

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ İLE SAÇTA
ESER ELEMENT TAYİNİNDE FARKLI ÖRNEK
HAZIRLAMA YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Selda DOĞAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. F. Nazlı DİNÇER KAYA

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-SBE TE (SD) 2007- 1YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

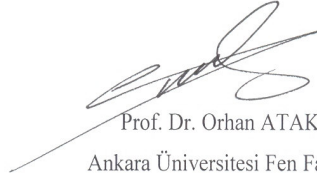
Tez No: 126

MERSİN – 2009

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “**Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile Saçta Eser Element Tayininde Farklı Örnek Hazırlama Yöntemlerinin Karşılaştırılması**” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

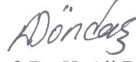
Tez Savunma Tarihi 09/01/2009



Prof. Dr. Orhan ATAKOL

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi

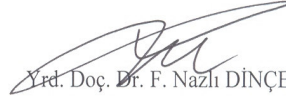
Jüri Başkanı



Prof. Dr. H. Ali DÖNDAŞ

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Jüri Üyesi



Yrd. Doç. Dr. F. Nazlı DİNÇER KAYA

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ..16.01.2009... tarih ve 2009/21 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım günden itibaren ve tez çalışmam süresince engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, yardım ve katkılarını esirgemeyen değerli hocam ve danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Nazlı DİNÇER KAYA'ya teşekkür ederim.

Tezim ile ilgili çalışmalarım sırasında benden değerli bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Orhan ATAKOL'a teşekkür ederim.

Ayrıca manevi desteğini her zaman hissettiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ali DÖNDAŞ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca ilgisini ve desteğini gördüğüm arkadaşım Ramazan DUMAN'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi tez çalışmam sırasında da gösterdikleri sabır ve büyük fedakarlıklar için AİLEME sonsuz teşekkürler.

Selda DOĞAN

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	4
2.1. Saçın Yapısı ve Eser Element Analizlerinde Kullanımı	4
2.2. Eser Elementlerin Önemi	5
2.3. Biyolojik Eser Elementler	8
2.4. Organizmada Metal Birikimi	10
2.5. Eser Elementlerin ve Eser Elementlerle İlgili Analiz Metotlarının Tarihsel Gelişimi	11
2.6. Çalışmada İncelenen Eser Elementler	14
2.6.1. Çinko	14
2.6.1.1. Kimyasal ve Biyokimyasal Fonksiyonları	14
2.6.1.2. Çinkonun Besinlerde Dağılımı, Biyoyararlılığı ve Günlük İhtiyaç	18
2.6.1.3. Çinko Eksikliği	19
2.6.1.4. Çinkonun Toksik Etkisi	20
2.6.2. Kurşun	21

2.6.2.1. Kimyasal ve Biyokimyasal Fonksiyonları	21
2.6.2.2. Kurşun Kaynakları	22
2.6.2.3. Kurşunun Toksik Etkisi	23
2.7. Numune Parçalama Yöntemleri	25
2.7.1. İnorganik Asitlerle Parçalama	25
2.7.1.1. Hidroklorik Asit	25
2.7.1.2. Nitrik Asit	25
2.7.1.3. Perklorik Asit	25
2.7.1.4. Sülfürik Asit	25
2.7.1.5. Hidroflorik Asit	26
2.7.1.6. Yükseltgen Karışımlar	26
2.7.2. Yakma Yöntemleri	26
2.7.2.1. Kuru Kül Etme	26
2.7.2.2. Sızdırmaz Bir Kap İçerisinde Oksijenle Yakma	27
2.7.2.3. Yakma Tüpü Yöntemi	27
2.7.3. Eritiş İle Parçalama	27
2.7.3.1. Eritiş Çeşitleri	28
2.7.4. Mikrodalga ile Parçalama	28
2.7.5. Bazik ortamda TMAH (tetrametilamonyumhidroksit) ile parçalama	29
2.8. Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi ve Kuramsal Temelleri	30
2.8.1. Tarihçe	30
2.8.2. Temel Kurallar	31
2.8.2.1 Beer Yasası	32

2.8.3. Atomik Absorpsiyon Spektrometreleri	33
2.8.4. Işık Kaynakları	34
2.8.4.1. Oyuk Katot Lambaları	35
2.8.4.2. Elektrotsuz Boşalım Lambaları	36
2.8.5. Atomlaştırıcılar	36
2.8.5.1. Alev Atomlaştırma	36
2.8.5.2. Elektrotermal Atomlaştırıcılar	37
2.8.5.3. Soğuk Buhar Yöntemi	38
2.8.5.4. Hidrür Tekniği	38
2.8.6. Monokromatör	39
2.8.7. Alıcı ve Kaydediciler	39
2.8.8. Atomik Absorpsiyonda Karşılaşılan Girişimler	40
2.8.8.1. Spektral Girişimler	40
2.8.8.2. Kimyasal Girişimler	41
2.8.9. Zemin Düzeltme Yöntemleri	41
2.8.9.1. Çift-Çizgi Düzeltme Yöntemi	41
2.8.9.2. Sürekli Işın Kaynağı ile Düzeltme Yöntemi Tekniği	41
2.8.9.3. Zeeman Etkisi ile Zemin Düzeltme	42
2.8.9.4. Kaynak Self-Ters Çevirmeye Dayanan Zemin Düzeltme	42

3. GEREÇ VE YÖNTEM	43
3.1. Saç Örneklerinin Toplanması	43
3.2. Kullanılan Cihazlar	43
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	44
3.4. Cam ve Plastik Malzemelerin Temizlenmesi	45
3.5. Örneklerin Analize Hazırlanması	45
3.5.1. Kuru Kül Etme	45
3.5.2. Düşük Sıcaklıkta Asidik Ortamda Yaş yakma	45
3.5.3. Düşük Sıcaklıkta Bazik Ortamda Yaş Yakma	45
3.5.4. Mikrodalga ile Çözünürleştirme	46
3.6. İstatistik Yöntemler	46
4. BULGULAR	47
4.1 Çinko Derişimleri	47
4.1.1. Grupların Çinko Ortalamaları Arasındaki Farkın Önemi	49
4. 2. Kurşun Derişimleri	50
4.2.1. Grupların Kurşun Ortalamaları Arasındaki Farkın Önemi	52
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	56
7. KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) göre major ve eser elementlerin periyodik cetveldeki şematik gösterimi	9
Şekil 2.2 Zinc finger proteinin yapısı	17
Şekil 2.3 Analit konsantrasyonu ile ışın şiddetindeki azalma	32
Şekil 2.4 Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrisi	34
Şekil 2.5 Oyuk katot lambası	35
Şekil 2.6 Elektrotsuz boşalım lambası	36
Şekil 2.7 Doğal gaz / hava alevinin sıcaklık profili	37
Şekil 2.8 Bir alevin bölgeleri	37
Şekil 2.9 Elektrotermal atomlaştırıcı ve grafit tüpün yapısı	37
Şekil 2.10 Hidrür atomlaştırıcı için kullanılan akış enjeksiyon sistemi	38
Şekil 4.1 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinde çinko derişimlerinin dağılım grafiği	48
Şekil 4.2 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinde çinko derişimlerinin ortalamalarının dağılım grafiği	49
Şekil 4.3 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinde kurşun derişimlerinin dağılım grafiği	51
Şekil 4.4 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinde çinko derişimlerinin ortalamalarının dağılım grafiği	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Çinko içeren bazı metalloenzimler ve fonksiyonları	16
Çizelge 3.1 Atomik Absorpsiyon çalışma koşulları	44
Çizelge 4.1 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinin çinko derişimleri	47
Çizelge 4.2 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerin çinko derişimleri ortalaması	48
Çizelge 4.3 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan standart referans maddede bulunan çinko derişimleri	49
Çizelge 4.4 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinin kurşun derişimleri	50
Çizelge 4.5 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerin kurşun derişimleri ortalaması	51
Çizelge 4.6 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan standart referans maddede bulunan kurşun derişimleri	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- AAS:** Atomik Apsorpsiyon Spektroskopisi
CRM: Sertifikalı Standart Referans Madde
ETAAS: Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
FAAS: Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
GC: Gaz Kromatografi
GEMS: Global Çevre İzleme Sistemleri
ICP-OES: İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektroskopisi
ICP-AES: İndüktif Eşleşmiş Plazma-Atomik Emisyon Spektroskopisi
MS: Atomik Kütle Spektrometri
NMR: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
OKL: Oyuk Katot Lambası
s_p: Birleşik Standart Sapma
TMAH: Tetrametilamonyum Hidroksit
US EPA: Amerika Çevresel Koruma Kurumu

ÖZET

Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile Saçta Eser Element Tayininde Farklı Örnek Hazırlama Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Çalışmada, insan saçında eser element tayini için bazı çözünürleştirme yöntemleri karşılaştırıldı. Bu amaçla kuru kül etme, düşük sıcaklıkta asidik ortamda yaş yakma, mikrodalga yöntemiyle çözünürleştirme ve bazik ortamda tetrametilamonyum hidroksit ile yaş yakma yöntemleri kullanıldı.

Bu çözünürleştirme yöntemleriyle çözünürleştirilen örneklerde çinko ve kurşun derişimleri ölçüldü. Yöntemin doğruluğu CRM BCR-397 insan saç standart referans maddesi ile kontrol edildi.

Çinko derişimlerinin ölçümü alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi, kurşun derişimlerinin ölçümü ise Zeeman etkili elektrotermal atomik absorpsiyon spektroskopisi ile yapıldı. Gerçek saç örnekleri için, dört çözünürleştirme yöntemi arasında fark olup olmadığı varyans analizi yapılarak hesaplandı. Sonuçların istatistiksel değerlendirmesi, % 95 güven aralığında dört yöntem arasında önemli bir fark olmadığını gösterdi.

Sertifikalı referans standart madde CRM BCR-397 insan saçında yapılan ölçümlerde, ölçülen değerin sertifika değerinden sapmasını göstermek için yüzde bağıl hata hesaplandı. Tetrametilamonyum hidroksit ile yapılan çözünürleştirme yöntemi hariç, bağıl hata % 10'un altında bulundu.

Anahtar kelimeler: Çinko, kurşun, kuru kül etme, yaş yakma, mikrodalga, TMAH, saç, çözünürleştirme

ABSTRACT

Comparision of Sample Preparation Methods for Determination of Trace Elements in Human Hair by Atomic Absorption Spectrometry

In this study, various digestion methods compared for determination of trace elements in human hair. For this reason, digestion methods like dry ashing, acidic wet ashing at low temperature, microwave digestion, and basic digestion in tetramethylammonium hydroxide at low temperature were used.

Zinc and lead concentrations were determined in human hair samples digested with these digestion methods. The accuracy of the methods were tested by certificated reference standard material, CRM BCR-397 human hair.

Flame atomic absorption spectroscopy was used for determination of zinc levels, and graphite furnace atomic absorption spectroscopy with Zeeman background correction was used for determination of lead levels. For real hair samples, analysis of variance test was used determination of difference between four digestion methods. According to the statistical evaluation of the results, there are no significantly difference between four digestion methods in 95 % confidence interval.

Measurement of certificated reference standard material, CRM BCR-397 human hair, to show that deviation of certificated value percantage relative errors calculated. Relative errors were less than 10 % except for tetramethylammonium hydroxide digestion method.

Key Words: Zinc, lead, dry ashing, wet ashing, microwave, TMAH, human hair, digestion.

1. GİRİŞ

Normal bir insan vücudunu beş ana elementin (karbon, hidrojen, oksijen, azot ve fosfor) organik bileşikleri ile kalsiyum, sodyum, potasyum magnezyum, kükürt ve klor gibi elementleri de içeren sert doku ve elektrolitler oluşturur. Bu 11 element dışında kalan elementlerin toplamı 70 kg bir insanda ancak 10 gram civarında olup bu elementler eser elementler olarak adlandırılır. Bu elementlerin vücuttaki konsantrasyonları 50 mg/kg'ın altındadır (1). İnsanın sağlıklı bir şekilde yaşamını sürdürebilmesi için yaşamsal öneme sahip bu elementleri alması gerekir. Eser elementler, organizmanın birçok önemli fonksiyonunda rol oynarlar. Enzimlerin, hormonların ve vitaminlerin biyolojik fonksiyonlarının düzenlenmesi, oksijen taşınması, sebest radikallerin elimine edilmesi, yapı ve destek materyali olarak kullanılmaları bu fonksiyonlara örnek verilebilir (2).

Son araştırmalar 11 element dışında kalan 40–50 kadar elementin de insan vücudunda bulunduğunu göstermiştir ve bu elementlerden 20 kadarının yaşamsal önemi anlaşılmıştır. Diğerlerinin ise işlevleri, vücuda giriş şekilleri, yarar ve zararları henüz tam anlaşılmamakla beraber bazı elementlerin vücuda alerjik, toksik ve kanserojen etki yaptıkları da kesin olarak bildirilmiştir (3).

Genel olarak vücut için yaşamsal öneme sahip olan elementlerin bile fazlası vücuda zararlı, toksik etki yaparken, yetersiz alınmalarında eksikliklerinden kaynaklanan birçok hastalık ve bozukluklar görülür (4) ve bu da vücut fizyolojisinde ciddi problemlere neden olabilir (2,5). Bu nedenle insan vücudunda biyokimyasal proseste önemli rol oynayan bu eser elementlerin vücuttaki miktarları önemlidir.

Günümüzde biyolojik ve klinik örneklerde eser element konsantrasyonları ile ilgili analitik çalışmalar bu yüzden çok önemli hale gelmiştir (6). Meslek hastalıkları, zehirlenmeler ve çevre kirliliğine bağlı olarak gelişen hastalıklarda eser element analizleri kullanılarak ve analitik sonuçlarla karakterize edilebilen sağlık durumu ile ilgili doğru bilgi edinilebilmesi ve tanı konulabilmesi sağlanır (2,7).

İnsan vücudunda eser element seviyesinin ölçülmesi ve bu ölçümün ne şekilde yapılacağı önemli bir konudur. Canlı organizmasında bulunan bu elementlerin çoğunun fonksiyonları ve etkileri bilinmekle birlikte, doğru ve rutin çalışmalara kolaylıkla

uygulanabilecek analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar üzerinde durulması gereken konulardan biridir. Biyolojik örneklerdeki eser element analizleri analitik kimyacılar için bazı güçlükler içerir. Örneklerin organik madde içeriğinin yüksek olması nedeni ile analizden önce bir parçalama ve kül etme işlemine gerek duyulması bunlardan ilkidir. İkinci olarak ise organizmada çok düşük konsantrasyonlarda ve karmaşık bir matriks içinde buldukları için klinik örneklerde eser element tayinlerinde, atomik absorpsiyonda karşılaşılan pek çok fiziksel, kimyasal ve spektral girişimler analizlerin gözlenebilme sınırlarını, duyarlılığını, doğruluğunu ve seçimliliklerini etkilemesidir. Yani ölçülecek element konsantrasyonunun çok düşük olması, iyi organize edilmiş, özel örnek hazırlama yöntemlerine ve duyarlı analitik yöntem ve cihazlara duyulan ihtiyacı artırır. Bu nedenle klinik örneklerde eser element tayinleri için doğru yöntemin seçilmesi çok önemlidir.

Önemli olan bir diğer konuda eser elementlerin nutrisyonel durumunun belirlenmesinde anlamlı doku ve sıvıların analiz metotlarının geliştirilmesi gereğidir. Doğru bilgi verecek doku ve sıvıların seçimi çok önemlidir. Hemen tüm vücut sıvıları ve dokularında eser elementlerin analizi yapılabilir. Ancak bunların hepsi vücut eser element seviyesini aynı ölçüde doğru gösteremez ve aynı ölçüde kolay analiz edilemez. Bu nedenle ölçüm yapılacak parametrenin hem vücut seviyesi hakkında iyi bilgi vermesi ve hem de kolay elde edilebilir ve analiz edilebilir olması gerekir.

Vücut eser element seviyesinin belirlenmesinde kullanılacak biyolojik materyal seçiminde literatürde yer alan birçok seçenek mevcuttur. Biyoindikatör olarak kullanılan bu materyallere örnek olarak kan, idrar, tırnak, diş, saç ve diğer vücut sıvı ve dokuları verilebilir (8,9).

Bu materyaller arasında saç,

- 1) Diğer biyolojik materyallerin aksine acı vermeden ve kolay elde edilebilir olması,
- 2) Zaman içerisinde bozunmaya uğramaması ve taşınma depolanma gibi süreçlerde herhangi bir özel yöntem gerektirilmemesi,
- 3) Kan ve idrar ile karşılaştırıldığında saçın, ilgili elementi bir yerden bir yere taşıma veya vücuttan atılımını sağlama gibi işlevlerinin olmaması nedeniyle daha kararlı ölçüm yapılabilmesine olanak sağlaması,

4) Hücre içi eser element birikimi hakkında da bilgi vermesi ve vücuttaki eser element seviyesi ve depoları ile ilgili daha uzun süreleri kapsayacak sonuçlar elde edilmesine olanak vermesi,

gibi üstünlüklere sahip olması nedeni ile en avantajlı olanıdır (10). Kemik veya organ biyopsileri hem çok acı verici hem de zor ve pahalıdır. İdrar sadece vücuttaki atılımı gösterir. Eser element tayini için en çok kullanılan materyal kan olmasına rağmen birçok metalin konsantrasyonu kanın ne zaman alındığına bağlıdır. Kan plazması ve serumun esas fonksiyonu transportasyondur. Plazma absorpsiyon bölgesinden ulaşacağı organa ilgili elementi taşır. Bu nedenle de plazma ve serum eser element konsantrasyonları değişkendir. Saç ise kan komponentlerinden farklı olarak, eser element konsantrasyonu bakımından plazma ve seruma göre daha az değişkendir. Bu nedenle de vücut eser element depolarını göstermesi bakımından daha doğru sonuçlar verir.

Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmada, vücut eser element seviyesi hakkında en iyi bilgi veren dokulardan biri olduğu bilinen saçta farklı numune hazırlama yöntemleri kullanarak Zn (çinko) ve kolay buharlaşabilen bir element olan Pb (kurşun)'un atomik absorpsiyon spektroskopisi ile tayinleri gerçekleştirildi. Numune hazırlamada kullanılan farklı çözünürleştirme yöntemleri ile bulunan sonuçlar karşılaştırıldı. Şimdilerde çeşitli avantajlar sağladığı gerekçesiyle gündemde olan tetrametilamonyum hidroksit (TMAH) ile yapılan çözünürleştirmenin yaygın olarak kullanılan diğer yöntemlere alternatif olup olamayacağı araştırıldı.

Yöntemin doğruluğu sertifikalı referans standart materyal CRM BCR-397 insan saçı (European Commission DG Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM) kullanılarak kontrol edildi.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Saçın Yapısı ve Eser Element Analizlerinde Kullanımı

Bir saç teli amorf protein hücreleri içine yerleşmiş binlerce heliks şeklinde polipeptit zincirlerinden oluşan keratin olarak adlandırılan bir elyaf proteindir. Saç polipeptitlerinin en büyük fraksiyonu S-S bağlarıyla paralel polipeptit zincirlerine bağlanan sisteindir (2-amino-3-merkaptopropiyonik asit). Eser elementler saçta sülfidril, amino ve karboksilat grupları üzerinden polipeptitlerle kompleks oluşturarak birikirler (11).

Daha önce de değindiğimiz gibi saç örneğinin çok kolay ve ağrısız elde edilebilmesi, toplanan örneklerin saklanması için özel bir yöntem gerektirmemesi, vücuttaki eser element seviyesi ve depoları ile ilgili daha uzun süreleri kapsayacak sonuçlar elde edilmesi nedeniyle saçta eser element analizi, vücutta eser element seviyesinin izlenmesinde en kesin ve kullanışlı yöntemdir. Bu durumu saç analizlerinin tarihçesine baktığımızda da görmekteyiz.

