile şartlandırıldı ve hazırlanan numuneler 0.5 mL d^{-1} akış hızıyla kolondan geçirildi. Numunenin tamamı geçtikten sonra kolon 5.0 mL pH 6.0 $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tampon çözeltisi ile yıkandı ve kolonda reçine tarafından tutulan Pb, 10.0 mL 2.0 M HNO_3 ile elue edildi. Tüm işlemler kör çözeltisi için de yapıldı. Tuz matriksinden ayrılmış haldeki bu çözeltilere, her enjeksiyonda 50 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ matriks değıştirici olacak şekilde $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ katılıp standart katma yöntemi kullanılarak ETAAS ile kurşun tayin edildi (Tablo 4). Tayinler sırasında pirolitik kaplı

grafit tüpler, 20 μL numune hacmi kullanıldı. ETAAS ölçümlerinde kullanılan sıcaklık programı aşağıda verilmiştir:

Kurutma basamağı : 10 $^{\circ}\text{C s}^{-1}$ rampa ile 120 $^{\circ}\text{C}$ 'ye çıkılır ve 30 s beklenir

Külleme basamağı : 50 $^{\circ}\text{C s}^{-1}$ rampa ile 850 $^{\circ}\text{C}$ 'ye çıkılır ve 30 s beklenir

Atomlaşma basamağı : 1400 $^{\circ}\text{C}$, 3 s beklenir

Temizleme basamağı : 2400 $^{\circ}\text{C}$ 'de 3 s beklenir

Tablo 4. Derişik Diyaliz Çözeltilerinin ETAAS Tayini İçin Hazırlanması

Numuneye katılan Pb derişimi, $\mu\text{g L}^{-1}$	Numune miktarı, μL	25000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, μL	50 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb standardı, μL	H_2O , μL
+ 0	250	100	0	650
+ 10	250	100	200	450
+ 20	250	100	400	250
+ 30	250	100	600	50

4. BULGULAR

4.1. Optimizasyon Çalışmaları

Numunelerin hazırlanmasında ve taşıyıcı olarak kullanılan $K_3Fe(CN)_6$ içindeki hidroklorik asit derişimi, yükseltgen ve taşıyıcı olarak kullanılan $K_3Fe(CN)_6$ derişimi, indirgeyici tetrahidroborat derişimi, reaktiflerin akış hızı, taşıyıcı gazın akış hızı, reaksiyon sarmal uzunluğu gibi deneysel parametreler analitik sinyali doğrudan etkileyen parametrelerdir. Kurulan akışa enjeksiyonlu analiz düzeneği ile kurşun tayinine en uygun koşulların sağlanabilmesi için yukarıda belirtilen parametrelerin sinyale etkisi incelenerek deneysel koşullar optimize edildi. Optimizasyon çalışmalarında her defasında bir parametre incelenirken diğerlerinin sabit tutulduğu ardışık optimizasyon yaklaşımı kullanıldı.

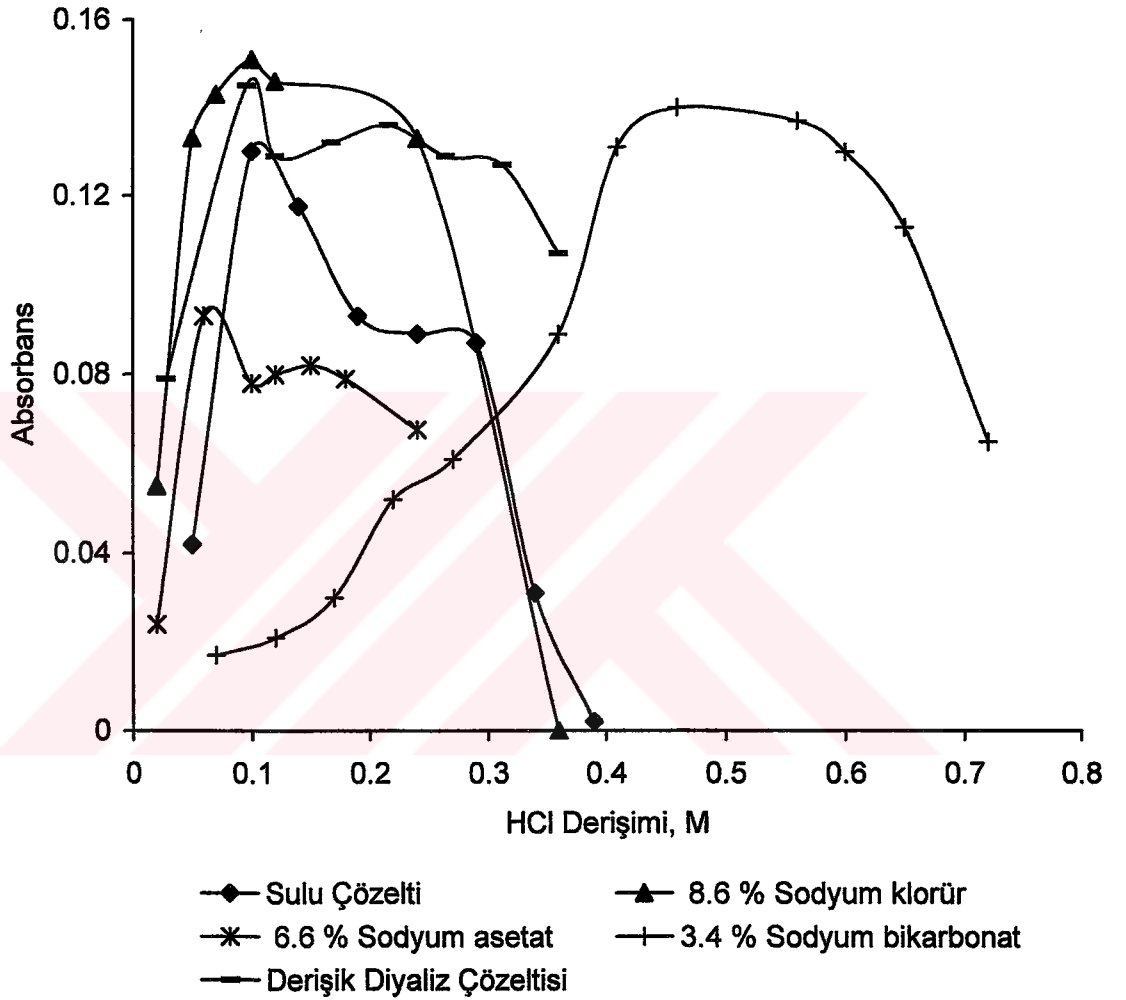
4.1.1. HCl Derişiminin Optimizasyonu

4.1.1.1. Sulu, Sodyum Klorürlü, Asetatlı Ortamlarda ve Derişik Diyaliz Çözeltisinde HCl Derişiminin Optimizasyonu

Şekil 6'da numune ve taşıyıcı çözeltilerindeki asit derişiminin optimizasyon çalışması görölmektedir. HCl derişimi, taşıyıcı çözelti $K_3Fe(CN)_6$ ve numune içinde aynı derişimlerde olacak şekilde değiştirilmiştir. Sulu, sodyum klorürlü, asetatlı, bikarbonat ve derişik diyaliz çözeltisinde HCl derişiminin sinyale etkisi ayrı ayrı incelenmiştir.

Sulu standart çözelti ile HCl derişiminin optimizasyonunda $20 \mu g L^{-1}$ kurşun derişimi kullanıldı ve en yüksek sinyal veren 0.1 M HCl optimum asit derişimi olarak seçildi. Fakat derişik diyaliz çözeltilerinin karmaşık bir matriks olması, kompozisyonlarının çeşitlilik göstermesi ve CH_3COONa , $NaHCO_3$ gibi tampon

oluşturabilen tuzlar içermesi nedeniyle, yüksek derişimde bulunan bileşenlerde ve diyaliz konsantresi ile hazırlanmış çözeltilerde ayrı ayrı asit taraması yapıldı (Şekil 6).



Şekil 6. HCl Derişiminin Optimizasyonu. $20 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb, % 2.0 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ taşıyıcı çözelti, $0.1 (\text{a h}^{-1})$ NaOH, % 1.0 (a h^{-1}) NaBH_4 çözeltisi, numune akış hızı 6.6 mL d^{-1} , argon akış hızı 300 mL d^{-1} , $500 \mu\text{L}$ numune hacmi

$20 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb katılmış sodyum klorürlü, asetatlı ortamlarda ve derişik diyaliz çözeltisinde HCl molaritesinin sinyale etkisi $0.02\text{-}0.4 \text{ M}$ HCl aralığında, sulu ortamda $0.05\text{-}0.4 \text{ M}$ HCl aralığında incelendi. Optimizasyon çalışmalarında kullanılan tuz

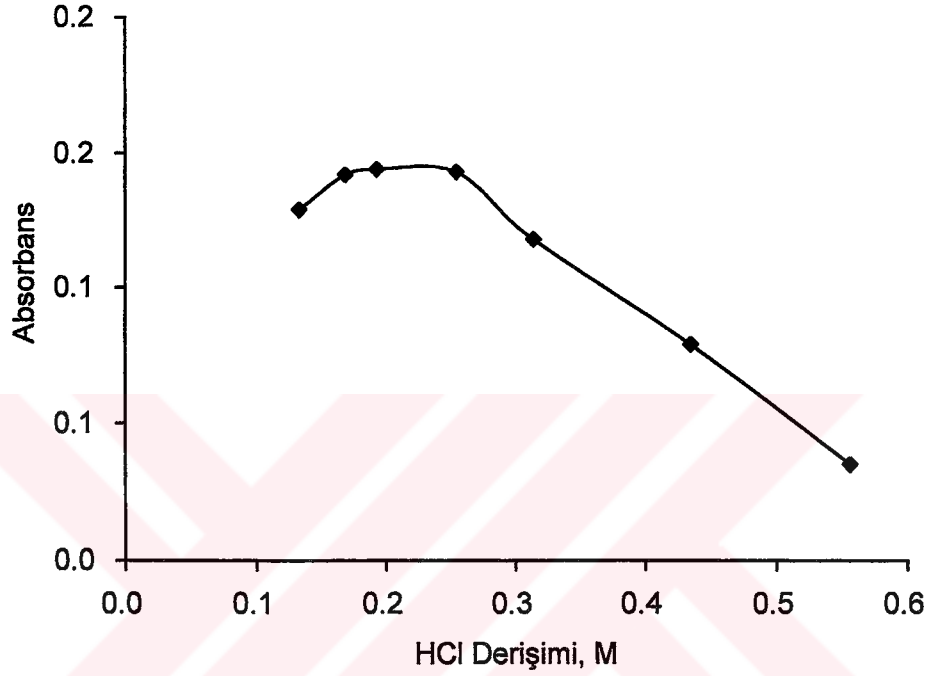
çözeltilerinin derişimleri, 2.5 kez seyreltilmiş derişik diyaliz çözeltilerinde olabilecek en yüksek tuz derişimleri esas alınarak seçilmiştir. CH_3COONa içeren çözeltide optimum asit derişiminin farklılık gösterdiği ve sinyali göreceli olarak bastırdığı gözlemlendi. Buna karşılık derişik diyaliz çözeltilerinin asit taramasında elde edilen grafikte CH_3COONa ve NaCl ile yapılan asit derişimi taramasında elde edilen grafiğin karakteristik özelliklerinin mevcut olduğu görülmektedir. Çalışmanın devamında bikarbonat içeren 10, 11 ($84 \text{ g L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ içeren) ve 12 no'lu ($30.6 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$ ve $66 \text{ g L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ içeren) numuneler dışında asit derişimi 0.1 M olarak kullanıldı. Bikarbonatlı diyaliz çözeltilerinde ise asit taraması $0.07\text{-}0.7 \text{ M}$ aralığında yapıldı ve optimum asit derişimi 0.5 M olarak bulundu.

Derişik diyaliz çözeltileri genellikle tamponlanmış çözeltiler olduğundan $0.1\text{-}0.2 \text{ M HCl}$ aralığında kurşun sinyalinin, dolayısıyla kalibrasyon eğrisinin eğiminin değişkenlik göstermesi olasıdır. Bu farklılıklar, tayinlerde standart katma yöntemi kullanılarak düzeltilebilir. Bikarbonat içeren diyaliz konsantreleri ve kalsiyum karbonat tabletlerinde ise optimum sinyalin ulaşıldığı HCl derişimleri doğal olarak çözülmüş numune miktarına bağlıdır. Burada kullanılan asit derişimi hem karbonatın nötralleşmesi hem de kurşun elementinin hidrür oluşturması için gerekli asit derişimini karşılayacağından, numunedeki tuz miktarının bilinmesi önemlidir. Aksi durumlarda asit derişiminin taranarak optimize edilmesi gereklidir.

