

p-Dimetilaminosinnamaldehydle Yapılan Spektrofotometrik Miktar Tayinleri I: Sülfanilamid ve bazı Sübstitüe Sülfanilamidler

Spectrophotometric Determinations Made by the Use of p-Dimethyl-aminocinnamaldehyde I: Sulfanilamide and some of its Derivatives

Rasim TULUS ve Yıldız AYDOĞAN *

G İ R İ Ş

Sülfanilamidlerin kolorimetrik ve spektrofotometrik miktar tayininde kullanılan usulleri 4 grupta toplamak mümkündür:

a) Diazolandırma ve kenetleme reaksiyonuna dayanan usuller, misal: kenetleme komponenti olarak N-(1-naftil)-etilendiamin hidrojen klorürün kullanıldığı Bratton ve Marshall⁽¹⁾ usulü.

b) β -Naftokinon-4-sülfonik asitle^(2, 3).

c) Oksidasyon esasına dayanan usuller: Sülfanilamidin elementel bromun sodyum hidroksiddeki çözeltisiyle oksidasyonu⁽⁴⁾ ve sülfanilamidlerin kuvvetli kalevi çözeltide potasyum heksasiyanoferrat III ile tayini⁽⁵⁾ usulleri.

d) Aldehidlerle kondenzasyon esasına dayanan usuller: Furfural ve asetik asitle⁽⁶⁾, p-dimetilaminobenzaldehydle⁽⁷⁾.

S. Sakai ve arkadaşları⁽⁸⁾, p-dimetilaminobenzaldehyd (p-DAB) gibi p-dimetilaminosinnamaldehyd (p-DAC) in de aromatik aminlerle renk verdigini tesbit etmişlerdir. Bu çalışmadaki (renk teşekkül ettirme usulü) başlıklı cetvelin kantitatif test kısmında aminlerin tayini için bir tarifname, şekil 5 de ise sülfanilamidin p-DAC ile kolorimetrik tayinine ait bir ölçü eğrisi verilmektedir. Sakai ve arkadaşları renk teşekkülünü derişik hidroklorik asidin veya triklorasetik asidin metanoldeki çözeltisiyle sağlamakta, teşekkül eden renk çok koyu olduğu için sonradan metanolla 100 ml ye tamamlamakta-

* Analitik Kimya Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, İstanbul, Üniversite.

dırlar. Seri halindeki çalışmalarda fazla metanol sarfını önlemek maksadıyla usulde bazı değiştirmeler yapılması ve sübtitüe sülfanilamidlerin fotometrik tayininde de p-DAC den faydalanılması düşünüldü.

Yıldız Aydoğan'ın doktora tezinin bir kısmından faydalanılarak hazırlanan bu yayında yukarıda bildirilen hususlar hakkında bilgi verilecektir.

İNCELEMELER ve SONUÇLARI

a) Usulün geliştirilmesi:

Sülfanilamidlerin Mawson⁽⁷⁾ usulüne göre p-DAB ile kolorimetrik tayininde renk sülfürik asit yardımıyla teşekkül ettirilmektedir. Sülfanilamidin p-DAC ile olan reaksiyonunda da aynı asidin kullanılıp kullanılmayacağı tetkik edildi ve sülfürik asitle renk reaksiyonunda tekrarlanabilen (reproducible) neticeler elde edilemedi.

Diğer taraftan Sakai⁽⁸⁾ usulündeki derişik hidroklorik asidin metanoldeki çözeltisi yerine derişik hidroklorik asit-su (1:9 hac./hac.) karışımı ile de renk husule geldiği tesbit edildi.

Sülfanilamid miktarının da tecrübe şartlarına tesir ettiği anlaşıldığından ön tetkikler, biri az miktarlar (5 - 50 μ g sülfanilamid), diğeri ise fazla miktarlar (50 - 500 μ g) ile ayrı ayrı olarak yapıldı.

a₁) Az miktarlar:

Asit miktarı: 50 μ g madde ile yapılan tecrübeye renk şiddetinin asit miktarı arttıkça azaldığı görülmüştür (cetvel 1). Aynı şekilde yalnızca miyar (p-DAC) ihtiva eden çözeltinin kırmızı rengi de asit miktarı arttıkça azalmaktadır. Bu iki durumu kombine ederek miktar tayıininde 0.3 ml derişik hidroklorik asit: su (1:9 hac./hac.) alınması uygun görüldü.

Cetvel 1. Asit miktarı

Asid (ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
A	∞	2.500	1.680	1.520	1.280

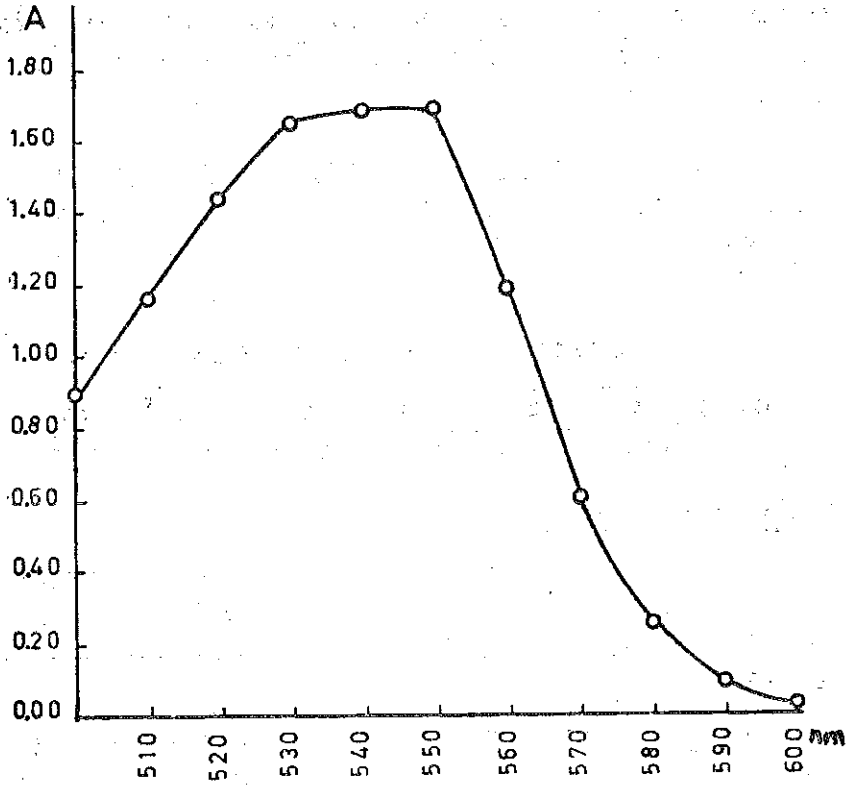
(50 μ g sülfanilamid)

Miyar miktarı: 50 μg sülfanilamid ile yapılan bir sıra tecrübe-
de miyar miktarı artırıldığında absorbsansın da arttığı görülmekte-
dir (cetvel 2). 50 μg dan çok daha az miktarlardaki çözeltilerde nis-
beten büyükçe bir absorbsans kıymeti elde edebilmek maksadıyla mi-
yar çözeltilisinden 2 ml alınmasına karar verildi.

