

29802.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SODYUM SAKKARİN VE SODYUM SIKLAMAT
KARIŞIMININ YÜKSEK DERECELİ TÜREV
SPEKTROSKOPİSİ İLE SİMÜLTANE TAYİNİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYAGER FATMA TURAK

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

İSTANBUL-1993

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında bana her türlü kolaylığı sağlayan değerli hocam Sayın Prof.Dr.Esin ÇURGUNLU'ya teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET

SUMMARY

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI.....	1
2. GENEL BÖLÜM.....	2
2.1. İncelenen Maddeler Hakkında Genel Bilgi.....	2
2.2. Sodyum Sakkarin.....	2
2.2.1. Özellikleri.....	2
2.2.2. Tanınma Yöntemi.....	2
2.2.3. Miktar Tayini(Farmakopea Yöntemi).....	3
2.2.4. Miktar Tayin Yöntemleri.....	3
2.3. Sodyum Siklamat.....	6
2.3.1. Özellikleri.....	6
2.3.2. Tanınma Yöntemi.....	7
2.3.3. Miktar Tayini(Farmakopea Yöntemi).....	7
2.3.4. Miktar Tayin Yöntemleri.....	7
2.4. Sodyum Sakkarin ve Sodyum Siklamat Karışımının Analizi İçin Geliştirilen Yöntemler.....	11
3. TÜREV SPEKTROMETRİSİ.....	14
3.1. Türev Ölçüm Teknikleri.....	17
3.2. Türev Spektrofotometrisinin Kullanım Alanları.....	20
4. DENEYSEL BÖLÜM.....	22
4.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	22
4.2. Maddeler.....	22
4.3. Standart Çözeltiler.....	22
4.4. Analiz Koşullarının Saptanması.....	23
4.5. Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması.....	24
a) Sodyum Sakkarinin Ölçü Eğrisi.....	24
b) Sodyum Siklamatın Ölçü Eğrisi.....	43
4.6. Farmasötik Preparatlardaki Sodyum Sakkarine Türev Spektrofotometrik Yöntemin Uygulanması ve Sonuçların Kıyas Yöntemleriyle Elde Edilen Sonuçlarla Karşılaştırılması.....	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	55
Kalorisiz Tatlandırıcılarda Bağlı Tatlılık.....	57
KAYNAKLAR.....	58

ÖZGEÇMİŞ

- ÖZET -

Sakkarin, siklamat ve tuzları tatlandırıcı olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Kalori değeri olmayan bu tatlandırıcılar ticari preparatlarda 1/10 oranında birarada bulunmaktadır.

Sodyum sakkarin ve sodyum siklamat karışımlarında değişik yöntemlerle miktar tayini yapılmıştır. Ama bu yöntemler uzun ön ayırma işlemleri yada pahalı ayırma cihazları ile uygulanmaktadır. Türev spektrofotometrik spektrumların ayırt edilmesinde kullanılan duyarlı bir yöntemdir. Bu metod analitik kimyada karışımların analizi içinde uygulanabilir. Yöntem çabuk ve duyarlıdır.

Karışımlarda sodyum sakkarin miktarı, türev spektrofotometrik olarak hassas bir şekilde tayin edilmesine karşın sodyum siklamat için uygun değildir. Bunun için NF XIII(5) yöntemi kullanılmıştır.

Sonuç olarak, tatlandırıcı olarak kullanılan tabletlerdeki sodyum sakkarin miktarı için şimdiye kadar uygulanan zor, zaman alıcı yöntemler yerine daha kolay ve hassas bir yöntem olarak bilinen türev spektrofotometrik yönteminin kullanılabileceği anlaşılmıştır. Kıyas yöntemi olarakta USP XXII'de (3) verilen yöntem kullanılmış. Seçilen türev derecesi ve dalga boyları ($1D_{229.7}$, $1D_{237.7}$, $2D_{227.7}$, $2D_{231.7}$, $2D_{235.7}$, $2D_{240.7}$) USP XXII'de (3) önerilen yönteme göre daha hassas sonuçlar elde edilebileceğini göstermiştir.

Tabletlerdeki sodyum siklamatin, türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için optimum koşullar saptanamamıştır. Çünkü sodyum siklamata ait türev pikleri sodyum sakkarin tarafından kapatılmaktadır. Bu nedenle tatlandırıcı tabletlerdeki sodyum siklamatin miktar analizi National Formulary XIII'de (5) önerilen yöntem ile yapılmıştır.

SUMMARY

Saccharin cyclamate and their salts have been extensively used as sugar substitutes. These non-caloric substitutes, which exist as combined, are in the ratio of 1 to 10, respectively in commercial preparations.

The quantities of sodium saccharin and sodium cyclamate in a mixture have been determined by different methods. But all these methods require either quite long preliminary separation processes or expensive equipment. Derivative spectrophotometry is very good tool for the fine resolution of spectra. This method can also be used in analytical chemistry to analyse any mixtures. The proposed method is rapid and sensitive.

Although the quantity of sodium saccharin in a mixture can be determined with derivative spectrophotometry, this technic is not appropriate for sodium cyclamate. So, NF XIII(5) method was used to determine the quantity of sodium cyclamate.

As a result, It is understood that derivative spectrophotometry - which is easier in order to execute and sensitive method - can be used in stead of other methods. - which have been used and difficult - to determine the quantity of sodium saccharin in sweetener tablets. The method given in USP XXII (3) was used in order to compare with proposed method. The chosen derivative degrees and wavelenghts ($1D_{229.7}$, $1D_{237.7}$, $2D_{227.7}$, $2D_{231.7}$, $2D_{235.7}$, $2D_{240.7}$) showed that is possible to obtain more sensitive outputs according to the method in USP XXII.

The optimum conditions to analyse the sodium cyclamate in the

tablets could not be determined. Because the derivative peaks belonging the sodium cyclamate are masked by sodium saccharin. For that reason, the quantity analysis of sodium cyclamate in sweetener tablets was done with the method given in National Formulary XIII (5).



1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Sodyum sakkarin ve sodyum siklamat diyet yiyecek ve içeceklerde oldukça kullanılan kalori değeri olmayan yapay tatlandırıcı maddelerdir. Günümüzde yerini daha yeni bir yapay tatlandırıcı olan Aspartam'a bırakmaya başlamıştır. Buna karşın ülkemizde pek çok gıda maddesine ve içeceklere katılmaktadır.

Sodyum sakkarin ve sodyum siklamatin ayrı ayrı veya birarada tayini için literatürde çok sayıda yöntem verilmektedir. Tabletlerde, gıda maddelerinde uygulanan bu yöntemlerde daha çok ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi, yüksek basınç sıvı kromatografisi gibi ayırma yöntemleri uygulandıktan sonra madde miktarı UV-VIS spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

Yukarıda verilen yöntemler zor ve zaman alan pahalı yöntemlerdir. Bu çalışmada tabletlerdeki sodyum sakkarin ve sodyum siklamatin kantitatif analizi için ucuz ve pratik bir yöntem olarak son zamanlarda analitik kimyada çok kullanılan türev spektrofotometrik yöntemin uygulanması amaçlanmıştır.

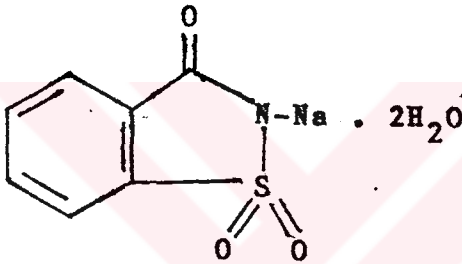
2. GENEL BÖLÜM

2.1 İncelenen Maddeler Hakkında Genel Bilgi

Sodyum siklamat ve sodyum sakkarin diyet içecek ve yiyeceklerde oldukça kullanılan yapay tatlandırıcılardır. Ayrıca şeker hastaları tarafından da kullanılması gerekli maddelerdir. Sodyum siklamatin kanserojen etkisinin saptanmasından sonra (1.2) kullanımına günlük belirli dozlar halinde müsaade edilmektedir. Günümüzde yerini daha yeni bir tatlandırıcı olan Aspartama bırakmaya başlamıştır.

2.2 Sodyum Sakkarin

2.2.1 Özellikleri



1,2 - Benzizotiazolin- 3 -on 1,1 - dioksit'in sodyum dihidrat tuzu

Kapalı formülü : $C_7H_4NNaO_3 \cdot 2H_2O$

Molekül formülü : 241,20 g/mol

Görünüş, renk, koku : Beyaz, kokusuz

Çözünürlük : 1 gramı 1,5 ml suda ve 50 ml alkolde çözünür.

Kloroform ve eterde çözünmez. (1)

Bağıl Tatlılık: Sakkarozdan 300-500 kez daha tatlıdır (1).

2.2.2 Tanınma Yöntemi

1g sodyum sakkarin 10 ml suda çözülür. Bu çözeltiye 1 ml HCl ilave edildiğinde oluşan beyaz kristaller sakkarindir. Klorür ortamdan uzaklaşınca kadar soğuk su ile yıkanır ve 105°C 'de iki saat kurutulur. Erime noktasının 226°C-230°C olması gerekir (3).

2.2.3 Miktar Tayini (Farmakopea Yöntemi)

105 °C'de 1 saat kurutulmuş sodyum sakkarinden alınan 500 mg örnek 10 ml suda çözüldükten sonra, çözelti bir ayırma hunisine alınır ve 2 ml 3N HCl ilave edildikten sonra oluşan sakkarin $\text{CHCl}_3 - \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (9:1) karışımının önce 30 ml'si sonra 20 ml'si ile ekstraktlar su banyosu üzerinde hava akımı yardımıyla buharlaştırılır ve oluşan beyaz kristaller 40 ml alkolde çözülüp 40 ml su ilave edilerek, fenolftalein indikatörlüğünde 0.1 N NaOH ile titre edilir. 1 ml 0,1 N NaOH 20.52 mg $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}\text{NaO}_3$ 'e eşdeğerdir. (3,4)

2.2.4 Miktar Tayin Yöntemleri

Sodyum sakkarinin kantitatif analizi için, farklı yıllarda yayınlanan farmakopilerde, gravimetrik, titrimetrik ve UV spektrofotometrik yöntem önerilmektedir. Sodyum sakkarin HCl ile asid formu olan sakkarine dönüştürülür ve BaCl_2 aşırısı ile ısıtıldıktan sonra oluşan sülfat, BaSO_4 şeklinde gravimetrik olarak tayin edilmiştir (5). Fenolftalein indikatörlüğünde 0.1N NaOH ile titrimetrik olarak miktar analizi yapılmıştır (3,4). Sodyum sakkarini, susuz asetik asitte çözerek kristal viyoleto indikatörlüğünde 0.1M HClO_4 ile de titre edilerek de analizi yapılabilir. (6) Tabletlerde bulunan sodyum sakkarin geliştirilen ekstraksiyon yöntemi uygulandıktan sonra 269 nm'deki absorbansı ölçülerek UV spektrofotometrik olarak analizi yapılmıştır (3). Yiyeceklerdeki sodyum sakkarin miktar analizi UV spektrofotometriyi kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada örnekteki sodyum sakkarin 1,2 - benzizotiazolin 1,1 - dioksit bileşiğine dönüştürülüp $\text{Al}_2\text{O}_3 - \text{Na}_2\text{SO}_4$ kolonunda etilalkol-heptan ile temizlenerek bu

bileşiğın etanoldeki çözeltisinin 271 nm'deki absorbans değeri ölçülür. 1-10 mg miktarlarında Beer kanuna uyar (7).

Türev UV spektrofotometrisi ile sakkarinin cola'da (8) va Watts Nikel kaplama çözeltisinde (9) kantitatif analizi yapılmıştır.

Ayrıca görünür bölge spektrofotometrisi ile çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda sodyum sakkarinin metilen mavisi ile 550 nm'de 100 µg(10), bazık füksin ile 550 nm'de 100 µg(11) safranin ile 200 µg ve nötral kırmızı ile 150 µg miktarlarında 510 nm'de (12) analizi yapılmıştır.

Başka bir çalışmada ise, sodyum sakkarin asid formu alan sakkarine dönüştürölüp $\text{CHCl}_3\text{-C}_6\text{H}_6$ (19:1) karışımı ile ekstrakte edilir ve birleştirilen ekstrakler buharlaştırıldığında elde edilen katı kısım fenol ve %20'lik NaOH da elde edilen ile çözünürleştirilerek 558 nm'deki absorbans değeri ölçülür (13). Bu yöntemde kalibrasyon grafiği 1-6 mg/l konsantrasyon aralığında lineerdir.

Sodyum sakkarinin IR spektrofotometrik olarakta analizi yapılmıştır. % 20-40 sodyum sakkarin, NaHCO_3 , tartarik asid gibi dolgu maddeleri içeren tatlandırıcı tabletlerinden alınan 10 mg örnek, 1g KBr ile hazırlanan tabletin 528 cm^{-1} deki absorpsiyonu base-line düzeltme tekniği kullanılarak ölçülür (14).

Sodyum sakkarinin elektroanalitik analizi iyon seçici elektrod kullanılarak yapılmıştır (15). Likid membran şu şekilde hazırlanmıştır: 4,7 - difenil - 1,10 - fenantrolinin nitrobenzendeki çözeltisine, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\cdot\text{FeSO}_4$ ve sodyum sakkarin ilave edilir. Bu karışımın nitrobenzen kısmı likid membran olarak kullanılır. Pil olarak $\text{Hg-Hg}_2\text{Cl}_2$ | tuz köprüsü | referans çözelti | likid membran | örnek çözeltisi | tuz köprüsü | $\text{Hg}_2\text{Cl}_2\text{-Hg}$ sistemi kullanılır. Sakkaroz, glikoz, sodyum siklamat ve sorbitol gibi

tatlandırıcıların konsantrasyonu 10µM - 0.1M ise elektrod sodyum sakkarin iyonlarına duyarlıdır.

Alternatif akım oskilopolarografik metod ile tabletlerdeki sodyum sakkarin tayini yapılmıştır. Civa anod ve damlayan civa katodu ile 1M H_2SO_4 'inde oskilopolarografik eğrisi çizilmiş ve elde edilen sonuçlar UV spektrofotometrik yöntemle kıyaslanmıştır (56).

8 ppm'lik çözeltide benzizotiazolin halkasındaki singlet aromatik protonların integrasyonu ile geliştirilmiş olan PMR spektrometrik yöntemi, 6.25 ppm singlet protonlara sahip malaik asid internal standart olarak kullanılarak %97.1 + 3.15 başarı ile sodyum sakkarin analizi yapılmıştır (16).

Sodyum sakkarinin ince tabaka kromatografisi ile de analizi yapılmıştır. Silikajel GF₂₅₄ plaklarına damlatılan sodyum sakkarin çözeltisi $CH_3COOC_2H_5$ - susuz CH_3COOH (9:1) mobil fazı kullanıldıktan sonra %1'lik Na_2CO_3 ile ekstrakte edilip 254 nm'de spektrofotometrik olarak miktar tayini yapılmıştır (17).

Yiyeceklerdeki sodyum sakkarin gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir. Bu çalışmada asid formuna dönüştürülen sodyum sakkarin 1m'lik çelik, kolon Gas Chrom O (80-100mesh) destek katkısı ile %5'lik SE - 30 mobil fazı ve alev iyonlaşma dedektörü kullanılarak analizi yapılmıştır. Bu yöntemde başarı > 97.9 dur (18).

Yüksek basınç sıvı kromatografik yöntem kullanılarakta sodyum sakkarinin analizi yapılmıştır. Çikletteki sodyum sakkarin analizi için örnek aminobenzoik asidin sulu çözeltisi ve toluen ile çalkalandığında elde edilen sulu faz µ Bondapak C₁₈ kolonu, %5'lik CH_3COOH mobil fazı kullanılarak 254 nm'de analiz edilir. Bu metotta başarı > 101.3'dür (19).

Kininli içeceklerdeki sodyum sakkarin analizi yine bu yöntemle

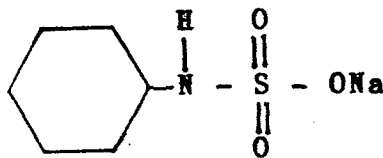
yapılmıştır. Bu çalışmalarda mobil faz olarak metanoldeki %1'lik asetik asit-asetonitril-su (2:1:7) karışımı ve μ Bondapak C₁₈ kolonu (30cmx3.9mm) kullanılarak 254 nm'de tayin yapılır. Ölçü eğrisi 55-219 μ g/ml konsantrasyon aralığında doğrusaldır (20).

İçeceklerdeki sodyum sakkarinin miktar analizinde HPLC ile yapılmıştır. Bunun için analiz örneğinin pH'sı seyreltik NH₃ ile 6'ya getirilir ve μ Bondapak C₁₈ kolonu (30cmx4mm) ve metanol, 0.02 CH₃COONH₄ (7:13) mobil fazı kullanılarak 254 nm'de tayin edilir (21).

Sodyum sakkarinin ketçap, kola, hamur ve turşularda analizi de HPLC ile yapılmıştır. NH₃ çözeltisi ile ekstrakte edilen analiz örneği Sep-Pak C₁₈ kolonundan geçirildiğinde elde edilen elüent Li Chrosorb RP-18 (5 μ m) kolonu (25cmx4mm) ve 0.05M NaH₂PO₄-C₂H₅OH (3:2) mobil fazı kullanılarak 254 nm'de analiz yapılır. Bu çalışmada başarı %97.8-99.5'dir (22).

İçeceklerde ve tatlılarda sodyum sakkarin μ Bondapak C₁₈ kolonu (30c x3.9mm) ve %1'lik CH₃COOH-CH₃OH (19:1) mobil fazı kullanılarak analizi yapılmıştır. İçecek ve tatlılardaki başarı %98-95.3, %81'dir (23).

2.3 Sodyum Siklamat



Sodyum çikloheksasülfamat

Kapalı Formülü : C₆H₁₂NNaO₃S

Molekül ağırlığı : 201.2 g/mol

Görünüş, renk, koku : Beyaz, kokusuz

Çözünürlüğü : 1 gramı 5 ml suda, 250 ml alkolde, 25 ml propilen glikolde çözünür.

Pratik olarak benzen, kloroform ve eterde çözünmez (1).

Bağıl Tatlılık : Sakkarozdan 30 kez daha tatlıdır (24).

2.3.2 Tanınma Yöntemleri

%1'lik sodyum siklamat çözeltisinden 10 ml alınır. Bu çözeltiye 1 ml derişik HCl ve 1 ml doymuş BaCl₂, 1 ml %10'luk NaNO₂ ilave edilince beyaz çökelti ler oluşur (5).

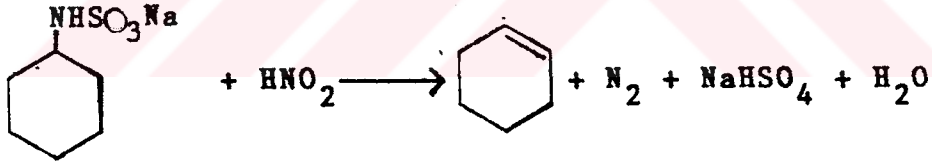
2.3.3 Miktar Tayini (Farmakopea Yöntemi)

105°C'de 1 saat kurutulmuş sodyum siklamattan alınan 400 mg örnek 50 ml suda çözülür ve 5 ml derişik HCl ilave edilip oda sıcaklığında 0.1N NaNO₂ ile titre edilir. Titrasyon sonu dış indikatör olarak kullanılan nişasta-iyodür çözeltisinde mavi rengin oluşumu ile gözlenir. 1 ml 0.1N NaNO₂ 20.12 mg C₆H₁₂NNaO₃S'a eşdeğerdir.

2.3.4 Miktar Tayin Yöntemleri

Sodyum siklamatin gravimetrik analizi nitrik asidin varlığında oluşan sülfat formunun BaCl₂ aşırısı ile BaSO₄ şeklinde çöktürülmesinden yararlanılarak yapılmıştır (25).