4.1.1.2. Kalsiyum Destekleyici Tablette FI-HG-AAS ile Kurşun Tayini için HCl Derişiminin Optimizasyonu

Kalsiyum destekleyici tablet çözeltileriyle ($\% 1.0 \text{ a h}^{-1}$) aynı asit derişimli $\% 2.0 \text{ (a h}^{-1}) \text{ K}_3\text{Fe(CN)}_6$ taşıyıcı ve $\% 0.1 \text{ (a h}^{-1}) \text{ NaOH}$ içinde $\% 1.0 \text{ (a h}^{-1}) \text{ NaBH}_4$ indirgeyici reaktif varlığında akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturmali atomik

absorpsiyon spektrometri (FI-HG-AAS) ile 0.13-0.56 M HCl aralığında asit taraması yapıldı. Şekil 7'de görüldüğü gibi 0.25 M kalsiyum tabletleri için optimum HCl derişimi olarak seçildi.

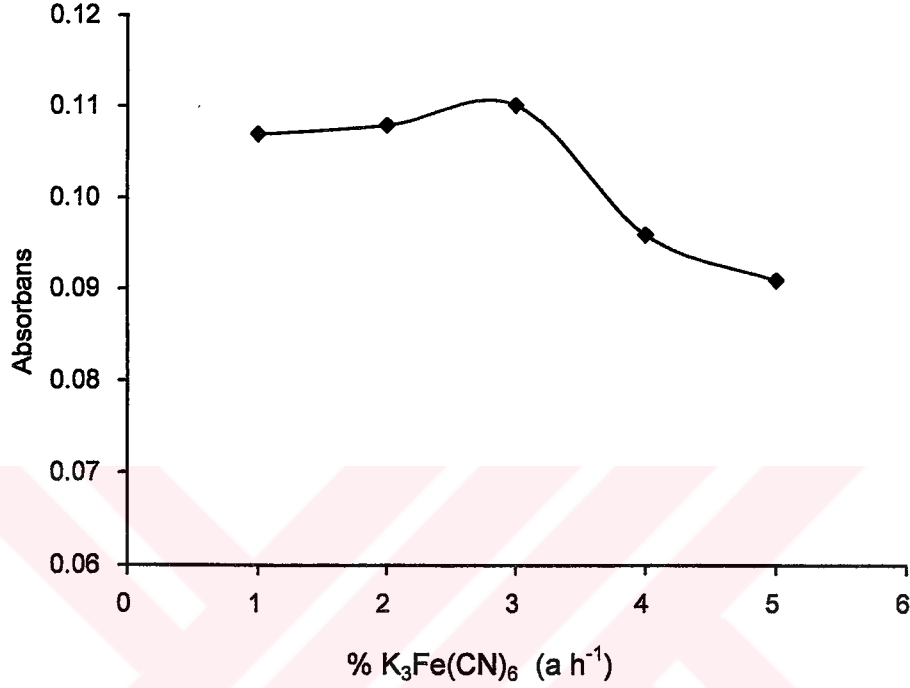


Şekil 7. Kalsiyum Destekleyici Tablette HCl Derişimi Optimizasyonu. $20 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb, % 2.0 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ taşıyıcı çözelti, 0.1 (a h^{-1}) NaOH, % 1.0 (a h^{-1}) NaBH_4 çözeltisi, numune akış hızı 6.6 mL d^{-1} , argon akış hızı 300 mL d^{-1} , $500 \mu\text{L}$ numune hacmi

4.1.2. $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ Derişiminin Optimizasyonu

Oksitleyici olarak kullanılan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ yüksek saflıkta olmasına rağmen önemli miktarda kör sinyaline neden olmaktadır. Bu nedenle her $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ derişiminde elde edilen kurşun sinyalinde kör sinyal düzeltmesi yapılmıştır. $20 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb ve 0.1 M HCl içinde hazırlanan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 'ün % 0.5- 5.0 (a h^{-1}) derişimleri

arasında analitik sinyale etkisi incelendi (Şekil 8) ve % 2.0 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ derişimi optimum değer olarak seçildi.

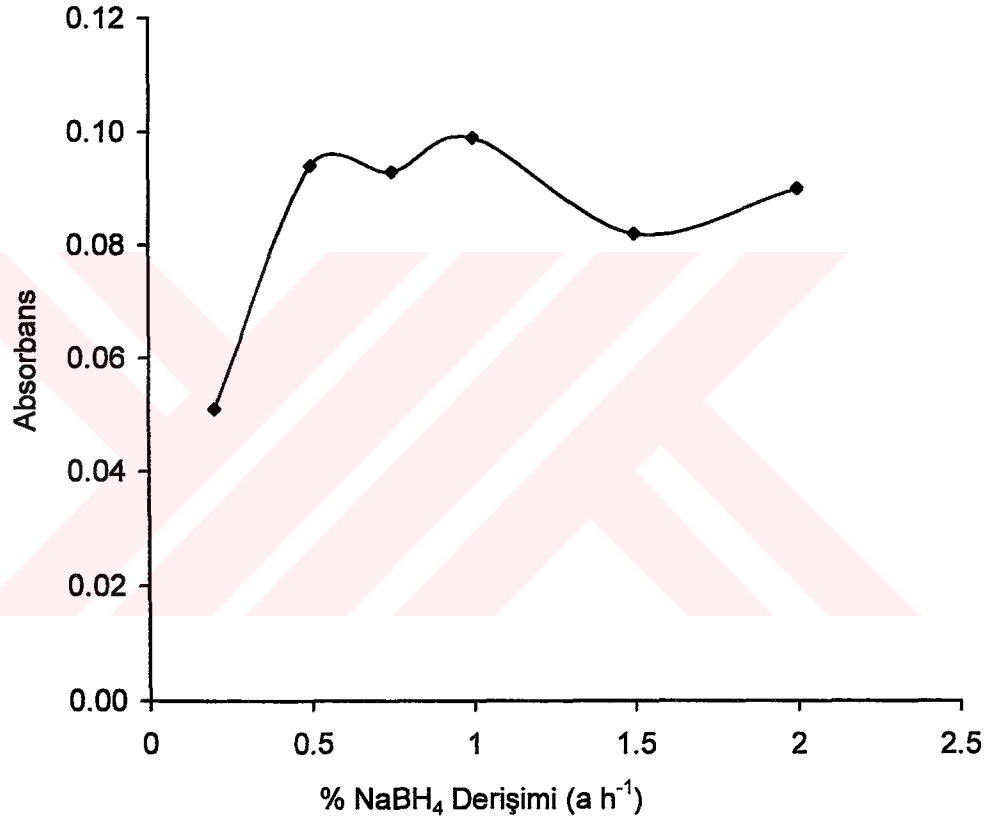


Şekil 8. $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ Derişiminin Optimizasyonu. $20 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb, % 0.1 (a h^{-1}) NaOH, % 1.0 (a h^{-1}) NaBH_4 çözeltisi, 0.1 M HCl, çözelti akış hızı 6.6 mL d^{-1} , argon akış hızı 300 mL d^{-1} , 500 μL numune hacmi

4.1.3. NaBH_4 Derişiminin Optimizasyonu

Kurşun hidrür oluşmasını sağlayan indirgeyici reaktif NaBH_4 derişimi % 0.2-2.0 (a h^{-1}) arasında pik yüksekliğine bağlı olarak incelendi. Şekil 9'da görüldüğü gibi kurşun sinyali % 0.5-1.0 (a h^{-1}) NaBH_4 derişimleri arasında sabit kalmaktadır. Çalışmanın devamında %1.0 (a h^{-1}) NaBH_4 derişimi kullanıldı.

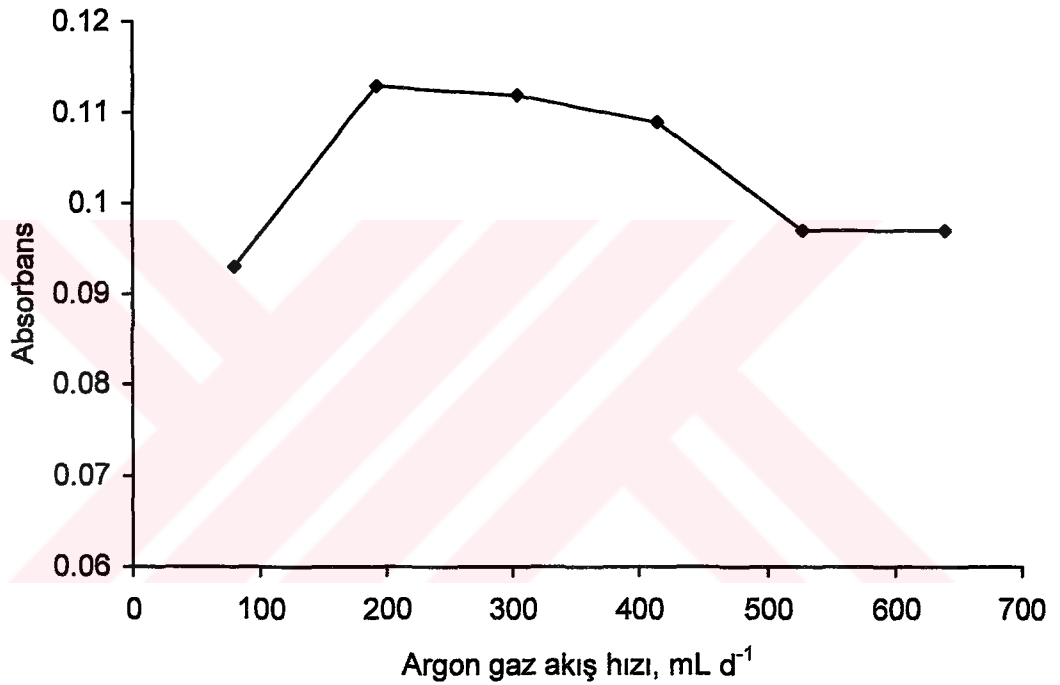
Özellikle düşük asit derişimlerinde çalışılan kurşun gibi elementlerde asidin bir kısmı asit-baz reaksiyonu ile tüketileceğinden, NaBH_4 çözeltisinin kararlılığını arttırmak için katılan sodyum hidroksitin derişimi önem kazanmaktadır. Bu nedenle sodyum hidroksit derişimi düşük tutularak % 0.1 (a h^{-1}) olarak seçilmiştir.



Şekil 9. NaBH_4 Derişiminin Optimizasyonu. $20 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb, % 2.0 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 0.1 M HCl, % 0.1 (a h^{-1}) NaOH, argon akış hızı 300 mL d^{-1} , çözelti akış hızı 6.6 mL d^{-1} , 500 μL numune hacmi.

4.1.4. Argon Gazı Akış Hızı Optimizasyonu

Oluşan kurşun hidrürün gaz-sıvı ayırıcısından ölçüm hücresine taşınmasını sağlamak için taşıyıcı gaz olarak argon kullanılmıştır. Şekil 10'da görüldüğü gibi 80-640 mL d⁻¹ akış hızlarında argon gazının kurşun sinyaline etkisi incelendi. Optimum gaz akışı olarak 300 mL d⁻¹ seçildi.