Cetvel 2. Miyar miktarı

Miyar (ml)	1	1.5	2
A	0.890	1.390	1.680

En uygun dalga boyu: Sülfanilamidin (50 μg) yukarda bildiri-
len tecrübe şartlarında p-DAC ile husule getirdiği renkli çözeltilinin
absorbsansı muhtelif dalga boylarında ölçülerek en uygun dalga bo-
yunun 540 - 550 nm olduğu görülmüştür (cetvel 3, şekil 1).



Şekil 1. Absorpsiyon eğrisi

Cetvel 3. Dalga boyu

(nm)	500	510	520	530	540	550	560	570	580
A	0.880	1.160	1.440	1.650	1.680	1.680	1.180	0.604	0.245

(nm)	590	600
A	0.090	0.027

Rengin dayanıklılığı: Cetvel 4 de görüldüğü üzere absorbans ilk 30 dakika sabit kalmakta ve bundan sonra çok az bir düşme ile başlangıçtan itibaren 60 dakika sonra ilk kıymetin ancak % 6 sı kadar bir azalma göstermektedir.

Cetvel 4. Rengin dayanıklılığı

Zaman (dakika)	0	5	10	15	20	30	35	45	60
A	0.340	0.340	0.340	0.340	0.340	0.340	0.330	0.325	0.320

(10 µg sülfanilamid)

Konsantrasyonla absorbans arasındaki münasebet: Cetvel 5 yardımıyla çizilen şekil 2 deki (s. 109) grafikten anlaşılacağı üzere sistem 5 - 50 µg arasındaki konsantrasyonlar için Beer kanununa uymaktadır.

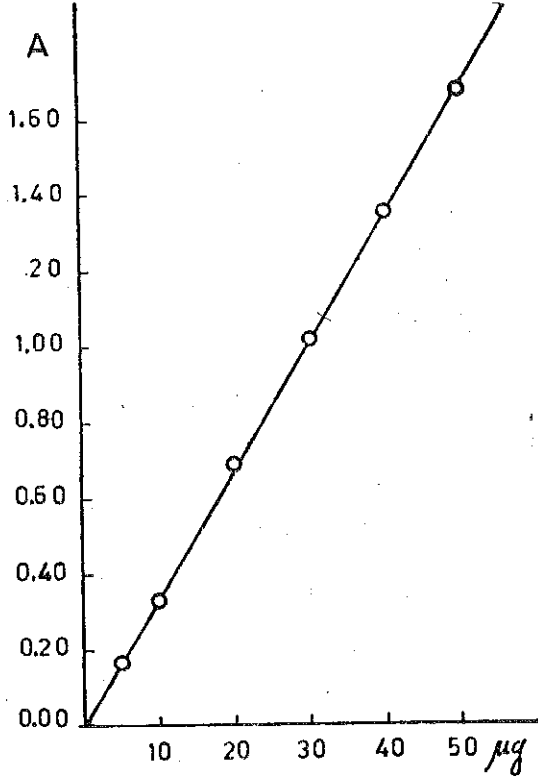
Cetvel 5. Konsantrasyon - Absorbans

C (µg)	5	10	20	30	40	50
A	0.165	0.328	0.690	1.020	1.360	1.680

a₂) Fazla miktarlar için:

Az miktarlar ile yapılan tetkiklerde tesbit edilen tecrübe şartlarından bazılarının fazla miktar sülfanilamidin (50 - 500 µg) tayinine uygun olmadığı görüldüğünden bu şartların yeniden tetkiki icap etmiştir.

Asit miktarı: 500 µg sülfanilamidle yapılan bir sıra tecrübeye en uygun asit miktarınının 0.8 ml olması lâzım geldiği anlaşıldı (cetvel 6).



Şekil 2. Ölçü eğrisi

Cetvel 6. Asit miktarı

Asid (ml)	0.6	0.7	0.8	0.9
A	1.190	1.020	0.740	0.650

Miyar miktarı: Cetvel 7 de görüldüğü üzere en uygun miyar miktarı 1 ml dir, zira daha fazlasında absorbands uygun ölçme alanının (0.155 - 0.770) dışına çıkmakta, daha azında ise küçük olmaktadır.

Cetvel 7. Miyar miktarı

Miyar (ml)	0.5	1	1.5
A	0.453	0.750	∞

(500 µg sülfanilamid)

En uygun dalga boyu : Az miktarlarla yapılan çalışmalarda absorpsiyonun azami olduğu dalga boyu tesbit edilmiş olduğundan ve burada da aynı renkli madde teşekkül ettiğinden absorpsiyon azamisinin tekrar tetkikine lüzum görülmedi.

Rengin dayanıklılığı : a_1 kısmındakinden farklı olan bu tecrübe şartlarında morumsu kırmızı rengin zamanla değişip değişmediği hususu da tetkik edildi. Cetvel 8 de görüldüğü üzere absorpsiyon ilk 30 dakika zarfında sabit kalmakta, 60 dakika sonundaki değişime ise % 4.3 kadar olmaktadır.

Cetvel 8. Rengin dayanıklılığı

Zaman (dakika)	0	5	10	15	20	30	35	45	60
A	0.460	0.460	0.460	0.460	0.460	0.460	0.450	0.445	0.440

(300 μg sülfanilamid)

Konsantrasyonla absorpsiyon arasındaki münasebet : Cetvel 9 yardımıyla çizilen şekil 3 deki hat (s. 111), görüldüğü üzere koordinat sisteminin sıfır noktasından geçmediğinden sistem Beer kanununa uymamaktadır. Fakat ölçme neticelerinin ekserisi bir doğru üzerinde olduğundan absorpsiyon 50 - 500 μg arasında konsantrasyonla oranlı olarak değişmektedir.