Saçın vücudun iç durumu hakkında bir indikatör görevinde olduğu uzun süredir bilinen bir gerçektir. İki yüzyıl önce saç analizleri arsenik düzeyini ölçmek için kullanılmıştır. Modern teknolojilerin gelişmesiyle beraber saçın yararlı bir biyopsi materyali olarak kabul edilmesi yaklaşık elli yıl öncesine dayanmaktadır. Bu tarihte Flesch vücut deposu hakkında bize bilgi veren saç dokusunu 'minor excretory organ' olarak tanımlamıştır (12).

Bunu izleyen yıllar içinde gelişen ve ilerleyen laboratuvar teknolojisi ve modern analitik tekniklerin kullanılması ile saç analizleri üzerinde daha yoğun çalışılmaya başlanmıştır.

Modern analitik teknikler ve gelişen laboratuvar teknolojisi sayesinde saç analizleri önemli klinik bilgilerin ortaya çıkmasında rol oynamıştır.

Global çevre izleme sistemlerinin (GEMS) 1975'te yayınlanan raporlarına göre, insan saçı vücutta eser element durumu hakkında bilgi veren en yararlı ve önemli biyolojik materyaller arasındadır. Uluslararası Atom Enerji Ajansı maruziyetlerin belirlenmesinde saç analizlerinin güvenilir bir gösterge olduğunu bildirmişlerdir.

Amerika çevresel koruma kurumu (US EPA) tarafından yayınlanan 250 den fazla araştırmada saçın yararlı ve karakteristik bir doku olduğu vurgulanmıştır. Özellikle bakır, selenyum gibi nutrientlerin yanı sıra toksik etkileri bilinen kurşun, kadmiyum gibi elementlerin düzeylerinin tayininde saç çok yaygın kullanılan bir biyolojik materyaldir-biyopsi materyalidir (13–15).

2.2. Eser Elementlerin Önemi

Eser element analizleri ile ilgili yapılan çalışmalar özellikle son yıllarda büyük ivme kazanmıştır. Bunun nedeni tıp, kimya, biyoloji, ziraat, arkeoloji (16), çevre bilimi (17) ve hatta sanat tarihi çalışmaları gibi çok farklı alanlarda uygulama alanına sahip olmasıdır. Vücut eser element seviyesinin belirlenmesi; bu elementlerin çeşitli fizyolojik proseslerde ihtiyaç duyulmasına rağmen yüksek konsantrasyondaki miktarların bu prosesler üzerinde toksik etki yaratıyor olması (18) , çevre kirliliğine maruziyetin ölçüsünün belirlenmesinde kullanıyor olması (19) , vücudun nutrisiyonel durumu hakkında bilgi veriyor olması (20) , bazı hastalıkların teşhisinde ve tedavisinde rol oynuyor olması ve meslek hastalıkları ile olan ilişkisi bakımından son derece önemlidir (21,22).

Yukarıda da bahsedildiği gibi eser element düzeylerinin belirlenmesi organizmanın çevre kirliliğine ne ölçüde maruz kaldığını tayin etmede kullanılan bir araçtır (17). Gelişen teknoloji, endüstriyellemenme ve kentleşme sonucu artan çevre kirliliğine paralel olarak, çevreye bağlı gelişen hastalıkların miktarındaki artış son derece endişe vericidir. Sağlığı tehdit eden bu durum özellikle son yıllarda kayda değer biçimde artmıştır (23).

Aguilera ve ark. (24) İspanya'nın Ria of Huelva şehrinde yaşayan insanlardan alınan idrar örneklerindeki arsenik düzeyini tayin etmişlerdir. Endüstriyel faaliyetlerin yoğun olduğu dolayısıyla çevre kirliliğinin önemli bir sorun olduğu bu şehirde yaşayan insanların idrar arsenik düzeyleri İspanya'nın diğer şehirlerinde yaşayan insanlara oranla önemli şekilde yüksek bulunmuştur.

Portekiz'de Asor adalarında bulunan volkanlar yüksek konsantrasyonda toksik madde salınımı gerçekleştirmektedir. André ve ark. (25) bu bölgede eser metallere

maruziyeti incelediği çalışmada bölgede yaşayan insanlarda alınan saç örneklerinde kadmiyum, bakır, kurşun, rubidyum ve selenyum ölçümleri yapılmıştır. Selenyum dışındaki diğer elementlerin konsantrasyonlarının çok yüksek bulunduğu bildirilmiştir.

Meslek hastalıkları ve eser element ilişkisi de son derece ilgi çekicidir. Yapılan birçok araştırma bu sonucu doğrulamaktadır.

Örneğin Afridi ve ark. (21) yaptıkları çalışma ile, çelik fabrikasında çalışan işçilerin saç örneklerinde kurşun, kadmiyum ve nikel düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda daha yüksek çıktığını ortaya koymuşlardır.

Sevinç ve ark. (22) Şanlıurfa'da yaptıkları çalışma ile kurşunla temasın yoğun olduğu iş kollarında (oto tamir atölyelerinde) çırak olarak çalışan çocuklarda kan ve saç kurşun düzeyleri ile kurşunun hematolojik değerler üzerine etkileri ve kronik kurşun zehirlenmesi sorununun bu yöredeki durumunu araştırmışlardır. Çalışma grubundaki olguların %90'ında kontrol grubundaki olguların ise %70'inde kan kurşun düzeyleri 10 µg/dl' nin üzerinde bulunduğu bildirilmiştir.

Biyomedikal çalışmalarda farklı eser element düzeylerinin çeşitli patolojik durumların teşhisinde yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Ayrıca yapılan birçok araştırma eser elementlerin hastalıklarla olan yakın ilişkisini gün ışığına çıkarmıştır. Bu konu ile ilgili literatürde yer alan çok sayıda çalışma söz konusudur.

Türkiye'de yapılan bir çalışma ile Yenigün ve ark. (26) Down sendromlu çocukların çinko düzeyini araştırmışlardır. Bu amaçla Down sendromlu çocuklardan alınan saç örneklerinde çinko ölçümü yapılmış ve Down sendromlu çocukların saç çinko düzeyinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde düşük olduğu bulunmuştur.

Pakistan'da yaşayan erkek akciğer kanseri hastaların tam kan ve saç örneklerinde kadmiyum ölçümü yapılmıştır. Yapılan ölçümler kanserli hasta grubunun saç ve tam kan örneklerindeki kadmiyum düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (27).

Kazi ve ark. (28) yüksek tansiyonlu hastaların saç örneklerinde yaptıkları analizlerde kadmiyum, kurşun ve çinko düzeyleri ölçülmüş ve kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Yüksek tansiyonlu hastaların saç çinko düzeyi kontrol grubuna oranla anlamlı oranda düşük bulunmuştur.

Çin’de 2004 yılında yapılan uluslar arası eser element sempozyumundaki sonuçlar değerlendirilerek yayınlanan bildiriye göre, dünya üzerinde 3.7 milyar insanda demir eksikliği görülmektedir. Yaşları 0 ile 5 arasında değişen çocukların yüzde otuz beşi çinko ya da demir eksikliği problemi yaşamaktadırlar. Buna ek olarak 250 milyon insanda A vitamini, 260 milyon insanda da iyot ya da selenyum eksikliği olduğu bilinmektedir. İnsanlardaki mikronütrientlerin eksikliği başlıca diyetle alınan miktarların eksikliği ve biyoyaralanımına bağlı olduğu bilinmektedir. Yiyeceklerde bulunan düşük konsantrasyondaki mikronütrientlerin asıl kaynağının topraktaki mikronütrient yetersizliği olduğu bildirilmiştir. Öte yandan çok geniş alanlar; pestisit kullanımı, maden artıkları, maden arama çalışmaları, suni gübreleme, araç egzozlarının salınımı nedeniyle eser metallerle kontamine olmaktadır. Birçok eser metal hücreler için esansiyel olmasına karşılık bunların yüksek konsantrasyonda alındıklarında toksik etki yaratacağı dile getirilmiştir. Metallerin orijini ne olursa olsun topraktaki eser metal düzeyinin yüksek olması toprak kalitesinin düşmesine ve ürün kalitesinin azalmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak bu etki insanlar, hayvanlar ve ekosistem sağlığını tehdit eder bir duruma gelmektedir. Uzun vadede problem daha da büyüyerek besin zinciri yolu ile insana kadar uzanmaktadır. Vücutta biriken metaller DNA hasarına ve kanserojen etkilere sebep olmaktadır. Özetlemek gerekirse, eser element eksikliği veya fazlalığı tarım alanlarını etkilemekte dolayısı ile besin zincirinin doğal döngüsünü ve dengesini bozmaktadır. Bu durumun hem insan sağlığını, hem de ekolojik sistemi tehdit etmesi araştırmacıların bu konu üzerinde daha fazla yoğunlaşmalarına neden olmaktadır (29).

Bu yüzdendir ki insandaki metal konsantrasyonun izlenmesi ve sağlık üzerindeki etkilerinin belirlenmesinin önemi, Florence 1990; Oluwole ve ark. 1994; Ather and Vohora 1995; Satake ve ark. 1997; Nath 2000 gibi çok sayıda araştırmacı tarafından dile getirilmektedir (29).

2.3. Biyolojik Eser Elementler

Canlılarda hücrenin proliferasyon, replikasyon ve farklılaşması için aminoasitler, glikoz, yağ asitleri ve vitaminler yanında minerallere de gereksinim vardır.

Bazı inorganik maddeler, örneğin demir (Fe), çinko (Zn), bakır (Cu), selenyum (Se), molibden (Mo), mangan (Mn), krom (Cr), kobalt (Co) ve iyot (I) esansiyeldir ve sağlıklı yaşam için her gün belli bir miktar alınmaları gerekmektedir. Bu elementler 'Biyolojik eser element' olarak adlandırılırlar (30).

Esansiyel elementler organizmanın normal fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için gereklidirler. Esansiyel elementler olmadan organizma yaşam döngüsünü tamamlayamaz ya da normal gelişimini gerçekleştiremez (4). Esansiyel elementler metalloenzimlerin yapısında kilit rol oynarlar. Ayrıca oksijen taşınması, hormonal aktivitelerin düzenlenmesi, serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi gibi birçok önemli biyolojik fonksiyonun yerine getirilmesinde yine bu elementler karşımıza çıkmaktadır (2,31).

Bu elementlerin major ve eser şeklinde sınıflandırılması vücut sıvılarında ve dokulardaki miktarlarına göre yapılmaktadır.

Majör (Makro) elementler; Doku ve vücut sıvılarında derişimleri g/L, g/kg seviyesinde olan elementler majör elementler olarak tanımlanır.

Eser ve ultraeser (Minör, Mikro) elementler ise; Doku ve vücut sıvılarında derişimleri mg/L, mg/kg ve µg/L, µg/kg seviyesinde olan elementlerdir.

Esansiyel major elementler: Sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, fosfor, kükürt, klor ve silisyum bu gruba örnek olarak verilebilir.

Esansiyel eser elementler: Vanadyum, krom, mangan, kobalt, molibden, çinko, bakır, nikel, selenyum, flor ve iyot bu sınıfın üyeleri arasındadır.

Esansiyel olmayan toksik elementler: Kurşun, kadmiyum, alüminyum, berilyum, arsenik, cıva ve talyum olarak sıralanabilir.

Tedavi amaçlı kullanılan elementler: Lityum platin ve altın gibi elementlerin bazı bileşik ve kompleksleri tedavi amaçlı kullanılır (32).

Biyolojik eser elementlerin periyodik tabloda gösterilişi Şekil 2.1 'deki gibidir.

2.4. Organizmada Metal Birikimi

Metalleri diğer toksik maddelerden ayıran en önemli özellikleri, insanlar tarafından ne oluşturulabilir nede yok edilebilir olmalarıdır. Periyodik tablodaki 105 elementin yaklaşık 80'ini metaller oluşturur. Daha öncede değinildiği gibi birçok metal, insan ve hayvanlar için esansiyeldir. Esansiyel olanlar, eksikliklerinde olduğu gibi fazla miktarlarda alındıklarında da vücut homeostazını bozarak toksik etki oluşturabilirler.

Bugün “**endüstriyel metaller**” olarak nitelendirilen yaklaşık 50 metal ve alaşımı tıpta ve veteriner hekimlikte ilaç, pestisit (fungusit, insektisit, herbisit, rodendisit) gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Bugün 30 civarında metalin insanlarda toksik etki oluşturduğu bilinmektedir.

İnsan vücudu için esansiyel olan ve olmayan metaller başta besinler olmak üzere diğer bazı yollarla (su, hava gibi) metabolizmaya alınmaktadır. Bazıları ise (alüminyum, kurşun ve kadmiyum gibi) yaş ile birikerek vücuttaki konsantrasyonları artmaktadır.

Metaller, insanlar tarafından veya antropojenik (çevre değişkenleri) olarak hava, su, toprak ve besinlere çevresel taşınım sonucu besinler ve içme suları ile organizmaya girebilmektedirler. Bunlar besinlerin normal bileşeni olabildikleri gibi kirlilik olarak da bulunabilirler. Ayrıca hava, su ve toprak, doğal kaynaklar ve teknolojik nedenlerle metallerle kirlenebilmektedir (33). Çevre kirlenmesi sonucu metaller biyoakkümüülasyonla besin zincirine geçebilir ve bu yolla metabolizmaya alınabilir. Doğal kaynaklar veya teknoloji nedeniyle metaller ile kirlenen toprakta yetişen bitkilerde metal birikimi olabilir. Öte yandan fosil kaynaklı katı ve sıvı yakıtların içerdiği pek çok metal (arsenik, kurşun, kadmiyum, selenyum, vanadyum gibi) yakın çevremizdeki havayı kirleterek soluduğumuz hava yolu ile metabolizmaya alınabilir. Günlük hayatta kullandığımız metalden yapılmış veya metal bileşikleri içeren besin kaplarından metaller besinlere geçebilir. Endüstride metallerin işlenmesi ve teknoloji sırasında doğrudan maruz kalma ile pek çok mesleksi zehirlenme olabilmektedir.

Ayrıca tedavi amaçlı olarak kullanılan altın, lityum, platin, bizmut gibi bazı elementlerin bileşik ve kompleksleri bu elementlerin metabolizmaya alınma yollarından biridir. Benzer şekilde tanı amaçlı olarak görüntüleme teknolojisinde kullanılan mangan, gadolinyum gibi bazı elementler ve kompleksleride metabolizmaya bu yolla alınabilmektedirler (34).

Kullanımı son yıllarda çarpıcı şekilde artan bitkisel ilaç ve diyet destek ürünlerinin kalite kontrolünün yeterli ve sağlıklı bir şekilde yapılamıyor olması bu ürünlerin hazırlanması esnasında birçok toksik ve ağır metalin vücudumuzda birikmesine neden olmaktadır. Buda kontrolsüz ve bilinçsizce alınan bu ürünlerin ciddi bir halk sağlığı problemi haline dönmesine neden olmaktadır Gijbert ve ark. (35) yaptıkları çalışma hormon içeren bazı bitkisel ilaç ve diyet destek ürünlerdeki arsenik ve kurşun düzeylerinin sağlığı tehdit eden düzeyde olduğunu ortaya koymuştur.

2.5. Eser Elementlerin ve Eser Elementlerle İlgili Analiz Metotlarının Tarihsel Gelişimi

Canlı organizmasında eser elementlerin önemi ile ilgili bilgiler çok eskilere dayanmaz. Bunun nedeni de bu elementlerin insan doku ve vücut sıvılarında çok düşük olan konsantrasyonlarını ölçebilecek analitik yöntemlerin henüz gelişmemiş olmasıdır. 1947–1956 yılları arasında analitik kimyada önemli atılımlar olmuş ve klasik yöntemlerden aletli analiz yöntemlerine geçilmiştir. 1947’de ilk ticari MS, 1952’de ilk ticari GC, 1955’de ilk ticari FAAS, 1953’de ilk ticari NMR yapılmıştır (Skoog ve ark.). Analitik kimyada klasik analiz yöntemlerinden aletli analiz yöntemlerine geçişle birlikte analizlerde seçicilik artmış, gözlenebilme sınırları düşmüş ve canlı organizmasında o güne kadar tayin edilemeyen elementlerin tayini gerçekleşmiştir. Örneğin insan vücudunda çinkonun varlığı ilk olarak 1939 yılında anlaşılmıştır. Öte yandan insan dokularında çok az miktarlarda bulunan selenyum ve kobaltın varlığı bu gelişmelerden sonra tespit edilmiş ve bu elementlerin vücuttaki fonksiyonları üzerine çalışmalar yapılmıştır. Selenyumun hemoglobini oksidatif hasardan koruyan bir enzim olan glutation peroksidazın, kobaltın vitamin B₁₂’nin yapısında bulunduğu, çinkonun çok sayıda enzimin kofaktörü olarak rol oynadığının anlaşılması ve bu elementlerin eksikliğinde pek çok fonksiyon bozukluğunun ortaya çıktığı gözlenmiştir.

Bu olumlu gelişmeler olmadan önce eser elementlerle ilgili pek çok konu gün ışığına çıkmayı beklemekteydi. Örneğin; ortaçağın ünlü hekimi Paracelsus civa(II) bileşiklerini cilt hastalıklarında (sedef, cüzzam gibi) ilaç olarak kullanmıştır. 1926 yılına kadar civanın toksik etkileri anlaşılmamış, bu tarihte Alfred Stock adında bir kimyacı

bor bileşikleri üzerine sentezler yaparken kendi vücudunda ortaya çıkan anormallikleri fark ederek civanın tehlikelerine dikkat çekmiştir. Ancak o yıllarda aletli analiz yöntemleri henüz gelişmemiş olduğundan insan vücudunda biriken civayı saptayabilecek bir yöntem henüz yoktu ve bu nedenle yaklaşık on yıl bu konu ile kimse ilgilenmemiştir. 1935 yılında Japonya’da Minamoto koyunda bir civa tesisi yanında bulunan bir balıkçı köyünde 50’den fazla insanın kısa aralıklarla ölmesi, sakat doğumlar ve çok sayıda düşük olayı dikkatleri bu yöreye çevirmiş ve bu hastalığa Minamoto Sendromu adı verilmiştir (36). Ancak söz konusu hastalığın kaynağının civa olduğunun kesinleşmesi 1952 yılında gerçekleşmiştir. O zamana kadar insan vücudunda 30–35 mg civanın bu sonuçlara yol açabileceğini kimse düşünememişti. Analitik kimya, tıp ve çevre bilimcilerin katkılarıyla civa günümüzde tehlikeli ve atıkları kontrol altında tutulması gereken elementler sınıfına girmiştir.

Yine çarpıcı bir örnek olarak alüminyum ile Alzheimer Hastalığı arasındaki ilişki verilebilir. 1920’li yıllarda özellikle Japon araştırmacılar alüminyumu yüzyılın metali olarak tanımlamışlar ve kapı, pencere aksamları, mutfak eşyaları o yıllardan başlayarak alüminyumdan imal edilmiştir. Metalin işlenme kolaylığı ve ucuzluğundan dolayı üçüncü dünya ülkelerinde bu durum halen devam etmektedir. Ancak 1960’lı yıllardan sonra aletli analiz yöntemlerinin gelişmesi ile alüminyumun Alzheimer Hastalığı’na yol açtığı kesin bulgularla saptanmış ve alüminyum eşya üretimi kısıtlanmış, hatta bazı alanlarda tamamen yasaklanmıştır. Bu gün birçok ilaç ve serumda alüminyum miktarının 10 ppb’den daha yüksek olmaması zorunluluğu getirilmiştir.