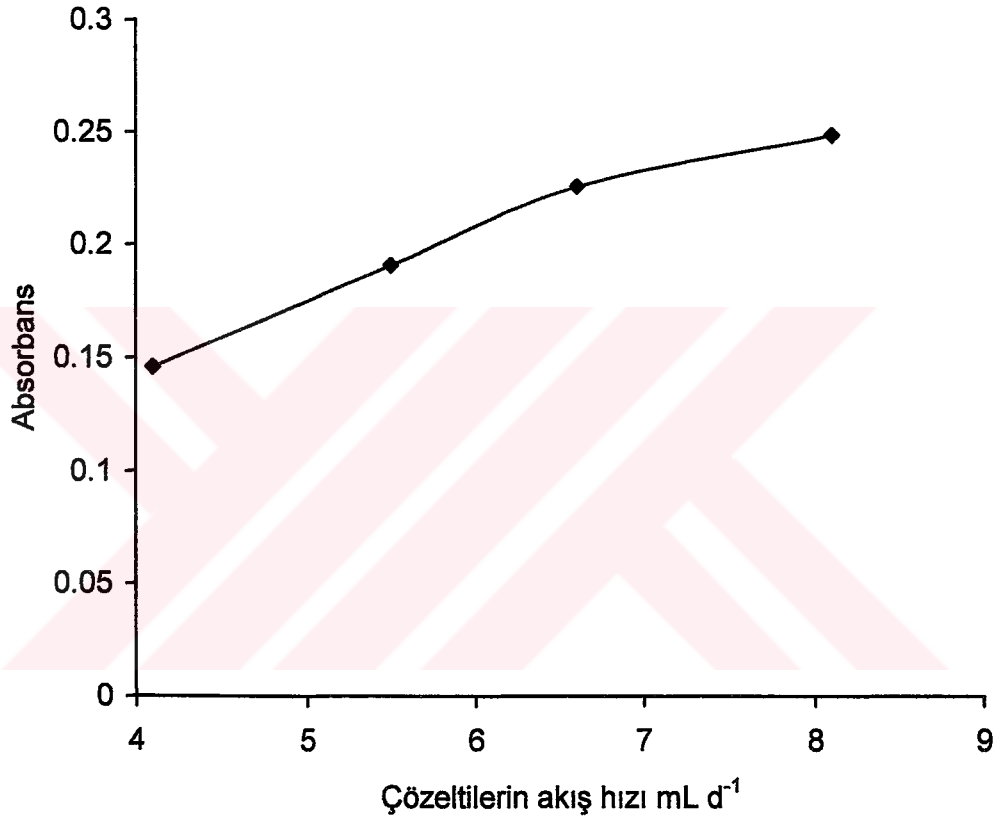
Şekil 10. Argon Gazı Akış Hızı Optimizasyonu. 20 µg L⁻¹ Pb, % 2.0 (a h⁻¹) K₃Fe(CN)₆, 0.1 M HCl, % 1.0 (a h⁻¹) NaBH₄, % 0.1 (a h⁻¹) NaOH, çözelti akış hızı 6.6 mL d⁻¹, 500 µL numune hacmi

4.1.5. Numune Hacminin Sinyale Etkisi

Enjekte edilen numune hacminin sinyale etkisi 250, 500, 1000 µL hacimli enjeksiyon halkaları ile sinyalin pik yüksekliği ölçülerek çalışıldı. 250 µL enjeksiyon hacmi ile çalışıldığında 500 µL hacme kıyasla pik yüksekliği azalırken 1000 µL

hacimde pik yüksekliğinde artış gözlenmedi. Ayrıca 1000 μL numune hacmi ile çalışıldığında sinyalin yayıldığı ve 15 saniyelik ölçüm süresinde tamamlanmadığı gözlemlendi. Çalışmaların devamında 500 μL enjeksiyon hacmi kullanıldı.

4.1.6. Çözeltilerin Akış Hızının Optimizasyonu

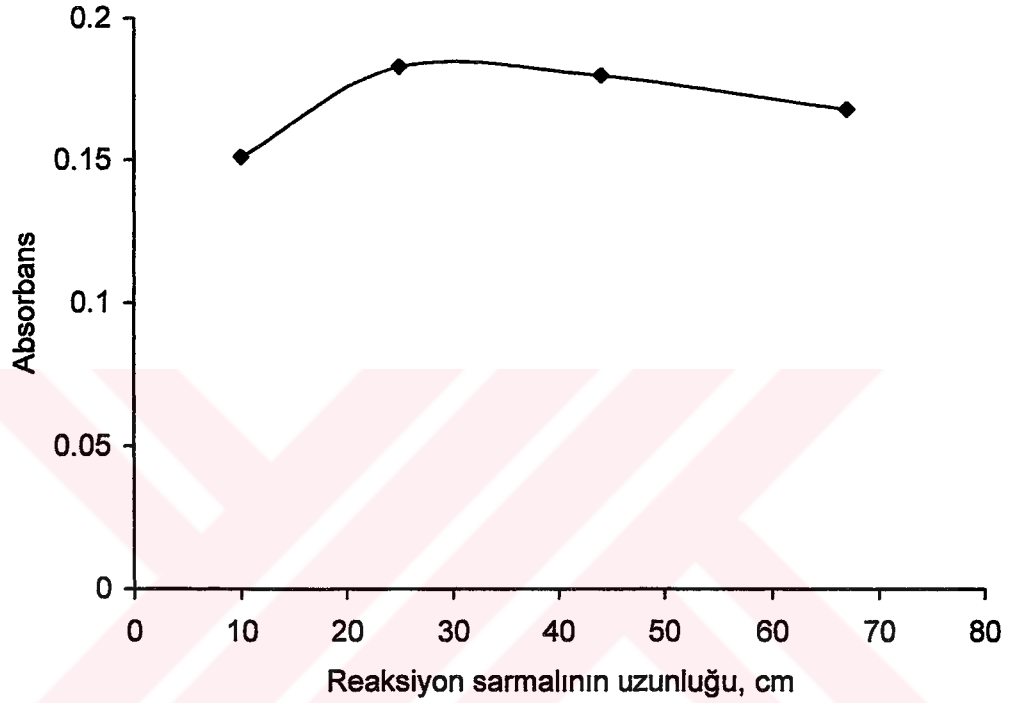


Şekil 11. Çözeltilerin Akış Hızının Sinyale Etkisi, 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb standart çözeltisi, % 2.0 (a h^{-1}) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 0.1 M HCl, % 1.0 (a h^{-1}) NaBH_4 , % 0.1 (a h^{-1}) NaOH, argon akış hızı 300 mL d^{-1} , 500 μL numune hacmi

Reaktiflerin akış hızının sinyale etkisini incelemek için sabit derişimdeki standart çözelti (30 $\mu\text{g L}^{-1}$) farklı reaktif akış hızlarında enjekte edilerek sinyalin pik yüksekliği gözlemlendi. Reaktiflerin akış hızlarının seçilmesinde sinyal şekli, süresi ve reaktiflerin tüketimi göz önünde bulunduruldu. Akış hızı 6.6 ml d^{-1} da sinyalin büyük

oranda sabitlendiği görülmektedir (Şekil 11). Deneylerin devamında 6.6 mL d⁻¹ çözelti akış hızı kullanıldı.

4.1.7. Reaksiyon Sarmalı Uzunluğunun Optimizasyonu



Şekil 12. Reaksiyon Sarmalı Uzunluğunun Sinyale Etkisi, 30 µg L⁻¹ Pb standart çözeltisi, % 2.0 (a h⁻¹) K₃Fe(CN)₆, 0.1 M HCl, % 1.0 (a h⁻¹) NaBH₄, % 0.1 (a h⁻¹) NaOH, argon akış hızı 300 mL d⁻¹, çözelti akış hızı 6.6 mL d⁻¹, 500 µL numune hacmi

NaBH₄, taşıyıcı çözelti ve analit çözeltisinin karıştırıldığı nokta ile gaz sıvı ayırıcısı arasındaki reaksiyon sarmalının uzunluğu çalışılan elementin hidrür oluşturma kinetiğine, reaktiflerin derişimine ve reaktiflerin akış hızlarına bağlı olarak değişebilmektedir. Kurulan deneysel düzenekte 10-67 cm aralığında reaksiyon sarmalları kullanıldığında sinyalin değişimi incelendi (Şekil 12). Deneylerin devamında 55 cm'lik reaksiyon sarmalı ile çalışıldı.

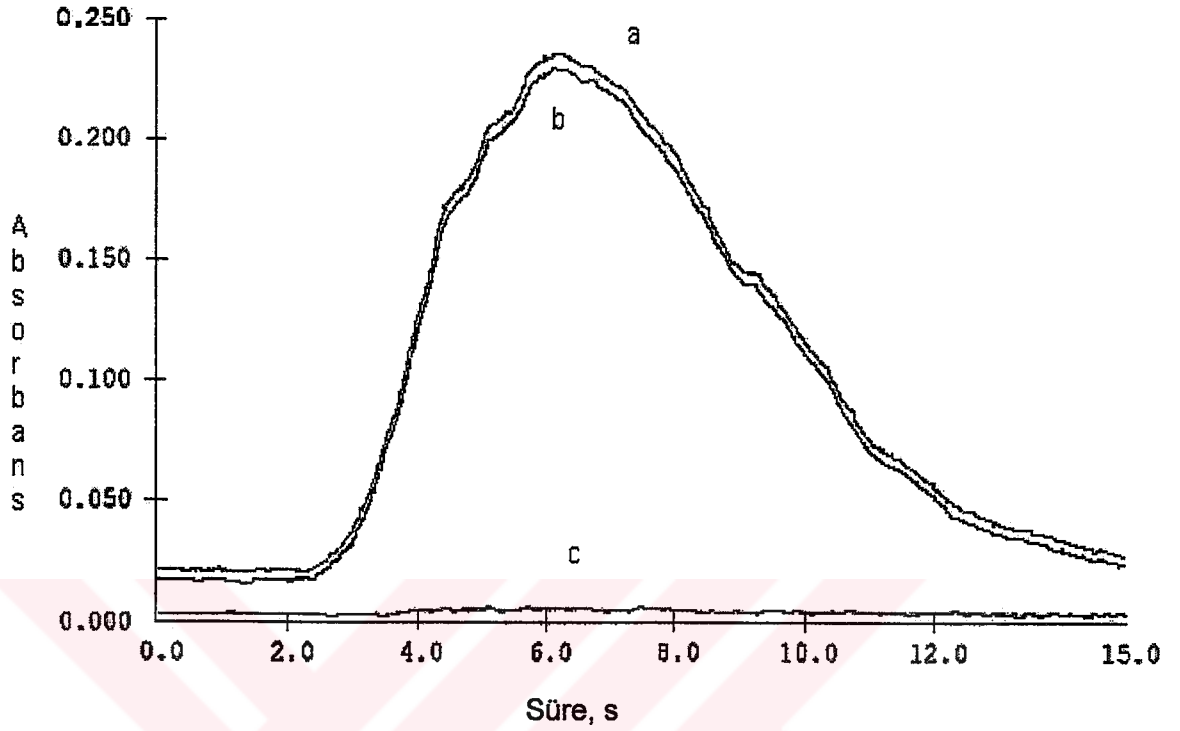
4.2. Optimum Deneysel Koşullar

Optimizasyon çalışmaları sonunda elde edilen en iyi çalışma koşulları Tablo 5'de özetlenmiştir.

Tablo 5. FI-HG-AAS için Optimum Deneysel Koşullar

HCl	0.1 M (NaHCO ₃ matriksi için 0.5 M, kalsiyum destekleyici tabletlerinde 0.25 M)
K ₃ Fe(CN) ₆	% 2.0 (a h ⁻¹)
NaBH ₄	% 1.0 (a h ⁻¹) [% 0.1 (a h ⁻¹) NaOH içinde]
Taşıyıcı gaz (Ar)	300 mL d ⁻¹
Akış hızı	6.6 mL d ⁻¹ (taşıyıcı ve indirgeyici reaktif)
Numune hacmi	500 µl
Reaksiyon sarmal uzunluğu	55 cm

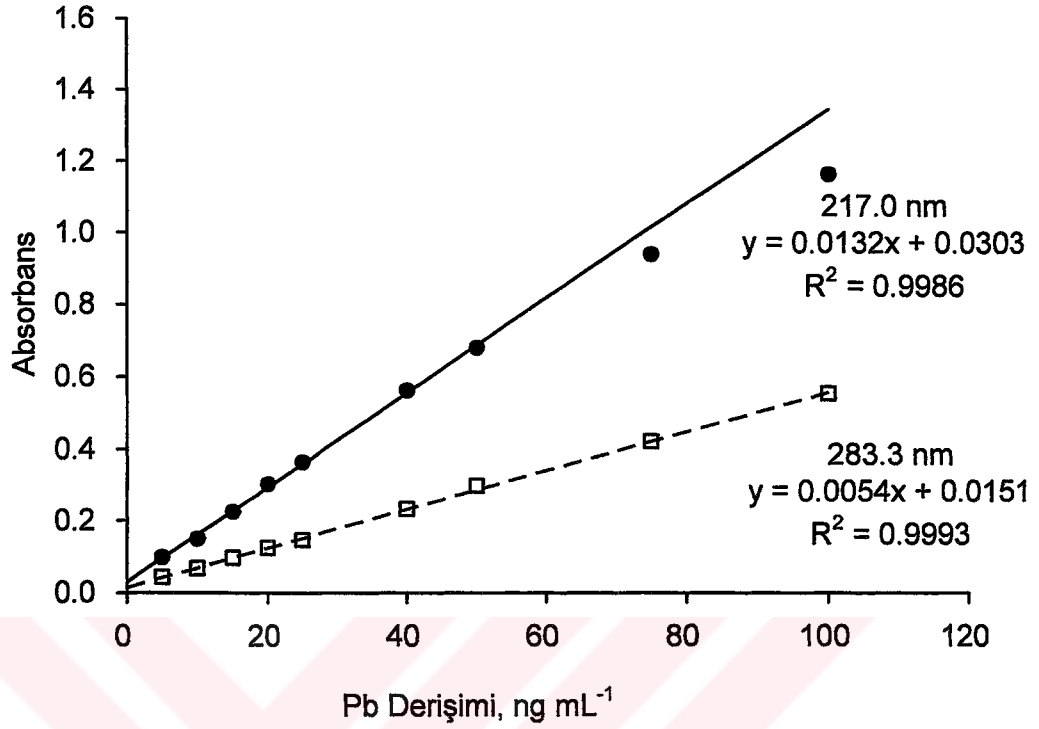
Optimize edilen deneysel koşullarda analitik sinyalin spektral girişimlerden etkilenmediği gözlenmektedir. Şekil 13'de 2.5 kez seyreltilmiş 1 no'lu numuneye 40 µg L⁻¹ Pb katılması ile elde edilen analitik sinyal şekli görülmektedir. Sinyalde zemin sinyalinin çok küçük olması hidrür oluşturma tekniğinin en önemli avantajlarından biri olan analitin matriksten ayrılarak girişimlerin engellenmesinin derişik diyaliz çözeltileri gibi yüksek tuz matriksli numunelerde bile geçerli olduğunu göstermektedir.