Cetvel 9. Konsantrasyon - Absorpsiyon

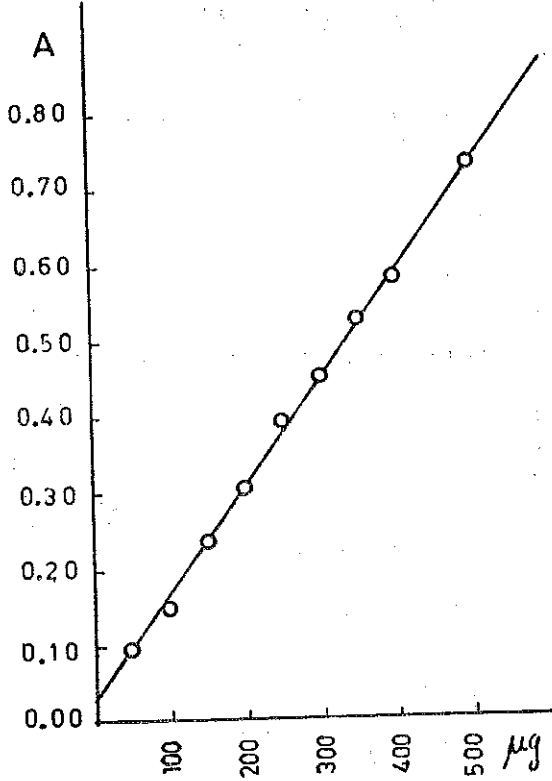
C (μg)	50	100	150	200	250	300	350	400	500
A	0.093	0.146	0.234	0.307	0.392	0.450	0.528	0.580	0.730

b) *Nihai usul :*

a_1 ve a_2 kısımlarında bildirilen neticelerden faydalanılarak biri 5 - 50 μg , diğeri 50 - 500 μg sülfanilamid için 2 ayrı teknik geliştirildi.

Teknik I : 1 ml sinde 5 - 50 μg sülfanilamid ihtiva eden derişik hidroklorik asit : su (1:999, hac./hac.) lık karışıma, 1 ml su, 2 ml miyar I (p-DAC nin metanoldeki % 0.1 lik) çözeltisi, 0.3 ml derişik

hidroklorik asit : su (1:9, hac./hac.) karışımı ilâve edilip karıştırılır. Çözeltinin absorbansı 1 cm lik küvette 550 nm de mukayese çözeltilisine karşı 30 dakika içinde ölçülür ve şekil 2 deki grafik yardımıyla bu absorbansa tekabül eden konsantrasyon bulunur.



Şekil 3. Ölçü eğrisi

Teknik II: 1 ml sinde 50 - 500 µg sülfanilamid ihtiva eden derişik hidroklorik asit : su (1:999, hac./hac.) karışıma 2 ml su, 1 ml miyar I (p-DAC nin metanoldeki % 0.1 lik) çözeltilisi ve 0.8 ml derişik hidroklorik asit : su (1:9, hac./hac.) ilâve edilip karıştırılır. Çözeltinin absorbansı 1 cm lik küvette ve yarım saat zarfında 550 nm de, aynı şekilde hazırlanan mukayese çözeltilisine karşı ölçülür. Şekil 3 deki grafik yardımıyla bu absorbansa tekabül eden konsantrasyon bulunur.

c) *Presizyon :*

Geliştirilen her iki tekniğin presizyonu standard sapma (s) cinsinden hesaplandı.

$$s = \sqrt{\frac{(x-m)^2}{n-1}}$$

x = ölçme kıymetleri, m = ölçme kıymetlerinin aritmetik ortalaması, n = tayinlerin adedi.

c₁) **Teknik I:** Bu tekniğin presizyonunu tayin için iki ayrı günde 10 µg sülfanilamidle 10 ar tayin yapılmıştır. Ölçme neticeleri cetvel 10 da görülmektedir.

Cetvel 10. Tekrarlanan ölçme neticeleri

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A ₁	0.337	0.335	0.345	0.322	0.348	0.330	0.322	0.343	0.328	0.342
A ₂	0.335	0.366	0.347	0.347	0.358	0.347	0.347	0.360	0.346	0.346

(A₁ I. serideki, A₂ II. serideki kıymetler)

Bu cetveldeki kıymetlerin aritmetik ortalaması m = 0.3435 dir. Tayin adedi n = 20 olduğundan standard sapma (s)

$$s = \sqrt{\frac{(x-m)^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0.002661}{19}} = 0.0123 \text{ dir. O halde}$$

absorbans kıymetleri m ± s şeklinde, yani 0.3435 ± 0.0118 bir sıra teşkil etmektedir. Relatif standard sapma

$$\frac{s \times 100}{m} = \frac{0.0118 \times 100}{0.3435} = 3.43 \text{ dir.}$$

c₂) **Teknik II:** Bu tekniğin presizyonunu tayin için iki ayrı günde 250 µg sülfanilamidle 10 ar tayin yapılmıştır. Ölçme neticeleri cetvel 11 de görülmektedir.

Cetvel 11. Tekrarlanan ölçme neticeleri

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A ₁	0.396	0.380	0.378	0.370	0.375	0.378	0.378	0.348	0.378	0.368
A ₂	0.396	0.400	0.396	0.393	0.400	0.396	0.392	0.406	0.392	0.388

(A₁ I. serideki, A₂ II. serideki kıymetler)

Cetvel 11 deki absorbanların aritmetik ortalaması $m = 0.3854$ dir. Tayin adedi $n = 20$ olduğundan standard sapma (s)

$$s = \sqrt{\frac{(x-m)^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0.00380440}{19}} = 0.0142 \text{ dir.}$$

O halde absorbanlar $m \mp s$, yani 0.3854 ∓ 0.0142 şeklinde bir sıra teşkil etmektedir.