Sodyum siklamatin titrimetrik analizi HCl ile asitlendirilmiş örneğin 0.1N NaNO₂ ile titre edilerek uygulanmıştır. Titrasyonun dönüm noktası nişasta-iyodür dış indikatör kullanılarak gözlenmiştir (5).



Tatlandırıcı tabletlerindeki siklamatların analizi, titrimetrik olarak başka bir şekilde de yapılabilmiştir. Geliştirilen yöntemde tabletlerdeki siklamatlar NaNO_2 ile bozundurulup oluşan sülfat formunun 5mM $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$ çözeltisi ve thoron I indikatörü ile titre edilmesi esasına dayanır. Dönüm noktası thoron I indikatörünün pembe olması ile gözlenir. Sakkarinin analize etkisi yoktur ve siklamatlar $\%99.9 \pm 0.8$ 'lik başarı ile analizi yapılmıştır (26).

Sodyum siklamat görünür bölge spektrofotometrik metotla kantitatif analizi için bir çok çalışma yapılmıştır. Örneğin konservelerdeki siklamat tuzları (Kalsiyum veya sodyum) ciklohekzilamine dönüştürölüp p-benzokinin çözeltisi ile muamele edilerek 493 nm'deki absorpsiyonu ölçölerek miktar tayini yapılmıştır. Bu analize sakkaroz ve sakkarinin etkisi yoktur. Siklamatlar $\%97 - 102$ başarı ile analizi yapılmıştır (27).

Alkolsüz içeceklerde ve tatlandırıcı tabletlerindeki siklamatlar NaNO_2 ile bozundurulduğunda oluşan sülfatın kloranilit ile muamele edildiğinde 530 nm'deki absorpsiyonu ölçölür. Siklamatlar bu metot ile $\%97 - 101$ başarı ile analizi yapılmıştır (28).

Sodyum siklamatın analizi için geliştirilen diğör bir yöntemde ise, sodyum siklamat dimetil sülfoksid ve H_2SO_4 ile reaksiyonu sonucu oluşan ciklohekzilamin kinhidron ile muamele edilip 495 nm'de absorpsiyonu ölçölür (29).

Sodyum siklamat, nötral çözeltide metilen mavisii ile 1:1 oranında oluşan iyon çifti CHCl_3 'a ekstrakte edilerek 660 nm'de absorpsiyonu ölçölür. Kalibrasyon grafiğı sulu çözeltide 10µg/ml 'den küçük konsantrasyonlar için doğrusaldır. Bu analizde sakkarin pozitif hataya, amino asidler negatif hataya sebep olduklarından QAE - Sephadex kolonu ve 0.1N HCl kullanılarak ortamdan uzaklaştırılırlar

(30). Sodyum siklamatin demir (II) fenantrolin ile oluşan kırmızı renkli kompleks nitrobenzene ekstrakte edilip 516 nm'deki absorbans ölçölerekte analizi yapılmıştır. Dulsin, glikoz, laktoz ve sakkarozun sodyum siklamat tayinine etkisi yoktur ama sakkarin ve klorür iyonu pozitif hataya sebep olduğundan 0.005 M fosfat çözeltisi (pH 5-7) elüenti ve sephadex G-10 kolonu ile bu iyonlar ortamdan uzaklaştırılıp analize devam edilir. Bu yöntemle $8 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ M konsantrasyon aralığında analiz yapılabilir (31).

Alkolsüz içeceklerdeki siklamatlar H_2O_2 ve seyreltik HCl ile ısıtıldığında oluşan ikloheksilamin pikril klorür ile renklendirip $CHCl_3$ ekstrakte edilerek 418 nm'deki absorbans okunur (32). Diğeri bir çalışmada ise alkolsüz içeceklerdeki siklamatlar nitroz asidi ile bozundurulup Bratton-Marshall reaktifi ile muamele edilerek 550 nm'deki absorbans ölçölür (33).

Yiyecek ve içeceklerdeki siklamat miktarı, ikloheksan ve NaOCl ile muamele edildiğinde, organik fazın absorpsiyon spektrumu 260 nm-390 nm aralığında ikloheksana karşı ölçölerek bulunmuştur. Bu yöntemde başarı %103.8'dir (34).

Siklamatların analizi için geliştirilen diğeri bir yöntemde analiz örneğine Carrez I ve II çözeltileri ilave edilmiş. Bu çözeltiye heptan ve NaOCl eklenerek heptan fazının absorbansı 314 nm'de okunur (35).

Siklamatların elektrometrik analizi için iyon seçici membran elektrod geliştirilmiştir. Elektrod beş quaterner amonyum tuzundan hazırlanmıştır. Elektrodun duyarlılığı dodesiltrioktilamonyum iyodur kullanımı ile sağlanmıştır. Bu elektrod ile siklamatlar $8 \mu M$ - 0.01 M konsantrasyon aralığı için iyi sonuçlar elde edilmiştir (36). IR spektrometrisi ile tayinde, sodyum siklamat ikloheksanolün nitrit esterine dönüştürölerek $1645^{-1} cm$ deki absorpsiyon bandından yararlanılır (37).

Siklamatların yiyecek ve içeceklerdeki tayini için bir çok kromatografik yöntem geliştirilmiştir. İnce tabaka kromatografisi ile şu şekilde analiz edilmiştir: 110°C ve 1 saatte aktive edilmiş 0.25 mm kalınlığındaki silika jel G plakası ve etil asetat-izopropil alkol-aseton-metanol-H₂O (50:15:15:4:16) geliştirme çözeltisi kullanılmıştır. Br buharı ile muamele edilen tabaka etanol ile ekstrakte edilir ve 540 nm'deki absorban okunur (38).

Gaz kromatografisi ile alkolsüz içeceklerdeki sodyum siklamat, NaNO₂ ve HCl ile çiklohekzene dönüştürülerek polietilen gliko| kolon ve argon mobil fazı kullanılarak analiz edilmiştir (39). Diğer bir çalışmada ise alkolsüz içeceklerdeki siklamatın HNO₃ ve seyreltik H₂SO₄ ile reaksiyonu sonucu oluşan çiklohekzen ve çiklohekzil nitril Embasel üzerine %123'lük poli (etandio|-adipet) kaplanmış bakır kolona (125.4cm x 6.25mm) enjekte edilerek 50°C'de H - N (3:1) taşıyıcı gazı ve alev iyonlaşma dedektörü kullanılarak analizi yapılmıştır (40). Diğer bir çalışmada meyve sularındaki siklamatlar çiklohekzene dönüştürülerek Kieselguhr üzerine %15 polioksietilen glikol 1500 kaplanmış 200 cm'lik cam kolon, N taşıyıcı gazı, alev iyonlaşma dedektörü kullanılarak 75°C'de analiz yapılmıştır (41).

İdrar ve hücrede çiklohekzanan oksime dönüşen sodyum siklamat partisil PX 8-10/25 ODS-2 kolonu (25cm * 4.5mm) ve %25'lik asetonitril mobil fazı kullanılarak 205 nm'de yüksek basınç sıvı kromatografik olarak analiz edilmiştir. Bu yöntemde kalibrasyon grafiği 2.5µg'dan büyük miktarları için doğrusaldır ve başarı her zaman %96'dan büyüktür (42). Siklamat Li Chromorb RP-18 kolnu ve 5 mM tetrabutylamonyum toluer - p - sülfamat - %12'lik metanoldeki 10 mM glisin karışımı mobil fazı olarak kullanılmış ve 267 nm'de HPLC ile analiz edilmiştir. Tayin limitleri 200 - 50 ppm'dir (43).

Yiyeceklerdeki siklamatlar H_2O_2 ve HCl kullanılarak cikloheksilamine yükseltgendikten sonra Li Chrospher 100 RP 18 kolonu ve %55'lik metanol mobil faz olarak kullanılarak 242 nm'de analiz edilmiştir. Bu analizde sodyum siklamat 10 - 400 mg/l konsantrasyonlarında kalibrasyon eğrisi lineerdir ve başarı %97 - 110 'dur (44).

2.4.1 Sodyum Sakkarin ve Sodyum Siklamat Karışımının Analizi İçin Geliştirilen Yöntemler

Susuz ortamda titrasyon yönteminde, bu tatlandırıcı karışımı Dowex 50-X8 katyonik iyon değiştiricilerinden geçirilip, asid formlarına dönüştürülür ve metil izobutil ketonlu ortamda 0.1N sodyum metoksit ile potansiyometrik olarak titre edilmiştir (45).

Yapılan diğer bir çalışmada, sodyum sakkarin ve sodyum siklamat çözeltisine asetik asit ve gümüş nitrat çözeltisinin aşırısı ilave edilir. Oluşan sakkarin gümüş tuzu süzülür, kullanılmayan gümüş nitrat amonyum rodanür ya da EDTA çözeltisi ile titre edilir. Burada edilecek olan sarfiyattan sodyum sakkarin miktarına geçilir. Süzülmüş çözeltideki sodyum siklamatın analizi sodyum nitrit ile titrimetrik olarak yapılır. Titrasyonun dönüm noktası 360 nm'de spektrofotometrik olarak saptanır (46).

Alkolsüz içeceklerdeki sodyum sakkarin ve sodyum siklamat miktar analizi UV spektrofotometrik olarakta yapılmıştır. Sakkarin ve siklamat içeren örnek asitlendirilir. Sodyum sakkarin analizi için analiz örneği etil eter-metanol (9:1) karışımı ile ekstrakte edilir ve birleştirilen ekstraktlar kuruluğa kadar buharlaştırıldığında elde edilen katı kısım %1'lik Na_2CO_3 çözeltisinde çözülerek 235 nm ve 244 nm arasındaki absorbanslar okunur. Sodyum siklamat analizi için örnek cikloheksan ve NaOCl ile karıştırılır ve organik fazın 314 nm'deki absorbansı okunur. Bu çalışmada sodyum sakkarin (20 - 70 mg/l) %85.5 - 119.7, sodyum siklamat (450 - 600 mg/l) ise %97.9 - 99.3'lük bir başarı

ile analiz edilmişlerdir (47).

Bu ikili karışım Astrazon Pink Fg boyar maddesi kullanarak spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

Ancak analizin ilk aşamasında bu iki madde aseton - etil asetat - %25 NH₃ (8:1:1) geliştirme çözeltisi ve MN sellüloz 300 G plaklar yardımıyla birbirinden ayrılır ve metil kırmızısı ile görünür hale getirilir. Mollvaine tamponu ile ekstrakte edilip Schüll 589 kağıtı ile süzülür ve elde edilen süzüntülere %0.04 Astrazon Pink F G ilave edilir. Oluşan iyon çifti kloroforma ekstrakte edilir ve 544 nm'deki absorbanı ölçülür. Bu yöntemle sodyum siklamat 1.6 - 4.8 µg/ml sodyum sakkarin ise 0.4 - 2.0 µg/ml konsantrasyon aralığında analizi yapılabilmektedir (48).

Başka bir çalışmada sodyum siklamat ve sodyum sakkarin karışımı Azur A boyar maddesi ile iyon çifti oluşturularak spektrofotometrik olarak analizi yapılmıştır. Ancak bu yöntemde de bu iki bileşik ince tabaka kromatografisi yöntemi ile birbirinden ayrıldıktan sonra Azur A ile iyon çifti oluşturulmuştur. Burada iki ayrı ince tabaka geliştirme çözeltisi ile çalışılmış ve hemen hemen aynı sonuçlar elde edilmiştir.

Kullanılan plakalar ve geliştirme çözeltileri şunlardır:

- a) Silikajel G, aseton - %10'luk NH₃ (9:1)
- b) Sellüloz MN 300, metil etil keton - metanol - %25'lik NH₃ - su (60:30:3:7)

İnce tabaka kromatografisi ile ayrılan bileşikler metil kırmızısı ile görünür hale getirilir ve su ile ekstrakte edildikten sonra sodyum sakkarin için %0.1'lik, sodyum siklamat için %0.45'lik Azur A çözeltisi ile oluşturulacak olan iyon çifti metilen klorüre ekstrakte edilir ve 652 nm'deki absorbanı ölçülür. Bu metod ile sodyum sakkarin 5 µg, sodyum siklamat ise 50 µg'a kadar düşük miktarlarda tayin

edilebilmiştir (49).

Bu ikili karışımın kalitatif analizi ince tabaka kromatografisi kullanılarak yapılmıştır.

Karışım özel olarak hazırlanmış Avicel SF plakaları ve etil asetat - derişik NH_3 - aseton (1:1:8) geliştirme çözeltisi kullanılarak birbirinden ayırdıktan sonra bazı bileşikler kullanılarak her bir komponent görünür hale getirilir. Bu çalışmada kullanılan kimyasal bileşikler şunlardır : Pinakriptol sarısı, Brom fluoresssein - naftiletilendiamin, metil kırmızısıdır. Bu yöntem ile karışımın kalitatif analizi yapılmıştır (50).

Diyet yiyeceklerde bulunan sodyum sakkarin ve sodyum siklamat yüksek basınç sıvı kromatografisi ile de miktar analizi yapılmıştır. Bu çalışmada sıvı örnek yada etanol ekstraktları suplecasil LC-18 kolonu (15 cm x 4.6 mm) ve 0.02 M KH_2PO_4 - asetonitril (97:3) ve 0.02 M K_2PO_4 - asetonitril (4:1) mobil fazları lineer gradient metodu uygulanarak kullanılmıştır. Sodyum sakkarin 200 nm'de tayin edilmiştir. Sodyum siklamat için ise son kolondan alınan çözelti metil viyole 2B ve CHCl_3 - aseton (19:1) kullanılarak oluşturulan iyon çiftinin 585 nm'de absorbanısı okunur (51).

Meyve sularındaki tatlandırıcıların analizi LiChrosorb RP-18 kolonu (25 cm x 4 mm) ve H_2O - H_3PO_4 - asetonitril mobil fazı ve UV dedektörü kullanılarak yapılmıştır. Çeşitli tatlandırıcılar için tayin koşulları verilmiştir (52).

3. TÜREV SPEKTROFOTOMETRİSİ

Ultraviyole-görünür bölge türev spektrofotometrisi, oldukça yeni analitik bir yöntemdir ve prensibi klasik absorpsiyon spektrumlarının yerine türev spektrumlarının kullanılmasıdır.

Bir fonksiyonun herhangi bir noktasındaki türev dy/dx dir. Absorpsiyon spektrumları söz konusu olduğunda ise türev $dA/d\lambda$ olacaktır. Spektrumun herbir noktasındaki türev değerleri hesaplanıp dalga boyunun fonksiyonu olarak grafik edildiğinde 1. türev absorpsiyon spektrumu elde edilir. Buna benzer şekilde 2., 3., ... n. türev spektrumları sırasıyla $d^2A/d\lambda^2$, $d^3A/d\lambda^3$, $d^nA/d\lambda^n$ değerleri ile dalga boyu arasında oluşturabilir (53).

Bir spektrumun türevinin alınmasının en büyük sebebi, orjinal spektrumdaki küçük spektral özelliklerin (örneğin omuzlar) türevde belirgin hale gelmesidir. Ayrıca birbirine benzer ve yakın olan spektrumlardaki küçük değişimleri ortaya çıkararak band çakışma hata tipinin azaltılmasında yararlanır.

Şekil 1'de basit bir pikin 1. - 4. türev spektrumları verilmiştir. Bu şekilden şu sonuçları çıkarabiliriz:

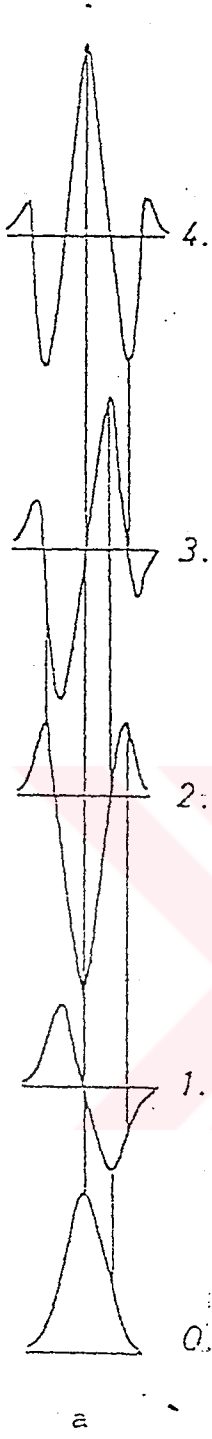
1- Bir pikin bir derece türevi alındığında, dönüm noktalarının bulunduğu dalga boylarında ekstremumlar oluşmakta, orjinal pikteki, ekstremumların karşılığı olan dalga boylarında ise türev eğrisi sıfırdan geçmektedir.

2- Orjinal spektrumdaki bir pike karşılık n . türev spektrumunda $n+1$ adet pik oluşmaktadır.

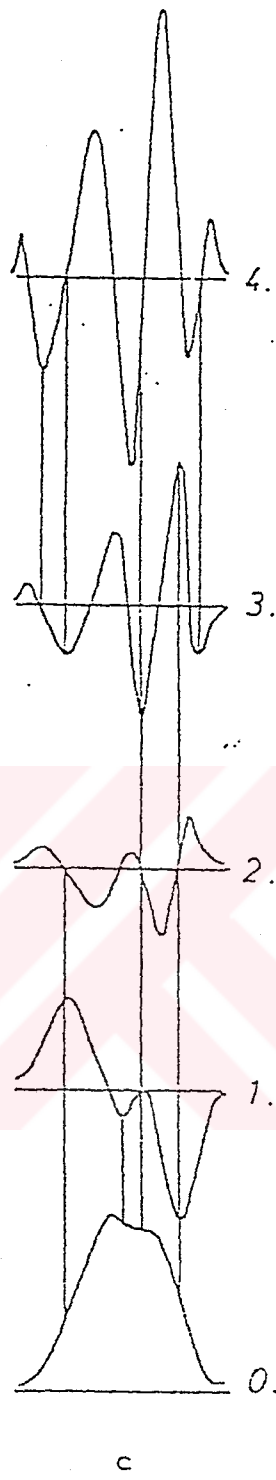
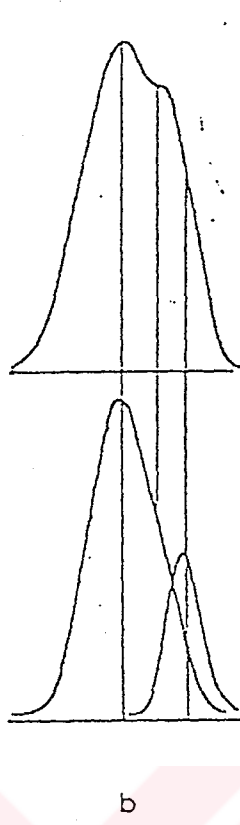
3- Türevin derecesi arttıkça pikler keskinleşmekte ve daralmaktadır. Bu durum saflık testleri ve identifaksiyonda önemlidir.

4- Orjinal spektrumda absorpsiyon maksimumunun bulunduğu dalga boyunda 2. türev spektrumunda bir minimum, 4. türev spektrumunda bir maksimum ortaya çıkmakta, 1. ve 3. türev spektrumları ise bu dalga boyunda sıfırdan geçmektedir.

5- Orjinal spektrumda bulunan omuzlar tek sayılı türev spektrumlarında ekstremumlara dönüşmektedir. Bundan çıkan piklerin çözülmesinde yararlanılır. Şekil 2'de görüldüğü gibi iki maddenin absorpsiyon pikleri üstüste geldiği zaman orjinal spektrumda küçük pik omuz şeklinde görünür. Bu omuzdan tek dereceli türev spektrumlarında oluşan ekstremumlar her iki maddenin diğerinin etkisi olmaksızın kantitatif tayinine olanak sağlar.