Şekil 13. FI-HG-AAS ile Derişik Diyaliz Çözeltisinde Kurşun İçin Elde Edilen Analitik Sinyal, Numune 1'e $40 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb standardı katılmıştır, a; toplam sinyal, b; düzeltilmiş sinyal, c; zemin sinyali.

4.3. Kalibrasyon Çalışmaları

Şekil 14'te $5.0 \mu\text{g L}^{-1}$ ile $100.0 \mu\text{g L}^{-1}$ kurşun derişimi aralığında 217.0 ve 283.3 nm dalga boylarında optimum deneysel koşullar dikkate alınarak FI-HG-AAS ile sulu ortamda çizilen kalibrasyon doğruları görülmektedir. Eğimler dikkate alındığında 217.0 nm dalgaboyu 283.3 nm dalgaboyuna kıyasla 2.5 kez daha duyarlıdır. Fakat gerek dinamik aralık gerekse girişimlere toleransının yüksek olması nedeni ile çalışmaların devamında kurşun absorbans ölçümleri 283.3 nm dalga boyunda yapılmıştır.



Şekil 14. 217 nm ve 283.3 nm Dalgaboylarında FI-HG-AAS ile Sulu Ortamda Pb İçin Elde Edilen Kalibrasyon Doğruları

Şekil 6'da derişik diyaliz çözeltilerinin bileşenlerinin her birinin sinyali farklı etkilediği gösterilmişti. Özellikle CH_3COONa ve NaHCO_3 'ün sinyal üzerindeki etkilerinin NaCl ve diğer tuzlara kıyasla önemli olduğu gözlenmektedir. Şekil 6 ve numune içerikleri birlikte değerlendirildiğinde sinyalin farklı davranması beklenen bir durumdur. Bu nedenle derişik diyaliz çözeltilerine Pb standartları katılarak çizilen kalibrasyon doğrularının eğimlerinin sulu standart kalibrasyon doğrusunun eğimine oranı hesaplandı (Tablo 6). 1-3 no'lu numuneler için kalibrasyon doğrularının eğimlerinin oranlarında t-testine göre % 95 güven aralığında anlamlı bir fark yok iken, 4, 5, 6 ve 10 no'lu numunelerde fark anlamlı bulundu.

Tablo 6. Farklı Matrislerde Kalibrasyon Doğrularının Eğimlerinin Karşılaştırılması

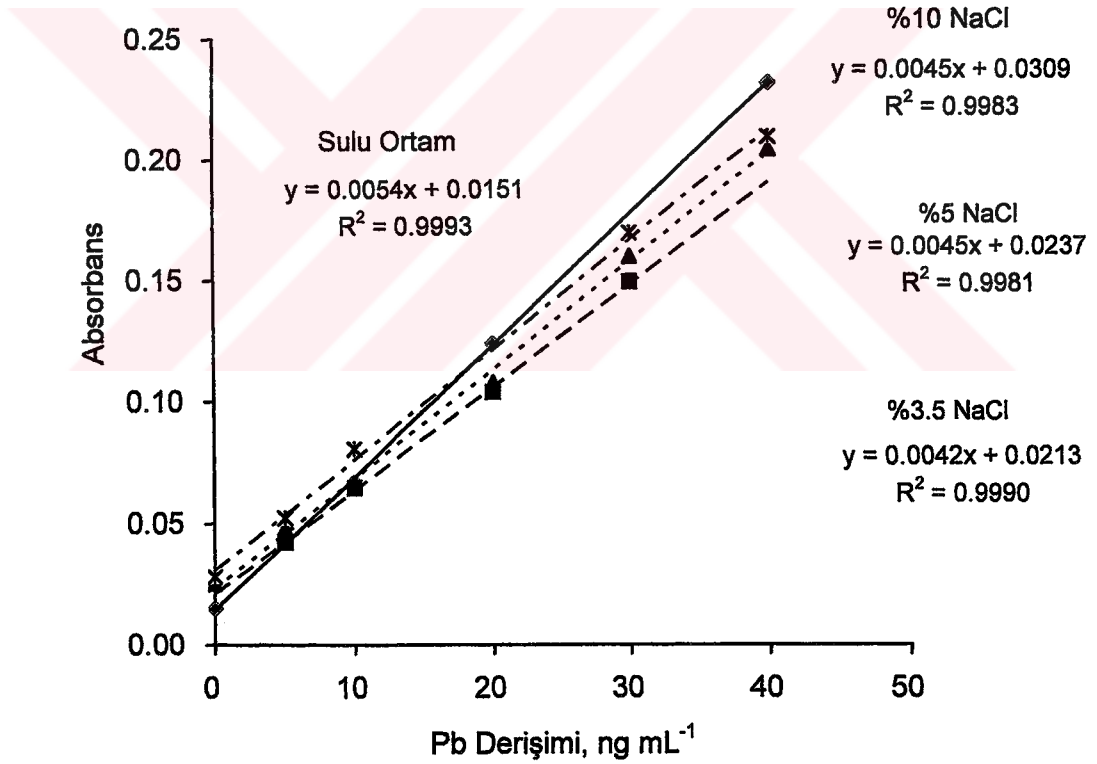
$$(m_s^* = 4.78 \pm 0.4)$$

Numune no	$(m_{sk}^{**} \pm ss^{***}) \times (10^3)$	m_{sk}/m_s	t-Test
1	4.60 ± 0.3	0.96	FY
2	4.86 ± 0.3	1.02	FY
3	4.76 ± 0.1	1.00	FY
4	5.30 ± 0.1	1.11	F
5	5.12 ± 0.1	1.07	F
6	5.44 ± 0.4	1.14	F
10	7.35 ± 0.3	1.54	F

- m_s^* : Sulu standartlar ile çizilen kalibrasyon doğrusunun eğimi
 m_{sk}^{**} : Standart katma yöntemi ile çizilen kalibrasyon doğrusunun eğimi
 ss^{***} : Kalibrasyon doğrusunun eğiminin standart sapması
FY : Anlamlı fark yok, % 95 güven aralığı
F : Fark anlamlı, % 95 güven aralığı

Matriks bileşeninin ağırlıklı olarak sodyum klorür olması nedeniyle sodyum klorürün kalibrasyon doğrusunun eğimine etkisi incelendi. Yüksek saflıkta sodyum klorürün üç ayrı derişiminde kurşun kalibrasyon doğruları çizildi (Şekil 15). Şekil 15'de görüldüğü gibi, sodyum klorür derişimi kalibrasyon doğrusunun eğiminin 0.0054'ten 0.0045'e düşmesine neden olmuştur. Fakat Şekil 15 ve Şekil 6 birlikte düşünüldüğünde eğimlerdeki farklılıklarda diyaliz çözeltilerinin kompozisyonunun ve seyreltme oranının etkili olduğu söylenebilir. Kalibrasyon doğrusunun eğimine etki eden diğer bir parametre ise atomlaştırıcı olarak kullanılan kuvars T-tüpün kullanım süresidir. Kuvars T-tüpün ömrü sulu ortamdaki çalışmalara kıyasla göreceli olarak daha kısadır. Bunun nedeni numunelerdeki yoğun miktardaki sodyumun oluşan hidrür ile birlikte kuvars atomlaştırıcıya ulaşarak devitrifikasyona neden olmasıdır.

Önem olarak atomlaştırıcı tüpler analitik sinyalde anlamlı bir değişiklik gözlenmesine fırsat vermeksizin yaklaşık 400 ölçüm sonunda yenilenmiştir. Dolayısıyla, önerilen yöntemde numune matrisinin çoğunluğunda tayinlerin standart katma yöntemi ile yapılması zorunlu görülmektedir. Alternatif yöntem olarak, yüksek saflıkta tuzlar kullanarak diyaliz çözeltileri matrisiyle eş yapıda hazırlanacak standart çözeltilerle kalibrasyon eğrisi hazırlama düşüncesi i) Derişik diyaliz çözeltilerinin çeşitlilik göstermesi, ii) Laboratuvarımızda mevcut bazı tuzların kör değerini önemli derecede arttırıyor olması nedenleri ile pratik bulunmamıştır.



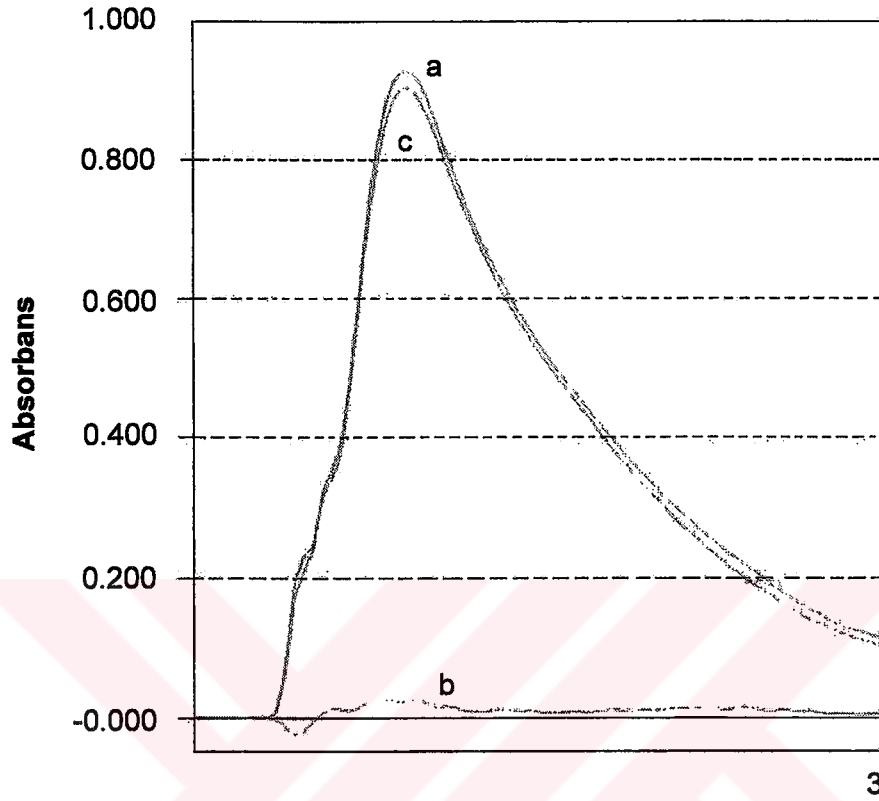
Şekil 15. Sulu Standartlarla ve Farklı Sodyum Klorür İçeren Ortamlarda FI-HG-AAS ile Çizilen Kalibrasyon Doğruları

4.4. Analitik Performans Sayıları

Gözlenebilme sınırı, 3 S_b/m , ve karakteristik derişim (0.0044 absorbans veren derişim)^{105,109} 500 μL halka hacminde sırasıyla 0.7 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve 0.6 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulundu. 283.3 nm'de sulu kurşun standart çözeltisi için doğrusal kalibrasyon aralığı 5-100 $\mu\text{g L}^{-1}$ 'dir. Doğrusal regresyon ile elde edilen kalibrasyon doğrusunun denklemi $A = 0.0054C + 0.0151$ olarak bulundu (A: absorbans pik yüksekliği, C: derişim, $\mu\text{g L}^{-1}$). 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb derişiminde ardarda 11 ölçümde kesinlik % RSD cinsinden 3.7 olarak, 11 paralel numune için kesinlik ise % RSD cinsinden 4.2 olarak bulunmuştur.

