

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

**TOPRAK İLE BİTKİ ÖRNEKLERİNDEN ESER  
ELEMENTLERİN BİYOALINABİLİRLİLİĞİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Sinem ALBAYRAK**

**Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA**  
**Enstitü Bilim Dalı : ANALİTİK KİMYA**  
**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Hüseyin ALTUNDAĞ**

**Mayıs 2015**

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TOPRAK VE BİTKİ ÖRNEKLERİNDEN  
ESER ELEMENTLERİN BİYOALINABİLİRLİLİĞİNİN  
ARAŞTIRILMASI


DOKTORA TEZİ


Sinem ALBAYRAK

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA


Bu tez 07 / 05 / 2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. İ. Ayhan ŞENGİL  
Jüri Başkanı

  
Prof. Dr. Mustafa Ş. DÜNDAR  
Üye

  
Prof. Dr. Mustafa TÜZEN  
Üye

  
Prof. Dr. Mustafa SOYLAK  
Üye

  
Doç. Dr. Hüseyin ALTUNDAĞ  
Üye

## **BEYAN**

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Sinem ALBAYRAK

07.05.2015

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince düşünceleriyle beni yönlendiren, daima bana destek olan ve her türlü yardımı esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Hüseyin ALTUNDAĞ'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Destek ve önerileri ile çalışmaya katkıda bulunan Prof. Dr. Mustafa Şahin DÜNDAR, Prof. Dr. İ. Ayhan ŞENGİL, Prof. Dr. Abdil ÖZDEMİR, Prof. Dr. Mustafa TÜZEN ve Prof. Dr. Mustafa SOYLAK'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, bana destek ve sevgilerini esirgemeyen, bugünlere gelmemi sağlayan annem Şule ETÇİOĞLU, babam Erkal ETÇİOĞLU ve kardeşim Burak ETÇİOĞLU'na, bu zor dönemde beni yalnız bırakmayan, eşim Murat ALBAYRAK ve kızım Ecem ALBAYRAK'a çok teşekkür ederim.

Manevi desteğini esirgemeyen Uzm. Dr. Esra VARNALI, Dr. Hakan ÇİLELİ ve her zaman yanımda olan ve desteğini esirgemeyen arkadaşım Nilay TÜCCAR'a teşekkür ederim.

Bu çalışmayı 2012-50-02-021 nolu proje ile destekleyen Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonuna teşekkür ederim.

Bu tezi hazırlarken bilimsel etik kurallara uyduğumu beyan ederim.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xiii
SUMMARY.....	xiv

### BÖLÜM 1.

GİRİŞ.....	1
------------	---

### BÖLÜM 2.

TOPRAK, BİTKİ VE ESER ELEMENTLER.....	4
2.1. Toprak.....	4
2.1.1. Topraklarda eser elementler.....	5
2.2. Bitki.....	7
2.2.1. Bitkilerde eser elementler.....	7
2.3. Eser Elementler.....	9
2.3.1. Bakır.....	10
2.3.2. Çinko.....	11
2.3.3. Demir.....	12
2.3.4. Kadmiyum.....	12
2.3.5. Kobalt.....	13
2.3.6. Krom.....	14
2.3.7. Kurşun.....	15
2.3.8. Mangan.....	15
2.3.9. Nikel.....	16

## BÖLÜM 3.

BİYOALINABİLİRLİK.....	17
3.1. Biyoalınabilirlik Tanımı.....	17
3.1.1. Çevresel alınabilirlik.....	17
3.1.2. Çevresel biyoalınabilirlik.....	17
3.1.3. Toksikolojik biyoalınabilirlik.....	18
3.2. Sindirim Sistemi.....	22
3.2.1. Sindirim kanalı.....	23
3.2.2. Sindirim sistemi sıvıları.....	24
3.2.2.1. Tükürük sıvısı.....	24
3.2.2.2. Mide sıvısı.....	26
3.2.2.3. Bağırsak sıvısı.....	26
3.2.2.4. Safra sıvısı.....	28
3.2.3. Sindirim bölümleri.....	29
3.2.3.1. Ağızda sindirim.....	29
3.2.3.2. Midede sindirim.....	30
3.2.3.3. İnce bağırsakta sindirim.....	30
3.2.3.4. Kalın bağırsakta sindirim.....	31
3.2.4. Besinlerin Emilimi.....	32

## BÖLÜM 4.

ÇÖZÜNÜRLEŞTİRME METOTLARI VE İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA- OPTİK EMİSYON SPEKTROMETRESİ.....	33
4.1. Yaş Yakma Metodu.....	33
4.2. Kuru Yakma Metodu.....	33
4.3. Mikrodalga Metodu.....	34
4.4. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometre Cihazı.....	35
4.4.1. ICP-OES çalışma prensibi.....	37
4.4.2. Numune girişi.....	38
4.4.2.1. Sıvı numune girişi.....	38
4.4.2.2. Gaz numune girişi.....	39
4.4.2.3. Katı numune girişi.....	39
4.4.3. Girişimler.....	39