Şekil 1



Şekil 2

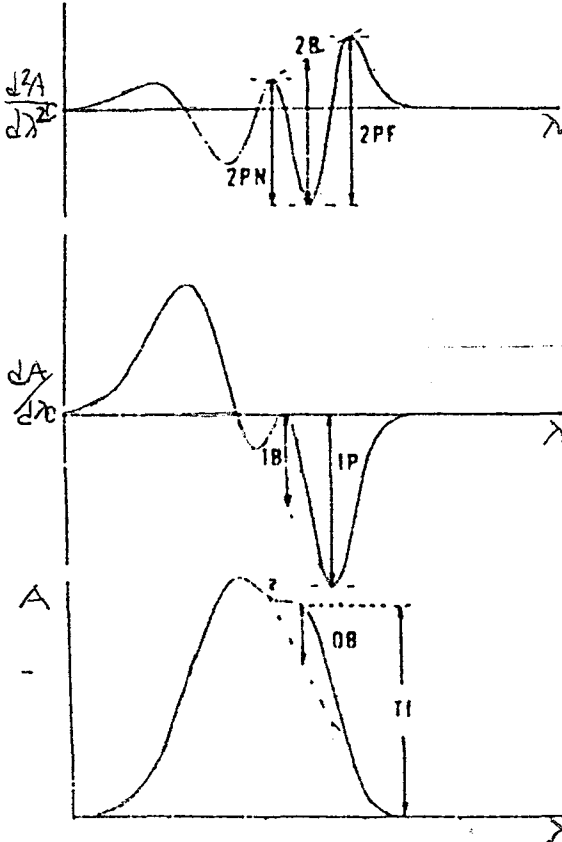
3.1. Türev Ölçüm Teknikleri

Absorpsiyon spektrumunda herhangi bir dalga boyunda Lambert-Beer Yasası geçerli iles ($A = \epsilon bc$), n . dereceden türev spektrumunda türev genliği ya da türev absorbansı D_n aşağıdaki eşitlik ile verilebilir:

$$D_n = d^n A / d\lambda^n = (d^n \epsilon / d\lambda^n) bc$$

Görüldüğü gibi Lambert-Beer Yasasının geçerli olması koşuluyla türev absorbans değeri ile konsantrasyon arasında doğrusal bir ilişki vardır. Türev spektrofotometrisiyle kantitatif analizin temelini bu eşitlik oluşturur. Bu yöntemde standart eğriler, standart çözeltilerin konsantrasyonu (c) ile karşılık olan türev absorbans değerleri (D_n) arasında hazırlanır.

Deneyisel çalışmalarda kullanılan ölçüm teknikleri Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. Grafiksel ölçüm teknikleri

İnterfere band ile çakışma durumunda sıfırncı türeve (normal spektrum) toplam intensite ve tanjant base-line teknikleri kullanılabilir.

Toplam intensite tekniğinde (TI); toplam eğrinin analit maksimumundaki toplam şiddeti ölçölür.

Tanjant base-line yönteminde (OB); toplam eğriye bir teğet çizilir. Bu teğetin analit maksimumuna olan uzaklığı ordinata paralel olarak ölçölerek uygulanabilir. Bu iki yöntem kısmen doğru sonuçlar vermektedir.

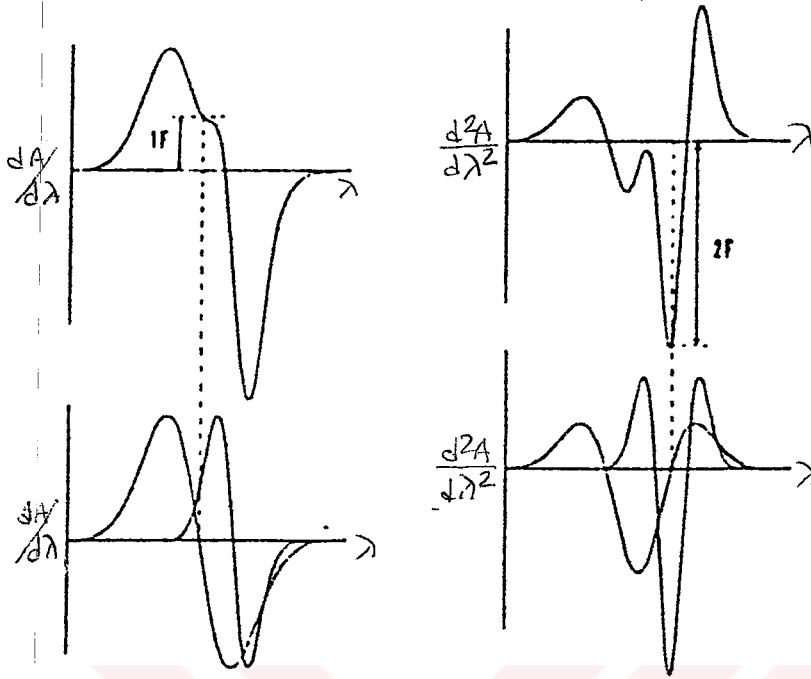
Toplam eğrinin türevlerinde, peak-to-peak ölçölümü (1P,2PN, 2PF) veya tanjant base-line ölçölümü (1B,2B) kullanılır.

Peak-to-peak tekniğı; birbirini izleyen iki ekstremun arasındaki uzaklık, ordinata paralel olarak ölçölerek uygulanır.

Tanjant base-line tekniğinde ise, birbirini izleyen iki maksimum yada minimuma ortak teğet çizilir. Bu teğetin aradaki ekstremuma olan uzaklığı ordinata paralel olarak ölçölür.

Son altı ölçölüm tekniğı (OB, 1P, 1B,2B,2PN,2PF) grafiksel ölçölüm olarak tanımlanır. Şekil 3'de bu yöntemlerin uygulanışı gösterilmektedir.

Toplam eğrinin türevinde girişim yapan bandın zero-crossing'i olarak tanımlanan absis değeriinde (dalgaboyunda) ölçölüm yapılabilir. Bu ölçölme tekniğine zero-crossing ölçölümü denir ve Şekil 4'de birinci ve ikinci türeve yöntemin uygulanması gösterilmiştir.



Şekil 4. Zero-crossing ölçüm tekniği

Karışımlarda birbirleriyle çakışan bandlar olduğunda her bir komponentin tayini için zero-crossing yöntemi önerilmektedir. Bu yöntemde sistematik hata yoktur. Değişik türev derecelerinde uygulanabilen bu yöntemde bir komponentin türev absorbansının sıfır olduğu dalgaboyunda diğerinin verdiği pik yüksekliği ölçülür. Türev band yüksekliği ile konsantrasyon arasında ilgi araştırılır.

Bu yöntemde bu ilginin lineer bir doğru yan intercepti sıfır olan bir doğru vermesi gerekir. Kalibrasyon eğrileri klasik yöntemlerdeki gibi hazırlanır. Girişim yapan bandın etkisini gidermek için, bu bandın türev absorbansının sıfır olduğu noktada ölçülen band yüksekliği ile konsantrasyon arasında kalibrasyon eğrisi hazırlanır. Uygulamada ise, girişime neden olan maddenin etkisini kontrol etmek amacıyla, ölçüm eğrisi hazırlanırken daima belli bir miktar girişime neden olan maddeden konur. Elde edilen ölçüm eğrisi en dikkatli

çalışmalarda dahi küçük bir intercept gösterebilir. Çünkü koşullarda ufak bir değişiklik (belirsiz hatalar) zero-crossing dalga boyunun yerini değiştirebilir.

Birbiriyle çakışan analit ve girişim yapan bandın hangi koşullarda ayrılabilceği ve hangi değerlendirme yönteminin daha uygun olduğu yapılan bir çalışmada (54) geliştirilen komputer programı pratikte karşılaşılan problemleri çözmekte oldukça yararlı veriler elde edilmiştir. Bu çalışma ile şu sonuçlar elde edilmiştir: Toplam intensite (TI) tekniğinde yapılan toplam hatanın büyük bir kısmı sistematik hatalardan ileri gelir. Türev ölçümü ile bu giderilir. Genellikle zero-crassing yönteminde en iyi çalışma şartları analit ve girişim yapan band maksimumları birbirine yeterince yakınsa çalışılmalıdır. Diğer taraftan grafik yöntemlerde analit band genişliği, girişim yapan band genişliğinden daha az olduğunda kullanılır.

Sonuç olarak, türev ölçümleri ile, kantitatif analizde küçük spektral özelliklerden yararlanabilmek ve bilinmeyen ve/veya değişebilen şiddetteki girişim yapan bandın, analit bandla çakışması ile oluşan hatanın azaltılması mümkün olmuştur. Ayrıca bu yöntem rutin, pratik analitik çalışmaların uygulanmasında diğer yöntemlere göre daha basit ve ucuzdur.

3.2. Türev Spektrofotometrisinin Kullanım Alanları

- Maksimum dalga boyunun (λ_{max}) kesin olarak belirlenmesi,
- Rezolüsyonda artış,

- İdentifikasyon,
- Saflık kontrolü,
- Eser analiz,
- Karışımların simultane analizi,
- Bulanık çözeltiilerde kantitatif analiz,
- Matriks etkisinin giderilmesi.



4. DENEYSEL BÖLÜM

4.1 Kullanılan Araç ve Gereçler

Spektrofotometre : Philips 8700 UV/VISIBLE türev spektrofotometresi
ve Shimadzu | UV-150-02 Double Beam spektrofotometre

Yazıcı : Philips Printer / Plotter

Küvet : Hellma 100-QS , 10.00mm

Analitik Terazî : Sartorius

Çalkalama aleti : Nüvel SL 350 çalkalayıcı

Bidestile su cihazı : Köttermann 1023

Hesap Makinası : Casio FX - 3900 PV

Otomatik Pipet : Brand Transferpette

4.2 Maddeler

Farmasötik saflıktaki sodyum sakkarin PMC Specialbes ilaç sanayiinden
/*
sodyum siklamat Kemopharm ilaç firmasından temin edildi. Bu maddelerin
ikisini bir arada içeren Bilim İlaç Sanayi A.Ş tarafından üretilen
Dulcaryl tabletler ve bidestile su, analitik saflıktaki HCl, NaOH, CHCl₃
ve C₂H₅OH, NaNO₂, KMnO₄, Na₂C₂O₄, H₂SO₄ kullanıldı.

4.3.Çözeltiler

Hassas olarak tartılmış 100mg sodyum sakkarin ve sodyum siklamat
bidestile su ile 100 ml'ye seyreltilerek stok çözeltileri hazırlandı.
Deneyisel çalışmalarda ise sodyum sakkarin çözeltisinden uygun miktar
alınarak 100 µg/ml alınarak konsantrasyonunda hazırlanan standart
çözelti kullanıldı.

* Münir Şahin İlaç Sanayi A.Ş'ye teşekkür ederiz.

** Bilim İlaç Sanayi A.Ş'ye teşekkür ederiz.

*** Liba İlaç Sanayi A.Ş'ye teşekkür ederiz.

4.4 Analiz Koşullarının Saptanması

Sodyum sakkarin ve sodyum siklamat ticari preparatlarda 1/10 oranında bulunduklarından, sodyum sakkarinin 10 µg/ml ,sodyum siklamatın 100 µg/ml konsantrasyonundaki çözeltilerinin 190 - 280 nm aralığında, 125 nm/dak tarama hızı, düzeltme yüksek olarak ve 2 nm band genişliği ile absorpsiyon spektrumları alındı.

Şekil 5’de görüldüğü gibi iki maddenin absorpsiyon spektrumları üst üste çakıştığından dolayı bu iki maddenin birarada tayini absorpsiyon spektrofotometrisi ile mümkün değildir. Bunun üzerine 1., 2., 3. ve 4. derece türev spektrumları alındı. Türev spektrumları sırasıyla Şekil 6, 7, 8, 9’da gösterilmiştir. 1. derece türev spektrumunda 221.8 nm, 229.7 nm, 237.7 nm’de ve 2. derece türev spektrumunda 227.7 nm, 231.7 nm, 235.7 nm, 240.7 nm dalga boylarında sodyum siklamatın türev absorbanı sıfır olduğundan sodyum sakkarinin miktar tayini yapılabilir. 3. ve 4. derece türev spektrumlarında da sodyum sakkarin tayini için uygun türev pikleri bulunmaktadır, ancak bu dalga boylarında yapılan paralel tayinlerin istatistik sonuçları yeterli görülmemiştir. Bu sebeple 3. ve 4. derece türev spektrumları ile çalışılmamıştır.

Sodyum siklamat analizi için; Şekil 6, 7, 8, 9’daki gösterilen türev spektrumlarında uygun dalga boyu bulunamamıştır. Sodyum siklamatın 140 µg/ml , sodyum sakkarinin 14 µg/ml , konsantrasyonundaki çözeltilerinin 190 - 200 nm aralığında 125 nm/dak tarama hızı, düzeltme yüksek olarak ve 2 nm band genişliği ile absorpsiyon ve türev spektrumları alındı. Şekil 10, 11, 12’de bu deneysel çalışmanın absorpsiyon ve 2., 4. derece türev spektrumları gösterilmiştir. Bu grafiklerde görüldüğü gibi sodyum sakkarin 2.derece türev spektrumunda 193.1 nm’de ve 4. derece türev spektrumunda ise 196.3 nm, 198.4 nm’de

türev absorbens değeri sıfır olduğundan bu dalga boylarında sodyum siklamatin miktar tayini yapılabileceği düşünülmüştür.

4.5 Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması

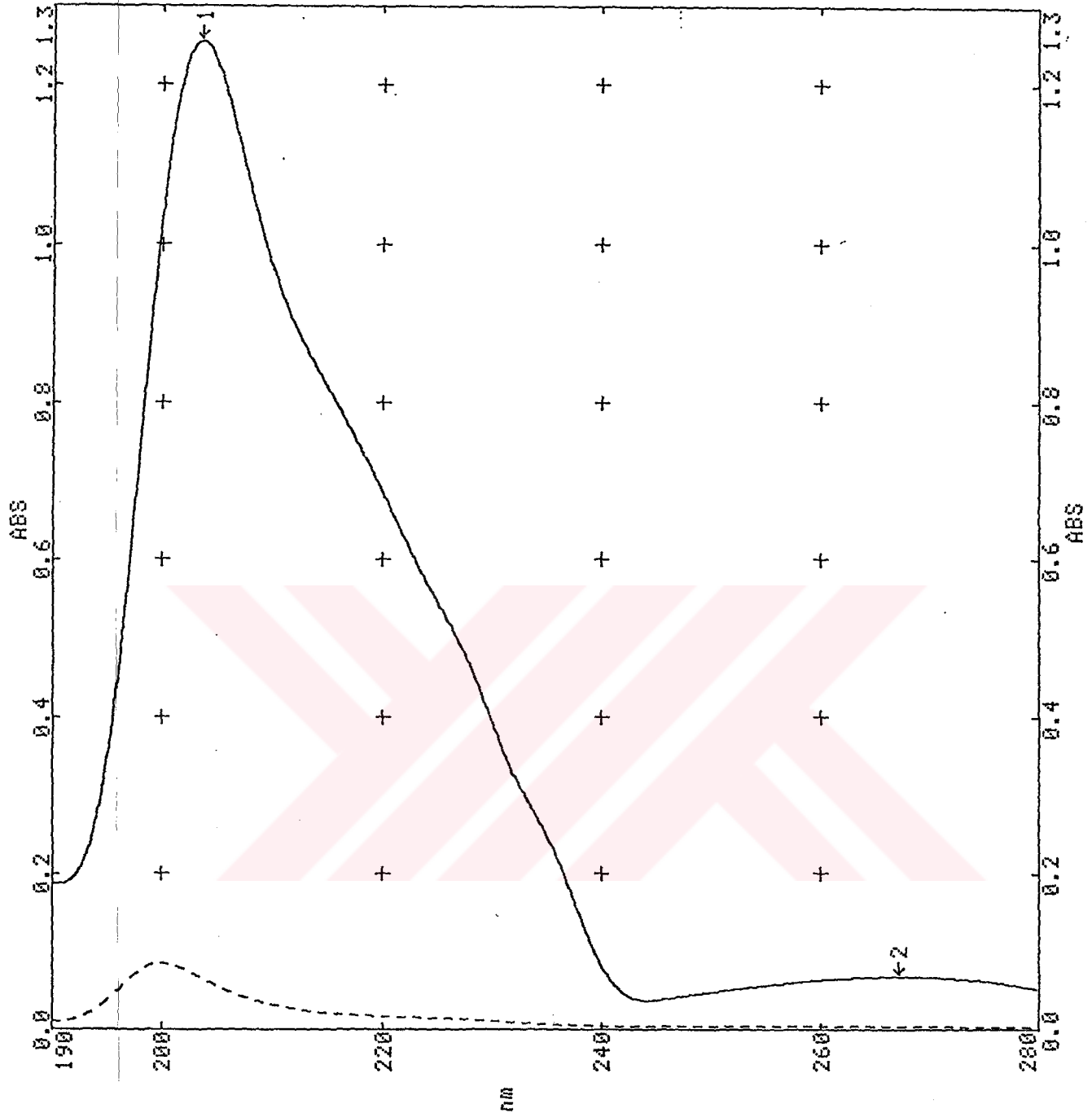
Zero-crossing yöntemi, girişime neden olan diğer maddeler bulunduğunda uygulanabilir bir yöntem olarak tavsiye edilmektedir (54). Zero-crossing yönteminde çalışılacak dalga boyları saptandıktan sonra ölçü eğrisi hazırlanır. Ölçü eğrisi tayin edilecek maddenin çeşitli konsantrasyonlardaki standart çözeltileri ile zero-crossing dalga boyunda ölçülen türev absorbens değeri arasında çizilir. Bu dalga boyunda pratikçe karışımındaki diğer bulunan maddenin hiç absorbens vermemesi gerekirse de bu etkinin irdelenmesi gerekir. Bu nedenle ölçü eğrisi hazırlanırken, sabit miktarda diğer maddeden ölçüm yapılacak çözeltilere katılması gerekir.

Tatlandırıcı tabletlerinde tartarik asid ya da sitrik olduğu litaratürde belirtilmektedir (45). Bu iki madde UV bölgede absorpsiyon yaptıklarından dolayı türev spektrofotometrik yöntem yardımıyla bunların etkisi de giderilmektedir.