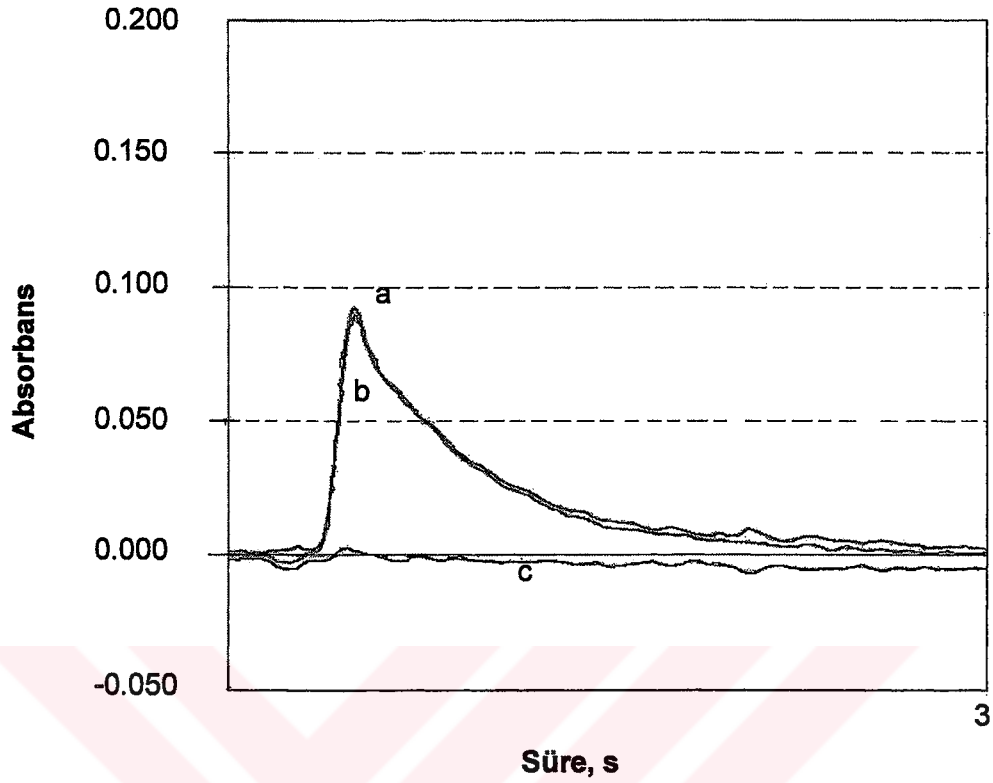
4.5. Tuz Matriksinin ETAAS Ölçümlerinde Pb Sinyaline Etkisi

Derişik diyaliz çözeltilerinde ön ayırma işlemi yapılmadan ETAAS ile kurşun tayini mümkün olmamıştır. Şekil 16'daki analitik sinyal 5 kez seyreltilmiş derişik diyaliz çözeltisinin (numune 5) 0.5 M HNO_3 içerecek şekilde hazırlandıktan sonra ETAAS'ye doğrudan enjeksiyonu ile elde edilmiştir. Şekil 16'da da görüldüğü gibi moleküler türlerin neden olduğu zemin sinyali (c) oldukça büyüktür. Zemin sinyalinin azaltılması amacıyla numunenin daha fazla seyreltilmesi, analitik sinyalin (b) daha da düşmesine neden olmaktadır. Ayrıca, ortamda bulunan matriks bileşenlerinin grafit bağlantı noktalarında ve atomlaştırıcı tüpün soğuk yüzeylerinde birikmesi de zemin sinyalinin artmasına ve tekrarlanabilir olmayan sonuçlara neden olmaktadır.



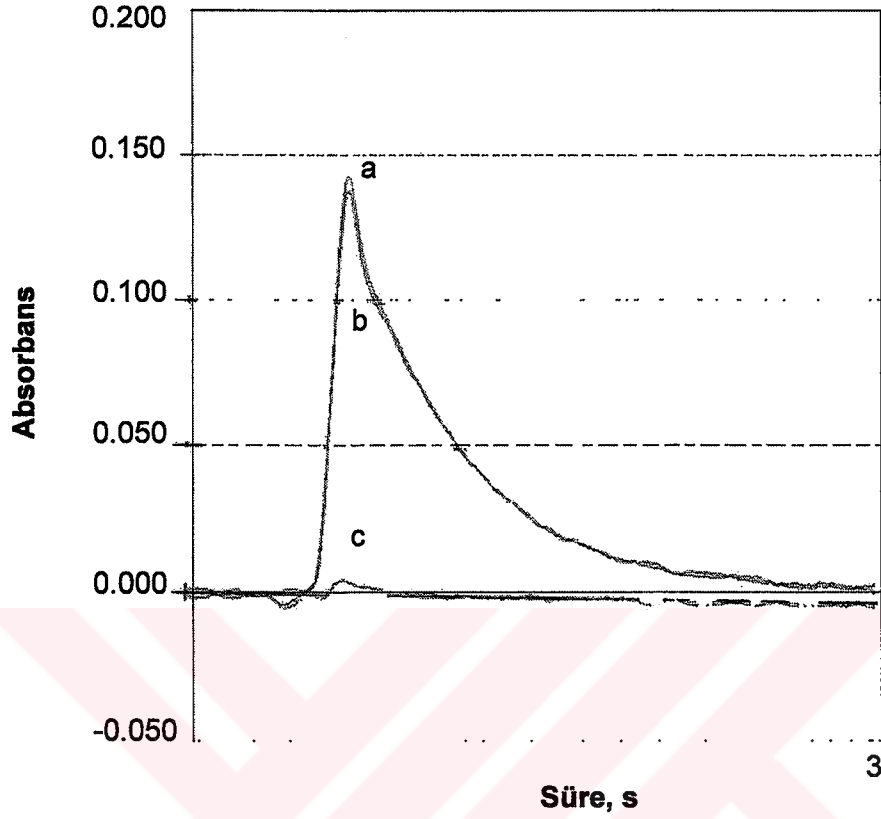
Şekil 16. Numune 5'in Chelex-100 Reçineden Geçirilmeden ETAAS ile Elde Edilen Analitik Sinyal; a; toplam sinyal, b; düzeltilmiş sinyal, c; zemin sinyali.

Aynı numunenin Chelex-100 reçineden geçirildikten sonra ETAAS ile elde edilen analitik sinyal Şekil 17'de gösterilmiştir. ETAAS'de yapılan ön işlemler sonrası (matriks ayırma) çözelti ölçüme hazır hale geldiğinde HNO_3 derişimi açısından 0.5 M, orijinal çözeltiye göre ise iki kez seyrelmiştir. Şekil 17'de görüldüğü gibi matriksin ayrılmasıyla zemin sinyali (c) tamamen yok edilmiştir.



Şekil 17. Numune 5'in Chelex-100 Reçineden Geçirildikten Sonra ETAAS ile Elde Edilen Analitik Sinyal; **a**; toplam sinyal, **b**; düzeltilmiş sinyal, **c**; zemin sinyali.

Şekil 18'de ise numune 5'e $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb standardı katıldığında kurşun sinyali artarken (b), zemin sinyalinin (c) değişmediği görülmektedir (Şekil 18). Dolayısıyla, matriksin uzaklaştırılmasıyla kantitatif analiz için uygun koşullar sağlanmıştır. Şekil 16,17 ve 18'deki kurşun sinyallerinin elde edilmesinde bölüm 3.6.3'de (Derişik Diyaliz Çözeltilerinin ETAAS Ölçümlerine Hazırlanması) verilen sıcaklık programı kullanılmıştır.



Şekil 18. Numune 5'in Chelex-100 Reçineden Geçirildikten Sonra ETAAS ile Elde Edilen Analitik Sinyal, Numune 5'e $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb Standardı Katılmıştır; a; toplam sinyal, b; düzeltilmiş sinyal, c; zemin sinyali

4.6. Kurşun Tayini Çalışmaları

4.6.1. Derişik Diyaliz Çözeltilerinde ve Üretimde Kullanılan Tuzlarda

Kurşun Tayini Çalışmaları

Optimizasyon çalışmaları ile belirlenen deneysel koşullarda toplam 12 adet derişik diyaliz çözeltisinde, bu çözeltilerin üretiminde kullanılan tuzlarda ve kalsiyum karbonat tabletlerinde kurşun tayini FI-HG-AAS ile standart katma yöntemi ile gerçekleştirildi. Tablo 7 ve 8'de derişik diyaliz çözeltilerinde ve bu çözeltilerin üretiminde kullanılan tuzlarda tayin edilen Pb derişimleri verilmiştir. Derişik diyaliz

çözeltileri için elde edilen sonuçlar karşılaştırma yöntemi olarak kullanılan katı faz ekstraksiyonu sonrası ETAAS sonuçları ile kıyaslandı. Sonuçlar 3 paralel çözeltinin ortalamasıdır.

t-Test'i uygulandığında %95 güven aralığında, tüm numuneler için FI-HG-AAS sonuçları ETAAS sonuçları ile uyum içindedir.

Tablo 7. FI-HG-AAS ve ETAAS ile Derişik Diyaliz Çözeltilerinde Bulunan Kurşun Derişimleri

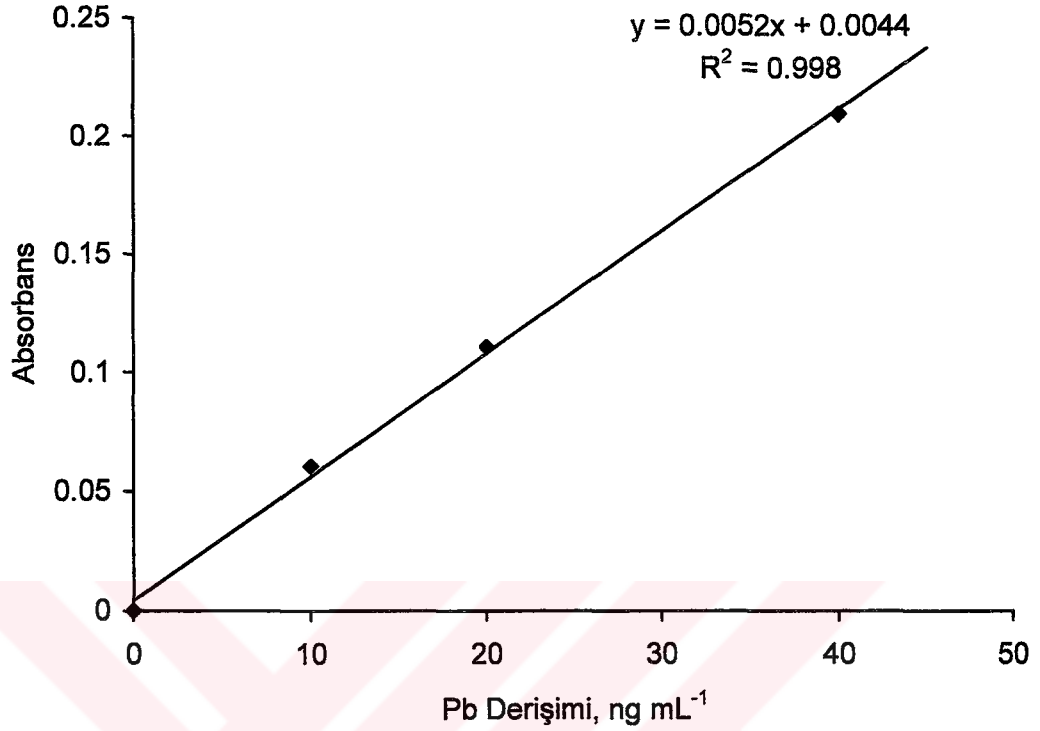
Numune No	Pb, $\mu\text{g L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$ (n=3)	
	FI-HG-AAS	ETAAS
1	25 $\pm$ 1	24 $\pm$ 1
2	70 $\pm$ 1	68 $\pm$ 3
3	68 $\pm$ 3	69 $\pm$ 3
4	36 $\pm$ 1	34 $\pm$ 2
5	33 $\pm$ 1	33 $\pm$ 3
6	37 $\pm$ 1	39 $\pm$ 3
7	37 $\pm$ 3	39 $\pm$ 1
8	34 $\pm$ 2	36 $\pm$ 1
9	51 $\pm$ 3	50 $\pm$ 1
10	11 $\pm$ 1	12 $\pm$ 1
11	10 $\pm$ 1	10 $\pm$ 1
12	13 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1

Tablo 8. Derişik Diyaliz Çözeltilerinin Üretiminde Kullanılan Tuzlarda FI-HG-AAS ile Bulunan Pb Derişimleri

Derişik Diyaliz Çözeltilerinin Üretiminde Kullanılan Tuzlar	Pb derişimleri ($\mu\text{g g}^{-1}$)
NaCl	0.30 ± 0.01
KCl	0.10 ± 0.01
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.40 ± 0.01
NaHCO_3	0.10 ± 0.01
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.03 ± 0.01
$\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0.02 ± 0.01

4.6.2. Kalsiyum Destekleyici Tablette Kurşun Tayini

Şekil 19'da kalsiyum destekleyici tabletin FI-HG-AAS ile standart katma yöntemi kullanılarak çizilen kalibrasyon doğrusu görülmektedir. İki farklı kalsiyum destekleyici tabletinde FI-HG-AAS ile Pb derişimleri $0.3 \mu\text{g g}^{-1}$ dan düşük bulunmuştur. Literatürde kalsiyum karbonat tabletleri için belirtilen sınır değeri $3 \mu\text{g g}^{-1}$ 'dir⁶.