Bunların dışında bir başka örnek de topraktaki azot bakterileri tarafından üretilen bir enzim olan molibden nitrogenaz ve bu enzimi aktive eden Mo (III) iyonudur. Enzimin aktivasyonu için gereken molibden miktarı o kadar azdır ki, toprakta bulunabilen 8–10 ppb molibden tuzları bunun için yeterlidir. Bazı topraklarda molibden eksikliği nedeniyle doğal azot döngüsü içindeki azotun toprağa fiksasyonu gerçekleşemez. Molibdenin bitkilerin büyümesindeki rolünün anlaşılmasından sonra Mo(III) tuzları gübreleme yöntemlerinde kullanılmaya başlanmıştır.

Yukarıda sözü edilen elementlerin tayin edilebilmesi için gelişmiş analitik yöntemlere ihtiyaç olduğu açıktır. Eser elementlerin canlılardaki denge konsantrasyonları analitik yöntemlerin gelişmesi ile yeni yeni saptanabilmektedir. Günümüzde gerek analitik kimya, gerek tıp, çevre ve gıda alanındaki bilim adamları

eser elementlerin canlı organizması üzerindeki olumlu ve olumsuz etkilerini bilmektedir. Bu da son 20 yılda eser elementlerle ilgili birçok süreli yayınlar ortaya çıkmasını ve “Biyoinorganik Kimya” adı verilen yeni bir bilim dalının doğmasını sağlamıştır.

2.6. Çalışmada İncelenen Eser Elementler

2.6.1. Çinko

2.6.1.1. Kimyasal ve Biyokimyasal Fonksiyonları

Çinko 1746 yılında Andreas Marggraf tarafından bulunmuş, atom numarası 30, atomik yığı 65.39 akb, erime noktası 419.58 °C (692.73 °K) kaynama noktası 907.0 °C (1180.15 °K), proton ve elektron sayısı 30, nötron sayısı 35, yoğunluğu 7.133 g/cm³ olan geçiş elementleri sınıfında yer alan, hekzagonal kristal yapısına sahip olan ve hayati önem taşıyan elementlerden biridir.

Biyolojik eser elementler içinde olağanüstü özelliklere sahip olan çinko tüm hücrelerin büyüme ve replikasyonu için gerekli bir esansiyel elementtir (37). Doğal olarak çok önemli proteinlerin yapısına girer, enzimlerin aktif bölgelerinde görev alır veya moleküler interaksyonda intraselüler proteinler için yapısal bir destek vazifesi görür. Biyolojik membranların ve iyon kanallarının stabilitesini ve integretisini sağlar, steroid hormonların reseptörlerinin fonksiyon ve yapısında, enzimlerin katalitik bölgelerinde anahtar rolü oynar. Aynı zamanda intraselüler bir düzenleyici olan çinko sebest radikallerle savaşa ve bağışıklık sisteminde önemli roller üstlenmektedir (38).

Çinko iki değerlikli bir katyondur ve d kabuğu 10 d elektronları ile tam doldurulmuştur. Bu elektron konfigürasyonu çinkoya dört önemli özellik kazandırır (39).

- Birincisi d kabuğu elektronlarla tamamen dolu olduğu için herhangi bir geometride kararlılık sağlayacak bir liganta gerek kalmamaktadır. Böylece çinko esnek bir metal olarak proteine bağlandığı zaman onun çeşitli geometrik şekillerine kolayca uyum sağlayabilir.
- İkincisi, çinko atomu sınırda asit (HSAB theory) olduğu için, bazı ligantlarla kuvvetli etkileşime girer. Bunlar arasında; sistenin kükürdü, histidinin azotu, glutamidin oksijeni, aspartat ve su sayılabilir.
- Çinkonun üçüncü özelliği ise redoks aktif olmayışıdır.
- Dördüncü olarak ise çinko kinetik açıdan göreceli olarak kararsızdır ve hızlı bir şekilde ligant değiştirmeleri meydana gelir.

Çinko sahip olduğu bu özellikleri sayesinde biyolojik açıdan nükleik asit veya diğer gen regülatör proteinlerinde yapısal element gibi rol oynar. Redoks aktivitesinin olmayışı nedeni ile bağlandığı proteini dayanıklı hale getirir. Redoks aktif metaller ise, örneğin bakır ve demir RNA ve DNA 'ya kilitlenir; radikal reaksiyonları başlatır ve bu reaksiyonlar nükleik asidin hasara uğramasına neden olur.

Çinko metabolik olaylarda, protein, karbonhidrat, enerji, nükleik asit, lipid ve Hem sentezinde, gen ekspresyonu, doku sentezi, hücre sel sinyal ileti mekanizması ve embriyogenesisde önemli roller üstlenmiştir (40).

Daha önce de değinildiği üzere bu büyük görevleri yüklenen çinko diğer elementlerden farklı olarak ve onu tek (eşsiz=unique) yapan özelliklere sahiptir. Çinko tek oksidasyon basamağında, iki değerlikli bir katyondur. Bu özelliği sayesinde Zn redoks aktivite göstermez yani ne yükseltgenmiş ne de indirgenmiş formu fizyolojik şartlarda mevcuttur.

Bu özelliği sayesinde kararlılığı temin eder, hidroliz ve transferaz söz konusu olmaz. Çinko çok iyi bir elektron alıcısıdır, böylece amino ve karboksil grupları ile bağlanır ve hidroliz olmaz.

Çinko kükürt ve azot atomları ile karalı kompleksler yaparak, protein, steroid ve nükleik asit konformasyonunu biyolojik olarak kararlı halde tutar.

Çinko elementi enzimlerin çoğunda, sinyal transdüksiyonu yolunda, presekretuar polimerlerde, gen transkripsiyon sisteminde önemli görevler üstlenirler (30).

Çinko içeren bazı enzimlerin adı ve fonksiyonları Çizelge 2.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1. Çinko İçeren Bazı Metalloenzimler ve Fonksiyonları (41)

METALLOENZİMİN ADI	FONKSİYONU
Karbonik Anhidraz	CO ₂ ve HCO ₃ metabolizması
Timidin Kinaz	Nükleik asit ve protein sentezi
DNA Polimeraz	Nükleik asit ve protein sentezi
RNA Polimeraz	Nükleik asit ve protein sentezi
Delta Amino Levunilikasit Dehidrataz	Porfirin sentezi
Glutamat Dehidrogenaz	Amino asit deaminasyonu ve üre siklusu
Ornitin Transkarbomilaz	Amino asit deaminasyonu ve üre siklusu
Gliseraldehit-3-fosfat Dehidrogenaz	Glikoz ve glukoneogenez
Laktat Dehidrogenaz	Glikoliz
Alkol ve Retinol Dehidrogenaz	Alkol-retinaldehit dönüşümü
Karboksiptidaz	Protein sindirimi, folat absorpsiyonu
Aminoptidaz	Protein sindirimi, folat absorpsiyonu
Superoksit Dismutaz	Superoksitlerin O ₂ ve H ₂ O ₂ 'e dönüşümü
Alkalen Fosfataz	İntestinal faktör

RNA Sentezinde Çinkonun Rolü

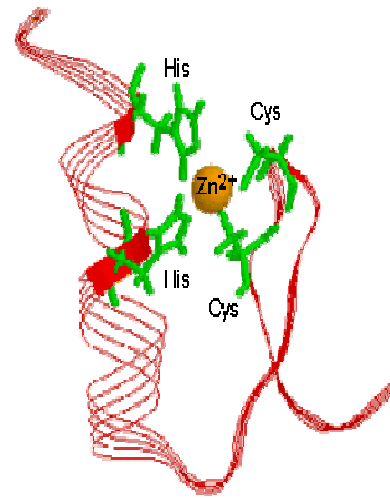
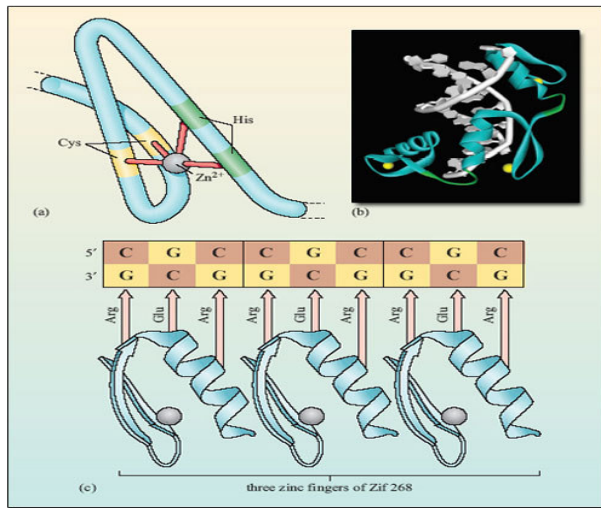
RNA polimeraz, çinko varlığında RNA içindeki dört ribonükleosid topluluğunu kataliz eder. E Coli'nin RNA polimeraz içinde bulunan çinko iyonuna RNA sentezinde başlatma zinciri ve spesifik promotor tanınmasında bir anahtar rolü oynar. Çinko eksikliği hücrenin total RNA içeriğini değiştirmez fakat mRNA sentezinin kompozisyonunu değiştirir. Çinkosu eksik sistemde, proteinler, çinkosu yeterli sistemlere göre ya daha az miktarda bulunur ya da hiç bulunmaz (30).

DNA Sentezinde Çinkonun Rolü

Timidinden deoksitimidin monofosfat (DNA prekürsörü) sentezinde görev alan timidin kinaz enzim aktivitesi için çinkoya gereksinim vardır. Çinko eksikliğinde bu basamaktaki aksaklık konjenital malformasyonlara neden olmaktadır.

Zinc Finger Protein

Çinko bağlayan proteinlerin varlığı uzun zamandan beri bilinmektedir. Çok sayıda enzimin de çinkoyu bağladığı yine araştırmacılar tarafından gösterilmiştir. Yapılan araştırmalar son yıllarda çinko metabolizmasında sorumlu olduğu düşünülen bazı insan genlerinin varlığını ortaya koymuştur. Bu genler metallotiyoneinler, ZNT4 (SLC30A4), ZIP gen ailesi ve Zinc finger proteindir. Zinc finger protein, protein transkripsiyonunda görevli olan TF-III A (transkripsiyon faktör IIIA)'da çinkonun yerleştiği bölgedir. DNA çift heliksinin büyük yarığınaya yerleşir ve DNA bazları ile temasa geçer. Nükleik asitler ve diğer gen regülatör proteinlerde yapısal olarak görev alır. Transisyon metalleri ile gen regülasyonu arasında köprü görevi yapar. Nükleik asit polimeraz ve süperoksit dismutazın yapısında yer alır. DNA bağlanma bölgesine bağlanarak gen regülasyonunda görev alan spesifik gen transkripsiyonunu artırır (30, 42). Zinc finger proteinin yapısı Şekil 2.2 de gösterildiği gibidir.



Şekil 2.2. Zinc finger proteinin yapısı

2. 6. 1. 2. Çinkonun Besinlerde Dağılımı, Biyoyararlılığı ve Günlük İhtiyaç

Besinlerde çinko konsantrasyonu çok geniş sınırlar içinde dağılmıştır. Çinko içeriği bakımından zengin sayılan besin grupları arasında özellikle deniz ürünleri, et ve et ürünleri sayılabilir. Öte yandan tahıl ürünlerinin ve taze sebzelerin çinko içeriği de yadsınamayacak kadar fazladır.

Tavsiye edilen, güvenli ve yeterli alım günde 10-15 mg arasında değişmektedir.

Çinkonun biyoyararlılığını belirlemede diyet önemli bir rol oynar. Fitatlar çinko ile çözünmeyen kompleks oluşturur ve biyoyararlılığı azaltırlar (43). Ortamda Fe ve Cu bulunması çinko absorpsiyonunu azaltır. Hayvansal proteinlerin ise çinkonun biyoyararlılığını arttırdığı bilinmektedir.

Bitkisel besinlerde ve hububatta, örneğin mercimek, mısır ve buğdayda yüksek konsantrasyonda bulunan fosfat bileşikleri ve fitatlar çinkoyu bağlayarak çinko emilimini olumsuz yönde etkiler. Inositol ve hegzafosfat da fosfat grupları katyonlarla (çinko gibi), çözülmez, dayanıklı kompleksler yaparlar ve gastrointestinal traktusda yüksek düzeyde fitaz aktivite olmadığı için fitata bağlanan mineraller feçesle dışarıya atılırlar.

Fosforun %70-%80'i fitin asidi (fitat) formunda bulunur. Tohumda fosfor miktarı arttıkça genel olarak fitin asidi de artar. Fitin asidi çinko ile birleşir. Fitin asidin çinkoya oranı 25-30 üzerine çıkarsa o ürünün besin değeri düşer. Orta Anadolu'da yetiştirilen buğdayların fitik asid/çinko oranı 120'nin üzerindedir. Bu tahıllardaki çinkonun biyolojik yararlılığı çok düşüktür. Bu durumun düzeltilmesi için Zn'lı gübrelerle gübrelemek ve dayanıklı genotiplerin islah edilmesi önerilmektedir.

Gerçekte topraklar çinko yönünden fakir olmayıp, bitkilerin yüzlerce yıllık gereksinimlerini karşılayacak kadar zengindir. Buradaki sorun, toprağın sahip olduğu birtakım fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı bitki köklerinde alınamayıdır.

2. 6. 1. 3. ınko Eksikliği

Hayvanlarda ınko eksikliği 1934 yılında farelerde gösterilmiş biyolojik fonksiyonu ise 1940 yılında karbonik anhidrazın katalitik aktivitesi için çinkoya gereksinim olduğunun saptanması ile ortaya çıkarılmıştır.

İnsanda diyete bağlı ınko eksikliği ise, ilk defa 1963 yılında Dr. Prasad tarafından bildirilmiştir.

İran’da, 1958 yılında Dr. Halsted tarafından izlenen, 21 yaşında olmasına karşın 10 yaşında gibi görünen bir ocukta Dr. Prasad gelişme geriliği, hepatosplenomegali, toprak yeme, demir eksikliği, mental letarji gibi, bazı klinik bulgulardan ınko eksikliğinin sorumlu olabileceğini düşünmüştü.

Bir süre sonra Dr. Prasad Mısır’da 1963 yılında benzer bulguları taşıyan çocuklarda ilk defa kanda ınko lmleri yaparak bu elementin kanda eksik olduğunu göstermiştir. O tarihten sonra, toprak yiyen çocuklarda tanımlanan bu klinik tablo, araştırmacının adı ile ‘Prasad Sendromu’ olarak literatüre geçmiştir.

Oysa toprak yiyen çocuklarda, anemi, gelişme geriliği, dalak, karaciğer büyüklüğünün meydana geldiği daha 1942–1943 yıllarında bir Türk hekimi olan Dr. M. Memduh Tayanç tarafından gözlenmiş ve Türk Tıp Dergisinde yayınlanmıştı. Daha sonraki yıllarda başta Türkiye olmak üzere dünyanın birçok ülkesinde, toprak yemeye bağlı sendromu taşıyan olgular bildirilmiştir (30).

Nutrisiyonel ınko eksikliği dünyanın her yerinde görülebilir. Mısır ve İran’dan sonra Türkiye, Portekiz, Yugoslavya gibi gelişmekte olan ülkelerin çoğunda yapılan yayınlar özellikle marjinal ınko eksikliğinin risk grubunu oluşturan, okul öncesi çocuklar, hamileler ve yaşlılarda yaygın olduğunu göstermiştir.

Bu tip hafif ınko eksikliği, klinik olarak belirgin bir semptom vermediğinden tanısı gttr. Yapılan alışmalar göstermiştir ki yetersiz ınko alımı insanda ve hayvanda fizik, mental ve ayrıca üreme sistemlerinde bozukluklara neden olmaktadır.

Günümüzde ınko eksikliğinde, büyüme-gelişme geriliği, hipogonadizm, hepatosplenomegali, parakeratoz, alopesi, yara iyileşmesinde gecikme, konjenital anomaliler, intrauterin büyüme geriliği, enfeksiyonlara duyarlılıkta artma, bozulmuş nörofizyolojik performans ve koku-tat duyası bozukluğu gibi klinik bulguların ortaya çıktığı bilinmektedir.

Çinkonun insan sağlığındaki rolünün 1963 yılında belirlenmesinden sonra 1974 tarihinde Amerika Ulusal Akademisi Gıda ve Beslenme Konseyi tarafından çinkonun insanlar için esansiyel olduğu kabul edilmiştir.

2. 6. 1. 4. Çinkonun Toksik Etkisi

Endüstride galvanizasyon, cam, vernik, boya, kağıt ve koruyucu materyal yapımında yaygın olarak kullanılan çinko tedavide cilt antiseptiği, astrenjan ve fungusid olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca çinko oksit, çinko peroksit ve çinko permanganat'ın lokal uygulamaya elverişli solüsyon ve pomatlarından da yararlanır.

Çinko bileşikleriyle ağız yolundan zehirlenmelere sık rastlanılmaz. Daha çok endüstride çinko oksit buharlarının solunmasıyla, başlangıçta öksürük, ateş, bulantı, kolinerjik tipte etkiler ve genel bir bitkinlik tablosuyla karakterize belirtiler göze çarpar. Birkaç saat sonra aşırı terleme meydana gelir ve temperatur normale düşer. Hipertermi reaksiyonu, solunan çinko partiküllerinin, pirojen yabancı protein reaksiyonundan ve /veya kan proteinlerini değiştirmesinden ileri gelmektedir.

Ayrıca çinko sülfat toz ve buharlarıyla da akut zehirlenmelere rastlanır. Çocuklarda ve bazen yetişkinlerde sindirim ve solunum yolu iritasyonları, ateş, dispne, bronkospazm, pnömoni ve kollaps gibi belirtilere neden olabilirler (44).

2. 6. 2. Kurşun

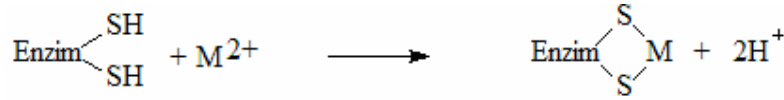
2. 6. 2. 1. Kimyasal ve Biyokimyasal Fonksiyonları

Kurşun, mavimsi gri renkte, atom numarası 82, atom yığını (kütlesi) 207,2, erime noktası 327.46 °C (600.61 ⁰K), kaynama noktası 1749 °C (2022 ⁰K), proton ve elektron sayısı 82, nötron sayısı 125, yoğunluğu 11.340 g/mL olan ağır bir metaldir.

Asetat, nitrat tuzları suda çözüldüğü halde, kurşun sülfat hemen hemen suda çözünmez. Organik kurşun bileşiklerinden alkil kurşun bileşikleri lipofil özellikte olup toksikolojik açıdan önemlidir.

Kurşun, doğada yaygın olarak bulunan, endüstrileşen toplumlarda kentleşme ve sanayileşmenin artması, bunun yanı sıra gerekli önlemlerin aynı hızda alınmaması sonucu, halk sağlığını tehdit eden esansiyel olmayan toksik bir elementtir.

Kurşunun en önemli biyokimyasal etkisi, hem sentezini bozmasıdır. Bu da hematolojik problemlere yol açar. Ağır metal iyonları (Pb²⁺, Hg²⁺, Cd²⁺) çok etkili enzim inhibitörleridir. Metiyonin ve sistein gibi amino asitlerde -SCH₃ ve -SH gruplarına bağlanarak tersinmez reaksiyonlar sonucu kompleksler oluştururlar:



Pb²⁺ iyonu, asetil kolinesteraz, alkalin fosfataz, adenzin trifosfataz, karbonik anhidraz ve sitokrom oksidaz enzimlerini inhibe eder. Hem sentezine etkisi anahtar rolü oynayan enzimleri inhibe etmesinden kaynaklanır. Hem sentezinin ana basamağı δ-aminolevulinik asidin porfobilinojene dönüşme basamağıdır.