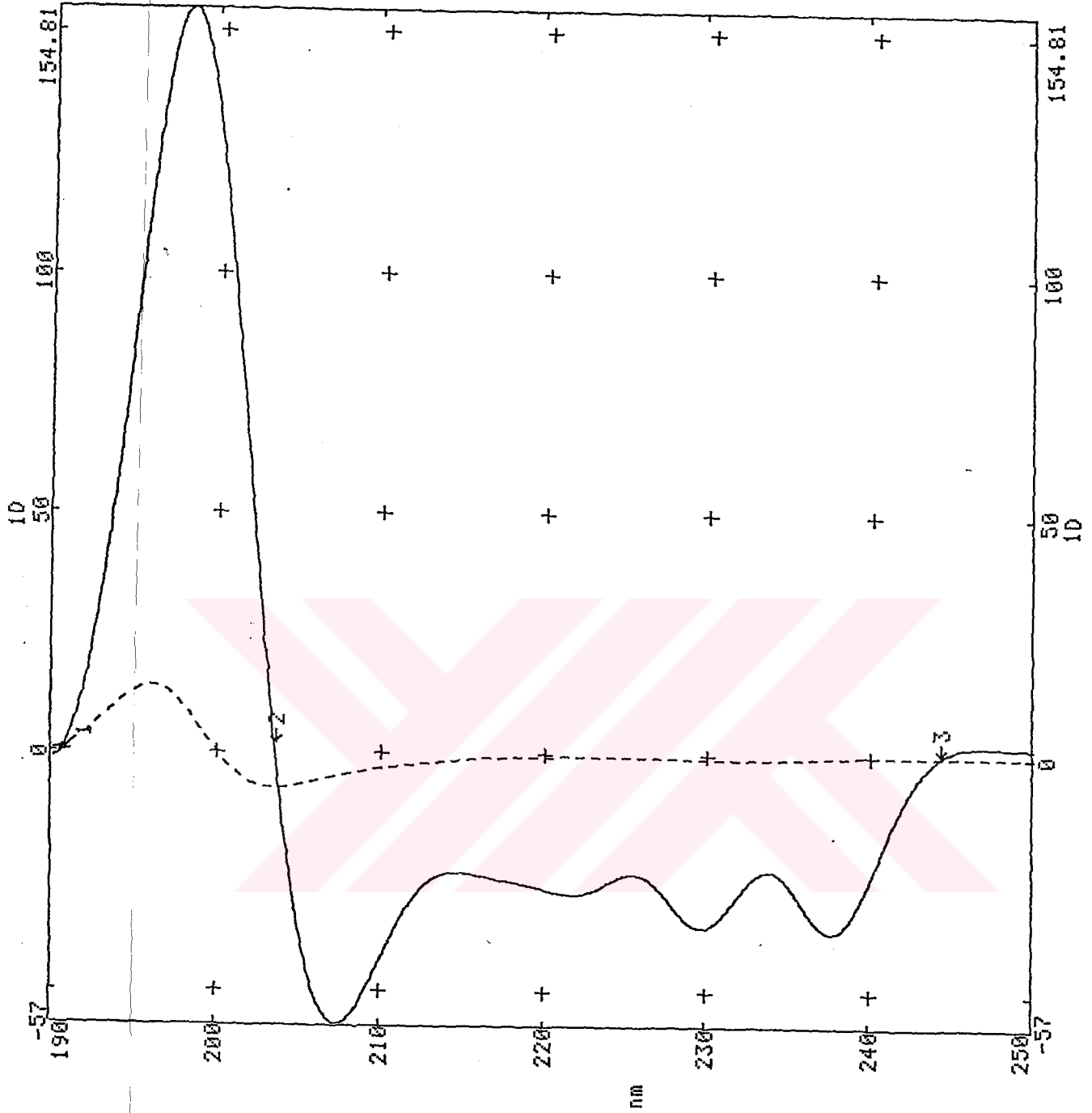
a) Sodyum Sakkarin ölçü eğrisi

Sodyum sakkarine ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 1000 µg/ml konsantrasyonundaki standart sodyum siklamat çözeltisinden 1'er ml 10 ayrı 10 ml'lik balonjejeye kondu. Bunların üzerine sırasıyla 0.2;0.4;0.6;— 2 ml 100 µg/ml standart sodyum sakkarin çözeltisi ilave edilerek bidestile su ile hacmine tamamlandı. Bölüm 4.4'de sodyum sakkarin için verilen koşullarda 1. ve 2. derece türev spektrumları alındı. Daha sonra 221.8 nm, 229.7 nm, 237.7 nm'lerdeki 1.derece türev absorbens değerleri ($1D_{221.8}$, $1D_{229.7}$, $1D_{237.7}$) ve 227.7 nm, 231.7 nm, 235.7 nm, 240.7 nm'lerdeki 2.derece türev absorbens değeri ($2D_{227.7}$, $2D_{231.7}$, $2D_{235.7}$, $2D_{240.7}$) saptandı.

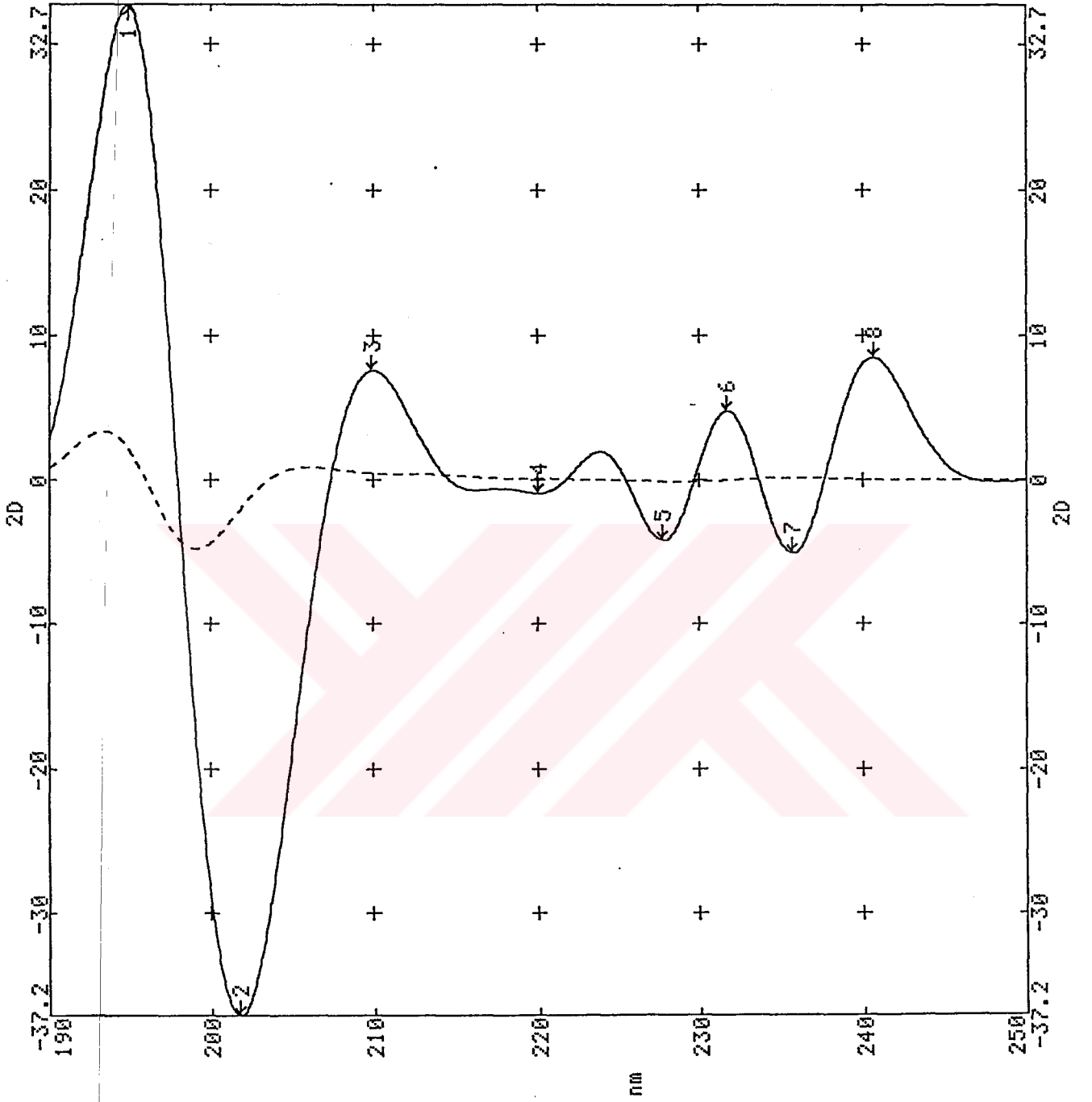
Bu değerler ile karşılık gelen sodyum sakkarin konsatrasyonları arasında grafikler çizilerek ölçü eğrileri oluşturuldu. Ölçü eğrilerine ait doğru denklemleri en küçük kareler yöntemine göre hesaplandı. 2 - 20 µg/ml konsantrasyon aralığında sodyum sakkarin ve sabit miktarda sodyum siklamat (100 µg/ml) içeren çözeltilerin Bölüm 4.4'de sodyum sakkarin için verilen koşullarda alınan 1. ve 2. derece türev spektrumları Şekil 13 ve 14'de gösterilmiştir. Sodyum sakkarinin hazırlanan ölçü eğrilerinin 1 ve 2. türev absorbands değerleri ($1D_{221.8}$, $1D_{229.7}$, $1D_{237.7}$, $2D_{227.7}$, $2D_{231.7}$, $2D_{235.7}$, $2D_{240.7}$) ve regresyon analizleri Tablo 1,2,3,- 7'de verilmiştir. Şekil 15, 16, 17- 21'de ise sodyum sakkarin ait ölçü eğrileri verilmiştir.



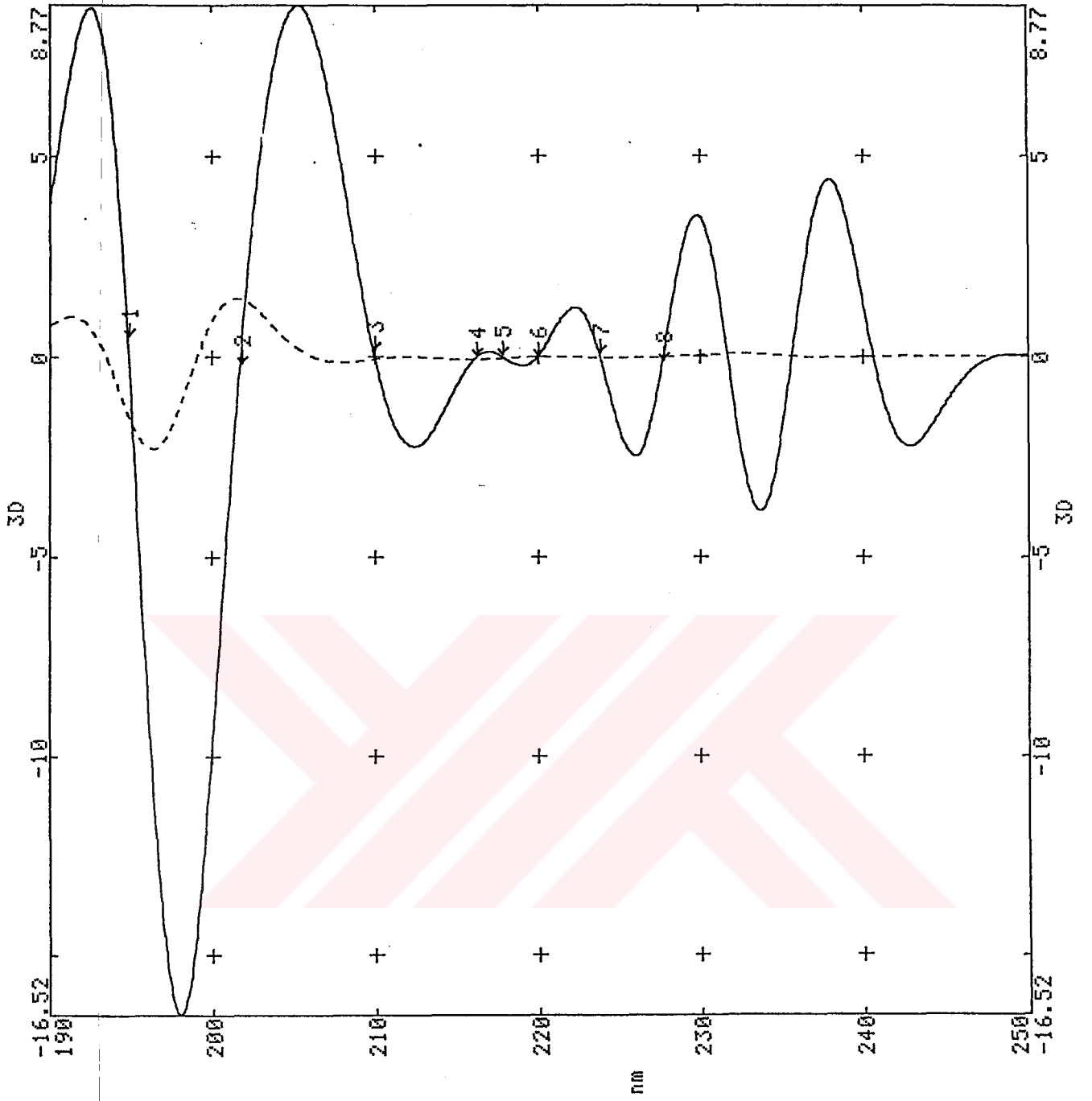
Şekil 5: Sodyum sakkarin (—) ve sodyum siklamatin (---) sulu çözeltilerinin (sırasıyla 10 ve 100 µg/ml) absorpsiyon spektrumları.



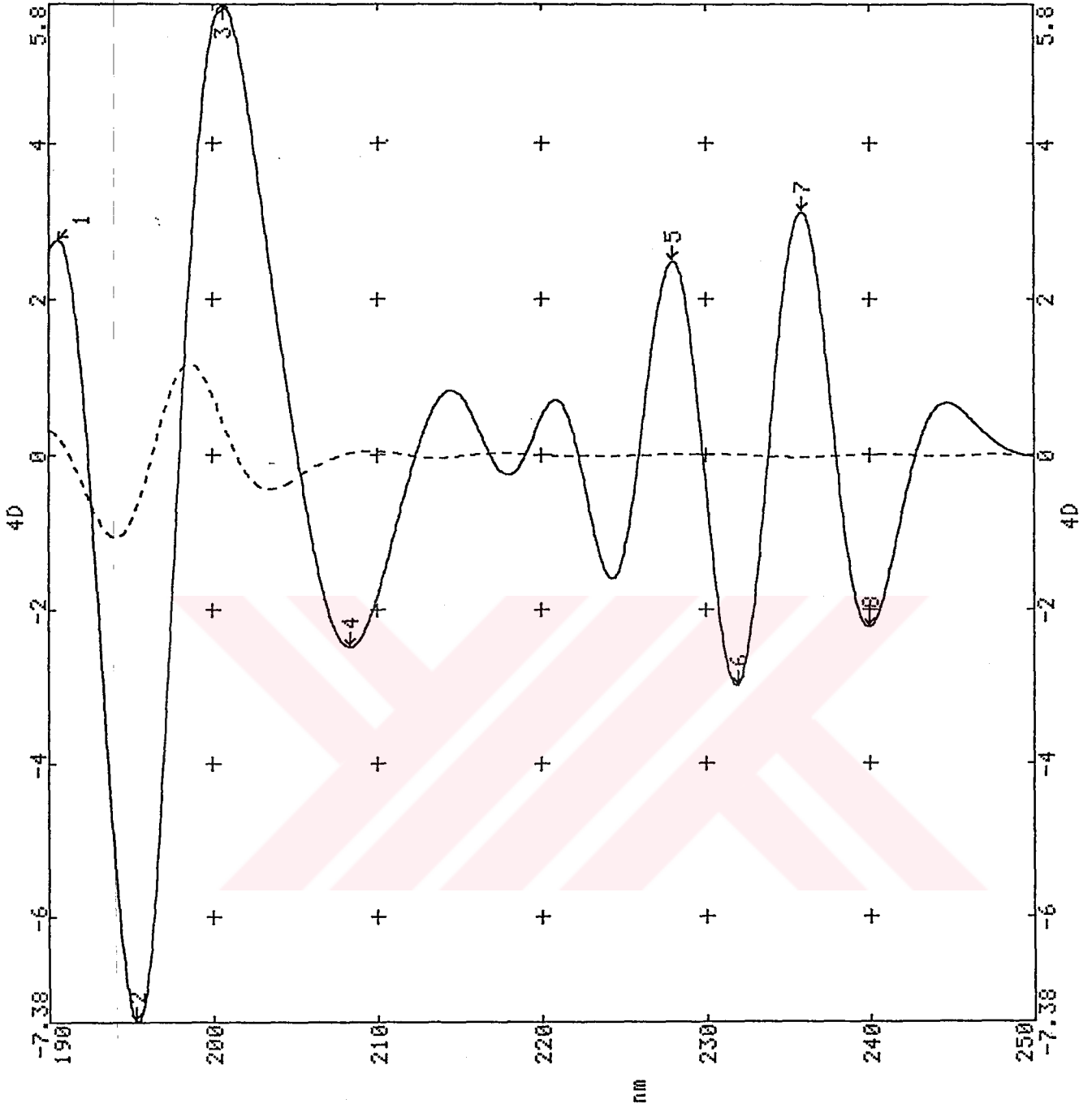
Şekil 6: Sodyum sakkarin (-) ve sodyum siklamatin (---) sulu çözeltilerinin (sırasıyla 10 ve 100 $\mu\text{g/ml}$) 1. derece türev spektrumları.



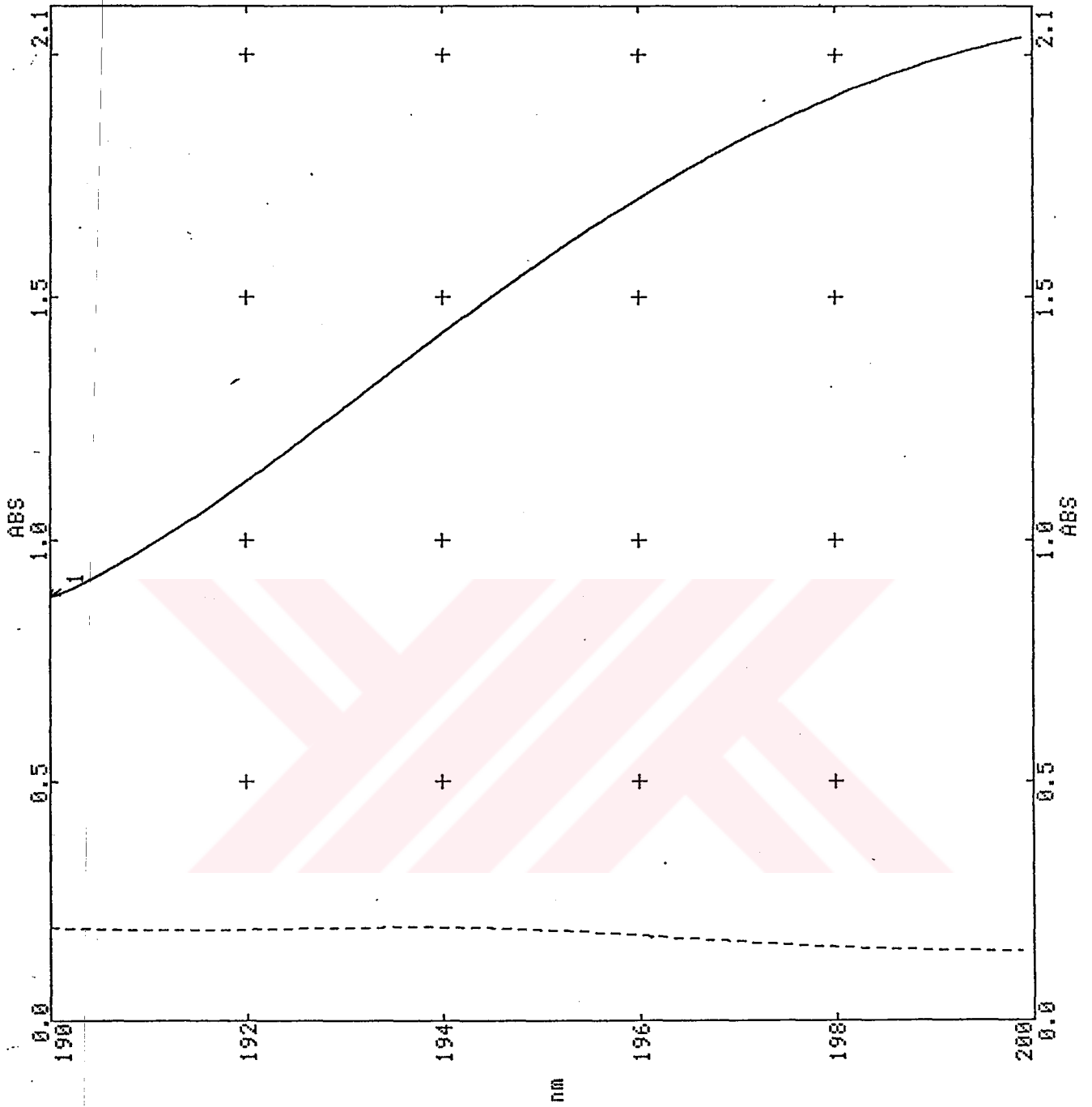
Şekil 7: Sodyum sakkarin (-) ve sodyum siklamatin (---) sulu çözeltilerinin (sırasıyla 10 ve 100 $\mu\text{g/ml}$) 2. derece türev spektrumları.