Şekil 19. Kalsiyum Destekleyici Tablette Kurşun Tayini için Standart Katma Yöntemi ile Hazırlanan Kalibrasyon Doğrusu

4.7. Doğruluk Çalışmaları

4.7.1. Standart Referans Madde

Standart referans madde "Waste Water SCP-EU-L1 (SCP Science, Canada)" ile FI-HG-AAS ile yapılan tayinde Pb miktarı $100.3 \pm 2.3 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Sertifika edilmiş kurşun derişimi $100 \pm 2 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak verilmiştir. İki değer arasında % 95 güven aralığında anlamlı bir fark yoktur. Bu referans madde tam olarak çalıştığımız numune matriksini temsil etmemektedir. Bu tip matriksler için henüz sertifikalı referans madde mevcut olmadığından numune matriksi için doğruluk, geri kazanım ve katı faz ekstraksiyonu sonrası ETAAS karşılaştırma yöntemi kullanarak test edildi.

4.7.2. FI-HG-AAS ile Geri Kazanım Çalışmaları

FI-HG-AAS kullanarak derişik diyaliz çözeltilerinde bulunan kurşun derişimlerinin doğruluğunu kontrol etmek için, içine standart kurşun katılan numuneler FI-HG-AAS ile tayin edildi. Geri kazanım sonuçları Tablo 9'da görölmektedir.

Tablo 9. FI-HG-AAS ile Geri Kazanım Çalışması; Derişik Diyaliz Çözeltilerine $+7.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $+30 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb Eklenmesi ile Geri Kazanım Sonuçları

Numune No	% Geri Kazanım ($+7.5 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb) (n=3)	% Geri Kazanım ($+30 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb) (n=3)
1	104.9 ± 3.1	99.8 ± 2.7
2	101.4 ± 2.5	100.0 ± 3.1
3	104.5 ± 1.9	101.9 ± 1.6
4	93.2 ± 2.2	98.7 ± 0.3
5	92.2 ± 0.5	99.9 ± 1.0
6	100.3 ± 1.2	96.4 ± 1.4
10	101.3 ± 2.7	100.1 ± 2.0

Diyaliz konsantreleri iki ayrı derişimde analit katılması yapılarak kurşun derişimleri FI-HG-AAS ile tayin edilmiştir. Dış kalibrasyon eğrisinin eğimindeki fark nedeni ile içine analit katılmış numunelerde kurşun tayini standart katma yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. $7.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $30 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb derişimleri için yapılan geri kazanım sonuçları % 92.2 ile 104.9 arasında bulunmuştur.

5. SONUÇ ve TARTIŞMA

Yüksek derişimde tuz içeren matrikslerde eser miktarda kurşun tayinindeki analitik güçlükler halen geçerliliğini sürdürmektedir. ETAAS ve ICP-MS tekniklerinin her ikisinde de söz konusu matriksler ile çalışmak hemen hemen imkansızdır. Kimyasal buhar oluşturma yöntemleri analitin seçici olarak gaz fazına alınması yoluyla girişimlerin azaltılmasını veya engellenmesini sağlayan etkili ve hızlı yöntemlerdir. Kurşunun hidrür oluşturma tayinine yönelik çalışmalar çok yeni olmamakla birlikte, gerek duyarlılık, kesinlik gerekse sağlamlık açısından analitik yöntem özellikleri kazanması uzun bir süreç almıştır. Günümüzde, farklı matrikslerde uygulamaları ve analitik yöntem olarak potansiyeli hakkında veriler tam olarak oluşmamıştır. Bu çalışma kurşun tayininde FI-HG-AAS'nin güncel bir analitik probleme uygulanması ile mevcut potansiyelinin anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

Yöntemin doğruluğunu test etmek için ilk olarak atık su referans maddesinde (Waste Water SCP-EU-L1, SCP Science, Canada) kurşun tayini yapıldı. Standart referans maddedeki sertifikalı kurşun derişimi $100 \pm 2 \mu\text{g L}^{-1}$, bulunan değer ise $100.3 \pm 2.3 \mu\text{g L}^{-1}$ 'dir. Tuz matriksinde doğruluk çalışması için öncelikle FI-HG-AAS yöntemi ile geri kazanım çalışması yapılmış ve numunelerde bulunan kurşun derişimleri kıyaslama yöntemi olarak ETAAS ile tayin edilmiştir. Chelex-100 reçineden geçirme işlemi uzun ve yoğun laboratuvar çalışması gerektiren bir yöntem olduğundan olası hatalar standart çözeltiler ile kontrol altında tutulmuştur.

Derişik diyaliz çözeltilerinde en önemli kurşun kaynağı olarak sodyum klorür gözükmektedir. Fakat kurşun derişimlerinin en yüksek olduğu 2 ve 3 no'lu numuneler ile 1, 4, 5 ve 6 no'lu numuneler arasında sodyum klorür derişimleri açısından bu büyüklükte kurşun derişimine neden olacak farklılık yoktur. Kurşun

derişimindeki bu farklılıkların üretim tarihlerinde kullanılan ham tuzların farklılıklarından kaynaklanmış olabileceği düşünölmüştür.

Önerilen yöntemle derişik diyaliz çözeltilerinden elde edilen kurşun sinyallerinde zemin sinyalinin çok düşük olduğu gözlemlendi. Numune matriksinde sodyum klorür varlığının ETAAS ve plazma tekniklerinde önemli girişimlere neden olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla FI-HG-AAS yöntemi ile ön işleme gerek kalmadan doğrudan tayin yapılabilmesi önemli bir avantajdır. Yöntemin gözlenebilme sınırı, duyarlığı ve kesinliği, literatürlerdeki diğer kurşun hidrür çalışmaları ile kıyaslanabilir düzeydedir¹⁰⁶. Hızlı (saatte yaklaşık 70 ölçüm), seçici, basit ve ekonomik olduğu için yöntem rutin analizlere uygulanabilir ve standart bir hidrür oluşturma düzeneği ile kolaylıkla çalışılabilir. Fakat numunelerin çoğu için standart katma gereklidir. Derişik diyaliz çözeltileri sentetik çözeltiler olduğundan, yüksek saflıkta tuzlar kullanarak her bir matriksi düşük kör değerleri okunacak şekilde taklit etmek mümkündür. Bu durumda matriks ortamında hazırlanmış standartlar kullanmak suretiyle standart katma yönteminden kaçınılabilir. Fakat derişik diyaliz çözeltilerinin gerek içerikleri gerekse bileşenlerinin miktarı açısından çeşitlilik gösterdikleri unutulmamalıdır. Önerilen yöntem hem grafit tüp tuzaklama hem de ICP-MS ile birlikte kullanılabilir.

Derişik diyaliz çözeltilerinde bulunan kurşun derişimleri literatürlerdeki diğer çalışmalarla kıyaslandığında sonuçların benzer olduğu görölmüştür. Saraçoğlu ve grubunun⁴² yaptığı çalışmada 6 ayrı derişik diyaliz çözeltisinde kurşun değerleri 5.7 $\mu\text{g L}^{-1}$ - 61.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ arasında, Bohrer ve grubunun⁴⁴ yaptığı çalışmada ise 3 ayrı derişik diyaliz çözeltisinde kurşun derişimleri 28.8 $\mu\text{g L}^{-1}$ - 46.8 $\mu\text{g L}^{-1}$ arasında bulunmuştur. Derişik diyaliz çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan sularda kurşun sınır değeri mevcut ise de (5 $\mu\text{g L}^{-1}$)²⁸ diyaliz çözeltileri için belirlenmiş bir sınır değeri yoktur. Derişik diyaliz çözeltileri 1.2:32.8, 1:34 oranında seyreltilerek

kullanılmaktadır. Numunenin alındığı iki üretici firmanın diyaliz çözeltilerini hazırlamak için kullandıkları sularda kurşun derişimi, gözlenebilme sınırının altında bulunmuştur.



ÖZET

Derişik diyaliz çözeltilerinde ve kalsiyum destekleyici tabletlerde kurşun tayini için akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturmali atomik absorpsiyon spektrometri (FI-HG-AAS) kullanarak yöntem önerilmiştir. Ortamdaki asit derişimi, oksitleyici ve indirgeyici reaktiflerin derişimleri, taşıyıcı argon gaz akış hızının duyarlılığa etkisi incelendi. Yüksek tuz derişimlerinde dahi zemin sinyali gözlenmedi. Gözlenebilme sınırı, kör sinyalinin standart sapmasının 3 katı sinyal veren derişim, 500 µL enjeksiyon hacmi için 0.7 µg L⁻¹ olarak bulundu. 20 µg L⁻¹ kurşun derişiminde kesinlik % RSD cinsinden 3.7'dir. Çalışılan derişik diyaliz çözeltilerindeki kurşun derişimi 10-70 µg L⁻¹ arasında bulundu. Kurşun katılmış numunelerde geri kazanım % 92.2-104.9 arasındadır. Aynı numunelerde kurşun tayini Chelex-100 reçine kullanarak katı faz ekstraksiyonu ile matriksten ayrıldıktan sonra ETAAS ile yapıldı. Sonuçların FI-HG-AAS ile uyum içinde olduğu gözlemlendi.

SUMMARY

An analytical procedure using flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry (FI-HG-AAS) for the determination of lead in dialysis concentrates and calcium supplements was introduced. The parameters such as acidity, concentration of oxidising and reducing agents and argon gas flow rate were investigated to reach the best peak height sensitivity. No significant background signal was observed at high salt concentrations. The detection limit, concentration giving a signal equal to three times standard deviation of the blank signal, was $0.7 \mu\text{g L}^{-1}$ for a $500 \mu\text{l}$ injection volume. Precision of the measurements at the $20 \mu\text{g L}^{-1}$ level was 3.7 % RSD. The dialysis concentrates analysed by FI-HG-AAS were found to have $10\text{--}70 \mu\text{g L}^{-1}$ of lead. The recoveries from the spiked samples were in the range of 92.2–104.9 %. The same samples were analysed by ETAAS after removing the matrix using solid phase extraction with Chelex 100. The results were in agreement with those obtained by FI-HG-AAS.

ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Ankara'da doğdum. İlk ve Orta öğrenimimi Ankara'da tamamladım. 1993 yılında Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden mezun oldum. 1996 yılında Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. 1997 yılında Yard.Doç.Dr. Nilgün Günden Göğer'in danışmanlığında "UV Spektroskopisi ve Susuz Ortam Titrasyonu ile Piroksikam Miktar Tayini ve Yöntemlerin Karşılaştırılması" isimli tez çalışması ile Yüksek Lisans programını tamamladım. Aynı yıl Doktora programına başladım. Şu anda aynı fakültede Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.