Kurşunun ALA-dehidrataz enzimini inhibe etmesi ile porfobilinojene dönüşemeyen δ-amino levulinik asit birikir ve idrarla atılımı artar. Kurşun hem sentezini diğer basamaklarında da baştanbaşa inhibe eder. Bunun sonucunda hemoglobin sentezi ve hemin gereksinimi olan sitokromlar gibi diğer solunum pigmentlerinin sentezi bozulur. Aynı zamanda yaşam için enerji üreten oksijen ve glukozun kullanımını da engeller.

Manahan (1984)'a göre kurşunun beyin ve sinir hücreleri üzerine biyokimyasal etkisinin nasıl olduğu çok iyi bilinmemekte ve halen araştırılmaktadır. Ancak kurşun zehirlenmesinde ortaya çıkan belirtiler yorgunluk, konvulziyona (çırpınma, sara nöbeti) bağlı baş ağrısı, crebral palsy (beyin felci), körlük ve zekada gerilik şeklinde kendini göstermektedir. Böbreklere etkisi ise, idrarla atılmadan önce böbrekler tarafından absorplanan glukoz, fosfataz ve amino asitlerin metabolik prosesini inhibe etmek şeklindedir. Kurşunun merkezi sinir sistemi üzerine etkisi yaşa ve kurşunla zehirlenmenin şekline bağlıdır. İnorganik kurşuna kronik ve subkronik maruz kalma sonucu “kurşun ensefalopatisi” görülür. Kurşun ensefalopatisinin başlıca belirtileri karamsarlık, sinirlilik, huzursuzluk, baş ağrıları, kas titremesi, adalelerde koordinasyon bozukluğu ve hafıza kaybıdır. Bu belirtiler konvülziyonlara, komaya ve ölüme kadar gidebilir. Kurşunun kan beyin engelini geçerek, kalsiyumla yarışmalı olarak beyne yerleştiği gösterilmiştir. Burada kurşunun beyin enerji metabolizması, büyüme ve gelişme hızı ile ilgili enzimleri inhibe ederek etkisini gösterdiği ileri sürülmektedir. Çocuklar ve zenci ırkı kurşun ensefalopatisisine daha duyarlıdırlar.

2. 6. 2. 2. Kurşun Kaynakları

Günümüzde, kurşun ve bileşikleri başlıca boya, akümülatör, seramik, porselen, vulkanize kauçuk, metal alaşımları (matbaa dizgisi, lehim, bronz gibi), kurşun boru yapımında, vuruntuyu önlemek için benzin katkı maddesi olarak (alkil kurşun bileşikleri), plastifiyan, çocuk oyuncakları elektronik iletkenler, lastik, lehim, kabloların örtülmesinde, çatı yapımında, yiyecek muhafazalarında, böcek öldürücü ilaçların yapımında, pillerde ve mermi çekirdekleri yapımında kullanılmaktadır .

Yakın çevrede en önemli kurşun kaynağı benzine katılan tetraetil kurşun veya tetrametil kurşundur. Benzine katılan kurşun miktarı 130 mg/L (ABD) ile 400 mg/L (İsviçre) arasında değişmektedir. Türkiye’de süper benzine 400 mg/L, normal benzine ise 150 mg/L kurşun katılmaktadır. Benzine katılan bu bileşikler, yanma sonucu eksoz gazlarıyla havaya kurşun halojenürler, kurşun oksit, kurşun oksit karbonat şeklinde yayılırlar. Trafik yoğun olduğu şehir havasında kurşun miktarı 1–10 µg/m³ ve hatta

daha yüksek konsantrasyonda olabilir. Katı ve sıvı yakıtlar da cinsine bağılı olarak, havaya kurşun verebilir. Ancak bu egzoz gazlarının yanında ikinci derecede kalır.

2. 6. 2. 3. Kurşunun Toksik Etkisi

Kurşun ve tuzlarıyla akut zehirlenmeler sık görülmez. Ancak kronik kurşun zehirlenmeleri toksikolojisi önemlidir. Sindirim yolundan organizmaya giren kurşun bileşiklerinin çoğu mide asidinin etkisiyle absorpsiyonu güç bileşikler oluşturduğundan %5-10 oranında emilirler ve bu yolla daha çok kronik kurşun zehirlenmeleri ve gastro-enterit meydana gelir. Toz ve buhar şeklindeki bileşiklerin solunmasıyla kolayca absorbe olup kana geçebilir.

Dolaşımında kurşun büyük ölçüde kırmızı kan hücrelerine (% 80–90) az bir kısmı da plazma proteinlerine bağlanır. Organizmaya giren kurşun karaciğer, dalak, kemik iliği, böbrekler, kas, santral sinir sistemi ve keratinize yapılar gibi çeşitli organ ve dokularda birikir. Daha sonra buralardan serbest hale geçen kurşun kalsiyum bağımlı olarak kemik dokusunda (kurşun fosfat) birikir. Kronik zehirlenmelerde serum yanında karaciğer ve böbrek gibi organlarda da analitik kurşun saptanması yapılabilir. Serbest kurşunun vücuttan atılımı feçes (dışkı) ve böbrekler yoluyla olur. Mesleki olarak kurşunla temas etmeyen kişilerin de kan ve idrarlarında bir miktar kurşun bulunur. Bu, besin ya da ağız yoluyla alınan kurşunla, yakıt olarak kurşunlu benzin kullanan taşıt araçlarının eksozlarından çıkan kurşunun solunum yoluyla vücuda alınması ile olur. Ayrıca eksoz gazlarından ortama yayılan kurşun, toprağa geçerek su ve yiyeceklerdeki kurşun miktarını artırır. Bitkisel kaynaklı besinlerde yetiştiği toprağa bağılı olarak kurşun miktarı 0-2.5 mg/kg, balık ve deniz ürünlerinde 0.2-2.5 mg/kg, et ve yumurtada 0-3.7 mg/kg kadar kurşun bulunur. Endüstride havada kurşun için eşik limit değer 0.2 mg/m³; normal hava kirliliği standardı ise 5 µg/m³'tür. Besinlerde en fazla 7 mg/m³, sitruz meyveleri için ise en çok 1 ppm'e müsaade edilmektedir. İçme suları standardına göre Türkiye'de en fazla 0.05 ppm, Su Ürünleri Tüzüğü'ne göre akarsularda en fazla 0.5 ppm olmalıdır.

Suda çözünen inorganik kurşun tuzlarının akut öldürücü dozları 20 g, maksimum limit değer ise, 10 g/70 kg insandır. Suda az çözünenler (kurşun karbonat gibi) için

öldürücü doz 30 g'dır. Günde devamlı 2 mg kurşun emilimi haftalar sonra kronik zehirlenmeye neden olabilir. Tetraetil ve tetrametil kurşunun havadaki müsaade edilen en yüksek konsantrasyon değeri 0.075 ppm'dir.

Sindirim yolundan organizmaya giren kurşun bileşiklerinin çoğu mide asidinin etkisiyle absorpsiyonu güç bileşikler oluşturduğundan ve %5–10 oranında emildiklerinden bu yolla daha çok kronik kurşun zehirlenmeleri ve gastro-enterit meydana gelir. Toz ve buhar şeklindeki bileşiklerin solunmasıyla kolayca absorbe olup kana geçebilir.

Kurşun uzun süre organizmada kalabilen bir maddedir. Biyolojik yarı ömrü 700–800 gün kadardır.

Alkaliler, özellikle kalsiyum tuzları kurşunun kemik dokusunda inert tersiyer kurşun şeklinde depolanmasına neden olur. Organizmada kurşunun koenzim-A inhibisyonu sonucu glisinin globulin ile birleşmesini engelleyip hemogloblin sentezini bozduğu bildirilmektedir (45).

2. 7. NUMUNE PARÇALAMA YÖNTEMLERİ

2. 7. 1. İnorganik Asitlerle Parçalama

Bu yöntem aynı zamanda yaş kül etme yöntemi olarak da adlandırılabilir. Bunun nedeni sıvı reaktiflerin kullanılıyor olmasıdır. Yaş kül etme yönteminde organik numuneler HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4 gibi asitlerle ayrı olarak parçalanacağı gibi bu asitlerin karışımı yükseltgen reaktiflerle parçalanması da söz konusudur. Bir ısıtıcı yardımıyla numunenin asitteki süspansiyonu katı faz kayboluncaya kadar ısıtılır. Parçalanma sıcaklığı asitin kaynama noktasıdır (46).

2. 7. 1. 1. Hidroklorik Asit

Bu asitin yüksek konsantrasyonları organik maddelerin parçalanmasında sınırlı olarak uygulanabilmesine karşın inorganik maddeler için ideal bir çözücüdür. Bu asit aynı zamanda bazı iyonları indirgemek için de kullanılır.

2. 7. 1. 2. Nitrik Asit

Nitrik asit ile parçalama organik numunelerin eser element içeriklerinin tayininden önce yaygın olarak kullanılır. Bu asit çözünürleştirme işlemi için tek başına kullanıldığı gibi diğer asitlerle karışım oluşturarak da kullanılabilir.

2. 7. 1. 3. Perklorik Asit

Çok etkin bir yükseltgen maddedir. Derişik perklorik asitin sıcak çözeltilisinin organik asitlerle veya kolay yükseltgenen inorganik maddelerle teması halinde patlayıcı özelliği olması nedeni ile özel yapım çeker ocakta hazırlanmalıdır.

2. 7. 1. 4. Sülfürik Asit

Sıcak derişik sülfürik asitte çok sayıda madde yükseltgenerek parçalanabilmektedir. Bunun nedeni sülfürik asitin sahip olduğu yüksek kaynama noktasıdır.

2. 7. 1. 5. Hidroflorik Asit

Hidroflorik asit silikat bileşiklerinin parçalanmasında çok kullanışlı olmasına rağmen parçalanma sonrasında ortamda kalan fazla hidroflorik asitin uzaklaştırılması uzun zaman alan ve oldukça zahmetli olan bir iştir. Ortamda kalan aşırı hidroflorik asit H_2SO_4 ve $HClO_4$ ile uçurular. Ayrıca hidroflorik asit toksik özellikte olduğu için bu işlemler çeker ocakta yapılmalıdır.

2. 7. 1. 6. Yükseltgen Karışımlar

Numune çözme işlemlerini daha hızlı hale getirebilmek için bazı asitlerin karışımları hazırlanabilir veya kuvvetli aside yükseltgen maddeler ilave edilebilir. Örneğin çok iyi bir çözücü olan kral suyu 3 hacim hidroklorik asit ile 1 hacim nitrik asitin karıştırılması ile elde edilir. Brom veya hidrojen peroksidin asitlere eklenmesi de organik maddelerin yükseltgenmesini hızlandırarak çözücü etkiyi artırır. Bu şekilde hazırlanacak çözeltilerin bir başka yararı da tek başınayken patlama tehlikesi olan asitlerin bu özelliğinin azaltılabilesidir.

2. 7. 2. Yakma Yöntemleri

2. 7. 2. 1. Kuru Kül Etme

Organik maddelerin parçalanması işleminde kullanılan en basit ve yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Tayin edilecek elementi içeren numune bir kapsül ya da kroze içine konularak kül fırınında yakılır. Yapıda bulunan bütün karbonlu maddeler karbon dioksite yükseltgeninceye kadar ısıtma işlemi sürdürülür.

Bu yöntem basit olmasına rağmen çok hassas değildir. Uçucu olmayan bileşikler katı halde kalır ve hesaplamalarda hatalara neden olur. Bunun yanında uçucu bileşik oluşması durumunda da sorunlar çıkabilir. Bu da analizi yapılacak elementinde diğer uçucu bileşenlerle beraber buharlaşma tehlikesidir.

2. 7. 2. 2. Sızdırmaz Bir Kap İçerisinde Oksijenle Yakma

Kuru kül etme metodu gibi basit bir yöntemdir bunun yanında bu yöntemle daha iyi sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu yöntemde numune sızdırmaz bir kaptaki oksijen ile yakılır. Reaksiyon kabı açılmadan önce yanma reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan ürünlerin uygun bir çözücü içinde absorplanması sağlanır. Son olarak bu maddeler uygun yöntemler kullanılarak analiz edilir. Bu yöntem kolay uygulanabiliyor olması nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir.

2. 7. 2. 3. Yakma Tüpü Yöntemi

Organik birçok maddenin analizi genellikle oksijenle yakmak suretiyle gerçekleştirilir. Yalnız böyle bir işlemde en önemli sorun uçucu bileşiklerin kantitatif analizinin zor olmasıdır. Numunedeki bileşenlerin uçucu hale gelerek kaybolmasını önlemek amacıyla uçucu bileşenleri tutabilen aletler üretilmiştir. Yaygın olarak cam veya kuvars yakma tüpü ısıtma amaçlı olarak kullanılır. Geçirilen gaz karbon, oksijen, hidrojen, kükürt ve halojenlerle yükseltgen olarak etkir. Sağlanan gaz akımıyla uçucu bileşenler cihazın ölçme ile ilgili kısmına gelir. Böylelikle uçucu bileşenlerin miktarı tespit edilir. Bu aletlerin kullanımı kolay ve analiz süresi oldukça kısadır.

2. 7. 3. Eritiş ile Parçalama

Eritiş hazırlamak suretiyle birçok inorganik maddenin parçalanması mümkündür. Bazı mineral alaşımları, silikatlar ve birkaç demir alaşımı sıvı reaktiflerden yavaş etkilendiği için bu maddeleri çözebilmek için eritiş maddelerine ihtiyaç vardır. Eritiş maddesi bir alkali metal tuzu ile karıştırılır. Sonra bu karışım suda çözülür. Örneğin CaCO_3 ve NH_4Cl karışımı ısıtıldığında, CaO ve CaCl_2 oluşur; bunlar silikatları parçalayabilirler. Yüksek sıcaklıkta hazırlandıklarından ve konsantrasyonları büyük olduğundan dolayı eritişler birçok maddeyi parçalama özelliğine sahiptir.

Eritiş kullanımı genelde bir yaş çözme işleminden sonra olur. Yani öncelikle numune bir sıvı reaktifle muamele edilerek numunenin çözülmesi sağlanır. Sonra çözünmeden kalan kalıntı süzülerek ayrılır. Nihayetinde bu katı ile bir eritiş maddesi muamele edilir. Karışım soğutulduktan sonra eriyik çözülür ve numunenin esas çözücüyle birleştirilir.

2. 7. 3. 1. Eritiş Çeşitleri

Eritiş maddesi olarak genellikle alkali metal bileşikleri kullanılır. Eritişler; asidik, bazik ve yükseltgen eritişler şeklinde ayrılabilirler. Asidik maddeler etki eden bazik eritişler karbonatlar, boratlar, hidroksitler ve peroksitlerdir. Borik oksit, asit florürler ve pirosülfatlar ise asidik eritişlerdir. Yükseltgen özellikte bir eritiş olarak ise sodyum peroksit ya da az miktarda alkali nitrat ve kloratları Na_2CO_3 ile karıştırılmasıyla oluşan karışım kullanılabilir.

2. 7. 4. Mikrodalga ile Parçalama

Hem organik hem de inorganik maddelerin parçalanabildiği bir yöntem olan mikrodalga ile parçalama diğer yöntemlere kıyasla daha yeni bir yöntemdir. Bu parçalama işlemi hem açık hem de kapalı kapta yapılabilir. Ancak yüksek basınç ve sıcaklık elde edilebilmesi bakımından kapalı kaplar daha çok tercih edilmektedir.

Kapalı kapların yüksek basınç ve sıcaklık sağlaması dışındaki bir diğer avantajı da buharlaşma kayıplarının önüne geçilebilmesidir. Burada az miktarda kullanılan reaktif parçalama içi için yeterli olmaktadır. Böylece reaktiften gelen kirlenmelerinde önüne geçilebilir. Ayrıca böyle bir analiz kolaylıkla otomatik hale getirilerek zamandan tasarruf edilebilir.

Mikrodalga ile parçalama metodu son derece hızlı yapılabilen bir yöntemdir. Diğer yöntemler saatler süren bir parçalama işlemi bu yöntemle çok kısa sürede gerçekleştirilebilir. Bu üstünlüğü sağlayan, enerjinin çözelti moleküllerine diğer yöntemlerden farklı olan bir mekanizma üzerinden aktarılmasıdır. Bu da mikrodalga kap hiç ısıtılmadan enerji aktarımı yapılabilirken diğerlerinde bir ısı iletiminin sağlanması için beklenmesi zorunluluğundan olur.

2. 7. 5. Bazik Ortamda TMAH (tetrametilamonyumhidroksit) ile Parçalama

Tetrametilamonyumhidroksit (TMAH) çözümlendirme işleminde de kullanılan üçüncül amin kuvvetli bir bazdır.

Biyolojik materyallerden örnek hazırlama da materyali çözmek için alternatif bir yaklaşım olarak kuvvetli bir baz olan TMAH'nin genelde sudaki çözeltisi kullanılır. Son zamanlarda TMAH doku çözücüsü (tissue solubilizer) olarak adlandırılmaktadır. Atomik absorpsiyon spektrofotometrisi ile yapılan major, minor ya da inorganik eser elementlerin analizinde çözücü olarak kullanılmaktadır.

Analitik yöntemlerde örnek hazırlama basamağı son derece önemli ve kritik bir süreçtir. Son zamanlarda ortaya konan büyük gelişmeler olmasına rağmen daha hassas analitik ölçümler için çalışmalar hala devam etmektedir.

Kimyasal formülü $(CH_3)_4NOH$ şeklinde olan tetra metil amonyum hidroksit kuvvetli bir bazdır (pH 13.4– 14.7). Ticari olarak 25% m/v suda, 25% m/v metanolde, ya da 10% m/v suda formlarına ulaşmak mümkündür. Tetra metil amonyum hidroksit çözeltilerinin farklı formlarına Carlo Erba (İtalya), Fluka (İsviçre), Merck (Almanya), Riedel-de-Haën (Almanya), Sigma- Aldrich (ABD) ve Tama Chemicals (Japonya) gibi birçok şirket tarafından satışa sunulmaktadır (47).

Çalışmamızda kullandığımız TMAH, 1973'li yıllarda hayvan dokularının çözümlendirilmesinde kullanılmıştır. Murthy ve arkadaşları farelerin karaciğer, böbrek ve saç gibi dokularının homojenize edilmesi için TMAH'yi kullanmışlardır.

Aynı yıllarda Julshamn ve Andersen yaptıkları çalışmada kas dokusunda Al, Cd, Cu, ve Mn tayini için TMAH'nin toluendeki çözeltisini kullanmışlardır.

Araştırmacıların vardığı ortak nokta; TMAH ile çözümlendirmenin, kuvvetli asitlerin kullanıldığı geleneksel yöntemlerle kıyasla özellikle küçük biyolojik materyallerle çalışıldığında çok daha uygun bir yöntem olduğudur.

Reaktif oda sıcaklığında kararlı, renksiz ve genelde sulu çözeltisi halinde bulunur. Tetrametil amonyum hidrosit reaktifinin toksisitesi hakkında çok geniş bilgi olmamasına rağmen korozif etkisi bilinmektedir. Ayrıca göz ve deri yanıklarına neden olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca bu reaktif solunduğunda veya yutulduğunda ölümcül sonuçlara neden olmaktadır (48).