$$\text{Relatif standard sapma} = \frac{s \times 100}{m} = \frac{0.0142 \times 100}{0.3854} = 3.68 \text{ dir.}$$

d) *Mukayeseler :*

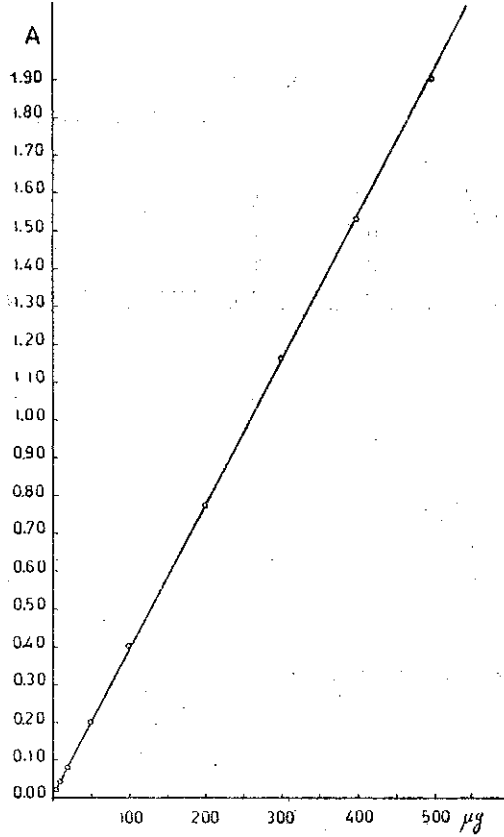
Geliştirilen teknikler Sakai⁽⁸⁾ ve Mawson⁽⁷⁾ usulleriyle mukayese edildi.

d₁) **Sakai⁽⁸⁾ usulüyle mukayese :** Sakai⁽⁸⁾ nin çalışmasının tetkikinden anlaşıldığına göre sistem $1.5 \mu\text{g}$ a kadar Beer kanununa uymaktadır. $1.5 \mu\text{g}$ için okunan absorban $A = 1.0$ dir, halbuki tarafımdan geliştirilen teknikte $5 \mu\text{g}$ için okunan absorban ancak $A = 0.165$ olmaktadır. Bu sebeple Sakai'nin usulü daha hassastır. Yalnız Sakai usulünün mahzuru, her tayin için fazlaca miktarda (100 ml) metanole ihtiyaç göstermesidir.

d₂) **Mawson⁽⁷⁾ usulüyle mukayese :** Spektrofotometrenin kuvvetlerini doldurabilmek için daha fazla hacimde sıvıya ihtiyaç olduğundan nihai hacim 5 ml ve miyar esas usuldekinin 2 misli hacimde, yani 1 ml olarak alındı. p-DAB çözeltisiyle bu şartlarda yapılan tayinlerde elde edilen absorbanlar cetvel 12 de gösterilmiştir, ölçü eğrisi ise şekil 4 dedir.

Cetvel 12. Konsantrasyon - Absorbans

C (μg)	5	10	20	50	100	200	300	400	500
A	0.023	0.040	0.080	0.200	0.398	0.772	1.160	1.530	1.900



Şekil 4. Ölçü eğrisi

Cetvel 12 nin cetvel 5 ve 9 la mukayesesinden aşağıdaki neticeler çıkmaktadır :

1) Tarafımdan geliştirilen iki teknikten az miktarlar (5-50 μg) için olanı Mawson(?) in usulünden daha hassastır, zira belli bir konsantrasyona tekabül eden absorbans daha büyüktür, meselâ 5 μg madde için $A = 0.165$ ve $A = 0.023$ dır.

2) Mawson⁽⁷⁾ usulünde 300 µg dan yukarı miktarlara tekabül eden absorbanlar en uygun ölçme alanının dışına çıkmaktadır. Halbuki tarafımdan geliştirilen teknik II de böyle bir mahzur yoktur ve 500 µg maddede bile bu alanın içinde kalıyor (A = 0.730).

e) *Süstitüe sülfanilamidlere tatbiki :*

Sülfanilamid için geliştirilen iki tekniğin süstitüe sülfanilamidlere (sülfaguanidin, sülfadiazin, sülfamerazin, sülfametazin, sülfadimetoksin ve sülfatiazol) tatbikinde bazı ufak değistirmeler yapmak lâzım gelmiştir. Bu değisiklikler gerek madde çözültisi hazırlamada ve gerekse renk reaksiyonu için lüzumlu olan derişik hidroklorik asit : su karışımındaki oran veya miktarda ve dolayısıyla nihai hacimdedir (fazla bilgi için denel kısmında s. 122 ve 123 e bakınız). Absorpsiyon azamisi yine 540 - 500 nm de olduğundan bu bakımdan bir değisiklik yapmak icap etmemektedir.

13 ve 14 no.lu cetvellerde muhtelif konsantrasyonlara tekabül eden absorbanlar (550 nm) ve ayrıca sülfanilamidin durumu da gösterilmiştir. Bu cetveller yardımıyla çizilen grafikler şekil 5 - 9 dadır (sayfa 117 ve 118).

Muhtelif sülfanilamidlerde absorbanların konsantrasyonlarla oranlı olduğu sahalara tayin edilmiş ve neticeler cetvel 15 de gösterilmiştir (sayfa 116).

Cetvel 13. Süstitüe sülfanilamidler

C (µg)	Sülfa- nilamid (A)	-guanidin (A)	-diazin (A)	-merazin (A)	-metazin (A)	-dime- toksin (A)	-tiazol (A)
50	0.083	0.087	0.095	0.085	0.058	0.087	0.098
100	0.149	0.188	0.185	0.148	0.098	0.162	0.170
150	0.235	0.262	0.250	0.222	0.152	0.240	0.277
200	0.303	0.348	0.345	0.305	0.202	0.335	0.343
250	0.388	0.430	0.435	0.382	0.243	0.400	0.425
300	0.446	0.510	0.520	0.435	0.288	0.475	0.510
350	0.513	0.590	0.582	0.515	0.345	0.560	0.608
400	0.580	0.690	0.685	0.596	0.375	0.638	0.678
450	0.655	0.770	0.770	0.648	0.425	0.742	0.765
500	0.730	0.825	0.825	0.710	0.473	0.770	0.840

Cetvel 14. Sübstitüe sülfanilamidler

C (μg)	Sülfa- nilamid (A)	-guanidin (A)	-diazin (A)	-merazin (A)	-metazin (A)	-dime- toksin (A)	-tiazol (A)
5	0.165	0.080	0.075	0.108	0.073	0.053	0.082
10	0.328	0.135	0.148	0.250	0.174	0.118	0.148
20	0.690	0.268	0.300	0.550	0.355	0.238	0.290
30	1.020	0.410	0.436	0.785	0.550	0.368	0.435
40	1.360	0.530	0.582	1.070	0.735	0.475	0.570
50	1.680	0.650	0.700	1.400	0.900	0.600	0.680