KAYNAKLAR

1. NEEDLEMAN, H.L., GUNNOE C., LEVITON, A., REED, R., PERESIE, H., MAHER, C., BARRET, P.: Deficits in Psychologic and Classroom Performance of Children with Elevated Dentine Lead Levels, *N. Engl. J. Med.*, 300, 689- 695. (1979)
2. RABINOWITZ, M.B., WANG, J.D., SOONG, W.T.: Dentine Lead and Child Intelligence in Taiwan, *Arch. Environ. Health*. 46, 351- 360. (1991)
3. KHANDEKAR, R.N., MISHRA, U.C.: Determination of Lead, Cadmium, Copper and Zinc in Human Tissues by Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry, *Fres. Z. Analytical Chemistry* 319, 577- 580. (1984)
4. TEMPRANO, M.C.V.H, FERNANDEZ, B.A., CAMPA, M.R.F., MEDEL, S.: Study of the Influence of Ordered Media on the Determination of Lead by Hydride Generation Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 283, 175- 182. (1993)
5. MILLSTONE, E., *Lead and Public Health: the Dangers for Children*, Taylor and Francis, Washington. (1997)
6. TYSON, J., F., ELLIS, R.I., CARNRICK, G., FERNANDEZ, F.: Flow Injection Hydride Generation Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry with in-Atomizer Trapping for the Determination of Lead in Calcium Supplements, *Talanta*, 52, 403- 410. (2000)
7. KRACHLER, M., SCHARFETTER, H., WIRNSBERGER, G.H.: Kinetics of the Metal Cations Magnesium, Calcium, Copper, Zinc, Strontium, Barium, and Lead in Chronic Hemodialysis Patients, *Clinical Nephrology*, 54, 35- 44, (2000)
8. KESSLER, M., DURAND, P.Y., HUU, T.C., ROYER-MOROT, M.J., CHANLIAU, J., NETTER, P.N., DUC, M.: Mobilization of Lead from Bone in End-stage Renal Failure Patients with Secondary Hyperparathyroidism, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 14, 2731-2733. (1999)

9. SAMPSON, B., CURTIS, J.R., DAVIES, S.: Survey of Blood Lead and Plasma Aluminium Concentrations in Patients of a Renal Unit, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 4, 375- 381. (1989)
10. BOURGOIN, B.P., EVANS, D.R., CORNETT, J.R.: Lead Content in 70 Brands of Dietary Calcium Supplements, *Am. J. Public Health*, 83, 1155- 1160. (1993)
11. FULLMER, C.S., ROSEN, J.F.: Effect of Dietary Calcium and Lead Status on Intestinal Calcium Absorption, *Environ. Res.*, 51, 91- 99. (1990)
12. ROSS, E.A., SZABO, N.J., TEBBETT, I.R.: Lead Content of Calcium Supplements, *JAMA*, 284, 1425- 1429. (2000)
13. United States Pharmacopoeia 23-NF18, United States Pharmacopoeial Convention, Rockville, MD. (1995)
14. Food Chemicals Codex, 4th Edition, National Academy Press, Washington, DC. (1996)
15. VURAL, N., Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 73, Ankara. (1996)
16. KLASSEN, C.D., Cassaret and Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons, fifth edition. (1996)
17. ELLENHORN, M.J., Medical Toxicology, Diagnosis and Treatment of Human Poisoning, Williams and Wilkins, second edition. (1997)
18. <http://www.epa.gov/ttnuatw1/hlthef/lead>
19. IPCS, Enviromental Health Criteria, 165, Inorganic Lead, WHO. (1995)
20. COHEN, A.J., ROE, F.J.C.: Rewiew of Toxicology Relevant to Safety Assesment of Lead Acetate as a Hair Colouring, *Fd Chem. Toxic.*, 29, 485- 507. (1991)
21. ŞENEL, S., ŞUMNU, M., HINCAL, A.A.: Böbrek Yetmezliği Tedavisinde Uygulanan Tekniklerin Dayandığı Temel Prensipler "Türkiye Organ Nakli ve Yanık Tedavi Vakfı", *Tıp Bilimleri Dergisi*, 3, 34- 39, Ankara. (1986)

- 22. ŞENEL, S., ŞUMNU, M., HINCAL, A.A., SAATÇI, Ü.:** Hemodiyaliz ve Peritoneal Diyaliz Çözeltilerinin Formülasyonu "Türkiye Organ Nakli ve Yanık Tedavi Vakfı", Tıp Bilimleri Dergisi, 3, 46- 50, Ankara. (1986)
- 23. INGULLI, E., GONZALEZ, R., RAJPOOT, D., TEJANI, A.:** Nephrotic Syndrome: From Toddlers to Twenties, Lancet, 333, 674. (1989)
- 24. SAN, A., GÖKMEN, L.:** Kronik Ayaktan Periton Diyalizi (CAPD) "Türkiye Organ Nakli ve Yanık Tedavi Vakfı", Tıp Bilimleri Dergisi, 3, 51- 54, Ankara. (1986)
- 25. PASSLICK-DEETJEN, J., KOCH, R., GRABENSEE, B.:** High Osmolar Amino Acid Solution an Alternative to Glucose, Contrib. Nephrol., 89, 134- 146. (1991)
- 26. LEBEDO, I.:** Acetate vs Bicarbonate in Everyday Dialysis, second edition, 16- 24, Gambro AB, Sweden. (1990)
- 27. LASSERRE, J.J., DRESCER, P., STEUDLE, V., STRAUCH, M., GRETZ, N.:** Galactose-Containing CAPD Solution: Kinetics and Long-Term Effects in Rats, Contrib. Nephrol., 89, 128- 133. (1991)
- 28. Water Quality for Dialysis in "Association for the Advancement of Medical Instrumentation", Vol:3, 253, Printed in the USA. (1995)**
- 29. ARDUINO, M.J., BLAND, L.A., AGUERO, S.M., FAVERO, M.S.:** Effects of Incubation Time and Temperature on Microbiologic Sampling Procedures for Hemodialysis Fluids, J. Clin. Microbiology., 29, 1462- 1465. (1991)
- 30. MION, C.M., CANAUD, B., GARRED, L.J., STEC, F., VIGUYEN, Q.V.:** Sterile and Pyrogen-Free Bicarbonate Dialysate: A Necessity for Hemodialysis Today, Adv. Nephrol., 19, 315- 332. (1990)
- 31. KLEIN, G.L., ALFERY, A.C., SHIKE, M., SHERRARD, D.J.:** Parenteral Drug Products Containing Aluminium as an Ingredient or a Contaminant, Am. J. Clin. Nutr., 53, 399- 402. (1991)
- 32. BONNIE SCHORNE, E., GRASMAN, A., WEBWE, C., VIENKEN, J.:** Water Quality in Hemodialysis, Pabst Science Publishers, 13- 45. (1998)

- 33. SCHEER, R.:** Qualitätsanforderungen an Wasser für Pharmazeutische Zwecke, Scheer ed, W., Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 17, 19- 27. (1993)
- 34. WALLHAUSER, K. H., WASSERKEIME, A., VORKOMMEN, B.:** Empfindlichkeit gegen Entkeimungsverfahren, Risikoabschätzung, Wasser für Pharmazeutische Zwecke Scheer, R., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Hedelhang, 62- 71. (1993)
- 35. CATALAYUD, J. M.:** Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals, Automation in the Laboratory, Taylor & Francis, London, UK. (1996).
- 36. FANG, Z-L.:** Flow Injection Separation and Preconcentration, VCH, Weinheim, Germany. (1993).
- 37. SLAVIN, W., MANNING, D.C.:** The Determination of Trace Elements in Natural Waters Using the Stabilized Temperature Platform Furnace, Appl. Spectrosc., 37, 1- 11. (1983)
- 38. L'VOV, B.V.:** Electrothermal Atomization-the Way Toward Absolute Methods of Atomic Absorption Analysis, Spectrochimica Acta, Part B, 33, 153- 193. (1978)
- 39. CASTRO, M.A., FEO, J.C., ALLER, A.J.:** Thermal Stability and Spatial Distribution of Sodium Chloride Alone and in the Presence of Several Metal Salts on Graphite Platform, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 8, 1- 13. (2003)
- 40. CHAN, G.C.Y., CHAN, W.T.:** Determination of Lead in Chloride Matrix by Atomic Absorption Spectrometry Using Electrothermal Vaporization and Capacitively Coupled Plasma Atomization, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 13, 209- 214. (1998)
- 41. ELÇİ, L., SARAÇOĞLU, S.:** Applying Magnesium Hydroxide Coprecipitation Method for Trace Analysis to Dialysis Concentrate, Talanta, 46, 1305- 1310. (1998)
- 42. SARAÇOĞLU, S., SOYLAK, M., ELÇİ, L.:** Separation/ Preconcentration of Trace Heavy Metals in Urine, Sediment and Dialysis Concentrates by Coprecipitation with Samarium Hydroxide for Atomic Absorption Spectrometry, Talanta, 59, 287- 293. (2003)

43. YANG, X.P., ADAMS, F.: Flow Injection On-Line Sorption Separation and Preconcentration with a Knotted Reactor for Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Determination of Lead in Biological and Environmental Samples, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12, 459- 464. (1997)
44. BOHRER, D., NASCIMENTO, P.C., GUTERRRES, M., TREVISAN, M., SEIBERT, E.: Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Determination of Lead, Cadmium, Copper and Zinc in High-Salt Content Samples After Simultaneous Separation on Polyethylene Powder Impregnated with 1-(2-pyridylazo)-2-naphtol: Application to the Analysis of Hemodialysis Fluids, *Analyst*, 124, 1345- 1350. (1999)
45. POZEBON, D., DRESSLER, L., CURTIUS, A.J.: Determination of Copper, Cadmium, Lead, Bismuth and Selenium(IV) in Sea-Water by Electrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry After On-line Separation, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13, 363- 369. (1998)
46. PAI, S-C.: Pre-Concentration Efficiency of Chelex-100 Resin for Heavy Metals Seawater. Part 2. Distribution of Heavy Metals on Chelex-100 Column and Optimization of Column Efficiency by a Plate Simulation Method, *Analytica Chimica Acta*, 211, 271- 280. (1988)
47. ELÇİ, L., ŞAHİN, U., ÖZTAŞ, S.: Determination of Trace Amounts of Some Metals in Samples with High Salt Content by Atomic Absorption Spectrometry After Cobalt-diethyldithiocarbamate Coprecipitation, *Talanta*, 44, 1017- 1023. (1997)
48. SPERLING, M., YIN, X., WELZ, B.: Flow Injection On-line Separation and Preconcentration for Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 6, 295- 300. (1991)
49. UZUN, A., SOYLAK, M., ELÇİ, L.: Preconcentration and Separation with Amberlite XAD-4 Resin; Determination of Cu, Fe, Pb, Ni, Cd and Bi at Trace Levels in Waste Water Samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry, *Talanta*, 54, 197- 202. (2001)
50. BARRERA-BERMEJO, P., PIENEIRO-MOREDA, J., PIENEIRO-MOREDA, A., BARRERA-BERMEJO, A.: Usefulness of the Chemical Modification and the Multi-Injection Technique Approaches in the Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Determination of Silver, Arsenic, Cadmium, Chromium, Mercury, Nickel and Lead in Sea-Water, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13, 777- 786. (1998)

- 51.** FAGIOLI, F., LOCATELLI, C., LANDI, S., TORSI, G., MORENO, F.C.: Lead and Cadmium Determination in Dialysis Fluids by Atomic Absorption Spectrometry and Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry, *Annali di Chimica*, 84, 19- 36. (1994)
- 52.** GRINSHTEIN, I.L., VILPAN, Y.A., SARAIEV, A.V., VASILIEVA, L.A.: Direct Atomic Absorption Determination of Cadmium and Lead in Strongly Interfering Matrices by Double Vaporization with a Two-Step Electrothermal Atomizer, *Spectrochimica Acta, Part B*, 56, 261- 274. (2001)
- 53.** NGOBENI, P., CANARIO, C., KATSKOV, D.A., THOMASSEN, Y.: Transverse Heated Filter Atomizer: Atomic Absorption Determination of Pb and Cd in Urine, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 18 (7), 762- 768. (2003)
- 54.** PRITCHARD, M.W., REEVES, R.D.: Non-Atomic Absorption from Matrix Salts Volatilized from Graphite Atomizers in Atomic Absorption Spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 82, 103- 111. (1976)
- 55.** NAKAHARA, T., CHAKRABARTI, C.L.: Direct Determination of Traces of Molybdenum in Synthetic Sea Water by Atomic Absorption Spectrometry with Electrothermal Atomization and Selective Volatilization of the Salt Matrix, *Analytica Chimica Acta*, 104, 99- 111. (1979)
- 56.** CASTRO, M.A., FEO, J.C., ALLER, A.J.: Thermal Stability and Spatial Distribution of Sodium Chloride Alone and in the Presence of Several Metal Salts on Graphide Platform, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 18, 260- 267. (2003)
- 57.** HOEING, M., DEHAIRS, F., KERSABIEC, A.M.: Effects of Ageing of Pyrolytically Coated Tubes on the Determination of Refractory Elements by Electrothermal Atomization Atomic Absorption Spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1, 449- 452. (1986)
- 58.** LOUIE, H., WU, M., DI, P., SNITCH, P., CHAPPLE, G.: Direct Determination of Trace Elements in Sea-Water Using Reaction Cell Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 17, 587- 591. (2002)
- 59.** PRAPHAIRAKSIT, N., HOUK, R.S.: Reduction of Mass Bias and Matrix Effects in Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with a Supplemental Electron Source in a Negative Extraction Lens, *Analytical Chemistry*, 72, 4425- 4440. (2000)