TMAH ile çözümlendirme işlemlerinde yüksek sıcaklık veya basınca gerek duyulmaması nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir.

2. 8. Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi ve Kuramsal Temelleri

2. 8. 1. Tarihçe

Modern spektroskopinin temelleri Newton'un 1666 yılında bir cam prizmadan geçirdiği güneş ışığının, renklere ayrılmasını gözlemesi ile atılmıştır. Atomik absorpsiyon kavramı ise ilk defa 1802 yılında Wollaston tarafından Newton'un yaptığı deneyleri tekrarlayarak güneş spektrumunun bazı siyah hatlarını gözlemesi ile ortaya çıkmıştır.

Daha sonra, optik malzeme ve astronomideki gelişmelerin yardımı ile 1814 yılında Joseph Fraunhofer en basit spektroskopu oluşturmuştur. Böylece güneş spektrumunda kendi adı ile anılan pek çok hattı gözlemleyebilmiştir.

Kirchhoff ve Bunsen, alkali ve toprak alkali metallerin spektrumları üzerinde yaptıkları sistematik çalışmalar sonucu, absorpsiyon olayının prensiplerini ortaya koymuşlardır. Alev ortamında sodyum tuzlarından yayılan tipik sarı ışının, güneş spektrumundaki siyah D çizgisi ile aynı olduğunu ispatlamışlardır (49)

Kirchhoff, emisyon ve absorpsiyon arasındaki ilişkiyi incelemiş ve "herhangi bir madde hangi dalga boyunda ışınlar yayarsa, aynı dalga boyundaki ışınları absorplar" şeklinde ifade edilen ve kendi adıyla bilinen kuralı ortaya koymuştur. 1900 yılında Planck, atomların belirli miktarlarda enerji absorplayarak veya yayarak sadece belirli dalga boylarında absorpsiyon veya emisyon yaptıklarını kanıtlamış ve bununla kuantum yasasının esasını ortaya koymuştur.

Kirchhoff'un çalışmalarından sonra atomik absorpsiyondan yararlanılarak bazı çalışmalar yapılmasına rağmen yöntemin tam anlamıyla uygulanması ancak 1955 yılında olmuştur.

Bu konuda yürüttükleri çalışmalarla Walsh, Alkemade ve Milatz 1955 yılında atomik absorpsiyon spektroskopisinin temel bir analitik yöntem olduğunu yayınlarında göstermişlerdir.

Bu çalışmalarda tayin edilecek elementin bir çözeltisi alev püskürtülmüş ve aynı elementin spektrumunu yayan bir ışık kaynağı kullanılarak başlangıçtaki ışık şiddeti ile absorbe edilemeyen ışık şiddetleri arasındaki oran ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar

standart çözeltilerin sonuçları ile karşılaştırılıp bilinmeyen derişim bu yolla hesaplanmıştır (49).

İlk ticari AAS cihazı, 1960 yılında piyasaya sunulmuş ve günümüze kadar birçok modeli geliştirilmiştir. Alevli atomik absorpsiyon spektrometrelerinin tayin sınırlarının eser elementlerin tayini için yeterli olmaması ve alevli atomlaştırıcıların bazı yetersizliklerinin olması üzerine L'vov ve Massmann'ın çalışmaları neticesi grafit fırınlı atomlaştırıcılar, Holak tarafından da hidrür oluşturmali atomlaştırıcılar geliştirilmiştir.

Günümüzde kullanılan cihazların çoğunda alevli, grafit fırınlı ve hidrür oluşturmali atomlaştırıcılar birlikte bulunmakta ve analiz edilecek örneğin özelliklerine ve analiz elementinin derişimine bağılı olarak atomlaştırıcı seçilmektedir.

2. 8. 2. Temel Kurallar

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, gaz fazındaki serbest atomların üzerlerine düşen ışınları absorplaması esasına dayanır. E_0 temel enerji seviyesindeki bir atom, $h\nu$ enerjili bir foton absorplarsa, E_i uyarılmış enerji seviyesine geçer. Bu olaya atomun uyarılması denir (50).

Kuantum teorisine göre $h\nu$ enerjili bir ışının atom tarafından absorplanması sonucu atomun temel enerji seviyesindeki elektronları daha yüksek hale geçerek uyarılır. Elektronik seviyeler arasındaki enerji farkı veya geçiş enerjisi Planck eşitliğiyle verilir.

$$E_i - E_0 = h\nu = h \frac{c}{\lambda}$$

Burada;

h : Planck sabiti, $6,626 \cdot 10^{-34}$ J s

c : Işık hızı, $3,00 \cdot 10^8$ m/s

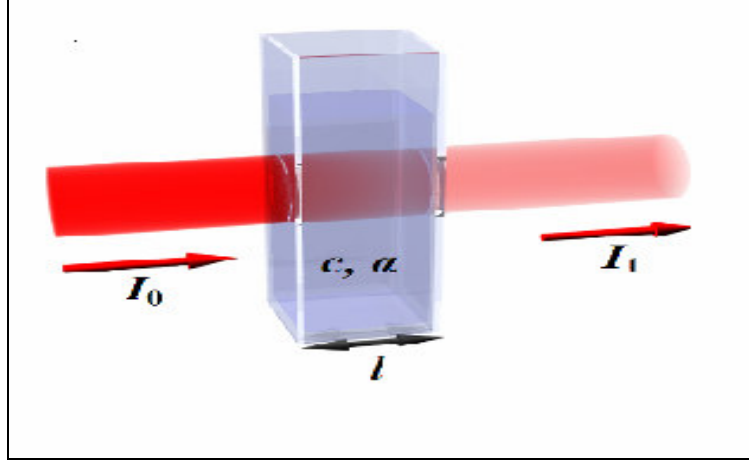
ν : Absorplanan ışının frekansı, s^{-1}

λ : Absorplanan ışının dalga boyu, m dir.

Buna göre bir atomun absorpsiyon yapması için, temel ve uyarılmış seviyeler arasındaki enerji farkına denk enerjiye sahip bir ışın ile karşılaşması gerekir.

2.8.2.1 Beer Yasası

Moleküler veya atomik absorpsiyon, belirli bir 'l birim ışın yoluna sahip, ışın geçirgenliği olan bir ortamda, 'c' konsantrasyonda bulunan analit (moleküler veya atomik) taneciklerinin ışın kaynağından gelen ışının bir kısmını tutmasıdır. Analit konsantrasyonu ile ışın şiddetindeki azalma Şekil 2.3' de gösterildiği gibidir.



Şekil 2.3. Analit konsantrasyonu ile ışın şiddetindeki azalma

Beer yasasının matematiksel gösterimi: $A = -\log T = \log(I_0/I) = \epsilon l c$

şeklindedir.

- A: Absorbans
- T: Geçirgenlik
- I_0 : Başlangıç ışın şiddeti
- I: Son ışın şiddeti
- ϵ : Molar absorptivite
- l: Işık yolu
- c: Konsantrasyon

Absorbans, ışının geçtiği tabakanın kalınlığına ve absorplayan maddenin derişimine bağlıdır. Absorptivite katsayısı ise dalga boyuna ve absorplayan maddenin cinsine bağlı bir sabittir.

Atomik absorpsiyon spektrometrisi, elementlerin kantitatif tayininde sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntemde, elementleri ölçülebilir hale getirebilmek için ısı enerjisi kullanılır. Isı enerjisi yardımıyla numune içerisindeki analit atomlarına ayırır. Genel olarak alev ve elektrotermal atomlaştırma teknikleri kullanılır. Bunlara ek olarak hidrür atomlaştırma tekniği de bazı elementler için tercih edilen bir yöntemdir.

2.8.3. Atomik Absorpsiyon Spektrometreleri

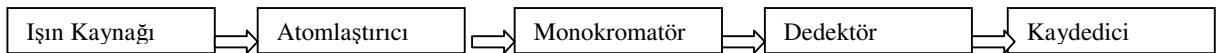
Atomik absorpsiyon spektrometrelerinde, atomlaştırılan tayin elementi üzerine onun absorplayacağı ışın gönderilerek, atomlaştırıcıya gelen ve geçen ışın şiddetlerinin oranı ölçülür. Bu işlemler için kullanılan bütün atomik absorpsiyon spektrometreleri temelde aynı bileşenlere sahiptir. Atomik absorpsiyonun ölçülmesinde kullanılan spektrometreler, esas olarak;

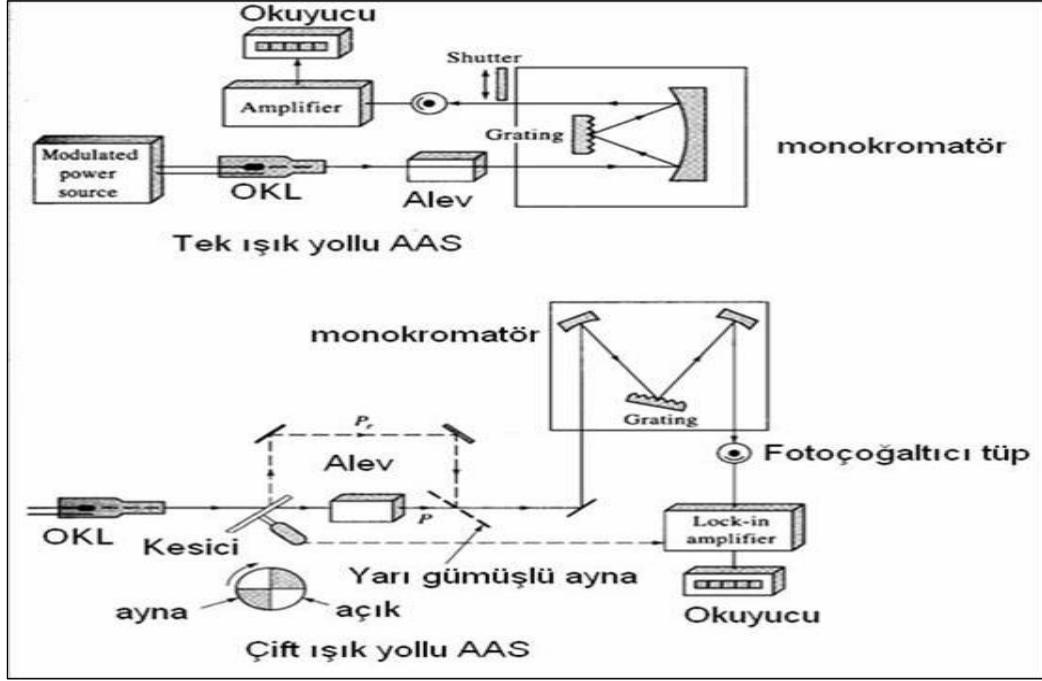
- Atomlar tarafından absorplanacak ışınları yayan ışın kaynağı,
- Deney numunesinden serbest atomların oluşmasını sağlayan atomlaştırıcı,
- Dalga boyu seçicisi (monokromatör),
- Işın sinyallerini algılayan ve elektrik akımına dönüştüren elektronik devreler

(dedektörler),

- Bilgisayar vb. yardımcı donanımdan meydana gelir.

Atomik absorpsiyon spektroskopisinin yukarıdaki bileşenlerden oluşan şeması aşağıdaki gibidir:





Şekil 2.4. Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrisi

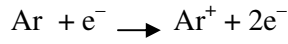
2.8.4 Işın Kaynakları

AAS de ışın kaynaklarının görevi numunedeki atomların absorplayacağı dalgaboyundaki ışınları yaymaktır. Dar çizgiler hem absorpsiyonda hem de emisyonunda tercih edilir. Çünkü dar çizgiler spektrumların örtüşmesinden kaynaklanan girişimi azaltır. Elementler çok dar dalga boyu aralığında ($\sim 0,002$ nm) absorpsiyon yaparlar. Bu nedenle absorpsiyon hattından daha dar emisyon hattı veren bir kaynak kullanılmalıdır. Hidrojen ve tungsten lambası gibi sürekli ışın kaynağı kullanılmasıyla ölçülen absorbans çok küçük olur. Çünkü sürekli ışık kaynakları belli bir aralıkta her dalga boyunda ışın yayarlar. Ve bu ışınların çok azı dar absorpsiyon hatlı atom tarafından absorplanabilir (51).

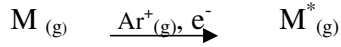
2.8.4.1 Oyuk Katot Lambaları

Atomik absorpsiyon ölçümleri için en yaygın kaynak oyuk katot lambalarıdır. Bu tip lambalar 1-5 torr basınçta argon veya neon ile doldurulmuş bir cam tüp içinde, bir tarafı kapalı silindirik bir katot ve bir tungsten anottan ibarettir.

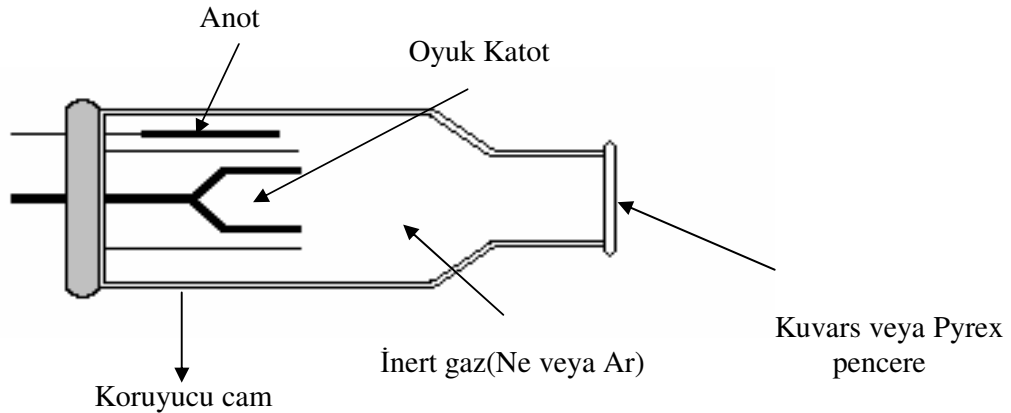
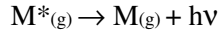
Elektrotlar arasına, 300 V civarında gerilim ve 5-15 mA arasında akım uygulandığında ortamda asal gazlara ait iyonlar oluşur.



Ar^+ iyonları gerilim altında hızlanarak katoda çarpar ve katot metalinden serbest gaz atomlarını oluştururlar. Böylece, lamba içinde bir atomik bulut oluşur. Atomik buluttaki metal atomlarının bir kısmı, iyon ve elektronlarla çarpışarak uyarılırlar.



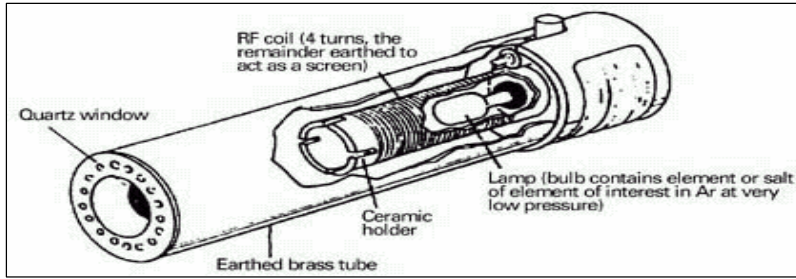
Uyarılmış atomlar temel seviyeye dönerlerken karakteristik (rezonans) ışınlarını yayarlar. Katottan ayrılan metal atomları tekrar katot yüzeyine veya cam yüzeyine dönerler. Şekil 2.5 oyuk katot lambasının şematik gösterimidir.



Şekil 2.5. Oyuk katot lambası

2.8.4.2 Elektrotsuz Boşalım Lambaları

Elektrotsuz boşalım lambaları, ilgilenilen metalin küçük bir miktarını ve birkaç torr basınçta Ar gibi inert bir gazı içeren kapalı kuvars veya cam tüpten meydana gelmiştir. Tüp yüksek frekans altında yerleştirilir. Alan etkisiyle asal gazda boşalım sağlanır. Boşalımla oluşan elektronlar element atomlarıyla çarpışarak uyarma gerçekleşir. Bu tür lambaların emisyon şiddetlerinin yüksek ve Doppler genişlemesinin küçük olması, ayrıca, kararlı boşalım vermesi ve vakum UV bölgede kullanılabilmesi gibi bazı üstünlükleri vardır (51).



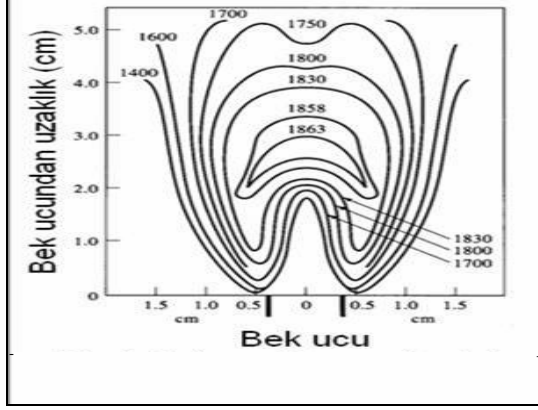
Şekil 2.6. Elektrotsuz boşalım lambası

2.8.5 Atomlaştırıcılar

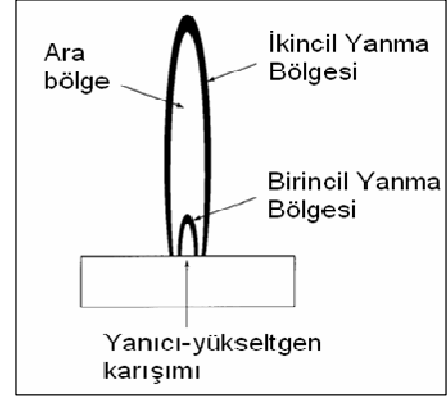
Absorpsiyon hücresi olarak da adlandırılan atomlaştırıcının görevi, örnekteki iyonlardan ve moleküllerden analit elementinin temel haldeki atom buharını oluşturmaktır. Bu amaçla alev atomlaştırma, elektrotermal atomlaştırma veya hidrür oluşturmaları (cıva için soğuk buhar sistemi) yöntemler kullanılır (52).

2.8.5.1 Alev Atomlaştırma

Bir alev atomlaştırıcıda, atomlaşmanın olduğu alev içine numune çözeltisi yanıcı gaz ile karışan yükseltgen gaz akışıyla taşınır ve püskürtülür. İlk olarak çözücü buharlaşır ve çok ince dağılmış bir moleküler aerosol oluşur. Sonra bu moleküllerin çoğunun ayrışması sonucu atomik gaz oluşur. Bu şekilde oluşan atomlar karakteristik dalga boylarındaki ışığı absorblayabilirler.