Cetvel 15. Uygun konsantrasyon alanları

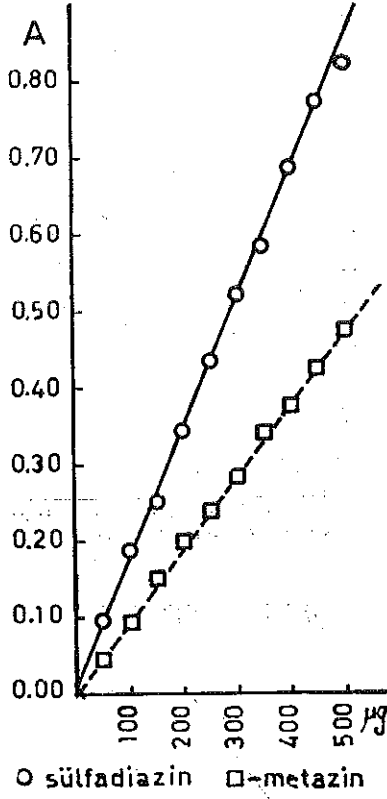
Adı	Uygun alan (μg)	
Sülfaguanidin	10 - 50	50 - 450
Sülfadiazin	5 - 40	50 - 450
Sülfamerazin	5 - 40	50 - 400
Sülfametazin	10 - 50	50 - 500
Sülfadimetoksin	5 - 50	50 - 400
Sülfatiazol	5 - 40	50 - 500

DENEY KISIM

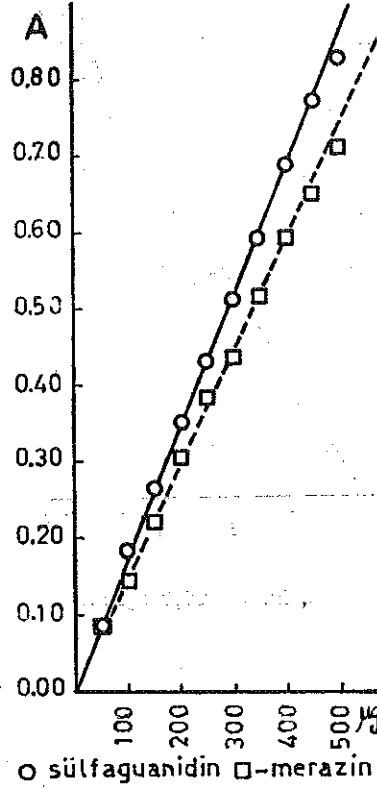
A) **Âlet** : Absorbans kıymetleri Beckman B marka spektrofotometreyle ölçülmüştür. Bütün ölçmeler sensitivity 2 de 1 cm lik küvetlerle yapılmıştır. Sülfanilamidler için mavi fototüp kullanılmıştır.

B) **p-Dimetilaminosinnamaldehyd (p-DAC) in elde edilişi**: Bu madde König, Schamek ve Rösch⁽⁹⁾ usulüne göre p-dimetilaminobenzaldehyde paraldehiden sentetize edilmiş ve ligroin (k.d. 120° - 130°C) den billurlandırılarak saflaştırılmıştır. e.d. 140° - 141°C dir.

C) Sülfanilamid ve sübstitüe sülfanilamidler için geliştirilen spektrofotometrik usullerle ilgili tecrübe şartları :



Şekil 5. Ölçü eğrileri



Şekil 6. Ölçü eğrileri

a) *Miyarlar :*

p-DAC çözeltisi : 100 mg p-dimetilaminosinnamaldehyd 100 ml lik balon jode metanolla 100 ml ye tamamlandı.

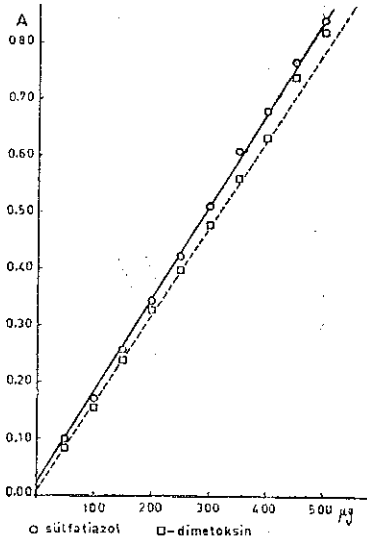
p-DAB çözeltisi : 7 g p-dimetilaminobenzaldehyd (derişik H_2SO_4 -su, 7:93 hac./hac.) karışımında çözülp 100 ml ye tamamlandı.

HCl çözeltisi I : Derişik HCl - su (1:9, hac./hac.) karışımı.

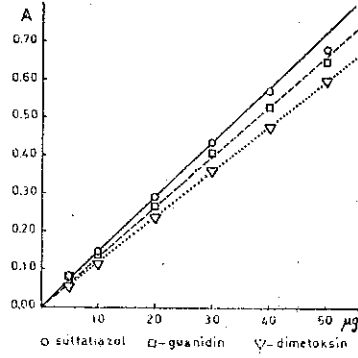
HCl çözeltisi II : Derişik HCl - su (1:999, hac./hac.) karışımı.

HCl çözeltisi III : Derişik HCl - su (2:98, hac./hac.) karışımı.

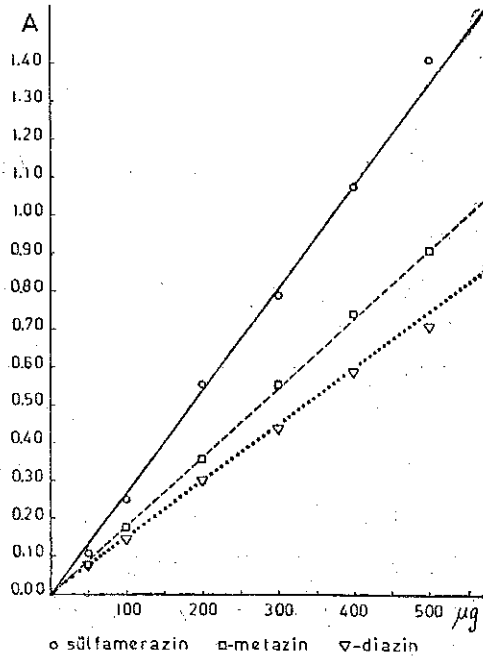
Sülfanilamid çözeltisi I (1000 µg/ml) : 100 mg sülfanilamid 100 ml lik bir balon jode HCl çözeltisi II de çözülp aynı çözeltili ile 100 ml ye tamamlandı.