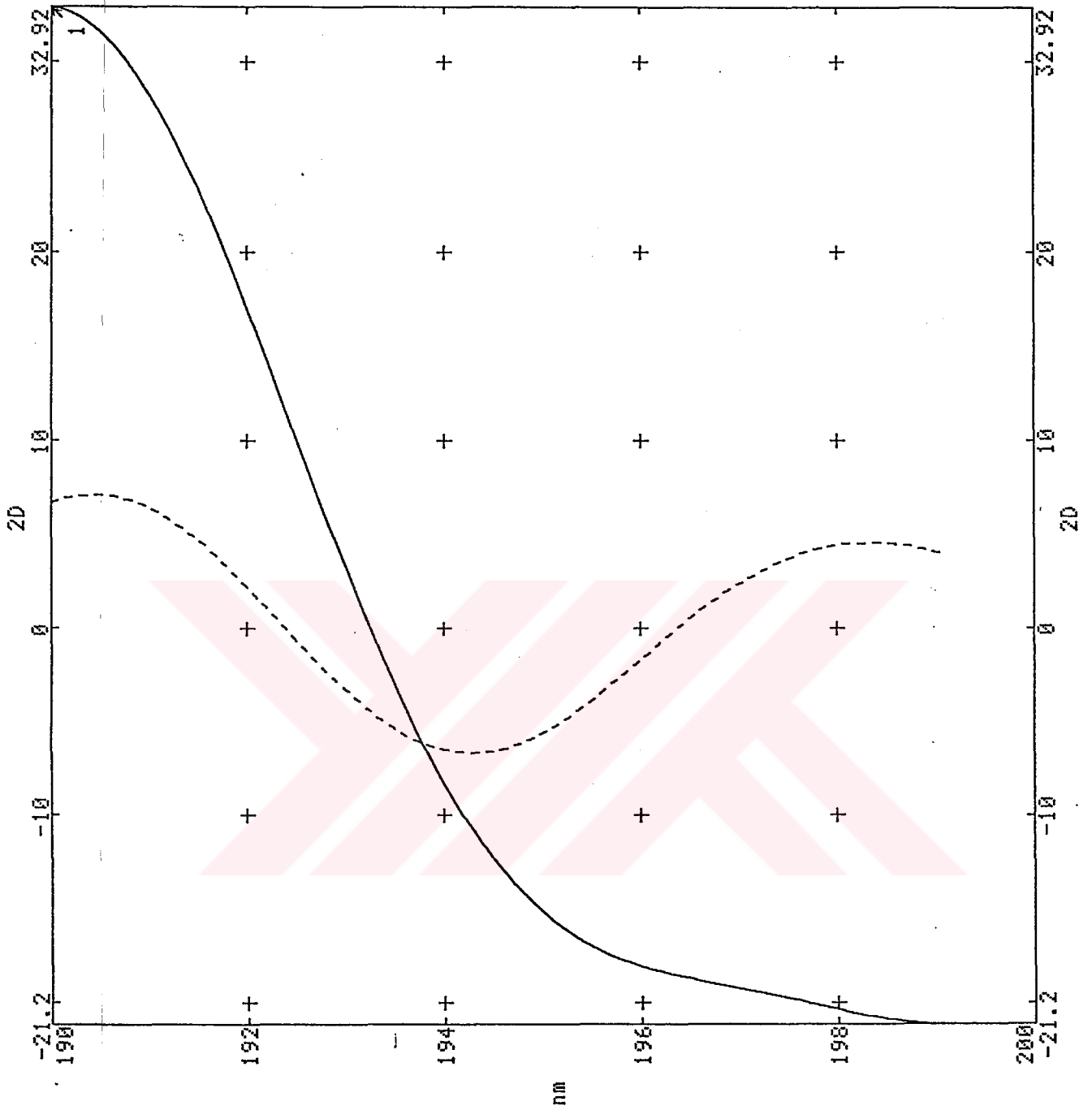
Şekil 8: Sodyum sakkarin (-) ve sodyum siklamatin (---) sulu çözeltilerinin (sırasıyla 10 ve 100 $\mu\text{g/ml}$) 3. derece türev spektrumları.



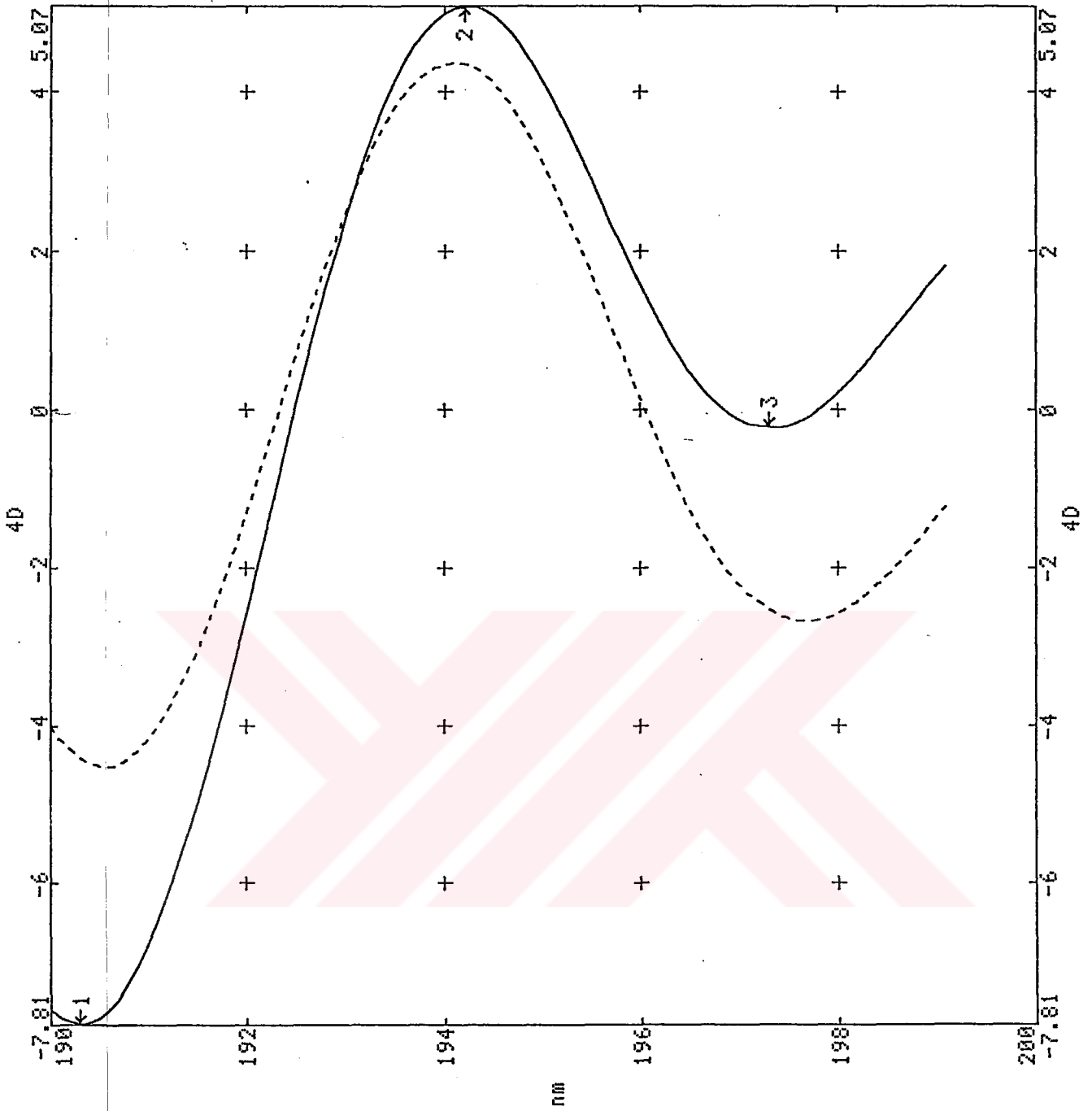
Şekil 9: Sodyum sakkarin (--) ve sodyum siklamatin (---) sulu çözeltilerinin (sırasıyla 10 ve 100 $\mu\text{g/ml}$) 4. derece türev spektrumları.



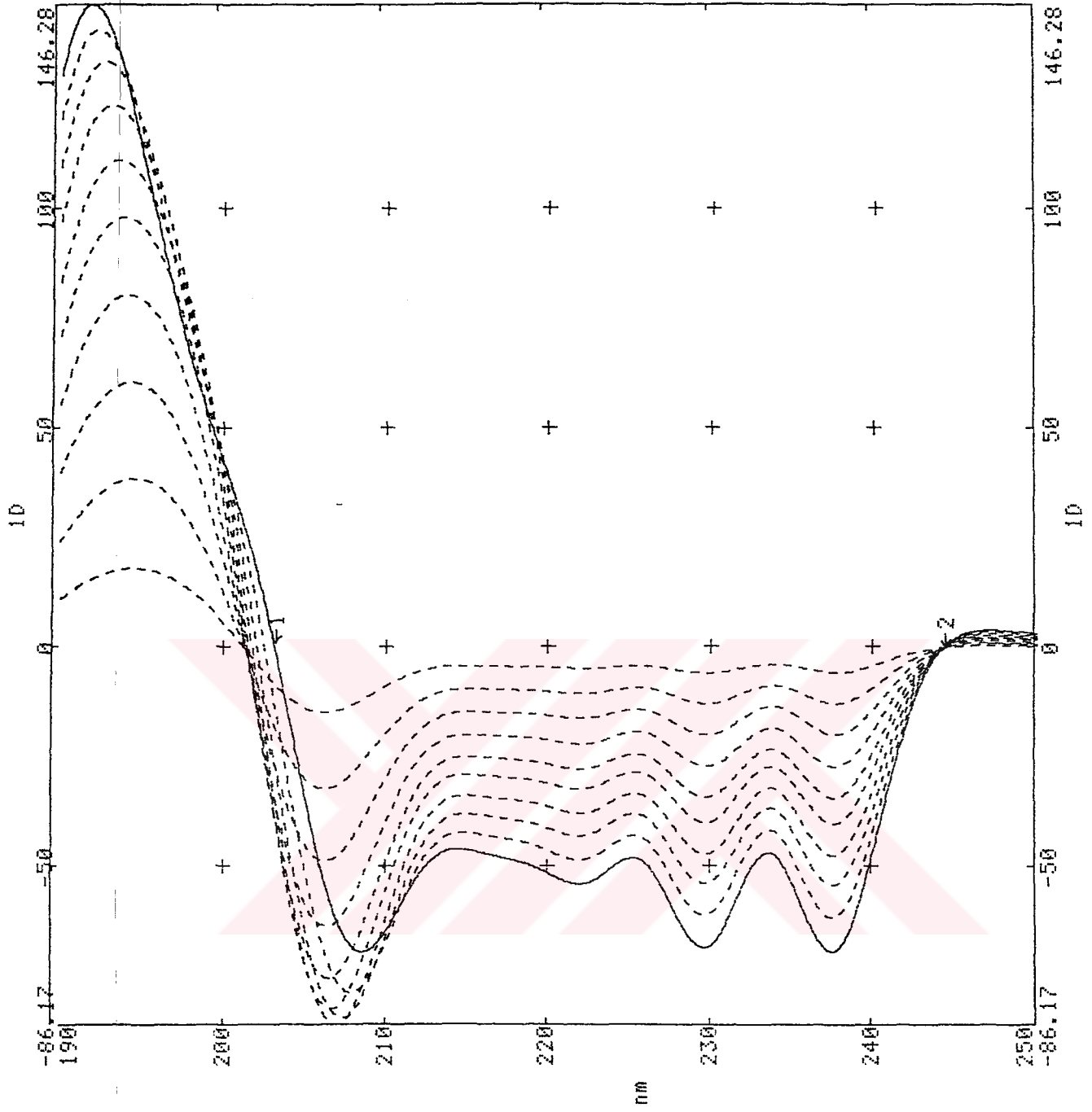
Şekil 10: Sodyum sakkarin (-) ve sodyum siklamatin (---) sulu çözeltilerinin (sırasıyla 14 ve 140 µg/ml) absorpsiyon spektrumları.



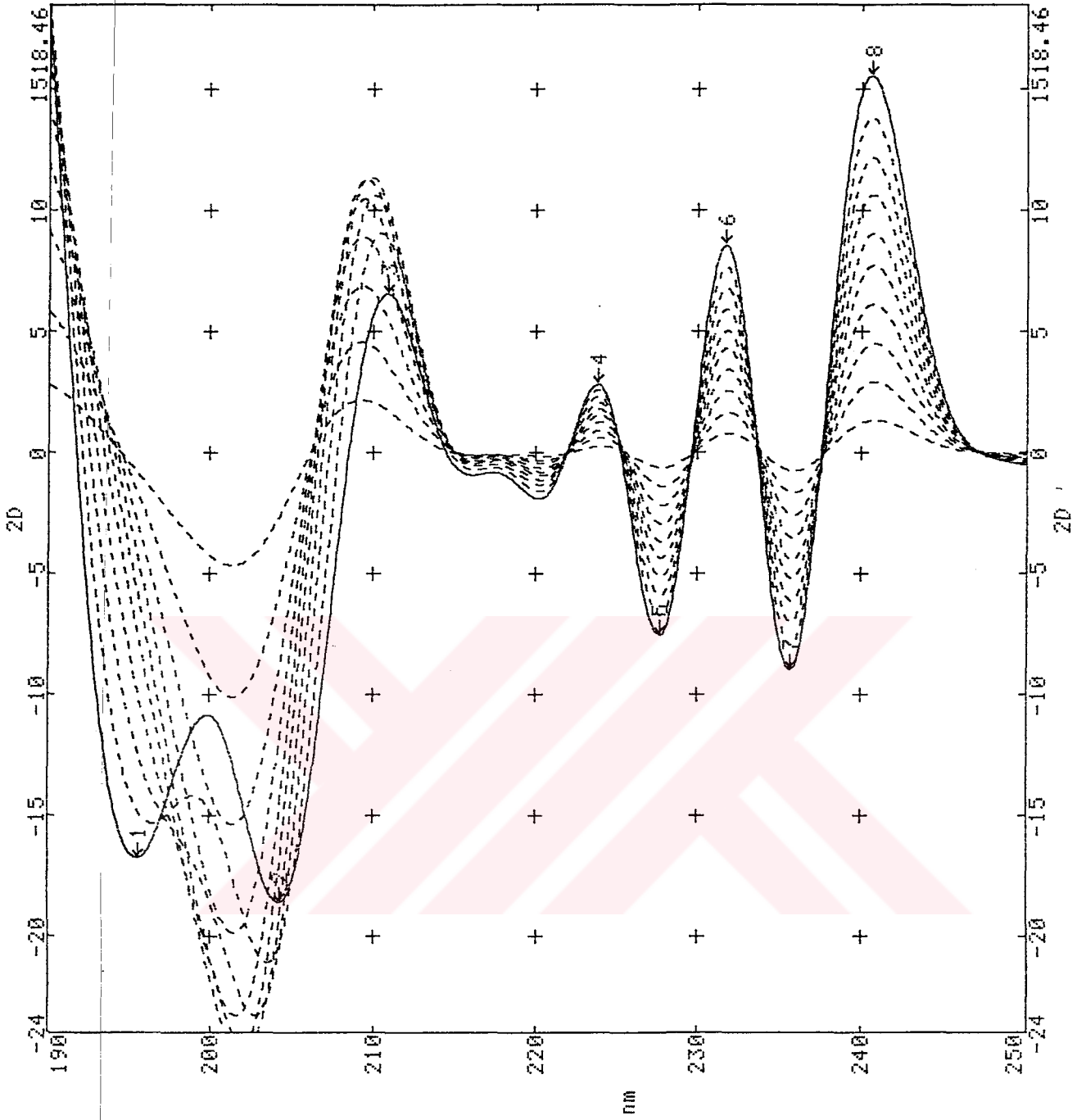
Şekil 11: Sodyum sakkarin (-) ve sodyum siklamatin (---) sulu çözeltilerinin (sırasıyla 10 ve 140 µg/ml) 2.derece türev spektrumları.



Şekil 12: Sodyum sakkarin (-) ve sodyum siklamatin sulu çözeltilerinin (sırasıyla 14 ve 140 µg/ml) 4. derece türev spektrumları.



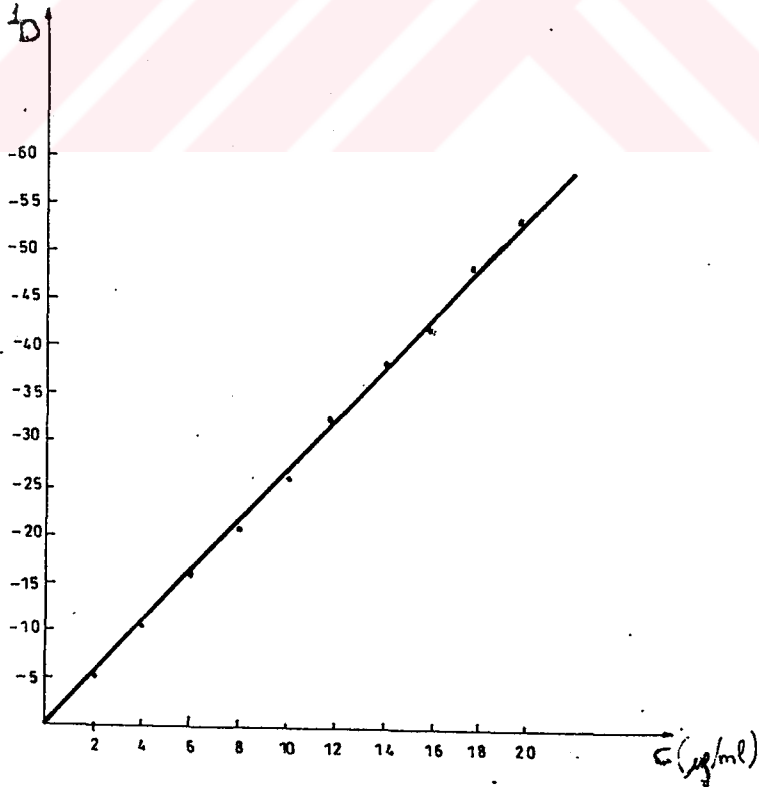
Şekil 13: Sodyum sakkarinin ölçü eğresinin hazırlanması için alınan 1. derece türev spektrumları.