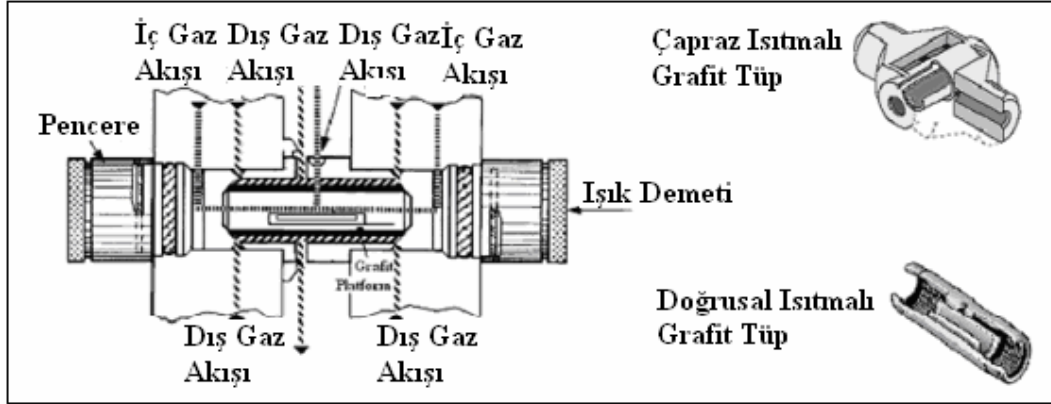
Şekil 2.7. Doğal gaz / hava alevinin sıcaklık profili



Şekil 2.8. Bir alevin bölgeleri

2.8.5.2 Elektrotermal Atomlaştırıcılar

Elektrotermal atomlaştırıcılarda grafit tüp iç yüzeyinde veya grafit platform yüzeyinde, elektriksel olarak ısıtılmak suretiyle, numunenin 10 – 20 μL ' si önce kurutulur ve sonra kül edilir. Külleme aşamasından sonra yaklaşık 2000 – 3000 $^{\circ}\text{C}$ ' ye yükselen sıcaklık ile numune atomlarına ayrışır. Elektrotermal atomlaştırıcılar, kısa sürede tüm numunenin atomlaştırılması ve optik yolda atomların ortalama kalma sürelerinin bir saniye veya daha fazla olması sebebiyle hassasiyette artış sağlar.



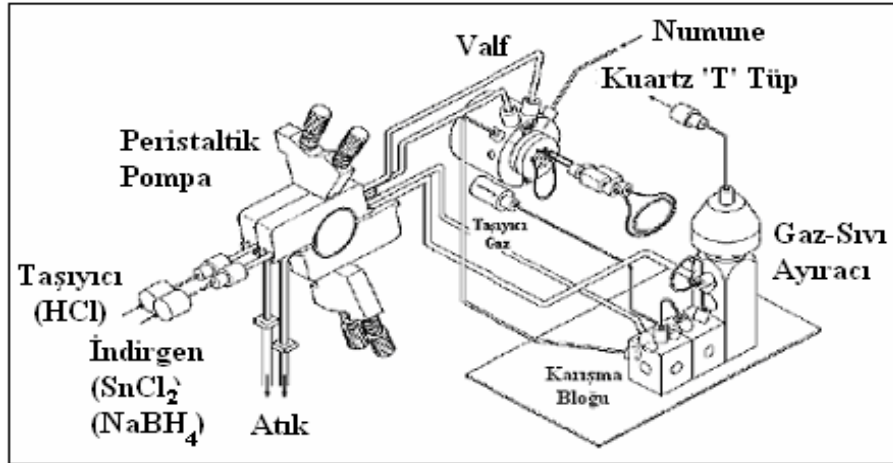
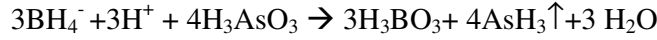
Şekil 2.9. Elektrotermal atomlaştırıcı ve grafit tüpün yapısı

2.8.5.3 Soğuk Buhar Yöntemi

Cıva oda sıcaklığında bile buharlaşabilen tek metaldir. Çünkü cıva, düşük sıcaklıklarda yeterli buhar basıncına sahip olan tek metalik elementtir. Bu yüzden atomlaşması için atomlaştırıcıya dışarıdan ısı enerjisi verilmesi gerekmez. Bu nedenle özellikle cıva analizi için soğuk buhar yöntemi olarak bilinen bir atomlaştırma yöntemi geliştirilmiştir. Cıva analizi yapılacak çözeltilere Sn^{+2} eklenerek metalik hale indirgenir. Cıva gaz akımıyla absorpsiyon hücresine gönderilir.

2.8.5.4 Hidrür Tekniği

Hidrür oluşum tekniği As, Sb, Sn, Se, Bi ve Pb gibi element çözeltilerine asidik ortamda NaBH_4 ilavesiyle uçucu hidrürlerine dönüştürülür ve oluşan hidrürler bu şekilde atomlaştırıcıya gönderilir. Bu işlem, bu elementler için gözlenebilir sınırları 10 veya 100 kat azaltır. Bu elementlerin oldukça toksik olmaları sebebiyle düşük derişimlerinin tayininde hidrür atomlaştırıcılar kullanılır.



Şekil 2.10. Hidrür atomlaştırıcı için kullanılan akışenjeksiyon sistemi

2.8.6 Monokromatör

Işın kaynaklarından tek dalga boylu ışınlar gelmesine rağmen, atomlaştırıcı ortamında birden fazla dalga boyunda ışınlar meydana gelmektedir. Bu nedenle atomlaştırıcıdan sonra tayin elementi hattının diğer hatlardan ayrılması gerekmektedir. Bu amaçla AAS cihazlarında monokromatör adı verilen ve prizma veya optik ağ içeren düzenekler kullanılmaktadır.

Atomik absorpsiyon spektrometrelerinde spektral hatların ayrılması sadece monokromatöre bağlı olmayıp ışın kaynağının emisyon hattı genişliğine (yaklaşık 0,002 nm) ve tayin elementinin rezonans absorpsiyon hattı genişliğine (yaklaşık 0,005 nm) bağlıdır. Yapılan araştırmalardan spektrumu en karmaşık elementler için bile, 0,2 nm ayıricılığa sahip monokromatörlerin atomik absorpsiyon spektroskopisi için yeterli olduğu görülmüştür.

2.8.7 Alıcı ve Kaydediciler

Atomik absorpsiyon spektrometrelerinde ışık sinyalini elektrik sinyaline çevirmek için fotoçoğaltıcılar kullanılır. Fotoçoğaltıcı tüpler, ışığa duyarlı bir katot (fotokatot), oluşan gerilimi artıran emisyon katotları (dinotlar) ve anottan ibaret bir vakum fotoselidir. Monokromatörden gelen bir foton fotokatot yüzeyine çarparak bir elektron koparır ve bu elektron uygulanan gerilim farkı ile birinci dinota doğru çekilir ve dinot üzerine gerilimle orantılı kinetik enerji ile çarpar. Bu dinotdan çok sayıda ikincil elektron fırlar. Bu ikincil elektronlar hızlandırılarak ikinci dinoda çarparlar ve çok fazla sayıda elektron fırlatırlar. Bu işlem devam ederken sonuçta çok sayıda elektron anoda ulaşır ve devreden okunabilecek seviyede akım geçer. Devreden geçen akım, dedektöre düşen ışık şiddeti ile orantılıdır.

Yazıcı veya bilgisayarlar ile dedektörlerden alınan sinyal, tayin elementinin absorpsiyonu, derişim vb. şeklinde okunur.

2.8.8 Atomik Absorpsiyonda Karşılaşılan Girişimler

Atomik absorpsiyon spektrometrisinde iki tip girişimle karşılaşılır. Girişim yapan türlerin absorpsiyon veya emisyon çizgileri, analitin esas çizgisiyle örtüştüğünde veya monokromatörün ayıramayacağı kadar ona yakın olduğu zaman spektral girişim ortaya çıkar. Kimyasal girişimler, analitin absorpsiyon karakteristiğini değiştiren ve atomlaşma sırasında oluşan çeşitli kimyasal işlemlerden ileri gelir (53).

2.8.8.1 Spektral Girişimler

Oyuk katot kaynaklarının emisyon çizgilerinin çok dar olması nedeniyle, çizgilerin örtüşmesinden ileri gelen girişim az görülür. Spektral girişimler, aynı zamanda ışınların saçılmasına sebep olan katı tanecikli ürünlerden veya geniş bant absorpsiyonu oluşturan yanma ürünlerinden de ileri gelebilir. Her ikiside gelen ışın gücünü zayıflatır ve pozitif analitik hataya yol açar. Bu ürünlerin kaynağı yalnızca yanıcı ve yükseltgen karışımı olduğunda düzeltmeler bir tanık çözelti alev püskürtülerek absorbans ölçümünün yapılmasıyla sağlanabilir.

Saçılmadan ileri gelen girişimler, numunenin organik türler içerdiği veya numuneyi çözmede organik çözücüler kullanıldığında da bir problem olabilir. Alev atomlaştırıcıda, matriks ürünlerinin girişimleriyle geniş ölçüde karşılaşılmaz ve çoğu zaman yanıcı/yükseltgen oranı gibi analitik değişkenlerin ayarlanmasıyla önlenir. Matriks girişim problemi elektrotermal atomlaştırıcılarda daha önemlidir. Fakat platform teknolojisindeki gelişmeler, yüksek kaliteli grafit materyaller, hızlı fotometrik ölçüm ve zeeman tipi zemin düzeltme ile bu tip girişimler en aza indirilmiştir.

2.8.8.2 Kimyasal Girişimler

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

Kimyasal girişimler, analitin absorpsiyon karakteristiklerini değiştiren ve atomlaştırma sırasında oluşan çeşitli kimyasal işlemlerden meydana gelir. Bu kimyasal işlemler, az uçucu bileşiklerin oluşumu, ayrışma ve iyonlaşma dengeleridir.

2.8.9 Zemin Düzeltme Yöntemleri

2.8.9.1 Çift-Çizgi Düzeltme Yöntemi

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

2.8.9.2 Sürekli Işın Kaynağı ile Düzeltme Yöntemi Tekniği

Bu yöntemde döteryum lamba, ultraviyole bölgesindeki sürekli ışın kaynağını oluşturur. Sürekli ışın kaynağı ve oyuk katot lambadan gelen ışınlar yol üzerindeki kesicinin yardımıyla atomlaştırıcıdan sırası ile geçerler. Döteryum lambanın ışınının absorpsiyonu, analitin ışınının absorpsiyonundan çıkarılır. Böylece, atomlaşmış numune içinden geçişi sırasında, sürekli ışının gücündeki azalma, yalnızca numune matriks bileşenleri tarafından saçılma veya geniş bant absorpsiyonunu yansıtır. Bu şekilde bir zemin düzeltme yapılır. Fakat 350 nm' den daha büyük dalga boylarında döteryum lambanın zemin düzeltmesi yetersiz kalmaktadır

2.8.9.3 Zeeman Etkisi ile Zemin Düzeltme

Bir atomik buhar, kuvvetli magnetik alana (= 10 kG) tutulduğu zaman, atomların elektronik enerji seviyelerinde her bir elektronik geçişte birçok absorpsiyon çizgisinin oluşumuna yol açan, bir yarıma gözlenir. Oluşan yeni çizgilerin absorpsiyon toplamı, onların oluştuğu orijinal çizginin absorpsiyonuna tam olarak eşittir. Bu olay genel olarak bütün atomik spektrumlarında Zeeman etkisi olarak tanımlanır. Absorpsiyona yol açan elektronik geçişin türüne bağlı olarak birçok farklı yarıma tipi oluşur. Atomik absorpsiyon cihazlarında Zeeman etkisi uygulamaları, bu iki tip absorpsiyon pikinin polarize ışınlar karşı farklı davranışlarını esas alır.

Zeeman etkili cihazlar, zemin için daha önce belirtilen yöntemlerden daha doğru düzeltme oluşturur. Bu cihazlar özellikle elektrotermal atomlaştırıcılar için yararlı olup, idrar ve kan gibi numunelerdeki elementlerin doğrudan tayinlerine izin verir.

2.8.9.4 Kaynak Self-Ters Çevirmeye Dayanan Zemin Düzeltme

Bu yöntem, oyuk katot lambasının yüksek akımlarda çalıştırıldığı zaman lambadan yayılan ışının self-absorpsiyona veya self-ters çevirmesine dayanır.

Düzeltilmiş absorpsiyon elde etmek üzere lamba değişimli olarak düşük ve yüksek akımlarda çalıştırmak üzere programlanır. Toplam absorpsiyon düşük akım çalışması boyunca elde edilir ve zemin absorpsiyon pikindeki ışının minimumda olduğu zamanki ikinci devre boyunca ölçülerek oluşturulur. Veri algılama sistemi, düzeltilmiş değer vermek üzere toplamdan, zemin absorpsiyonunu çıkarır. Ölçüm işlemi yeterli sinyal / gürültü oranı verinceye kadar tekrarlanır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada rasgele seçilmiş farklı yaş ve cinsiyet gruplarına ait gönüllü insanlardan alınan toplam 20 saç örneği kullanıldı. Her bir örnek dört ayrı çözünürleştirme yöntemiyle hazırlandı. Çözünürleştirme yöntemleri olarak çok sıkça kullanılan kuru kül etme (54), asidik ortamda yaş yakma (55,56) ve mikrodalga ile çözünürleştirmenin (55) yanında bu yöntemlere alternatif olabileceği düşünülen tetrametilamonyumhidroksit (TMAH) (23,57) seçildi.

Her yöntem için çinko ve kurşun derişimleri ölçüldü. Sonuçların doğruluğu sertifikalı standart referans materyal CRM BCR-397 insan saçı (European Commission DG Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM) ile kontrol edildi.

3.1. Saç Örneklerinin Toplanması

Saç örnekleri paslanmaz çelik bir makas ile oksipital bölgeden (başın enseye yakın arka kısmından) kesilerek alındı. Analiz için saçın köke yakın 1-2 cm'lik kısmı kullanıldı. Çalışmada yaş ortalaması 27 olan 10 kadın ve 10 erkek, toplam 20 gönüllünün saç örneği kullanıldı.

3.2. Kullanılan Cihazlar

- **Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi**

Çinko ölçümleri GBC Avanta PM alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile yapıldı. Kurşun ölçümleri için Perkin Elmer AAnalyst 600 Zeeman zemin düzeltmeli elektrotermal atomik absorpsiyon spektrofotometresi ve AS800 oto örnekleyci kullanıldı. Atomik absorpsiyon çalışma koşulları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Atomik Absorpsiyon çalışma koşulları

Element	Çinko	Kurşun
Çalışılan dalga boyu (nm)	213.9	283,3
Lamba	Oyuk katot lamba	Oyuk katot lamba
Yarık genişliği (nm)	0.5	0,7
Atomlaştırıcı	Alev (Hava/Asetilen)	Elektrotermal

- **Mikrodalga Örnek Çözücü:** CEM MARS 5 mikro dalga numune hazırlama sistemi kullanıldı.
- **Su Saflaştırma Sistemi:** Millipore Syentesis A 10 Milli-Q marka su saflaştırma sistemi kullanıldı.
- **Analitik Teraz:** Ohaus E 12140 marka analitik terazi kullanıldı.
- **Su Banyosu:** Selecta P marka su banyosu kullanıldı.
- **Kül fırını:** Carbolite marka kül fırını kullanıldı.
- **Etüv:** Selecta P marka etüv kullanıldı.
- **Otomatik Pipet ve Pipet Uçları:** Eppendorf marka 100- 1000 µl, 500-5000 µl arasında ayarlanabilir otomatik pipetler ve aynı marka pipet uçları kullanıldı.

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- **Nitrik Asit:** Fluka 84385 Nitrik asit> % 69 (select for trace analysis).
- **Hidrojen Peroksit:** Merck 1.08597 % 30.
- **Tetrametilamonyum Hidroksit:** Fluka 12107194 %25 sulu çözelti.
- **Kurşun Standardı:** Merck 1.19776.0500 UN3264 1000 mg / L.
- **Çinko Standardı:** Merck 1.19806.0500 OC514341 1000 mg / L.

3.4. Cam ve Plastik Malzemelerin Temizlenmesi

Deneylerde kullanılan tüm cam ve plastik malzemeler en az 48 saat % 10'luk (v/v) nitrik asit çözeltisi içinde bekletildikten sonra üç kez distile su ile yıkanarak durulandı ve üç kez de deiyonize sudan geçirildikten sonra kurutularak kullanıldı.

3.5. Örneklerin Analize Hazırlanması

Sertifikalı standart referans madde (CRM BCR-397 insan saçı) analizden önce önerildiği gibi 90 °C 'ye programlanmış etüvde 16 saat boyunca inkübe edildi. Daha sonra 100 mg civarında tartılarak aşağıdaki yöntemlerle çözünürlüştirildi ve analize hazırlandı.

Orijinal saç örnekleri yaklaşık olarak 100 mg civarında tartılarak aşağıdaki yöntemlerle çözünürlüştirildi ve analize hazırlandı.

3.5.1.Kuru Kül Etme

Yıkanan, kurutulan ve sabit tartıma getirilen saç örnekleri 400 °C'de yaklaşık 16 saat boyunca kül etme işlemine tabi tutuldu. Beyaz kül haline getirilen saç örnekleri üzerine 5 ml 1 M 'lık nitrik asit ilave edilerek çözünmeleri sağlandı (54) ve analize uygun hale getirildi.

3.5.2. Düşük Sıcaklıkta Asidik Ortamda Yaş Yakma

Yıkanan, kurutulan ve sabit tartıma getirilen saç örneklerinin üzerine 1ml %69'luk nitrik asit (trace select for trace analysis) ilave edildi. Örnekler bir gece oda sıcaklığında ağzı kapalı halde bekletildi. Yirmi dört saat sonra örnekler su banyosunda 60 °C'de yaklaşık 30 dakika kadar ısıtıldı. Daha sonra örnekler üzerine damla damla 1 ml hidrojen peroksit eklendi ve örnekler donuk sarı renk alınca kadar 60 °C'deki su banyosunda bekletildi (28,58). Çözünmeleri sağlanan örnekler analize uygun hale getirildi.

3.5.3. Düşük Sıcaklıkta Bazik Ortamda Yaş Yakma

Yıkanan, kurutulan ve sabit tartıma getirilen saç örneklerine 5 ml **TMAH (tetrametilamonyumhidroksit)**' in %25'lik sulu çözeltisi eklendi (7). Yirmi dört saat oda sıcaklığında ağzı kapalı olarak bekletilen örnekler analize uygun hale getirildi.

3.5.4. Mikrodalga ile Çözünürleştirme

Yıkanan, kurutulan ve sabit tartıma getirilen saç örneklerine nitrik asit ve hidrojen peroksit ilave edilerek (55) çözümleri sağlandı.

3.6. İstatistik Yöntemler

Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerindeki çinko ve kurşun derişimlerinin ortalamaları arasında fark olup olmadığı varyans analizi (ANOVA) kullanılarak gerçekleştirildi (59).

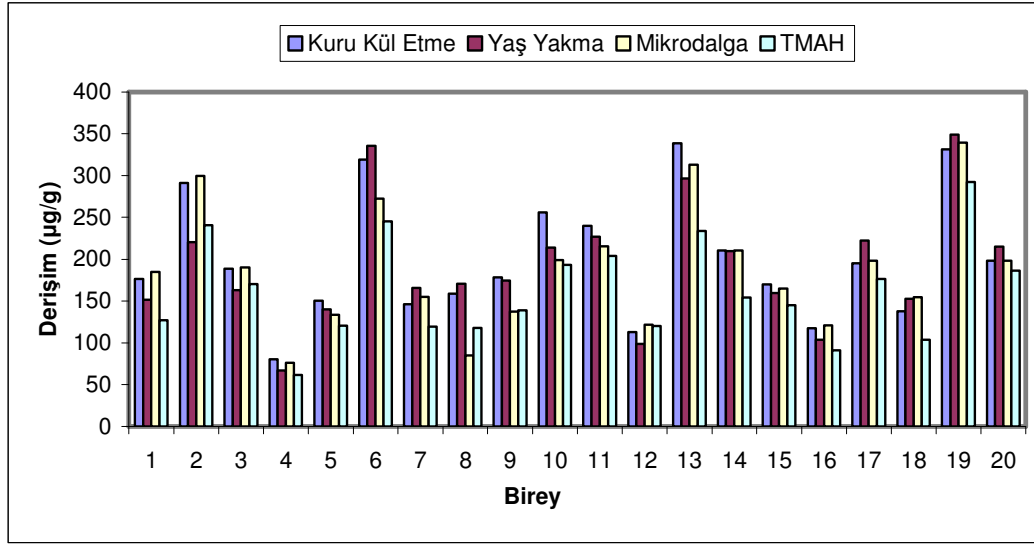
4. BULGULAR

4.1. Çinko Derişimleri

Çalışmada kullanılan 20 sa örneğine ait çinko derişimleri Çizelge 4.1’de, bunlara ait dağılım grafiği ise Şekil 4.1 ’de verilmiştir. Çizelge 4.2, 20 örneğe ait değerlerin ortalamasını, Şekil 4.2 ise bu ortalamalar ait dağılım grafiğini göstermektedir. Çizelge 4.3’de ise sertifikalı standart maddeye ait sonuçlar görölmektedir.