- 60.** RODUSKIN, I., RUTH, T., KLOCKARE, D.: Non-Spectral Interferences Caused by a Saline Water Matrix in Quadrupole and High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13, 159- 166. (1998)
- 61.** HOLLIDAY, A.E., BEAUCHEMIN, D.: Preliminary Investigation of Direct Sea-water Analysis by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Using a Mixed-Gas Plasma, Flow Injection and External Calibration, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 18 (9), 1109- 1112. (2003)
- 62.** GRAY, A.L., DATE, A.R.: Inductively Coupled Plasma Source-Mass Spectrometry Using Continuum Flow Ion Extraction, *Analyst*, 108, 1033- 1050. (1983)
- 63.** OLIVARES, J.A., HOUK, R.S.: Supression of Analyte Signal by Various Concomitant Salts in Inductively Coupled Plasma Mass-Spectrometry, *Analytical Chemistry*, 58, 20- 25. (1986)
- 64.** HORLICK, G., SHAO, Y.: In *Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectrometry*, ed. Montaser, A., Golightly, D. W., VCH, New York, 551. (1992)
- 65.** VANDECASTEELE, C., NAGELS, M., VAHOE, H., DAMS, R.: Suppression of Analyte Signal in Inductively-Coupled Plasma Mass-Spectrometry and Use of an Internal Standard, *Analytica Chimica Acta*, 211, 91- 98. (1988)
- 66.** BEAUCHEMIN, D., McLAREN, J.W., BERMAN, S.S.: Study of the Effects of Concomitant Elements in Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, *Spectrochimica Acta, Part B*, 42, 467- 490. (1987)
- 67.** GREGOIRE, D.C.: The Effect of Easily Ionizable Concomitant Elements on Non-Spectroscopic Interferences in Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, *Spectrochimica Acta, Part B*, 42, 895- 907. (1987)
- 68.** GILLSON, G.R., DOUGLAS, D.J., FULFORD, J.E., HALLIGAN, K.W., TANNER, S.D.: Nonspectroscopic Interelement Interferences in Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry*, 60, 1472- 1474. (1988)

69. TANNER, S.D.: Characterization of Ionization and Matrix Supression in Inductively-Coupled Cold Plasma Mass-Spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 10, 905- 921. (1995)
70. KIM, Y.S., KAWAGUCHI, H., TANAKA, T., MIZUIKE, A.: Non-Spectroscopic Matrix Interference in Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, *Spectrochimica Acta, Part B*, 45, 333- 339. (1990)
71. BYRNE, J.P., CHAPPLE, G.: Direct Determination of Trace Metals in Seawater by Electrothermal Vaporization ICP-MS with Pd-HNO₃ Modifier, *Atomic Spectroscopy*, 19 (3), 116- 120. (1998)
72. BRINDLE, I.D., LE, X.: Application of Signal Enhancement by Easily Ionized Elements in Hydride Generation Direct Current Plasma Atomic Emission Spectrometric Determination of Arsenic, Antimony, Germanium, Tin, and Lead, *Analytical Chemistry*, 61, 1175- 1178. (1989)
73. TEMPRANO, M.C.V., FERNANDEZ, B.A., CAMPA, M.R.F., MEDEL, A.S.: Study of the Influence of Ordered Media on the Determination of Lead by Hydride Generation Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 283, 175- 182. (1993)
74. LI, J., LU, F., UMEMURA, T., TSUNODA, K.: Determination of Lead Hydride Generation in Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 419, 65-72. (2000)
75. FAGIOLI, F., LOCATELLI, C., LANDI, S., TORSI, G., CANAS DE MORENO, F.: Lead and Cadmium Determination in Dialysis Fluids by Atomic Absorption Spectrometry and Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry, *Annali di Chimica*, 84, 19- 39. (1994)
76. DEDINA, J., TSALEV, D.L.: *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*, Willey, Chichester, UK. (1995)
77. KAN, K.-T.: An Automated Method for the Determination of As and Sb , *Analytical Letters*, 6, 603- 611. (1973)
78. ASTROM, O.: Flow Injection Analysis for Determination of Bi by AAS with HG, *Analytical Chemistry*, 54, 190- 193. (1982)

- 79. NAKAHARA, T.:** Applications of HG Techniques in AA, AF and Plasmas AES, *Prog. Anal. At. Spectrosc.*, 6 , 163- 223. (1983)
- 80. KNUDSON, K. J., CHRISTIA, G.D.:** Flameless AA Determination of Volatile Hydrides, Using Cold Trap Collection, *Analytical Letters*, 6, 1039-1054. (1973)
- 81. DRASCH, G., MEYER, L.V., KAUERT, G.:** Application of the Furnace AA Method for the Detection of As in Biological Samples by Means at the Hydride Technique, *Fresenius Z. Analytical Chemistry*, 304, 141- 142. (1980)
- 82. STURGEON, R.E., NILUE, S.N., SPROULE, G.I., ROBINSON, P.T., BERMAN, S.S.:** Sequestration of Volatile Element Hydrides by Platinum Group Elements for GF AA, *Spectrochimica Acta, Part B*, 44, 667- 682. (1989)
- 83. DITTRICH, K., MANDRY, R.:** Investigations in to the Improvement of the Analytical Application of the Hydride Technique in AAS by Matrix Modification and GF Atomization. Part 1. Analytical Results, *Analyst*, 111, 269- 275. (1986)
- 84. ALVAREZ, M.A., CARRION, N., GUTIERREZ, H.:** Effects of Atomization Surfaces and Modifiers on the Electrothermal Atomization of Cadmium, *Spectrochimica Acta, Part B*, 50 (13), 1581- 1594. (1995)
- 85. SIEMER, D.D., HAGEMANN, L.:** An Improved HG AA Apparatus for Se Determination, *Analytical Letters*, 8, 323- 337. (1975)
- 86. CHU, R.C., BARRON G.P., BAUMGARNER, P.A.W.:** As Determination at Submicrogram Levels by Arsine Evolution and Flameless AA Spectrometric Technique, *Analytical Chemistry*, 44, 1476- 1479. (1972)
- 87. THOMPSON, K.C., THOMERSON, D.R.:** AA Studies on the Determination of Sb, As, Bi, Ge, Pb, Se, Te and Sn by Utilizing the Generation of Covalent Hydrides, *Analyst*, 99, 595- 601. (1974)
- 88. KORKMAZ KARADENİZ, D., ERTAŞ, N., ATAMAN, O. Y.:** A Novel Silica Trap for Lead Determination by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry, *Spectrochimica Acta, Part B*, 57, 571- 580. (2002)

- 89. WELZ, B., MELCHER, M.:** Investigations on Atomization Mechanisms of Volatile Hydride-forming Elements in Heated Quartz Cell Part 1. Gas phase and Surface Effects; Decomposition and Atomization of Arsine, *Analyst*, 108, 213- 224. (1983)
- 90. AGTERDENBOS, J., BAX, D.:** Mechanisms in Hydride Generation AAS, *Fresenius Z. Analytical Chemistry*, 323, 783- 787. (1986)
- 91. FORSYTH, D.S., MARCHALL, D.:** Performance of an Automated Gas Chromatograph-Silica Furnace-Atomic Absorption Spectrometer for the Determination of Alkyllead Compounds, *Analytical Chemistry*, 57, 1299- 1305. (1985)
- 92. JOHANSSON, M., FRESH, W., BAXTER, D.C., OHLSSON, K.E.A.:** Mechanism of Formation and Spatial Distribution of Lead Atoms in Quartz Tube Atomizers, *Spectrochimica Acta, Part B*, 52, 643-656. (1997)
- 93. CHIKUMA, M., AOKI, H.:** Preconcentration Atomic Absorption Spectrophotometric Determination of Trace Lead(II) by Hyride Generation Combined with an Adsorbent Water Suspension Sampling Technique, *Microchemical Journal*, 49, 368- 377. (1994)
- 94. MADRID, Y., CAMARA, C.:** Lead Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry: An Alternative to Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, *Analyst*, 119, 1647- 1658. (1994)
- 95. THOMPSON, K.C., THOMERSON, D.R.:** Atomic-absorption Studies on the Determination of Antimony, Arsenic, Bismuth, Germanium, Lead, Selenium, Tellerium, and Tin by Utilising the Generation of Covalent Hydrides, *Analyst*, 99, 595- 601. (1974)
- 96. CASTILLO, J.R., MIR, J.M., MARTINEZ, C., VAL, J., COLON, M.P.:** Infulnence of Oxidising Agents in Lead Determination by Hydride Generation Direct Flame Atomic Absorption Spectroscopy, *Mikrochimica Acta*, 1, 253- 263. (1985)
- 97. FLEMING H. D., IDE, R.G.:** Determination of Volatile Hydride-Forming Metals in Steel by Atomic Absorption Spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 83, 67- 82. (1976)
- 98. MADRID, Y., MESEGUER, J., BONILLA, M., CAMARA, C.:** Lead Hydride Generation in a Lactic Acid-Potassium Dichromate Medium and its Application to the Determination of Lead in Fish, Vegetable and Drink Samples, *Analytica Chimica Acta*, 237, 181- 187. (1990)

99. WANG, X., BARNES, R.M.: A Mathematical Model for Continuous Hydride Generation with Inductively Coupled Plasma Spectrometry-II. pH Dependence of Hydride Forming Elements, *Spectrochimica Acta, Part B*, 42, 139- 156. (1987)
100. VIJAN, P.N., WOOD, G.R.: Semi-automated Determination of Lead by Hydride Generation and Atomic-Absorption Spectrometry, *Analyst*, 101, 966- 973. (1976)
101. JIN, K., TAGA, M.: Determination of Lead by Continuous-flow Hydride Generation and Atomic Absorption Spectrometry: Comparison of Malic Acid-Dichromate, Nitric Acid-Hydrogen Peroxide and Nitric Acid-Peroxodisulfate Reaction Matrices in Combination with Sodium Tetrahydroborate, *Analytica Chimica Acta, Part B*, 143, 229- 236. (1982)
102. TYSON, J.F., ELLIS, R.I., CARNRICK, G., FERNANDEZ, F.: Flow Injection Hydride Generation Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry with in-Atomizer Trapping for the Determination of Calcium Supplements, 52, 403- 410. (2000)
103. CHEN, H. WU, J., BRINDLE, I.D.: Simultaneous Reduction of Arsenic and Lead to Hydrides by Sodium Tetrahydroborate(III) for Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry: An Investigation into the Reaction Medium, *Talanta*, 42, 353- 360. (1994)
104. BRINDLE, I.D, McLAUGHLIN, R., TANGTREAMJITMUN, N.: Determination of Lead in Calcium Carbonate by Flow-Injection Hydride Generation with DC Plasma Atomic Emission Detection, *Spectrochimica Acta, Part B*, 53, 1121- 1129. (1998)
105. ZHANG, S., HAN, H., NI, Z.M.: Determination of Lead by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry in the Presence of Nitroso-R Salt, *Analytica Chimica Acta*, 221, 85- 90. (1989)
106. LIU, X., XU, S., FANG, Z.: Determination of Trace Amount of Lead in Biological Materials by Flow Injection-Hydride Generation-AAS with Sensitivity Enhancements Using Nitroso-R-Salt, *Atomic Spectroscopy*, 21, 229- 233. (1994)
107. CHEN, H., TANG, F., BRINDLE, C.G.D.: The Influence of Chelating Reagents on Plumbane Generation: Determination of Lead in the Presence of PAN-S, *Talanta*, 40, 1147- 1155. (1993)

- 108.** ELLIS, R.I., SUNDIN, N.G., TYSON, J.F., McINTOSH, S.A., HANNA, C.P., CARNRICK, G.: Effect of High Salt Concentrations on the Determination of Arsenic and Selenium by Flow Injection Hydride Generation Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, *Analyst*, 123, 1697- 1701. (1998)
- 109.** LI, J., LIU, Y., LIN, T.: Determination of Lead by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry, Part 1. A New Medium for Generating Hydride, *Analytica Chimica Acta*, 231, 151- 155. (1990)