Şekil 14: Sodyum sakkarinin ölçü eğrisinin hazırlanması için alınan 2. derece türev spektrumları

Tablo 1: Sodyum sakkarinin ölçü eğrilerinin l_D $_{221.8}$ değerleri ve regresyon analizleri

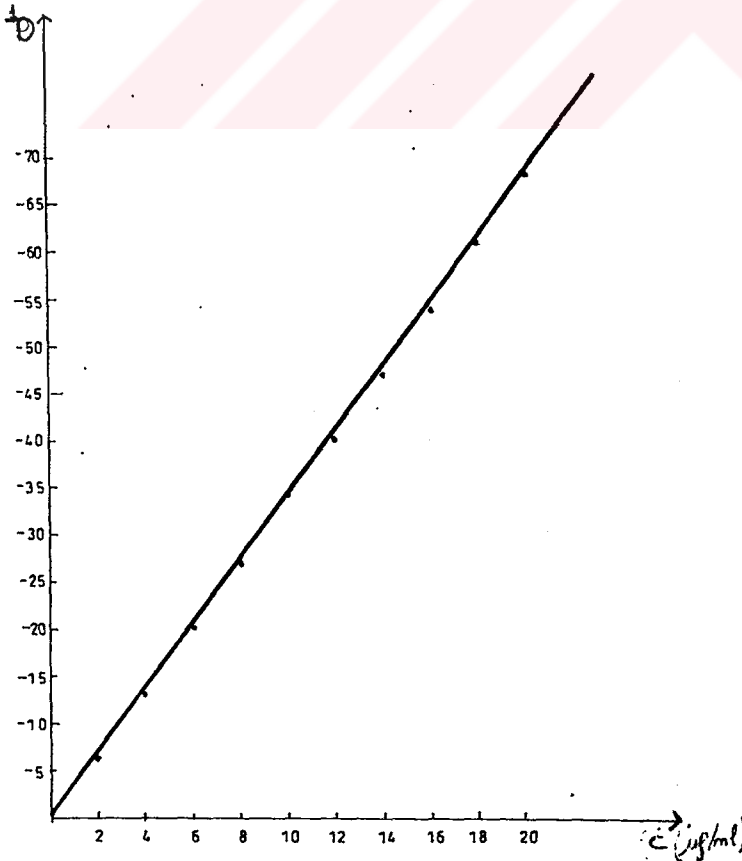
No	C μgml^{-1}	l_{D_1}	l_{D_2}	l_{D_3}	$l_{\bar{D}}$	S	%S
1	2	-4.977	-5.364	-5.042	-5.128	0.195	3.80
2	4	-10.76	-10.65	-10.81	-10.74	0.082	0.76
3	6	-16.35	-16.20	-16.40	-16.31	0.104	0.64
4	8	-22.23	-22.14	-22.17	-22.18	0.046	0.21
5	10	-27.90	-27.91	-27.83	-27.88	0.043	0.15
6	12	-32.49	-32.57	-32.43	-32.49	0.070	0.21
7	14	-37.99	-38.26	-37.69	-37.98	0.285	0.75
8	16	-43.14	-43.51	-43.06	-43.23	0.240	0.55
9	18	-48.61	-48.71	-48.19	-48.50	0.276	0.57
10	20	-54.09	-53.96	-53.79	-53.94	0.150	0.28
$l_{D_{221.8}} = -0.16 - 2.69 C$ $r = -0.9997$							



Şekil 15: Sodyum sakkarine ait ölçü eğrisi
 $(l_{D_{221.8}} = -0.16 - 2.69 C, r = -0.9997)$

Tablo 2: Sodyum sakkarinin ölçü eğrilerinin $lD_{229.7}$ değerleri ve regresyon analizleri

No	C μgml^{-1}	b_1	lD_2	lD_3	$l\bar{D}$	s	%S
1	2	-6.107	-6.381	-6.066	-6.184	0.17	2.75
2	4	-13.09	-13.15	-13.05	-13.09	0.05	0.38
3	6	-20.18	-20.13	-20.07	-20.12	0.05	0.25
4	8	-27.35	-27.66	-27.06	-27.33	0.27	0.99
5	10	-34.39	-34.40	-34.10	-34.29	0.17	0.49
6	12	-40.20	-40.33	-39.96	-40.16	0.19	0.47
7	14	-47.32	-47.59	-46.74	-47.23	0.43	0.91
8	16	-54.08	-54.04	-53.67	-54.03	0.22	0.40
9	18	-61.30	-61.10	-60.32	-60.91	0.51	0.84
10	20	-68.72	-68.34	-68.11	-68.39	0.31	0.45
$lD_{229.7} = 0.483 - 3.423 C$ $r = -0.9998$							

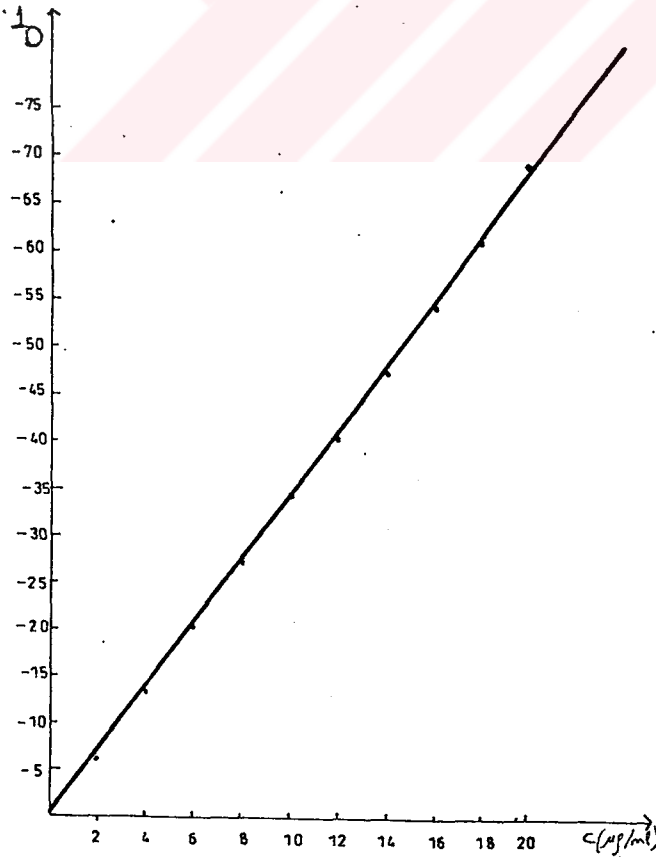


Şekil 16 : Sodyum sakkerine ait ölçü eğrisi

$$(lD_{229.7} = 0.483 - 3.423 C, r = -0.9998)$$

Tablo 3: Sodyum sakkarinin ölçü eğrilerinin l_D değerleri
237.7
ve regresyon analizleri

No	C $\mu\text{gm l}^{-1}$	l_{D_1}	l_{D_2}	l_{D_3}	l_D	S	%S
1	2	-6.0	-6.166	-5.984	-6.05	0.10	1.65
2	4	-13.07	-13.19	-13.09	-13.11	0.06	0.45
3	6	-20.20	-20.18	-20.07	-20.15	0.07	0.34
4	8	-27.44	-27.60	-27.17	-27.40	0.21	0.76
5	10	-34.63	-34.54	-34.27	-34.48	0.18	0.52
6	12	-40.50	-40.51	-40.20	-40.40	0.17	0.42
7	14	-47.68	-47.82	-47.07	-47.52	0.39	0.82
8	16	-54.43	-54.21	-54.05	-54.23	0.08	0.14
9	18	-61.89	-61.52	-60.97	-61.46	0.46	0.74
10	20	-69.62	-69.09	-68.87	-69.19	0.38	0.55
$l_{D_{237.7}} = 0.714 - 3.464 C$ $r = -0.9998$							

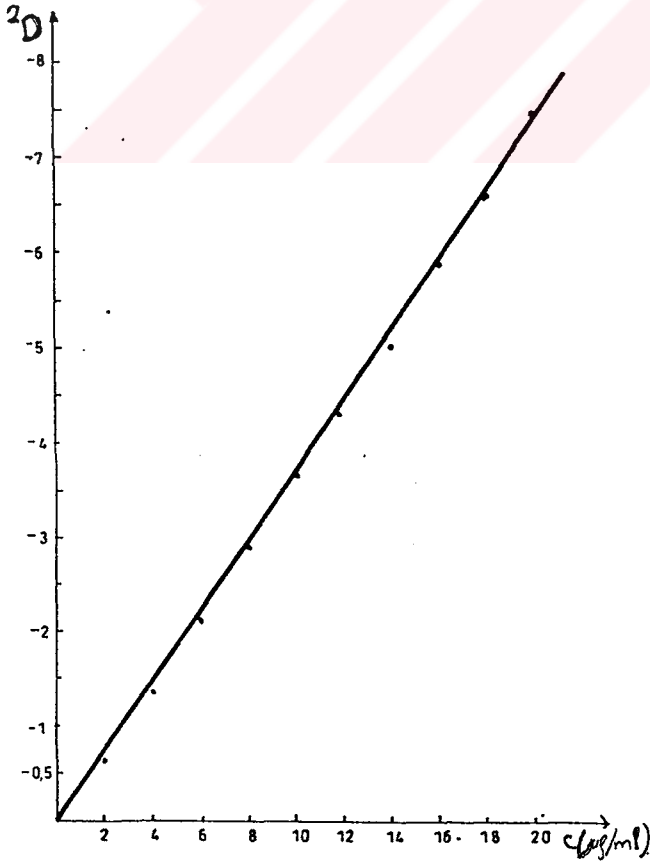


Şekil 17 : Sodyum sakkarine ait ölçü eğrisi

$$(l_{D_{237.7}} = 0.714 - 3.464 C, r = -0.9998)$$

Tablo 4: Sodyum sakkarinin ölçü eğrilerinin $^{2D}_{227.7}$ değerleri ve regresyon analizleri

No	C μgml ⁻¹	$^{1D}_1$	$^{1D}_2$	$^{1D}_3$	$\bar{D}$	s	%s
1	2	-0.6272	-0.6371	-0.6133	-0.6258	0.01	1.59
2	4	-1.388	-1.414	-1.356	-1.386	0.03	2.16
3	6	-2.168	-2.197	-2.125	-2.163	0.03	1.38
4	8	-2.914	-2.997	-2.832	-2.914	0.08	2.74
5	10	-3.687	-3.699	-3.567	-3.651	0.07	1.91
6	12	-4.331	-4.325	-4.226	-4.294	0.05	1.16
7	14	-5.127	-5.129	-4.985	-5.080	0.08	1.57
8	16	-5.897	-5.830	-5.786	-5.837	0.05	0.85
9	18	-6.717	-6.661	-6.531	-6.636	0.09	1.35
10	20	-7.545	-7.485	-7.425	-7.485	0.06	0.08
$^{2D}_{227.7} = 0.125 - 0.375 C$ $r = -0.9997$							

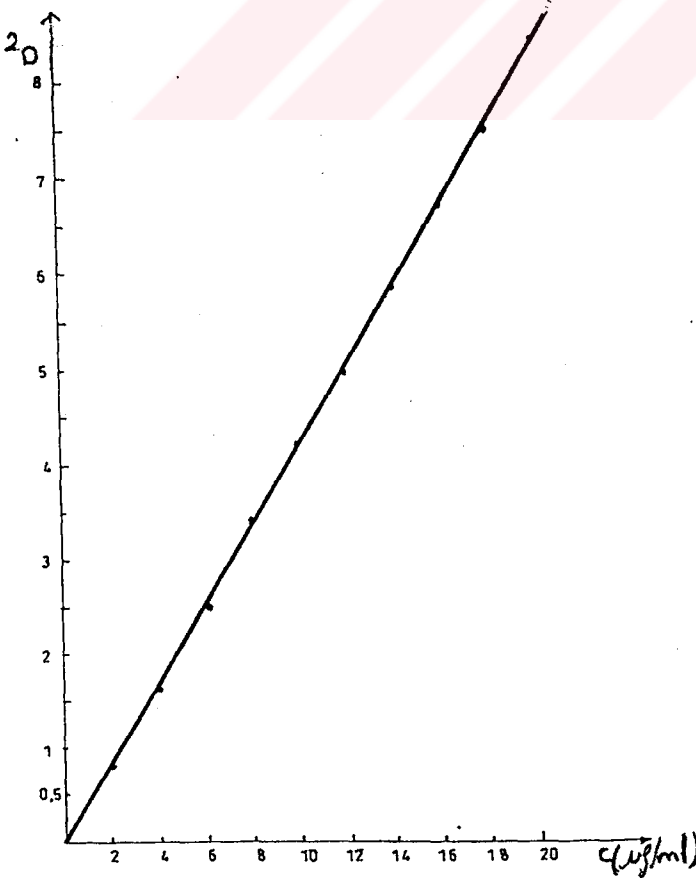


Şekil 18 : Sodyum sakkarine ait ölçü eğrisi

$$^{2D}_{227.7} = 0.125 - 0.375 C, r = -0.9997$$

Tablo 5: Sodyum sakkarinin ölçü eğrilerinin $^{20}_{231.7}$ değerleri ve regresyon analizleri

No	C $\mu\text{gm l}^{-1}$	$^{10}_1$	$^{10}_2$	$^{10}_3$	10	s	%s
1	2	0.7741	0.7643	0.7475	0.762	0.01	1.31
2	4	1.624	1.596	1.601	1.607	0.01	0.62
3	6	2.529	2.459	2.486	2.491	0.03	1.20
4	8	3.413	3.389	3.329	3.377	0.04	1.18
5	10	4.288	4.219	4.180	4.229	0.05	1.18
6	12	5.014	4.924	4.936	4.958	0.04	0.80
7	14	5.907	5.852	5.788	5.849	0.06	1.02
8	16	6.789	6.645	6.669	6.701	0.07	1.04
9	18	7.650	7.504	7.467	7.540	0.09	1.19
10	20	8.548	8.369	8.424	8.447	0.09	1.06
$^{20}_{231.7} = -0.132 + 0.422 C$ $r = 0.9952$							

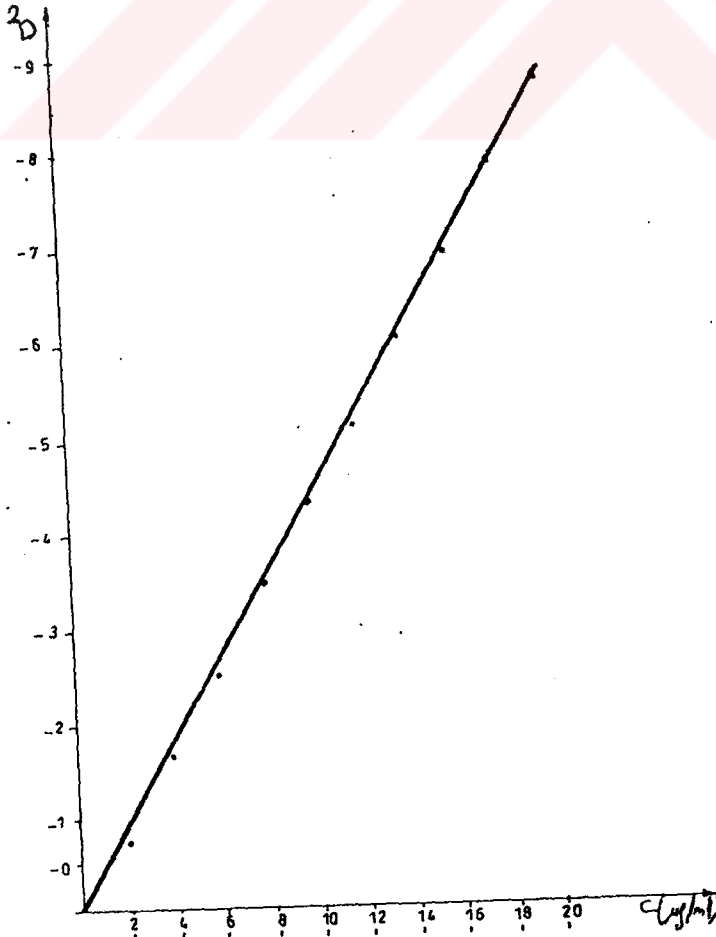


Şekil 19: Sodyum sakkarine ait ölçü eğrisi

$$(^{20}_{231.7} = -0.132 + 0.422 C, r = 0.9952)$$

Tablo 6: Sodyum sakkarinin ölçü eğrilerinin $^{20}_{235.7}$ değerleri ve regresyon analizleri

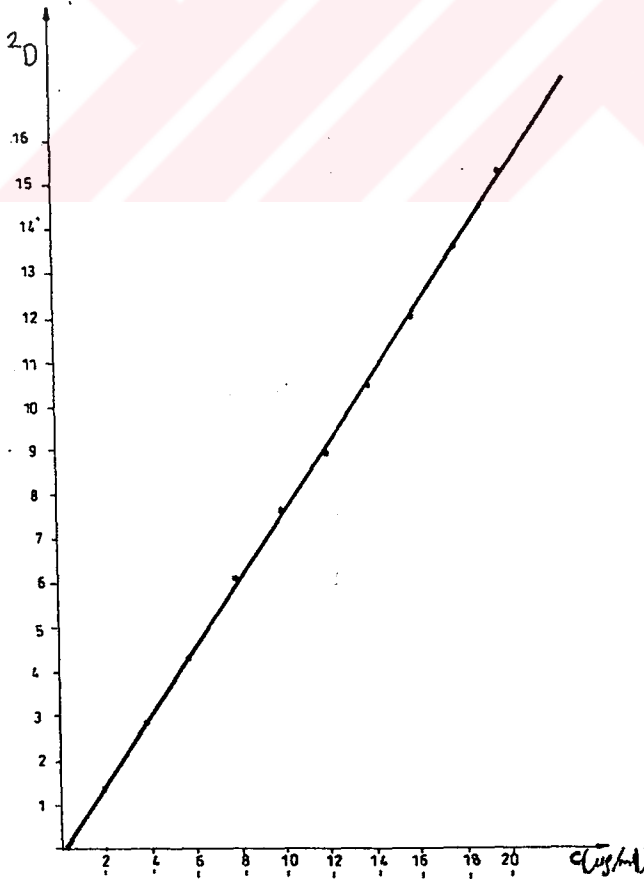
No	C μgml^{-1}	l_{D_1}	l_{D_2}	l_{D_3}	$l_{\bar{D}}$	s	%s
1	2	-0.7635	-0.7313	-0.7463	-0.7470	0.01	1.33
2	4	-1.657	-1.647	-1.652	-1.652	0.005	0.30
3	6	-2.590	-2.526	-2.544	-2.553	0.03	1.17
4	8	-3.513	-3.463	-3.439	-3.471	0.03	0.86
5	10	-4.451	-4.351	-4.327	-4.376	0.06	1.37
6	12	-5.206	-5.083	-5.115	-5.134	0.06	1.16
7	14	-6.133	-6.042	-6.011	-6.062	0.06	0.98
8	16	-7.009	-6.836	-6.918	-6.921	0.08	1.15
9	18	-7.973	-7.773	-7.810	-7.852	0.10	1.27
10	20	-8.973	-8.749	-8.815	-8.845	0.11	1.24
$a_{235.7} = 0.127 - 0.444 c$ $r = -0.9998$							



Şekil 20: Sodyum sakkarine ait ölçü eğrisi
 $(^{20}_{235.7} = 0.127 - 0.444 C, r = -0.9998)$

Tablo 7: Sodyum sakkarinin ölçü eğrilerinin $^{2D}_{240.7}$ değerleri ve regresyon analizleri

No	C μgml^{-1}	$^{1D}_1$	$^{1D}_2$	$^{1D}_3$	1D	s	%s
1	2	1.334	1.379	1.324	1.345	0.03	2.23
2	4	2.913	2.934	2.910	2.919	0.01	0.34
3	6	4.507	4.489	4.458	4.484	0.02	0.44
4	8	6.133	6.140	6.033	6.102	0.06	0.98
5	10	7.744	7.676	7.602	7.674	0.07	0.91
6	12	9.047	9.012	8.926	8.995	0.06	0.66
7	14	10.63	10.61	10.48	10.573	0.08	0.75
8	16	12.15	12.02	12.04	12.07	0.07	0.58
9	18	13.82	13.63	13.58	13.676	0.12	0.87
10	20	15.54	15.31	15.33	15.393	0.12	0.78
$^{2D}_{240.7} = -0.156 + 0.7708 C$ $r = 0.9998$							



Şekil 21 : Sodyum sakkarine ait ölçü eğrisi
 $^{2D}_{240.7} = -0.156 + 0.770 C, r = 0.9998$

b) Sodyum siklamatin ölçü eğrisi

Sodyum siklamata ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 100 µg/ml konsantrasyonundaki standart sodyum sakkarin çözeltisinden 1.4'er ml 10 ayrı 10 ml'lik balonjojeye kondu. Bunların üzerine sırasıyla 1.3, 1.35, 1.4, 1- 1.75 ml 1000 µg/ml standart sodyum siklamat çözeltisinden ilave edilerek bidestile su ile hacmine tamamlandı. Bölüm 4.4'de sodyum siklamat için verilen analiz koşullarında 2. ve 4. derece türev spektrumları alındı. Ancak 135, 150, 155, 160, 165 µg/ml sodyum siklamat içeren çözeltilerin 2. ve 4. türev spektrumlarında sodyum siklamat analizi için daha önce verilen dalga boylarındaki türev absorbanse değerleride ($^{2D}_{193.1}$, $^{4D}_{196.3}$, $^{4D}_{198.4}$) çok az yükselme görüldüğünden Şekil 22 ve 23'de bu çözeltilerin 2. ve 4. derece türev spektrumları verilmiştir. Diğer çözeltilere ait türev absorbanse değerlerinde azalma görülmüştür. Ancak sodyum siklamatin kantitatif analizi için yapılan deneysel çalışmalarda elde edilen sayısal veriler sodyum siklamatin analizinde sodyum sakkarinin etkisinin çok fazla olduğunu göstermiştir. Sodyum siklamat küçük bir molekül olduğu için UV bölge absorbanse çok küçük ve sodyum siklamata ait bir türev pikleri sodyum sakkarin tarafından kapatılmakta ayrıca kullanılan karışımlarda 1 kısım sodyum sakkarin 10 kısım sodyum siklamat olduğundan karışımlardaki sodyum siklamat miktarı türev spektrofotometrik yöntem ile tayin edilemeyeceği anlaşılmıştır.