Çizelge 4.1 Dört farklı çözümlerleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinin çinko derişimleri

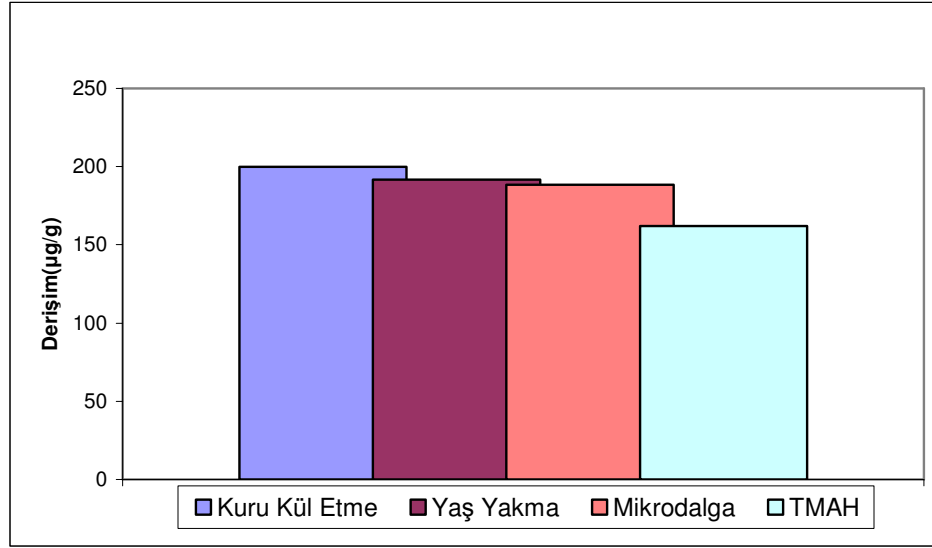
% 95 Güven Seviyesinde $X_{ort} \pm t_{sb}/\sqrt{N}$ ($\mu\text{g/g}$) (N=3)				
Birey	Kuru Kül Etme	Yaş Yakma	Mikrodalga	TMAH
1	176.63±1.74	151.70±0.16	184.67±1.43	127.00±3.96
2	291.27±3.97	220.33±0.56	299.57±3.61	240.87±0.78
3	188.57±0.53	163.20±0.31	190.27±2.27	170.38±2.73
4	80.63±0.33	66.87±0.38	76.29±0.76	61.30±0.35
5	150.30±0.83	140.27±0.53	133.37±3.37	120.43±2.44
6	319.02±3.72	335.68±0.85	272.43±9.88	245.18±3.83
7	146.10±1.55	165.53±0.22	155.07±5.85	119.25±1.64
8	158.97±1.41	170.60±0.63	84.77±1.19	117.88±2.33
9	178.3±8.97	174.30±1.77	137.4±6.68	138.83±1.39
10	256.05±0.57	213.75±0.54	199.25±2.65	193.33±4.08
11	239.82±3.83	226.80±7.91	215.37±0.65	203.95±7.13
12	112.83±0.33	99.00±1.18	121.33±6.13	120.20±1.07
13	338.43±0.09	296.6±0.07	312.95±2.39	233.46±0.25
14	210.73±1.47	209.43±3.96	210.08±0.98	154.25±4.79
15	170.05±2.61	159.58±1.37	164.82±1.12	144.93±2.52
16	117.65±1.35	103.43±3.72	120.88±0.81	91.03±1.84
17	195.05±1.90	222.30±1.29	198.1±0.78	176.38±1.64
18	137.47±0.81	152.75±0.58	154.70±1.08	103.80±2.61
19	331.35±1.72	349.00±0.87	339.38±0.99	292.18±2.24
20	198.10±1.77	214.93±7.18	197.85±2.21	186.19±5.39



Şekil 4.1 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinde çinko derişimlerinin dağılım grafiğı

Çizelge 4.2. Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerin çinko derişimleri ortalaması

% 95 Güven Seviyesinde $X_{ort} \pm ts_b/\sqrt{N}$ ($\mu\text{g/g}$) (N=20)			
Kuru Kül Etme	Yaş Yakma	Mikrodalga	TMAH
199.87±5.58	191.80±6.00	188.43±6.15	162.04±6.48



Şekil 4.2 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinde çinko derişimlerinin ortalamalarının dağılım grafiği

Çizelge 4.3. Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan standart referans maddede bulunan çinko derişimleri

	Bulunan Değer	Sertifikalı Değer	% Hata
Kuru Kül Etme	*203.63±1.81	199	2.33
Yaş Yakma	*196.23±4.06	199	1.39
Mikrodalga	*197.13±2.59	199	0.94
TMAH	*167.33±5.25	199	15.9

* % 95 Güven Seviyesinde $X_{ort} \pm t_{sb}/\sqrt{N}$ (µg/g) (N=3)

4.1.1. Grupların Çinko Ortalamaları Arasındaki Farkın Önemi

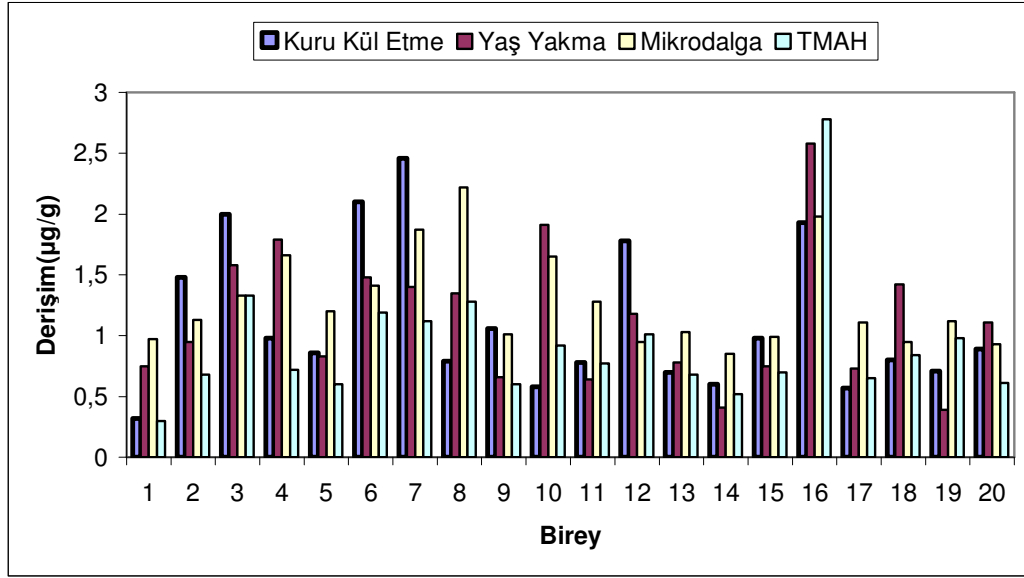
Kullanılan dört farklı çözünürleştirme yöntemi için bulunan çinko derişimlerinin ortalamaları arasında anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek için varyans analizi (ANOVA) yapıldı. İstatistik hesaplamalar sonucunda hesaplanan F değeri (0.41), % 95 güven seviyesindeki F kritik değerinden (2.60) küçük bulundu. $F_{hesaplanan} < F_{kritik}$ olduğu için ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı sonucuna varıldı.

4. 2. Kurşun Derişimleri

Çalışmada kullanılan 20 saç örneğine ait kurşun derişimleri Çizelge 4.4'de bunlara ait dağılım grafiği ise Şekil 4.3 'de verilmiştir. Çizelge 4.5, 20 örneğe ait değerlerin ortalamasını, Şekil 4.4 ise bu ortalamalar ait dağılım grafiğini göstermektedir. Çizelge 4.6'da ise sertifikalı standart maddeye ait sonuçlar görölmektedir.

Çizelge 4.4 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinin kurşun derişimleri

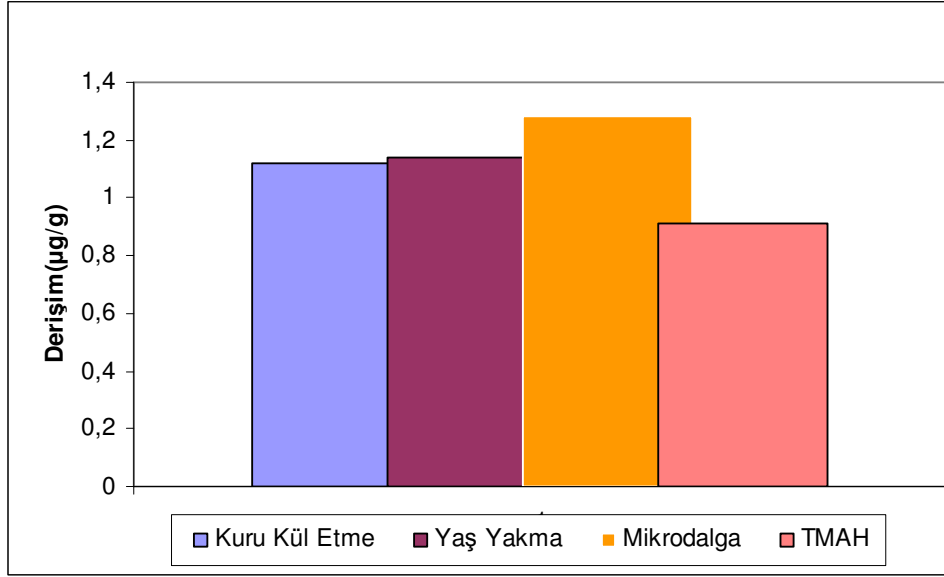
% 95 Güven Seviyesinde $X_{ort} \pm t_{sb}/\sqrt{N}$ ($\mu\text{g/g}$) (N=3)				
Birey	Kuru Kül Etme	Yaş Yakma	Mikrodalga	TMAH
1	0.32±0.01	0.75±0.01	0.97±0.01	0.30±0.07
2	1.48±0.06	0.95±0.01	1.13±0.01	0.68±0.02
3	2.00±0.01	1.58±0.04	1.33±0.01	1.33±0.02
4	0.98±0.04	1.79±0.01	1.66±0.02	0.72±0.03
5	0.86±0.05	0.83±0.03	1.20±0.01	0.60±0.01
6	2.10±0.03	1.48±0.01	1.41±0.01	1.19±0.02
7	2.46±0.02	1.40±0.01	1.87±0.01	1.12±0.03
8	0.79±0.01	1.35±0.03	2.22±0.01	1.28±0.01
9	1.06±0.02	0.66±0.01	1.01±0.02	0.60±0.01
10	0.58±0.03	1.91±0.01	1.65±0.01	0.92±0.16
11	0.78±0.07	0.64±0.03	1.28±0.01	0.77±0.02
12	1.78±0.01	1.18±0.01	0.95±0.01	1.01±0.01
13	0.70±0.04	0.78±0.01	1.03±0.01	0.68±0.01
14	0.60±0.02	0.41±0.02	0.85±0.01	0.52±0.01
15	0.98±0.02	0.75±0.01	0.99±0.02	0.70±0.01
16	1.93±0.02	2.58±0.02	1.98±0.02	2.78±0.01
17	0.57±0.07	0.73±0.04	1.11±0.01	0.65±0.03
18	0.80±0.02	1.42±0.03	0.95±0.01	0.84±0.01
19	0.71±0.02	0.39±0.03	1.12±0.01	0.98±0.02
20	0.89±0.02	1.11±0.01	0.93±0.01	0.61±0.01



Şekil 4.3 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinde kurşun derişimlerinin dağılım grafiğı

Çizelge 4.5. Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerin kurşun derişimleri ortalaması

% 95 Güven Seviyesinde $X_{ort} \pm ts_b/\sqrt{N}$ ($\mu\text{g/g}$) (N=20)			
Kuru Kül Etme	Yaş Yakma	Mikrodalga	TMAH
1.12±0.07	1.14±0.04	1.28±0.02	0.91±0.08



Şekil 4.4 Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan saç örneklerinde kurşun derişimlerinin ortalamalarının dağılım grafiği

Çizelge 4.6. Dört farklı çözünürleştirme işlemi uygulanan standart referans maddede bulunan kurşun derişimleri

	Bulunan Değer	Sertifikalı Değer	% Hata
Kuru Kül Etme	*36.10±1.05	33	9.39
Yaş Yakma	*35.72±0.46	33	8.24
Mikrodalga	*31.97±0.42	33	3.12
TMAH	*27.50±0.14	33	16.7

*% 95 Güven Seviyesinde $X_{ort} \pm t_{sb}/\sqrt{N}$ (µg/g) (N=3)

4.2.1. Grupların Kurşun Ortalamaları Arasındaki Farkın Önemi

Kullanılan dört farklı çözünürleştirme yöntemi için bulunan kurşun derişimlerinin ortalamaları arasında anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek için varyans analizi (ANOVA) yapıldı. İstatistik hesaplamalar sonucunda hesaplanan F değerı (1.68), % 95 güven seviyesindeki F kritik değerinden (2.60) küçük bulundu. $F_{hesaplanan} < F_{kritik}$ olduğu için ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı sonucuna varıldı.

5. TARTIŞMA

Eser element analizlerinde örnek hazırlama, en kritik ve önemli basamağı oluşturmaktadır. Bütün analitik yöntemler için daha doğru sonuçların elde edilebilmesi, kullanılacak olan örnek hazırlama basamağına bağlıdır. Özellikle biyolojik örneklerde karmaşık bir matriks içinde bulunmaları ve derişimlerinin doğrudan tayin edilebilecek kadar büyük olmaması nedeniyle eser element analizinde örnek hazırlama sürecinde meydana gelebilecek her türlü kayıp ve/veya kontaminasyon sonuçların doğruluğunu ve kesinliğini etkilemektedir.

Bu gerçekten yola çıkarak bu çalışma planlandı ve vücut eser element seviyesi hakkında en iyi bilgi veren dokulardan biri olduğu bilinen saçta çinko ve kurşunun atomik absorpsiyon spektroskopisi ile analizlerinde dört farklı çözünürleştirme yöntemi karşılaştırıldı. Kuru kül etme, yaş yakma ve son on yılda iyice yaygınlaşan mikrodalga ile çözünürleştirme gibi geleneksel çözünürleştirme yöntemlerinin yanında bu yöntemlere alternatif olabileceği düşünülen kuvvetli alkali TMAH ile çözünürleştirme yöntemi kullanıldı.

Eser element analizlerinde; kuru kül etme, yaş yakma ve mikrodalga ile çözünürleştirme yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bazik ortamda parçalama, oksijen ile yakma ve yakma tüpü metodu ile ilgili çalışmalar literatürde yer almaktadır.

Dinçer ve Akar yapmış oldukları çalışmada, saç çinko ve magnezyum derişimini belirleyebilmek için kuru kül etme yöntemini kullanmışlardır (54).

Pereira ve ark. (60) yaptıkları çalışma ile saçta ağır metal birikimini incelemişlerdir. Örnek hazırlama yöntemi olarak yaş yakmayı tercih eden araştırmacılar maruziyetin belirlenmesinde biyolojik materyal olarak saçı kullanmışlardır. Kadmiyum arsenik gibi ağır metal derişimlerinin referans değerlerle karşılaştırıldığında daha yüksek düzeyde olduğunu gözlemlemişlerdir.

Literatürde yer alan ve Türkiye’de yapılan bir diğer çalışmada ise yün örneklerinde Co, Ni, Zn, Cu, Mn, Cd, Pb Cr, Fe, Na, K, Ca, Mg tayinleri FAAS ve ICP-OES ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda örnek hazırlama yöntemi olarak seçilen kuru kül etme, yaş yakma ve mikrodalga gibi çözünürleştirme yöntemleri birbiriyle kıyaslanmıştır (61).

Fernandes ve ark. (62) insan saçında vanadyum tayini gerçekleştirmişlerdir. HNO₃ ve 0.1%'lik (v/v) Triton X-100 kullanılarak bulamaç haline getirilen örneklerin ölçümleri ETAAS'de yapılmıştır.

Mikrodalga ile çözünürleştirilen saç örneklerinde çinko bakır gibi elementlerin tayinini gerçekleştiren

Kazi ve ark. (63) bu elementlerin kalp krizi geçiren hastalarda ve kontrol grubundaki dağılımını incelemişlerdir. Çinko yetersizliğinin ve yüksek bakır, demir konsantrasyonunun kalp hastalıklarının gelişmesinde rol oynadığını dile getirmişlerdir.

Başka bir eser element çalışmasında ise ICP-AES kullanılarak saçta Fe, Cu, Mn, Cd, Ni, Pb, Co ve Zn ölçümleri yapılmıştır. Yaş yakma ile hazırlanan örneklerden elde edilen sonuçlar sertifikalı referans standart maddelerle karşılaştırılmıştır (64).

Saç bakır çinko ve demir derişiminin sigara kullanımı ve diyetle ilişkisini araştıran Reimers ve ark. (65) çözünürleştirme işlemi için yaş yakmayı kullandıklarını bildirmişlerdir.

Batista ve ark. (66) tırnak örneklerinde ICP-MS ve ETAAS ile Cd, Cu, Mn, Ni, Pb ve Zn derişimlerini belirlemişlerdir. ICP-MS ile yapılan ölçümlerde tırnaklar TMAH kullanılarak çözünürleştirilmiştir. ETASS ile yapılan ölçümlerde ise mikrodalgada çözünürleştirme işlemi kullanmışlardır. Bulunan sonuçlar bu iki yöntem arasında istatistiksel anlamda fark olmadığını göstermektedir.

Ribeiro e ark. (67) kahvede Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Se, Sn ve Zn tayini için TMAH ile çözünürleştirme yönteminin yanında mikrodalga ve yaş yakma yöntemini kullandıklarını bildirmişlerdir. Mikrodalga ve yaş yakma ile çözünürleştirilen örneklerin eser element derişimleri TMAH ile çözünürleştirilen örneklerin eser element derişimleri ile karşılaştırıldığında; TMAH ile hazırlanan örneklerdeki eser element derişimi, potasyum ve sodyum dışındakilerin daha düşük olduğunu göstermişlerdir.

Martins ve ark. (68) sığır karaciğer ve kas dokusunda Cd, Pb, Ni, Cr, Cu ve Ag tayini için, TMAH ile örnek hazırlama yöntemini seçtiklerini bildirmişlerdir.

Köpek balığı karaciğer dokusunda civa tayini için TMAH ile çözünürleştirmeyi seçen Viera ve ark. (69) sertifikalı referans standart maddelerle uyumlu sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Literatürde yer alan bir diğer araştırmada ise Silva(70) ve ark. TMAH'nin mikrodalga ve yaş yakma yöntemlerine kıyasla çok daha basit ve hızlı bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Literatürde yer alan birçok eski ve yeni örnek hazırlama yöntemleri incelendiğinde hepsinin yüksek basınç ve/veya yüksek sıcaklık gerektirdiğini görmekteyiz. Halbuki TMAH'nin kullanıldığı örnek hazırlama yöntemlerinde yüksek basınç ve/veya sıcaklığa gerek yoktur. Yüksek sıcaklığa gereksinim duyulmaması özellikle uçucu elementler söz konusu olduğunda bu elementlerin ortamdan uzaklaşmalarını engellediği için TMAH'yi avantajlı konuma getirmektedir.