Şekil 7. Ölçü eğrileri



Şekil 8. Ölçü eğrileri



Şekil 9. Ölçü eğrileri

Sülfanilamid çözeltisi II (100 µg/ml) : Sülfanilamid çözeltisi I in 10 ml si 100 ml lik bir balon jode HCl çözeltisi II ile 10 misline seyreltildi.

Sülfanilamid çözeltisi III (10 µg/ml) : Sülfanilamid çözeltisi II nin 10 ml si 100 ml lik balon jode HCl çözeltisi II ile 10 misline seyreltildi.

b) *Diğer şartlar :*

Cetvel 1 deki tecrübe şartları : 10 tüpten ilk 5 ine (No. 1 - 5) sülfanilamid çözeltisi II den 0.5 er ml ve 0.5 er ml HCl çözeltisi II, diğer 5 tübe ise (No. 6 - 10) (mukayese çözeltileri) 1 er ml HCl çözeltisi II kondu. Tüplerdeki çözeltilerin her birine 2 şer ml p-DAC çözeltisi I ilâve edildi. Sonra 1 ve 6 no.lu tüplere 0.1 er ml, 2 ve 7 no.lu tüplere 0.2 şer ml, 3 ve 8 no.lu tüplere 0.3 er ml, 4 ve 9 no.lu tüplere 0.4 er ml, 5 ve 10 no.lu tüplere 0.5 er ml HCl çözeltisi I kondu. Bütün tüplerdeki çözeltilerin nihai hacmi su ilâvesiyle 4.3 ml ye getirildi. Çözeltiler iyice çalkalandıktan sonra sülfanilamid ihtiva eden çözeltilerin absorbansı kendilerine ait mukayese çözeltilerine karşı spektrofotometrede ölçüldü.

Ölçme tekniği : Küvet 1 cm, mavi fototüp, 550 nm, sensitivity 2. Âletle ilgili olan bu şartları her seferinde tekrar etmemek için bundan sonraki tecrübelerde bu şartlardaki ölçme «mutad şekilde ölçüldü» ibaresiyle belirtilmek istendi.

Cetvel 2 deki : 6 tüpten ilk 3 üne (No. 1 - 3) sülfanilamid çözeltisi II den 0.5 er ml ve 0.5 er ml de HCl çözeltisi II, diğer 3 tübe (No. 4 - 6) (mukayese çözeltileri) ise 1 er ml HCl çözeltisi II kondu. Tüplerin her birine ayrıca 1 er ml su ilâve edildi. Bundan sonra 1 ve 4 no.lu tüplere p-DAC çözeltisi I den 1 er ml, 2 ve 5 no.lu tüplere 1.5 ml, 3 ve 6 no.lu tüplere 2 şer ml kondu. Tüplerin her birine 0.3 er ml HCl çözeltisi I konduktan sonra çözeltilerin hacmi metanol ile 4.3 ml ye tamamlandı. Tüpler karıştırıldı ve sülfanilamid ihtiva eden çözeltilerin absorbansı mukayese çözeltilerine karşı spektrofotometrede mutad şekilde ölçüldü.

Cetvel 3 deki : 2 tüpten 1 ine 0.5 ml sülfanilamid çözeltisi II, 2. sine 1 ml HCl çözeltisi II kondu, 1. tüp HCl çözeltisi II ile 1 ml ye tamamlandı. Sonra her 2 tübe 1 er ml su, 2 şer ml p-DAC çözel-

tisi I, 0.3 er ml HCl çözeltisi I konarak karıştırıldı. Sülfanilamid ihtiva eden kırmızı renkli çözeltinin absorbanası mukayese çözeltisine karşı muhtelif dalga boylarında spektrofotometrede mutad şekilde ölçüldü.

Cetvel 4 deki : 2 tüpten 1 ine sülfanilamid çözeltisi III den 1 ml, diğerine ise 1 ml HCl çözeltisi II kondu. Sonra her 2 tübe 1 er ml su, 2 şer ml p-DAC çözeltisi I ve 0.3 er ml HCl çözeltisi I kondu. Tüpler karıştırıldıktan sonra 1 inci tüpteki çözeltinin absorbanası 2 inci tüptekine karşı 550 nm de cetvel 4 (sayfa 108) de gösterilen zaman fasılalarında mutad şekilde ölçüldü.

Cetvel 5 deki : 7 tüpten ilk 2 sine sülfanilamid çözeltisi III den sırasıyle 0.5 ve 1 ml, müteakip 4 tanesine sülfanilamid çözeltisi II den sıra ile 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 ml, 7. tübe ise 1 ml HCl çözeltisi II kondu. Tüplerdeki sıvı hacmi HCl çözeltisi II ile 1 ml ye tamamlandı. Bu suretle 1 ml de sırasıyle 5, 10, 20, 30, 40, 50 μg sülfanilamid ihtiva eden 6 çözelti ile yalnızca HCl çözeltisi II ihtiva eden bir mukayese çözeltisi hazırlanmış oldu. Bunların her birine sırasıyle 1 ml su, 2 ml p-DAC çözeltisi I ve 0.3 ml HCl çözeltisi I ilâve edilip karıştırıldı. Teşekkül eden muhtelif nüanslardaki morumsu kırmızı çözeltilerin absorbanaları mukayese çözeltisine karşı spektrofotometrede mutad şekilde ölçüldü.

Cetvel 6 daki : 8 tüpten ilk dördüne (No. 1 - 4) sülfanilamid çözeltisi I den 0.5 er ml ve 0.5 er ml HCl çözeltisi II, son dört tübe (No. 5 - 8, mukayese çözeltileri) 1 er ml HCl çözeltisi II kondu. Tüplerin her birine 1 er ml p-DAC çözeltisi I kondu. 1 ve 5 no.lu tüplere HCl çözeltisi I den 0.6 ml, 2 ve 6 no.lu tüplere 0.7 ml, 3 ve 7 no.lu tüplere 0.8 ml, 4 ve 8 no.lu tüplere 0.9 ml ilâve edildi. Tüplerdeki sıvı hacmi su ile 4.8 ml ye tamamlandı. Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede mutad şekilde ölçüldü.