Sodyum siklamatin analizi için National Formulary XIII'de (5) önerilen yöntem uygulanmıştır. Bunun için 10 adet tablet tek tek tartıldı ve ortalama tablet ağırlığı saptandı. Tabletler cam havanda iyice ezilerek toz haline getirildi. Bu toz karışımdan 400 mg sodyum siklamata eşdeğer miktar hassas olarak tartıldı ve 50 ml suda çözüldü ve 5 ml derişik HCL ilave edilerek 0.1N NaNO_2 ile titre edildi.

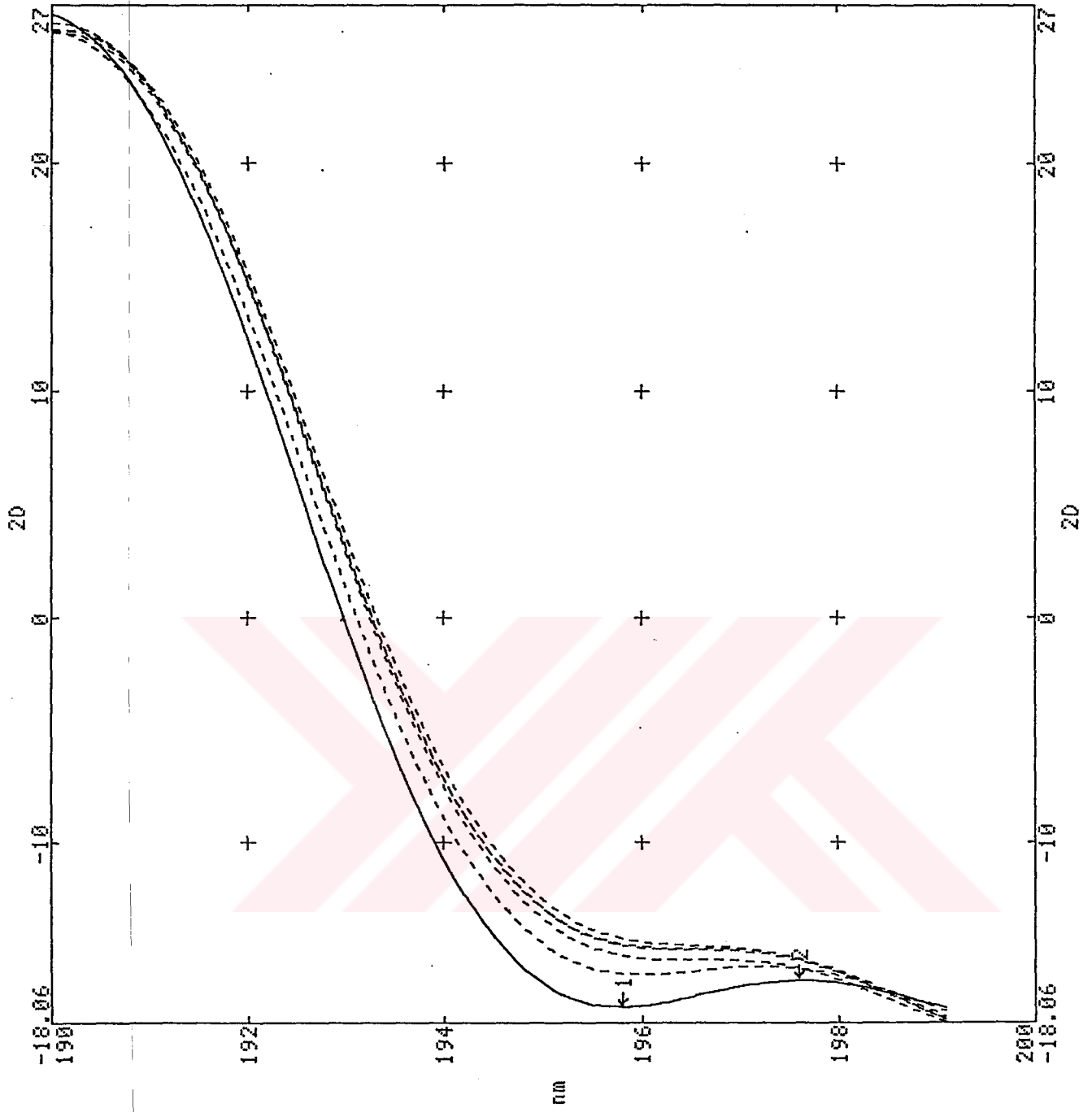
Titrasyonun dönüm noktası nişasta-iyodür dış indikatör çözeltisinde mavi rengin oluşması ile gözlenir.

0.1N NaNO_2 çözeltisinin faktör tayini, ayarlı 0.1N KMnO_4 çözeltisi ile yapılmıştır. KMnO_4 ise, $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ primer standartına karşı ayarlanmıştır.

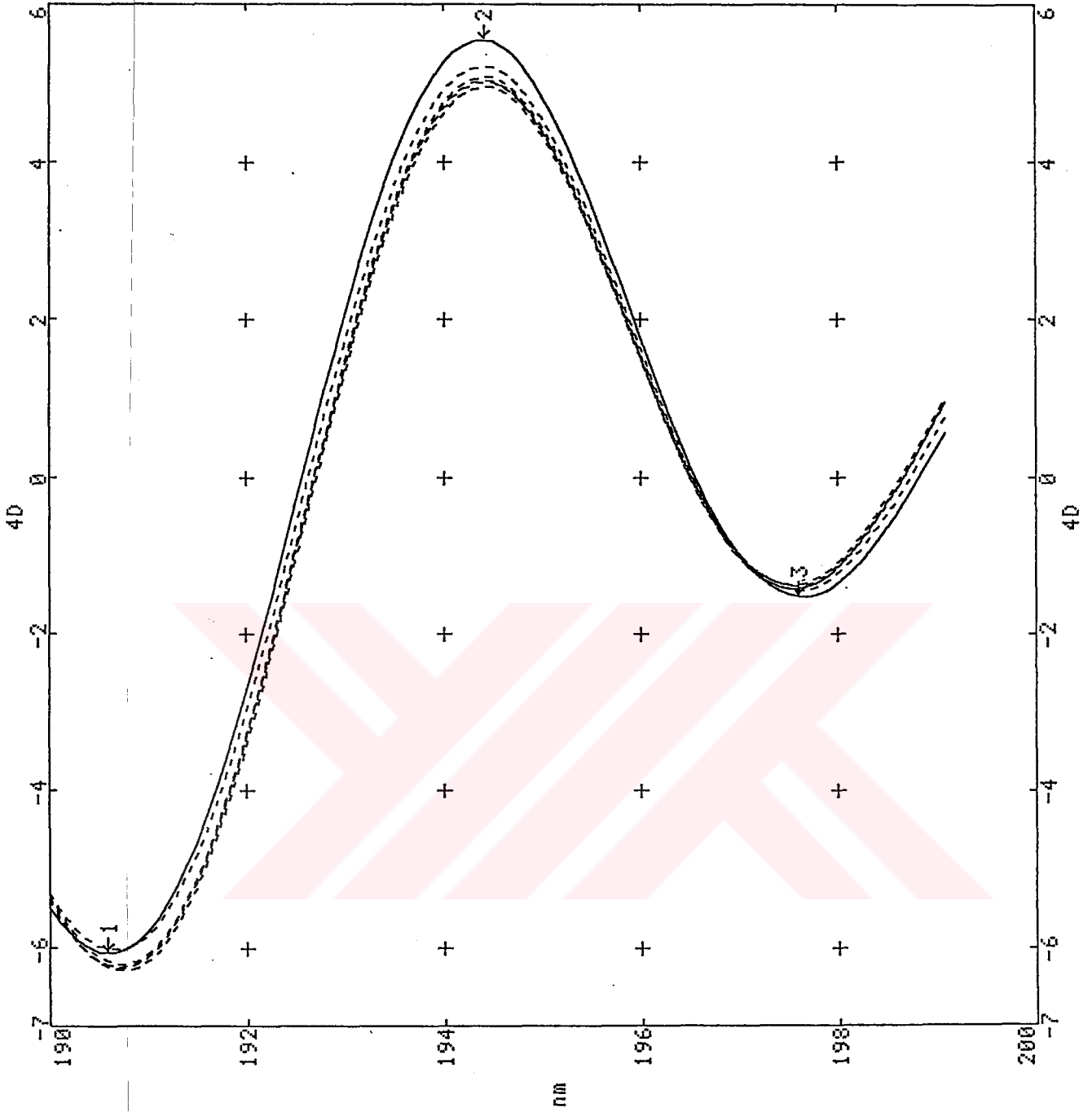
Tablo 8'de tatlandırıcı tabletlerindeki sodyum siklamat analizine ait deneysel veriler ve istatistiksel sonuçlar gösterilmiştir.

Tablo 8: Sodyum sakkarin-sodyum siklamat tabletinde sodyum siklamat analizi

1st. paramtr.		V NaNO ₂ (ml)	N NaNO ₂ f = 0.91	Sodyum siklamat miktarı (mg)	%
n	1	21.7	0.091	397.30	99.32
	2	21.6	0.091	395.47	98.86
	3	21.8	0.091	399.14	99.78
	4	21.7	0.091	397.30	99.32
	5	21.7	0.091	397.30	99.32
$\bar{X}$		21.7	-	397.30	99.32
S		0.07	-	1.29	0.32
%S		0.32	-	0.32	0.32
$\bar{X} \pm t_{\alpha}/\sqrt{n}$		21.62-21.78	-	395.7-398.9	98.93-99.71
t : 2.776					



Şekil 22: Sodyum sakkarinin sodyum siklamatin ölçü eğrisine olan etkisinin araştırılması için alınan 2. derece türev spektrumları.



Şekil 23 : Sodyum sakkarinin sodyum siklamatin ölçü eğrisine olan etkisinin araştırılması için alınan 4. derece türev spektrumları.

4.6 Farmasötik Preparatlardaki Sodyum Sakkarine Türev

Spektrofotometrik Yöntemin Uygulanması ve Sonuçların Kıyas Yöntemleriyle Elde Edilen Sonuçlarla Karşılaştırılması

10 adet tablet ayrı ayrı tartılıp ortalama tablet ağırlığı bulundu. Tabletler birarada toz edildi ve bu karışımda 100 mg sodyum sakkarine eşdeğer örnek tartılıp 100 ml'lik balonjojeye kondu; 50-60 ml bidestile su ilava edilerek çalkalayıcıda 40 dakika çalkalandıktan sonra bidestile su hacmine tamamlandı. Çözelti iyice karıştırıldıktan sonra mavi band süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntünün ilk 15-20 ml'si atıldı. Sonraki süzüntüden 10 ml alınıp 100 ml'lik balonjojeye kondu ve bidestile su ile hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden 1 ml örnek 10 ml'lik balonjojeye kondu ve bidestile su ile hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu çözeltilerin Bölüm 4.4'de sodyum sakkarin analizi için verilen koşullarda 1. ve 2. derece türev spektrumları alındı. 1.türev spektrumunda 221.8 nm, 229.7 nm, 237 nm'deki ¹D değerleri ve 2. türev spektrumunda 227.7 nm, 231.7 nm, 235.7 nm, 240.7 nm'deki ²D değerleri okundu. Bu değerlerin ölçü eğrisindeki karşılıkları bulunarak tabletteki madde miktarları tayin edildi. Şekil 24 ve 25'de 10 µg/ml sodyum sakkarin içeren tabletlerin 1. ve 2. derece türev spektrumları gösterilmiştir.

Türev spektrofotometrik yöntem ile alınan sonuçların kıyaslanması için aynı tabletler USP XXII (3)'de sodyum sakkarin için önerilen yöntem ile de analiz edildi. Daha önce türev spektrofotometrik yöntem için hazırlanmış olan 100 mg/100 ml'lik ilk süzüntü çözeltisinden alınan 10 ml örnek bir ayırma hunisine alındı ve 2 ml 3N HCl ilave edilerek 5 kez kloroform-etanol (9:1) karışımı ile ekstrakte edildi. bir beherde toplanan ekstraktlar su banyosunda kuruluğa kadar

buharlaştırıldı ve elde edilen katı kısım 10 ml NaOH (1:250) çözeltisi ile çözüldükten sonra bidestile su ile hacmi 200 ml'ye seyreltildi. Bu çözeltinin ve aynı koşullarda hazırlanmış sodyum sakkarin çözeltisinin 269 nm'deki absorbanası suya karşı okundu. Aşağıdaki eşitlik ile tabletlerdeki sodyum sakkarin miktarı bulunur.

$$\frac{A_{\bar{o}}}{A_s} = \frac{C_{\bar{o}}}{C_s}$$

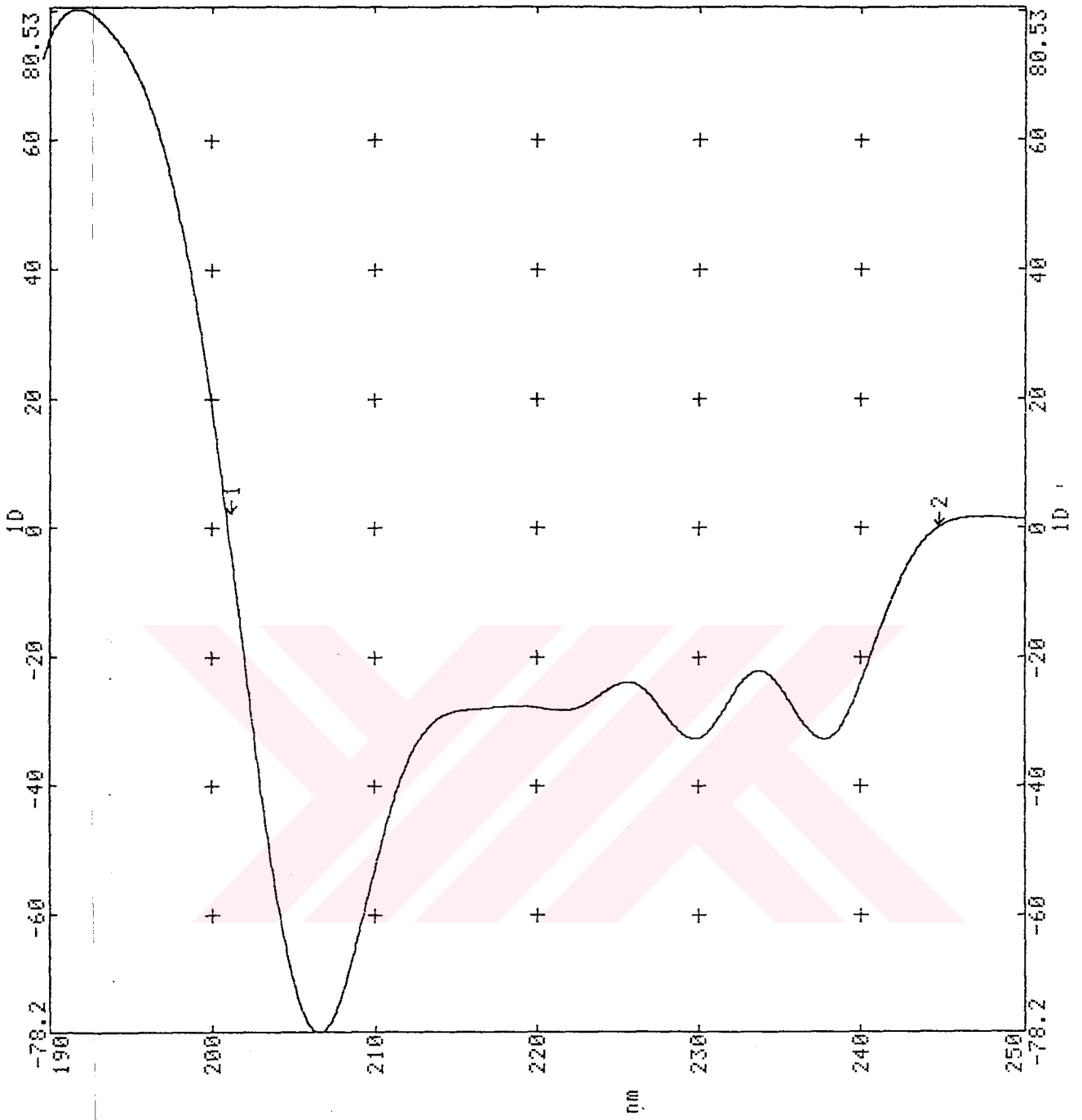
$A_{\bar{o}}$: Analiz örneğinin absorbanası

A_s : Standart sodyum sakkarin çözeltisinin absorbanası

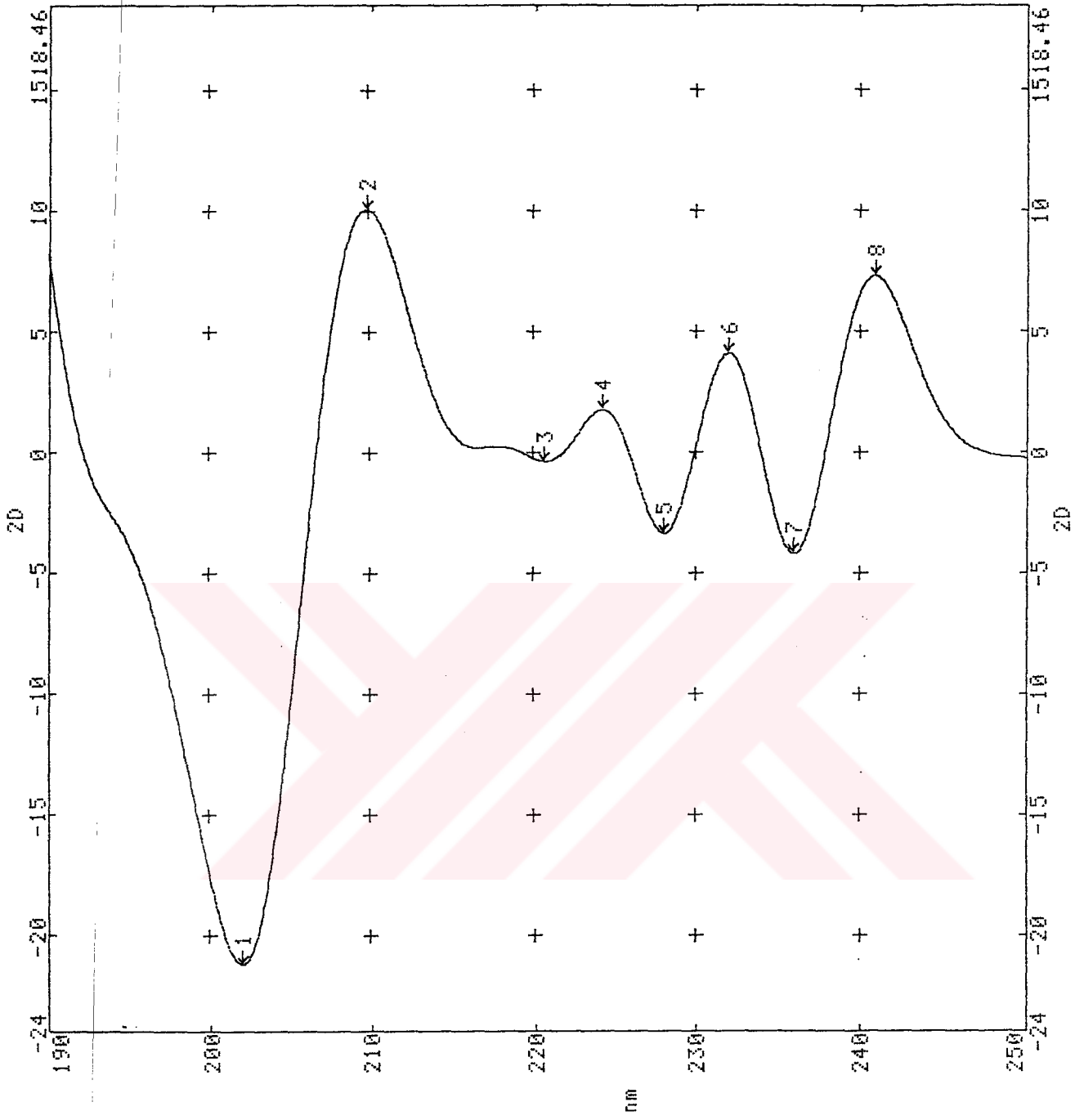
$C_{\bar{o}}$: Analiz örneğindeki sodyum sakkarinin konsantrasyonu

C_s : Standart sodyum sakkarin çözeltisinin konsantrasyonu

Tablo 9, 10- 15 'de sodyum sakkarin için çeşitli türev derecelerinde ve dalga boylarında geliştirilen türev spektrofotometrik metod ve kıyas yöntemi üç adet tayin üzerinden hesaplanan $\bar{X}$, S, %S %95 güvenirlik düzeyinde güven aralığı $(\bar{X} \pm t_s/\sqrt{n})$ değerleri verilmiştir. Geliştirilen yöntem ve kıyas yöntemleriyle elde edilen sonuçlar F testi ile presizyonlar yönünden %95 güven düzeyinde karşılaştırıldı. Tablo 9, 10 - 15'te görüldüğü gibi 1. derece türev spektrumundaki 221.8 nm dalgaboyu için elde edilen t değeri hariç diğer 1. ; 2. türevlerde uygun bulunan dalga boyları için hesaplanan t ve F değerleri %95 güven düzeyi ve üç deneme için verilen tablo değerlerinden küçüktür. Buna göre tatlandırıcı tabletlerindeki sodyum sakkarin miktar analizi için geliştirilen yöntem ve kıyas yöntemi arasında gerek doğruluk - ¹⁰221.8 hariç - gerek presizyon yönünden anlamlı bir fark olmadığı ortaya çıkmıştır.