Ayrıca TMAH kullanılarak yapılan çalışmalarda çözünürleştirme işlemi yapıldıktan sonra analit konsantrasyonunda herhangi bir değişim olmadan uzun süre saklanabildiği bildirilmektedir ki bu da özellikle bozulma riski taşıyan biyolojik örnekler bakımından son derece önemlidir (70).

TMAH'in yukarıda bahsedilen özellikleri nedeniyle bu çalışma planlandı ve TMAH ile çözünürleştirme dahil dört ayrı çözünürleştirme yöntemiyle analize hazırlanan insan saçında, organizma için önemi bölüm 2.6.1'de ayrıntılı olarak açıklanan çinko ile toksik ve kolay buharlaşabilen bir element olan kurşun ölçüldü. Çinko ve kurşun derişimlerinin ortalamaları sırasıyla Çizelge 4.2 ve 4.5'de verildiği gibi bulundu. Tüm çözünürleştirme yöntemleri için bulunan ortalama değerler varyans analizi ile karşılaştırıldığında her iki element için de ortalamalar arasında önemli fark bulunmadı. Ancak sertifikalı standart referans madde CRM BCR-397 insan saçında yapılan ölçümlerde referanstan değerden bağlı sapma TMAH için hem çinko ve hem de kurşun için % 10'dan büyük bulundu (Çizelge 4.3 ve 4.6).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada insan saçında çinko ve kurşunun analizi için kuru kül etme, düşük sıcaklıkta yaş yakma, mikrodalga ile çözünürleştirme ve TMAH ile çözünürleştirme yöntemleri karşılaştırıldı. Yötemin doğruluğu CRM BCR-397 insan saçı standart referans maddesi ile kontrol edildi.

Kuru kül etme, düşük sıcaklıkta yaş yakma, mikrodalga ile çözünürleştirme ve TMAH ile çözünürleştirme yöntemleri için gerçek örneklerde çinko derişimleri ortalamaları sırasıyla N= 20 için, % 95 Güven Seviyesinde $X_{ort} \pm ts_b/\sqrt{N}$ olarak 199.87 ± 5.58 , 191.80 ± 6.00 , 188.43 ± 6.15 ve 162.04 ± 6.48 $\mu\text{g/g}$ bulundu. Ortalamalar arasındaki fark varyans analizi ile karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Standart referans madde ile yapılan analizlerde ise bağıl hata yine yukarıdaki sırayla % 2.33, % 1.39, %0.94 ve %15.9 bulundu.

Kuru kül etme, düşük sıcaklıkta yaş yakma, mikrodalga ile çözünürleştirme ve TMAH ile çözünürleştirme yöntemleri için gerçek örneklerde kurşun derişimleri ortalamaları ise sırasıyla N= 20 için, % 95 Güven Seviyesinde $X_{ort} \pm ts_b/\sqrt{N}$ olarak 1.12 ± 0.07 , 1.14 ± 0.04 , 1.28 ± 0.02 ve 0.91 ± 0.08 $\mu\text{g/g}$ bulundu. Ortalamalar arasındaki fark varyans analizi ile karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Standart referans madde ile yapılan analizlerde ise bağıl hata yine yukarıdaki sırayla % 9.39, % 8.24, % 3.12 ve % 16.7 bulundu.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde her iki element için de gerçek örneklerde bulunan ortalamalar istatistik olarak farklı değildi. Ancak elde edilen rakamlara bakıldığında TMAH ile elde edilen sonuçların diğer üç yöntemle elde edilenlerden oldukça düşük olduğu açıkça görülebilir. Standart referans madde ile elde edilen sonuçlar bu gözlemi destekler şekildedir ve her iki element için de bağıl hata TMAH için % 10'dan büyük bulunmuştur. Yine bağıl hatalar mikrodalga yöntemi ile yapılan ölçümlerin en tatminkâr sonucu verdiğini açıkça göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular TMAH'in eser element analizlerinde çözünürleştirme işlemleri için diğer yöntemlere herhangi bir üstünlük sağlamadığını ortaya koymaktadır. Aksine diğer yöntemlerle bulunan sonuçların tamamının TMAH ile elde edilenlere göre çok daha uyumlu olduğu söylenebilir. Ayrıca TMAH'nin korozif

etkisi, göz ve deri yanıklarına neden olabileceği ve solunduğunda veya yutulduğunda son derece zararlı olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak; insan saçında eser element analizleri için TMAH ile çözünürleştirmenin diğer yöntemlere yeterince iyi bir alternatif yöntem olmadığı ve mikrodalga numune hazırlama sistemlerinin yerini koruduğu söylenebilir.

7. KAYNAKLAR

1. **Doğan M.** Sağlıklı Yaşamın Kimyası. *Popüler Bilim Dergisi*, **2002**; 32–36.
2. **Parsons PJ, Barbosa FJr.** Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine. *Spectrochimica Acta*, **2007**; B(62):992–1003.
3. **Masso' EL, Corredor L, Antonio MT.** Oxidative damage in liver after perinatal intoxication with lead and/or cadmium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **2007**; (21): 210–216.
4. **Zheng Y, Li X K, Wang Y, Cai L.** The role of zinc, copper and iron in the pathogenesis of diabetes and diabetic complications: Therapeutic effects by chelators. *Hemoglobin*, **2008**; 32 (1–2):135–145.
5. **Carvalho ML, Magalhães T, Becker M, Bohlen A.** Trace elements in human cancerous and healthy tissues: A comparative study by EDXRF, TXRF, synchrotron radiation and PIXE *Spectrochimica Acta Part B Atomic Spectroscopy*, **2007**; 62 (9): 1004–1011.
6. **Rao K, Balaji T, T. Rao P Naidu B.** Determination of iron, cobalt, nickel, manganese, zinc, copper, cadmium and lead in human hair by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Spectrochimica Acta*, **2002**; B (57): 1333–1338.
7. **Ribeiro AS, Curtius AJ, Pozebon D.** Determination of As, Cd, Ni and Pb in human hair by electrothermal atomic absorption spectrometry after sample treatment with tetramethylammonium hydroxide. *Microchemical Journal*, **2000**; (64): 105–110.
8. **Sari HM, Tuzen D, Mendil, E, Hasdemir.** Trace metal contents in human hair from industrial and residential areas in Tokat, Turkey. *Trace Elements and Electrolytes*, **2006**; 23(1): 1–4.
9. **Morton J, Maskon HJ, Ritchie, KA, White M.** Comparison of hair, nails and urine for biological monitoring of low level inorganic mercury exposure in dental workers. *Taylor & Francis healthsciences Biomarkers*, **2004**; 9 (1): 47–55.
10. **Pereira R, Ribeiro R, Gonçalves F.** Scalp hair analysis as a tool in assessing human exposure to heavy metals (S.Domingos mine, Portugal). *Science of the Total Environment*, **2004**; (327):81–92.
11. **Jamal A, Anal S.** Sorption of trace metals on human hair and application for cadmium and lead pre-concentration with flame atomic absorption determination. *Bioanal Chem*, **2003**; (375): 450–455.
12. **Ho J, Boenheim F, Pangborn J, Spitz J, Smith B.** Hair element testing: Clinical utility and reliability. *Great Smokies Diagnostic Laboratory*, **2001**.

- 13. Katz SA, Chatt A.** Hair analysis: applications in the biomedical and environmental sciences. *New York: VCH Publishers, Inc; 1988.*
- 14.** Toxic trace metals in mammalian hair and nails. *U.S. Environmental Protection Agency EPA, 1979;* (4) 79.
- 15. Jenkins, DW.** Biological monitoring of toxic trace metals. *Biological monitoring and surveillance, 1980;* (600/3):80–89.
- 16. Ataman OY, Aysal AI, Can SZ.** Analitik Kimya ve Arkeoloji. XVII. Ulusal Kimya Kongresi Kimya İstanbul Üniversitesi, İstanbul **2003**:1.
- 17. Majewska U, Braziewicz J, Banaś D, Kukuś AK, Gózdź S, Pajek M, Zadrożna M, Jaskóla M, Czyżewski T.** Some aspects of statistical distribution of trace element concentrations in biomedical samples. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, 1999;* B(150):254–259.
- 18. Goldhaber SB.** Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2003;* (38): 232–242.
- 19. Demiraka A, Yilmaz F, Tuna L, Ozdemir N.** Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere, 2006;* 63 (9): 1451–1458.
- 20. Gonzalez M, Martin L, Aleman M.** Hair zinc, copper and iron: relationships with quality of diet, tobacco smoking and nutritional status. *Trace Elements and Electrolytes, 2008;* 25 (1):35–40.
- 21. Afridi HI, Kazi TG, Jamali MK, Kazi GH, Arain MB, Jalbani N, Shar GQ, Sarfaraz RA.** Evaluation of toxic metals in biological samples (scalp hair, blood and urine) of steel mill workers by electrothermal atomic absorptionspectrometry. *Science of The Total Environment, 2008;* 389 (2–3): 270–276.
- 22. Sevinç E, Kösecik M, Koçyiğit A, Soran M, Baz M. T, Ertaş T, Karazeybek H.** Şanlıurfa ilinde oto tamir atölyelerinde çalışan çıraklarda saç ve kan kurşun düzeyleri ve hematolojik değerler üzerine etkileri. *Harran Tıp Fak Der, 2004;* 1 (4): 33.
- 23. Drasch G, Roeder G.** Assessment of hair mineral analysis commercially offered in Germany. *J. Trace Elem. Med. Biol, 2002;*(16):27–31.
- 24. Aguilera I, Daponte A, Gil F Antonio F, Godoy P, Pla A, Ramos J L.** Biomonitoring of urinary metals in a population living in the vicinity of industrial sources: A comparison with the general population of Andalusia, Spain. *Science of The Total Environment, 2008;* (407): 669–678.
- 25. André FS, Arruda M, Cabral S, Rodrigues AS.** Essential and non-essential trace metals in scalp hair of men chronically exposed to volcanogenic metals in the Azores, Portugal. *Environment International, 2008;* (34): 1104–1108.

- 26. Yenigün A, Ozkinay F, Cogulu O, Coker C, Cetiner N, Ozden G, Aksu O, Ozkinay C.** Hair zinc level in Down syndrome. *Down Syndrome Research and Practice*, **2004**; 9(2): 53–57.
- 27. Kazi TG, Memon AR, Afridi HI, Jamali MK, Arain MB, Jalbani N, Sarfraz RA.** Determination of cadmium in whole blood and scalp hair samples of Pakistani male lung cancer patients by electrothermal atomic absorption spectrometer. *Science of The Total Environment*, **2008**; (389): 270–276.
- 28. Afridi HI, Kazi TG, Jamali MK, Kazi HG, Arain MB, Jalbani N.** Analysis of Heavy Metals in Scalp Hair Samples of Hypertensive Patients by Conventional and Microwave Digestion Methods. *Taylor&Francis Spectroscopy Letters*, **2006**; (39): 203–214.
- 29. Editorial.** International Symposium on Trace Elements and Health —Trace Elements in Agroecosystems and Human Health October 10–13, 2004, Hangzhou, China. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **2005**; (18):293–294.
- 30. Arcasoy A,** Çinko ve Çinko Eksikliği. Ankara Talasemi Derneği Yayınları, 2. Baskı, **2002**: 1-23.
- 31. Pariarca M, Menditto A, Felice GD, Petrucci F, Caroli S, Merli M, Valente C.** Recent developments in trace element analysis in the prevention, diagnosis and treatment of diseases. *Microchemical Journal*, 1998; 59: 194–202.
- 32. Fraga CG.** Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular Aspects of Medicine*, **2005**; (26): 235–244.
- 33. Soylak M.** Analitik kimya ders notları. Erciyes Üniversitesi.
- 34. Susan B. Goldhaber.** Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **2003**; (38): 232–242.
- 35. Gijsbert B, Sarafanov A, Todorov TI, Mullick FG.** Clinical and Analytical Toxicology of Dietary Supplements: A Case Study and a Review of the Literature *Biol Trace Elem Res*, **2008**; 125:1–12.
- 36. www.mindfully.org/Pesticide/Minimata-Mercury-Victims.htm**
- 37. Belgemen T, Akar N.** Çinkonun Yaşamsal Fonksiyonları ve Çinko Metabolizması ile İlişkin Genler. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. **2004**; (57): 3.
- 38. Stefanidou M, Maravelias C, Dona A, Spiliopoulou.** Zinc: A multipurpose trace element. *Arch Toxicol*, **2006**; (80):1–9.
- 39. Green A, Parker M, Conte D, Sarkar B.** Zinc Finger Proteins: A Bridge Between Transition Metals and Gene Regulation. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, **1998**; (11): 103–118.

- 40. Stefanidou M, Maravelias C, Dona A, Spiliopoulou.** Zinc: A multipurpose trace element. *Arch Toxicol*, **2006**; (80):1–9.
- 41. Karadağ A.** Astımlı Çocuklarda Serum Çinko Düzeyleri. Uzmanlık Tezi, İstanbul **2006**.
- 42. Emily H.** Zinc deficiency, DNA damage and cancer risk. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **2004**;(15): 572– 578.
- 43. Bilgiçli N.** Fitik aitin beslenme açısından önemi ve fitik asit miktarı düşürülmüş gıda üretim metotları. *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, **2002**;16 (30): 79–83.
- 44. Dökmeçi İ.** Bölüm 16, Toksikoloji Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi, 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **1994** Sayfa no 342–343.
- 45. Dinçer FN.** İnsan doku ve sıvılarında hidrürü oluşturulabilen bazı elementlerin atomik absorpsiyon spektrofotometrisi ile analizinde hidrür oluşturma yöntemi ve zeeman etkili elektrotermal yöntemlerin karşılaştırılması. Doktora tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara **1999**.
- 46. Nakışçı A.** Yaş çözme işlemlerinde eser element kayıpları ve önlenmesi. Yüksek lisans tezi, Fen Bilimler Enstitüsü, Ankara **2003**.
- 47. Joaquim AN, Santos MC , Sousa RA , Cadore S , Ramon MB, Tatro M.** Sample preparation in alkaline media. *Spectrochimica Acta Part B*, **2006**; (61):465–495.
- 48.** mems.uwaterloo.ca:8080/download/attachments/917527/TMAH.
- 49. Welz B, Sperling M.** Bölüm 1, *Atomic Absorption Spectrometry*, 3. Baskı, Sayfa No: 1–15.
- 50. Skoog DA, Holler FJ, Neiman AT.** Bölüm 6, *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, 5. Baskı, Ankara: Bilim Yayıncılık; **1998**: Sayfa No 139.
- 51. Skoog DA, Holler FJ, Neiman AT.** Bölüm 9, *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, 5. Baskı, Ankara: Bilim Yayıncılık; **1998**: Sayfa No 214–216.
- 52. Skoog DA, Holler FJ, Neiman AT.** Bölüm 9, *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, 5. Baskı, Ankara: Bilim Yayıncılık; **1998**: Sayfa No 206–213.
- 53. Skoog DA, Holler FJ, Neiman AT.** Bölüm 9, *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, 5. Baskı, Ankara: Bilim Yayıncılık; **1998**: Sayfa No 217–222.
- 54. Dinçer N, Akar N.** Maternal hair zinc, copper and magnesium concentration in neural tube defects in Turkey. *Trace elements and electrolyts*, **1995**; 12(4): 184-185.

- 55. Flores EMM, Saidelles APF, Barin JS, Mortari SR, Martins AF.** Hair sample decomposition using polypropylene vials for determination of arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry. *J Anal At Spectrom*; **2001**; (16):1419–1423.
- 56. Morton J, Carolanb VA, Gardinerb Philip HE.** The speciation of inorganic and methylmercury in human hair by high-performance liquid chromatography coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Anal At Spectrom*, **2002**; (17): 377–381.
- 57. Ribeiro AS, Curtius AJ, Pozebon D.** Determination of As, Cd, Ni and Pb in human hair by electrothermal atomic absorption spectrometry after sample treatment with tetramethylammonium hydroxide. *Microchemical Journal*, **2000**; (64): 105–110.
- 58. MiekeLey N, Fortes LM, Carvalho I, C L Porto da Silveira, Lima MB.** Elemental anomalies in hair as indicators of endocrinologic pathologies and deficiencies in calcium and bone metabolism. *J Trace Elem Med Biol*, **2001**; (15): 46–55.
- 59. Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SN,** Bölüm 8, *Analitik Kimya Temel İlkeleri*, 8. Baskı, Ankara: Bilim Yayıncılık; **2008**: 175–224
- 60. Masso' EL, Corredor L, Antonio MT.** Oxidative damage in liver after perinatal intoxication with lead and/or cadmium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **2007**; (21): 210–216.
- 61. Aydın I.** Comparison of dry, wet and microwave digestion procedures for the determination of chemical elements in wool samples in Turkey using ICP-OES technique. *Microchemical Journal*, **2008**; (90): 82–87.
- 62. Kelly G. Fernandes, Ana Rita A. Nogueira, Jos' e A. Gomes Neto, Joaquim A. N' obrega** Determination of vanadium in human hair slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, **2007**; (71): 1118–1123.
- 63. Kazi TG, Afridi HI, Kazi N, Jamali MK, Arain MB, Sarfraz RA, Jalbani N, Ansari R, Shah A Q, Memon A R, Khandhro G A.** Distribution of zinc, copper and iron in biological samples of Pakistani myocardial infarction (1st, 2nd and 3rd heart attack) patients and controls. *Clinica Chimica Acta*, **2008**; (389):114–119.
- 64. Raob KS, Balajib T, Raoc TP, Babud Y, Naidua GRK.** Determination of iron, cobalt, nickel, manganese, zinc, copper, cadmium and lead in human hair by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Spectrochimica Acta*, **2002**; B (57): 1333–1338.
- 65. Gonzalez M, Martin L, Aleman M.** Hair zinc, copper and iron: relationships with quality of diet, tobacco smoking and nutritional status. *Trace Elements and Electrolytes*, **2008**; 25 (1):35-40.
- 66. Batista BL, Rodriguesa JL, Nunesa JA, Tormenb L, Curtiusb AJ, Fernando B Jr.** Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass

spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature: Comparison with ETAAS. *Talanta*, **2008**; (76): 575–579.

67. Ribeiro SA, Moretto AL, Arruda MA, Cadore S. Analysis of powdered coffee and milk by ICP-OES after sample treatment with tetramethylammonium hydroxide. *Microchim Acta*, **2003**; (141): 149–155.

68. Martins P, Pozebon D, Dressler VL, Kemieciki GA. Determination of trace elements in biological materials using tetramethylammonium hydroxide for sample preparation. *Analytica Chimica Acta*, **2002**; (47):195–204.

69. Vieira MA, Ribeiro S, Curtius J, Sturgeon RE. Determination of total mercury and methylmercury in biological samples by photochemical vapor generation. *Anal Bioanal Chem*, **2007**; (388): 837–847.

70. Silva RGL, Willie SN, Sturgeon RE, Santellia RE, Sellac SM. Alkaline solubilization of biological materials for trace element analysis by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analyst*, **1999**; (124): 1843–1846.

ÖZGEÇMİŞ

Selda Doğan 18 Haziran 1981 tarihinde Elazığ'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Mersin'de tamamladı. 2000–2004 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde lisans eğitimini tamamladı. 2004–2005 yılları arasında aynı üniversitede Kimya Öğretmenliği tezsiz yüksek lisansını tamamladı. 2005 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı ve 2006 yılında araştırma görevlisi kadrosuna atandı.

Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.