Cetvel 7 deki : 6 tüpten ilk üçüne (No. 1 - 3) sülfanilamid çözeltisi I den 0.5 er ml ve 0.5 er ml HCl çözeltisi II, diğer 3 tübe (No. 4 - 6, mukayese çözeltileri) 1 er ml HCl çözeltisi II kondu. 3 ve 6 no.lu tüplere 1.5, diğerlerine ise 2 şer ml su ilâve edildi. Bundan sonra 1 ve 4 no.lu tüplere p-DAC çözeltisi I den 0.5 er ml, 2 ve 5 no.lu tüplere 1 er ml, 3 ve 6 no.lu tüplere 1.5 ml kondu. Tüplerin her birine 0.8 er ml HCl çözeltileri I konduktan sonra çözeltilerin hacmi meta-

nolle 4.8 ml ye tamamlandı. Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede mutad şekilde ölçüldü.

Cetvel 8 deki : İki tüpten 1 ine sülfanilamid çözeltisi I den 0.3 ml ve 0.7 ml HCl çözeltisi II, diğerine ise yalnızca 1 ml HCl çözeltisi II kondu. Tüplerin her birine 2 şer ml su ve 1 er ml p-DAC çözeltisi I ve 0.8 er ml HCl çözeltisi I kondu. Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede 1. tüpteki çözeltinin absorbansı cetvel 8 de gösterilen zamanlarda 2. ye karşı spektrofotometrede mutad şekilde ölçüldü.

Cetvel 9 daki : 10 tüpten ilk 2 sine sülfanilamid çözeltisi II den 0.5 ve 1 ml, diğer 7 tanesine sülfanilamid çözeltisi I den sırası ile 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40, 0.50 ml, sonuncu tüpe ise 1 ml HCl çözeltisi II kondu. Tüplerdeki sıvı hacmi HCl çözeltisi II ile 1 ml ye tamamlandı. Sonra tüplerden her birine sırası ile 2 ml su, 1 ml p-DAC çözeltisi I, 0.8 ml HCl çözeltisi I ilâve edilip tüplerdeki sıvılar iyice karıştırıldı. İlk 9 tüpteki çözeltilerin absorbansı 10 uncu tüpteki çözeltiliye karşı spektrofotometrede mutad şekilde ölçüldü.

Cetvel 10 daki : 11 tüpten ilk 10 tanesine sülfanilamid çözeltisi III den 1, sonuncusuna ise 1 ml HCl çözeltisi II kondu. Sonra tüplerin her birine sırası ile 1 ml su, 2 ml p-DAC çözeltisi I, 0.3 ml HCl çözeltisi I kondu ve tüpler iyice çalkalandı. İlk 10 tüpteki çözeltilerin absorbansı 11 inci tüpteki çözeltiliye karşı spektrofotometrede mutad şekilde ölçüldü. Bu tecrübe başka bir gün aynen tekrarlanmak suretiyle 10 μ g sülfanilamid ihtiva eden 20 muhtelif çözeltinin teknik I e göre gösterdikleri absorbanslar tesbit edilmiş oldu ve buradan standard sapma hesaplandı.

Cetvel 11 deki : 11 tüpten ilk 10 tanesine sülfanilamid çözeltisi I den 0.25 ml ve 0.75 ml HCl çözeltisi II, mukayese çözeltisi olarak hazırlanan sonuncu tübe ise yalnız 1.0 ml HCl çözeltisi II kondu. Tüplerden her birine sırası ile 2 ml su, 1 ml p-DAC çözeltisi I ve 0.8 ml HCl çözeltisi I kondu ve tüpler iyice çalkalandı. İlk 10 tüpteki çözeltilerin absorbansı 11. tüpteki çözeltiliye karşı spektrofotometrede mutad şekilde ölçüldü. Bu tecrübe başka bir gün aynen tekrarlanarak 250 μ g sülfanilamid ihtiva eden 20 muhtelif çözeltinin teknik II

ye göre gösterdikleri absorbanslar tesbit edildi, bu kıymetlerden standard sapma hesaplandı.

Cetvel 12 deki : 10 tüpten ilk 6 tanesine sülfanilamidin derişik H_2SO_4 - su (8:92 hac./hac.) daki çözeltilisinden ($50 \mu g/ml$) sırasıyle 0.1, 0.2, 0.4, 1.0, 2.0 ve 4.0 ml, 7 - 9 no.luya sülfanilamidin derişik H_2SO_4 - su (8:92 hac./hac.) daki diğer bir çözeltilisinden ($250 \mu g/ml$) sırasıyla 1.2, 1.6 ve 2 ml kondu. Tüplerdeki çözeltili hacmi derişik H_2SO_4 - su (8:92 hac./hac.) ile 4 ml ye tamamlandı. Mukayese çözeltilisi hazırlamak üzere sonuncu tübe 4 ml derişik H_2SO_4 - su (8:92 hac./hac.) kondu. Sonra tüplerden her birine 1 ml p-DAB çözeltilisi kondu. Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra ilk 9 tüpteki sarı renkli çözeltilerin absorbansı mukayese çözeltilisine karşı $\lambda = 420 \text{ nm}$ 'de ölçüldü. Diğer ölçme şartları cetvel 1 dekinin aynıdır.

Cetvel 13 deki : (fazlaca miktarlar için)

a) 1. tip : 11 tüpten ilk 2 sine sülfamerazin veya sülfametazinin HCl çözeltilisi III deki çözeltilisinden ($100 \mu g/ml$) 0.5 ve 1.0 ml, diğer 8 tübe aynı sülfanilamidlerden birinin HCl çözeltilisi III deki ikinci çözeltilisinden ($1000 \mu g/ml$) sırasıyla 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45 ve 0.50 ml kondu ve her biri HCl çözeltilisi III ile 1 er ml ye tamamlandı. 11. tübe yalnız 1 ml HCl çözeltilisi III kondu ve tüplerin her birine burada bildirilen sıraya göre 2 ml su, 1 ml p-DAC çözeltilisi I, 0.5 ml HCl çözeltilisi I ilâve edildi. Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra muhtelif nüanslardaki kırmızı çözeltilerin absorbansı 11. tüpteki mukayese çözeltilisine karşı mutad şekilde ölçüldü.

b) 2. tip : 11 tüpten ilk 2 sine sülfadiazin, sülfaguanidin, sülfafiazol ve sülfadimetoksidinden birinin HCl çözeltilisi I deki çözeltilisinden ($100 \mu g/ml$) 0.5 ve 1.0, diğer 8 tübe yukarıda bildirilen sülfanilamidlerden birinin yine HCl çözeltilisi I deki ikinci çözeltilisinden ($1000 \mu g/ml$) sırasıyla bir önceki tecrübeye bildirilen miktarlarda kondu ve her biri HCl çözeltilisi I ile 1 ml ye tamamlandı. 11. tübe yalnız 1 ml HCl çözeltilisi I kondu. Tüplerden her birine buradaki sıraya göre 2 ml su ve 1 ml p-DAC çözeltilisi I ilâve edildi ve 1. tipteki gibi çalışarak ölçmeler yapıldı.