Şekil 24 : Sodyum sakkarin - sodyum siklamat içeren tablete ait 1.derece türev spektrumu



Şekil 25 : Sodyum sakkarin - sodyum siklamat içeren tablete ait 2.derece türev spektrumu

İst. paramtr.		Türev spektrofotometrik yöntemi		USP Yöntemi	
		mg/tablet	%	mg/tablet	%
n	1	12.93	103.4	12.28	98.24
	2	13.50	108	12.46	99.68
	3	13.52	108.1	12.60	100.8
$\bar{X}$		13.31	106.5	12.44	99.57
S		0.335	2.685	0.16	1.28
%S		2.51	2.52	1.28	1.28
$X \pm ts/\sqrt{n}$		10.63-15.98	99.83-113.17	12-12.92	96.4-102.74
t testi		4.106			
F testi		4.253			
t: 2.776 F:19.00					

Tablo 9: Sodyum sakkarin-sodyum siklamat* tabletlerinde

sodyum sakkarin analizi ($D_{221.8}^{10}$)

* Bir tablet 12.5 mg sodyum sakkarin, 125mg sodyum siklamat içermektedir.

İst. paramtr.		Türev spektrofotometrik yöntemi		USP Yöntemi	
		mg/tablet	%	mg/tablet	%
n	1	12.4	99.2	12.28	98.24
	2	12.65	101.2	12.46	99.68
	3	12.57	100.56	12.60	100.8
$\bar{X}$		12.54	100.32	12.44	99.57
S		0.12	1.02	0.16	1.28
%S		1.01	1.01	1.28	1.28
$X \pm ts/\sqrt{n}$		12.22-12.85	97.79-102.85	12-12.92	96.4-102.74
t testi		0.86			
F testi		1.33			
t : 2.776 F : 19.00					

Tablo 10: Sodyum sakkarin-sodyum siklamat* tabletlerinde

sodyum sakkarin analizi ($D_{229.7}^{10}$)

* Bir tablet 12.5 mg sodyum sakkarin, 125 mg sodyum siklamat içermektedir.

İst. paramtr.		Türev spektrofotometrik yöntemi		USP Yöntemi	
		mg/tablet	%	mg/tablet	%
n	1	12.26	98.08	12.28	98.24
	2	12.55	100.4	12.46	99.68
	3	12.53	100.24	12.60	100.8
$\bar{X}$		12.44	99.57	12.44	99.57
S		0.16	1.29	0.16	1.28
%S		1.30	1.29	1.28	1.28
$X \pm ts/\sqrt{n}$		12.04-12.8	96.37-104.77	12-12.92	96.4-102.74
t testi		0			
F testi		1			
t: 2.776 F :19.00					

Tablo 11: Sodyum sakkarin-sodyum siklamat* tabletlerinde sodyum sakkarin analizi ($D_{237.7}$)

* Bir tablet 12.5 mg sodyum sakkarin, 125mg sodyum siklamat içermektedir.

İst. paramtr.		Türev spektrofotometrik yöntemi		USP Yöntemi	
		mg/tablet	%	mg/tablet	%
n	1	12.73	101.84	12.28	98.24
	2	11.91	95.28	12.46	99.68
	3	11.76	94.08	12.60	100.8
$\bar{X}$		12.13	97.06	12.44	99.57
S		0.52	4.177	0.16	1.28
%S		4.303	4.303	1.28	1.28
$\bar{X} \pm t_{\alpha/2n}$		10.84-13.39	86.69-107.43	12-12.92	96.4-102.74
t testi		0.985			
F testi		10.562			
t : 2.776 F :19.00					

Tablo 12: Sodyum sakkarin-sodyum siklamat* tabletlerinde sodyum sakkarin analizi ($^{20}_{227.7}$)

* Bir tablet 12.5 mg sodyum sakkarin, 125mg sodyum siklamat içermektedir.

İst. paramtr.		Türev spektrofotometrik yöntemi		USP Yöntemi	
		mg/tablet	%	mg/tablet	%
n	1	12.52	100.16	12.28	98.24
	2	12.85	102.8	12.46	99.68
	3	12.76	102.08	12.60	100.8
$\bar{X}$		12.71	101.68	12.44	99.57
S		0.17	1.36	0.16	1.28
%S		1.33	1.34	1.28	1.28
$\bar{X} \pm t_{\alpha/2n}$		12.29-13.13	98.3-105.06	12-12.92	96.4-102.74
t testi		2.226			
F testi		1.128			
t: 2.776 F:19.00					

Tablo 13: Sodyum sakkarin-sodyum siklamat* tabletlerinde sodyum sakkarin analizi ($^{20}_{231.7}$)

* Bir tablet 12.5 mg sodyum sakkarin, 125 mg sodyum siklamat içermektedir.

İst. paramtr.		Türev · spektrofotometrik yöntemi		USP Yöntemi	
		mg/tablet	%	mg/tablet	%
n	1	12.02	96.16	12.28	98.24
	2	12.37	98.96	12.46	99.68
	3	12.23	97.84	12.60	100.8
$\bar{X}$		12.20	97.65	12.44	99.57
S		0.17	1.409	0.16	1.28
%S		1.44	1.44	1.28	1.28
$\bar{X} \pm t_s / \sqrt{n}$		11.77-12.63	94.15-101.5	12-12.92	96.4-102.74
t testi		1.778			
F testi		1.128			
t: 2.776 F:19.00					

Tablo 14: Sodyum sakkarin-sodyum siklamat* tabletlerinde sodyum sakkarin analizi ($^{2D}_{235.7}$)

* Bir tablet 12.5 mg sodyum sakkarin, 125 mg sodyum siklamat içermektedir.

İst. paramtr.		Türev spektrofotometrik yöntemi		USP Yöntemi	
		mg/tablet	%	mg/tablet	%
n	1	12.2	97.6	12.28	98.24
	2	12.46	99.68	12.46	99.68
	3	12.32	98.56	12.60	100.8
$\bar{X}$		12.32	98.61	12.44	99.57
S		0.13	1.472	0.16	1.28
%S		1.05	1.49	1.28	1.28
$\bar{X} \pm t_{\alpha} / \sqrt{n}$		12-12.64	94.96-102.26	12-12.92	96.4-102.74
t testi		1.008			
F testi		1.514			
t : 2.776 F : 19.00					

Tablo 15: Sodyum sakkarin-sodyum siklamat* tabletlerinde sodyum sakkarin analizi ($^{2D}_{240.7}$)

* Bir tablet 12.5 mg sodyum sakkarin, 125 mg sodyum siklamat içermektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada sodyum sakkarin ve sodyum siklamatin birarada bulunduğu tabletlerin kantitatif analizinin, ön ayırma yapmadan çabuk ve hassas bir yöntem olarak bilinen türev spektrofotometrik yöntemin uygulanabilmesi için optimum koşulların saptanması amaçlanmıştır.

Sodyum sakkarin ve sodyum siklamat genellikle diyet yiyecek ve içeceklerde oldukça kullanılan yapay tatlandırıcılardır. Tatlandırıcı olarak kullanılan karışımlarda 1 kısım sodyum sakkarin 10 kısım sodyum siklamat bulunmaktadır.

Sodyum sakkarin ile sodyum sakkarinin UV absorpsiyon spektrumları alındığında 203.5 nm ve 267.2 nm'de sodyum sakkarine ait biri büyük diğeri küçük iki piki olduğu, sodyum siklamatin ise 200 nm'de küçük bir pik verdiği görülmüştür. Diğer bir deyimle sodyum sakkarin ve sodyum siklamatin absorpsiyon spektrumları çakıştığında bu iki maddenin kantitatif analizini absorpsiyon spektrofotometrik yöntemi ile yapamayız. Bu sebeple sodyum siklamat ve sodyum sakkarinin bidestile sudaki 1., 2., 3., 4. derece türev spektrumları alındı. Sodyum sakkarinin kantitatif analizi için 1.derece türev spektrumunda 221.8 nm, 229.7 nm, 237.7 nm'de 2. derece türev spektrumunda 227.7 nm, 231.7 nm, 235.7 nm, 240.7 nm'lerdeki türev pik yüksekliğinden yararlanıldı. Bu dalga boylarında ölçü eğrilerinin lineer olduğu Lambert-Beer kanununa uyduğu ve sodyum siklamatin etkisinin olmadığı saptanmıştır. Tabletler türev spektrofotometrik yöntem ve kıyas yöntemi (3) uygulandı. Elde edilen sonuçlar %95 güven düzeyinde t ve F testleri yardımıyla doğruluk ve presizyonları yönünden karşılaştırıldı. 1.türev spektrumundaki 221.8 nm dalgaboyu için elde edilen t değeri dışında, diğer türev dereceleri ve dalga boyları

için tatlandırıcı tabletlerindeki sodyum sakkarin miktar analizi için geliştirilen yöntem ve kıyas yöntemi arasında gerek doğruluk gerek presizya yönünden anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

Sodyum siklamatin analizi için uygun bulunan dalgaboylarında ($2D_{193.1}$, $4D_{196.3}$, $4D_{198.4}$) yapılan deneysel çalışmalarda, sodyum siklamata ait türev pikleri sodyum sakkarin tarafından kapatıldığı yani sodyum siklamatin analizinde sodyum sakkarinin etkisinin çok fazla olduğu görülmüştür. Bu sebepten dolayı tatlandırıcı tabletlerdeki sodyum siklamatin miktar analizi için National Formulary XIII'de (5) önerilen titrimetrik yöntem uygulanmıştır. Bu yöntem ile yapılan deneysel çalışmaların istatistiksel hesaplamaları yapılmıştır.

Sonuç olarak tatlandırıcı tabletlerindeki sodyum sakkarin miktar analizi için kolay, çabuk ve hassas bir yöntem olarak bilinen türev spektrofotometrik yöntemi önerebiliriz. Tabletlerdeki sodyum siklamatin kantitatif analizi için, National Formulary XIII'de ki (5) titrimetrik yöntemi kullanılabilir.

KALORISIZ TATLANDIRICILARDA BAĞIL TATLILIK

Doğal ya da yapay tatlandırıcıların tatlılık şiddeti fiziksel ya da kimyasal özellikler yardımıyla kantitatif olarak ölçemeyiz ancak trained taste panels metodu ile duyusal olarak bulabiliriz. Sakkaroz genel standarttır ve diğer tatlandırıcıların tatlandırma gücü bağıl olarak bulunur. Örneğin eşit konsantrasyonlar baz alındığında dekstroza sakkaroz tatlılığının yaklaşık %90'ı olduğundan dekstrozun tatlılık değeri 90'dır denir.

Yapay tatlandırıcılar yüksek tatlılık değerlerinden dolayı bu tanıma uymazlar. Genellikle kabul edilen kural siklamatin sakkarozdan 30 kez, sakkarinin 300 kez daha fazla tatlı olduğudur. Bu oranlar en iyi yaklaşımdır ve %10'luk sakkaroz çözeltisinin yaklaşık tatlılığına eşit konsantrasyon olarak alınır. Su dışındaki ortamlarda "tatlılık ekivalen" oranları değişebilir (55).

Kaynaklar

- 1- Martindale The Extra Pharmacopoeia, Twenty-eight Edition, 430, 1982
- 2- T.H Jukes, J.Am.Med.Ass , 236, 1987, 1976
- 3- USP XXII, 1233, 1990
- 4- Türk Farmakopisi, 593, 1974
- 5- National Formulary XIII, 642, 1975
- 6- British Pharmacopoeia, 495, 1989
- 7- Nakamura, Masaaki, Watebe, Kumiko, Krigaya, Taidash, Kawamura, Tera, Shokuhin, Eiseigaku, Zasshi, 16(4), 264, 1975
- 8- Richard d. Stalzberg, Journul of Chem. Ed., 63, 351, 1986
- 9- George L Fix, Joel D. Pallack, And. Chem., 52, 1589, 1980
- 10- Beltagy, Y.A, Rida, S.M, Issa, A., Pharmazie, 29, 64, 1974
- 11- Wahbi, A.M, Abdine H., Karany, M A., Abdel-Hay, M.H, Analyst 103, 876, 1978
- 12- Beltagy, Y.A, Zbl. Pharm., 116, 925, 1977
- 13- Wyradex, A, Krause, W.Schaefer, R., Dietsch, H.P, Nahrung 33(1), 83, 1989
- 14- Kiss-Eross, Klara , Kaplar Laszla, Periodica Polytech. Chem. Eng. 17(4), 359, 1973
- 15- Hazemota, Noria, Kamo, Naoki, Kabatake, Yanosuke, J.Ass. off. Analyt. Chem, 57(5), 1205, 1974
- 16- A.Al-Badr, M.S Rashed, S.E.Ibrahim, Pharmazie, 37, 302, 1982
- 17- Garcia Marquez, M.A, Guillen Sans, R., Guzman Chozos, M., Afinidad, 43(401), 63, 1986
- 18- Dou, J., Liu, Y., Cao, G., Shipin Yu Fajiao Gongye, 9, 18, 1983

- 19- Eng.Meng.Yang, Caloyen, Carolina, Talmage, Joseph M,
j.Food Sci. 42(4), 1060, 1977
- 20- Valenti, L.P, J. Assoc.Off. Anal. Chem., 68(4), 782,
1985
- 21- Zhao, H, Yuan, G, Dong, S, Fenxi Huaxue, 14(9), 706,1986
- 22- Matsunago. A, Ohta, M, Yamamota, A, Saito, Y.,Makino M.,
Shokuhin Eiseigaku Zassh 27(4), 408, 1986
- 23- Sjiberg, A.-M.K, Alanka, T.A, J. Assoc. off.Anal. Chem,
70(1), 58, 1987
- 24- Merck Index, 2708, 1990
- 25- USP XVI, 115, 1960
- 26- G.S Meadows, J.Ass. publ. Analysts, 6(3), 97, 1968
- 27- D.E Johnson, H.B Nunn, J.Ass. Off. Analyt. Chem. 51(6),
1274, 1968
- 28- A.J. Harrison, A.Coak, J. Ass. Publ. Analysts, 7(2), 42, 1969
- 29- Matsunaga, Kozhuyashi, Ogino, Yasua, Hamamura, Narikatsu,
Japan Analyst, 19(10), 1435, 1970
- 30- Shibata, T., Isaka, H., Yashimura, K., Bunseki Kagaku, 20,
850, 1971
- 31- Y. Yamamoto, T.Kumararu, Y. Hayashi, T. Kabayashi, R. Tanaka
Chem. Pharm. Bull., 15, 1437, 1967
- 32- Saturley, B.A., J. Ass. Off. Analyt. Chem.,55(4), 892, 1972
- 33- A. Jean, Johnson, R. M., Analyst, 98, 745, 1973
- 34- Sjaberg, A.-M.K., Alanko, T.A., J. Assoc. Off. Anal. Chem,
70(3), 588, 1987
- 35- Greve H., Bonifer, P., Fluess. Gbst. 54(7), 382, 1987
- 36- Feng, D., Chen, C., Fexi Huaxue, 16(8), 738, 1988

- 37- N. Kamijo, T. Kawamura, T. Inaue, Shokuhin Eiseigaku Zasshi
7, 343, 1966
- 38- D.K Das, T.V Mathew, S.N. Mitra, J. Charamat., 52(2), 354,
1970
- 39- Richardson M.L, Luton P.E., 91,520, 1966
- 40- Dalziel, J.A. W, Johnson, R.M, Shenton, A.J, Analyst, 97,
719, 1972
- 41- Groebel, W., Wessels, A., Dt. Lebensmitt Rdsch. 68(2), 393,
1972
- 42- Unger, Peter D., Mc Mahan, FrankJ., J. Chromatogr. 210(2),
360, 1981
- 43- Herrman, A., Damawond, E., Wagman, M., J. Chromatogr., 280(1),
85, 1988
- 44- Schwedt, G., Hauck, M., Z. Lebensm.- Unters.- Farsch, 187(2),
127, 1988
- 45- A.K Amir, ahed, Martin I. Blake, Can J. Pharm. Sci, 16,1, 1970
- 46- M.M Amer, I. A, Haroun, M.I, Walash, F.M. Ashaur, Pharmazie,
33,435, 1978
- 47- Krueger, G., Lebensmitteelin dustire, 27(6), 264, 1980
- 48- K.G. Güven, T. Özel, Analyst, 109, 969, 1984
- 49- K.G. Güven, F. Özaydın, İ.U Eczacılık Bülteni, 22, 58, 1982
- 50- K. Nagasawa, H.Yashidama, K. Anryu, J. Crmamatog, 52, 173,
1970
- 51- Lawrence, J. F., Charbnneau, C. F, J. Assoc. Off. Anal. Chem.
71(5), 934, 1988
- 52- Zache, U., Gruending, H., Z. Lebensm. Unters.- Farsch,
184(6), 503, 1907

- 53- Sungur S., Modern Enstrümantel Analiz Yöntemleri Semineri
1993
- 54- T. C O'Haver, G.L Green, Analytical Chemistry, 48, 312, 1976
- 55- Thomas E. Furia, Handbook of Food Additives, 1968
- 56- Z.Nasierowska, Farmacja Pol., 1975, 31(12), 975

T.C. YÜSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÖZGEÇMİŞ

1968 yılında Elbistan / Kahramanmaraş'da doğdum. 1986'da İstanbul Örnek Lisesinden mezun oldum.

1986 yılında girmiş olduğum Yıldız Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 1989-1990 öğretim yılında Kimyager olarak mezun oldum. Aynı yıl Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladım. 1992 yılından beri aynı Üniversitenin Analitik Kimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.