Cetvel 14 deki : (az miktarlar için)

a) 1. tip : 7 tüpten ilk ikisine sülfamerazin veya sülfametazinin HCl çözeltilisi III deki çözeltilisinden ($10 \mu g/ml$) 0.5 ve 1.0 ml,

diğer 4 üne aynı maddelerden birinin HCl çözeltisi III deki ikinci çözeltisinden (100 $\mu\text{g/ml}$) sırasıyla 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 ml kondu. Tüplerdeki çözeltilerin hacmi HCl çözeltisi III ile 1 ml ye tamamlandı. Sonuncu tübe yalnız 1 ml HCl çözeltisi III kondu. Tüplerden her birine buradaki sıraya göre 1 ml su, 2 ml p-DAC çözeltisi I ve 1 ml HCl çözeltisi I ilâve edildi, ölçmeler mutad şekilde yapıldı.

b) 2. tip : 7 tüpten ilk ikisine sülfadiazin, sülfaguanidin, sülfatiazol ve sülfadimetoksinde birinin HCl çözeltisi I deki (10 $\mu\text{g/ml}$) çözeltisinden 0.5 ve 1.0 ml, diğer 4 üne aynı maddelerden birinin HCl çözeltisi I deki ikinci çözeltisinden (100 $\mu\text{g/ml}$) 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 ml kondu. Tüplerdeki çözeltilerin hacmi HCl çözeltisi I ile 1 ml ye tamamlandı. Sonuncu tübe yalnız 1 ml HCl çözeltisi I kondu. Tüplerden her birine buradaki sıraya göre 1 ml su ve 2 ml p-DAC çözeltisi I kondu. Ölçmeler mutad şekilde yapıldı.

Ö Z E T

p-Dimetilaminosinnamaldehydle reaksiyondan faydalanılarak sülfanilamid miktar tayini için, biri 5 - 50 μg , diğeri 50 - 500 μg madde için, iki teknik geliştirildi; bu teknikler Sakai ve arkadaşlarının⁽⁶⁾, diğer maddeler meyanında, sülfanilamid için bildirdikleri usullerden tamamıyla farklıdır. Bu tekniklerden ilkinde sistem Beer kanununa uymaktadır; ikincisinde ise sistem Beer kanununa uymamakla beraber absorpsiyonlar 50 - 500 μg arasında konsantrasyonla oranlıdır. Her iki teknikte yirmişer tayin üzerinden ve standard sapma cinsinden hesaplanan presizyonlar sırasıyla 0.0123 ve 0.0142 dir.

Az miktarlar için geliştirilen teknik Sakai⁽⁶⁾ nin usulü kadar hassas değildir, fakat Mawson⁽⁷⁾ (miyar p-DAB) usulünden daha hassastır.

Sülfanilamid için geliştirilen 2 teknik, gerekli değişiklikler (bilhassa nihai çözeltilerdeki asit miktarı) yapılmak suretiyle sülfaguanidin, -diazin, -merazin, -metazin, -dimetoksin ve sülfatiazole tatbik edildi. Bunların her birinde en uygun konsantrasyon alanları tesbit edildi ve sistemin Beer kanununa uyup uymadığı tetkik edildi, ayrıca ölçü eğrileri de çizildi.

S U M M A R Y

Two techniques, which are different from Sakai⁽⁶⁾'s technique, using p-dimethylaminocinnamaldehyde as reagent are developed

for the determination of sulfanilamide. In the first one (for 5 - 50 μg sulfanilamide) the system follows the Beer's law, in the second (for 50 - 500 μg sulfanilamide) the concentrations are proportional with the absorbances within the given range. In both techniques the precisions, which were calculated from the absorbances of twenty measurements and given as standard deviation, were 0.0123 and 0.0142 respectively.

Technique Nr. 1, which was developed for smaller quantities, is not so sensitive as that of Sakai⁽⁸⁾, but more sensitive than the method of Mawson⁽⁷⁾, in which p-DAB is used as the reagent.

Both techniques, which were developed for sulfanilamide, after necessary adjustment, especially relating on the quantity of acid in the final solution, were applied to sulfaguandine, -diazine, -merazine, -metazine, -dimethoxine and sulfathiazole. The suitable range of concentration for the measurements and calibration curves were determined, and the validity of the Beer's law were studied for the above mentioned sulphonamides.

L İ T E R A T Ü R

1. Bratton, A. C., Marshall, E. K. J., Babbitt, D. ve Hendrickson, A. R., *J. Biol. Chem.*, **128**, 537 (1939).
2. Schmidt, E. G., *ibid.*, **122**, 757 (1937 - 38).
3. Tulus, M. E., Güran, A., *İst. Üniv. Fen Fak. Mec. Seri C*, **28**, 108 (1963).
4. Cignolani, E., *Boll. Chim. Farm.*, **86**, 143 (1947) - Ref. Snell, F. D., Snell, C. T., *Colorimetric Methods of Analysis*, Third Edition, Vol. IV, Organic II, 210, D. Van Nostrand Co., New York 1954.
5. Vulterin, J., Zyka, J., *Chem. Listy*, **48**, 1696 (1954) - Ref. *Anal. Abstr.*, **3**, 534 (1956).
6. Arreguine, V., *Anales Asoc. qim. Argentina*, **30**, 39 (1940). Ref - Snell, F. D., Snell, C. T., *Colorimetric Methods of Analysis*, Third Edition, Vol. IV, Organic II, 210, D. Van Nostrand Co., New York 1954.
7. Mawson, C. A., *Biochem. J.*, **36**, 845 (1942).
8. Sakai, S., Suzuki, K., Mori, H. ve Fujino, M., *Japan Analyst*, **9**, 862 (1960) - Ref. *Anal. Abstr.*, **9**, 3764 (1962).
9. König, W., Schamek, W. ve Rösch, G., *Ber.*, **61**, 2078 (1928).

(Redaksiyona verildiği tarih : 3 Ağustos 1967)