4.4.3.1. Ortam girişimi.....	39
4.4.3.2. Kimyasal ve fiziksel girişimler.....	40
4.4.3.3. İyonlaşma girişimleri.....	40
4.4.3.4. Spektral ya da zemin değer girişimleri.....	40

## BÖLÜM 5.

MATERYAL VE METOT.....	41
5.1. Materyal.....	41
5.1.1. Numunelerin toplanması.....	41
5.1.2. Numunelerin hazırlanması.....	41
5.1.3. Standart referans madde analizi.....	41
5.1.4. Çözünürleştirmede kullanılan asitler.....	42
5.1.5. Kullanılan cihazlar.....	42
5.2. Metot.....	44
5.2.1. Yaş yakma metodunun uygulanması.....	44
5.2.2. Mikrodalga metodunun uygulanması.....	44
5.2.2.1. Toprak numunelerine uygulanması.....	44
5.2.2.2. Bitki numunelerine uygulanması.....	44
5.2.2.3. Gıda numunelerine uygulanması.....	45
5.2.3. İn vitro sindirim metotları.....	45
5.2.3.1. İn vitro sindirim metotlarının sıvıları.....	46
5.2.3.2. RIVM metodu.....	47
5.2.3.3. UBM metodu.....	48

## BÖLÜM 6.

DENEYSEL BULGULAR VE TARTIşMA.....	49
6.1. Toprak Numunelerinin pH Değerleri.....	49
6.2. Standart Referans Madde Analiz Sonuçları.....	50
6.3. Toprak Numuneleri Analiz Sonuçları.....	52
6.4. Bitki Numuneleri Analiz Sonuçları.....	53
6.5. Gıda Numuneleri Analiz Sonuçları.....	53
6.6. Biyoalınabilirlik Sonuçları.....	55
6.6.1. Toprak numunelerindeki toplam element sonuçları.....	56

6.6.2. Bitki numunelerindeki toplam element sonuçları.....	56
6.6.3. % Biyoalınabilirlik sonuçları.....	59
6.6.3.1. Toprak numunelerine uygulanma sonuçları.....	59
6.6.3.2. Bitki numunelerine uygulanma sonuçları.....	63
6.6.3.3. Literatürdeki bazı çalışmalar ile karşılaştırma.....	66
6.7. ANOVA Testi (Varyans Analizi).....	67
6.7.1. Toprak numunelerine testin uygulanması.....	68
6.7.1.1. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen eser elementlerin ANOVA testi sonuçları.....	68
6.7.1.2. RIVM yöntemiyle ölçülen eser elementlerin ANOVA testi sonuçları.....	72
6.7.1.3. UBM yöntemiyle ölçülen eser elementlerin ANOVA testi sonuçları.....	75
6.7.1.4. RIVM ve UBM yöntemleriyle elde edilen biyoalınabilirliğin ANOVA testiyle karşılaştırılması.....	78
6.8. Eser Element Biyoalınabilirliğinin İnsan Sağlığına Etkisi.....	80
6.8.1. Önerilen diyet izni (RDA).....	81
6.8.2. Tolere edilebilir üst alım düzeyi (UL).....	81
BÖLÜM 7.	
SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	83
KAYNAKLAR.....	85
ÖZGEÇMİŞ.....	92



## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
BAF	: Biyoerişilebilir fraksiyon
°C	: Santigrat derece
Df	: Serbestlik derecesi
dk	: Dakika
DM	: Kuru madde
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DRI	: Günlük referans alımı
g	: Gram
g/g	: Gram/gram
g/L	: Gram/litre
g/cm <sup>3</sup>	: Gram/santimetre küp
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
HCl	: Hidrojen klorür
HClO <sub>4</sub>	: Hidrojen perklorat
HNO <sub>3</sub>	: Nitrik asit
ICP-OES	: İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi
L	: Litre
LOAEL	: En düşük gözlenen yan etki düzeyi
M	: Molar
MAC	: Maksimum izin verilebilir limit
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre

nm	: Nanometre
NOAEL	: En yüksek gözlenen yan etki düzeyi
ppm	: Parts per million
RDA	: Önerilen diyet izni
RNA	: Ribonükleik asit
sn	: Saniye
SS	: Standart sapma
UL	: Tolere edilebilir üst düzey alımı
W	: Watt

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Vücut sıvısındaki konsantrasyona bağlı olarak ağır metallerin etkisi...	10
Şekil 3.1. Sindirim sistemi organları ve sindirime yardımcı bezler.....	24
Şekil 4.1. Plazma geometrisi ve dikey sıcaklık profile.....	37
Şekil 4.2. Atomlaşma ve uyarılmanın şematik gösterimi.....	38
Şekil 5.1. RIVM metoduna göre gastrointestinal ekstraksiyonun aşamaları.....	47
Şekil 5.2. UBM metoduna göre mid eve gastro-intestinal ekstraksiyonu aşamaları.	48

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1. Biyoerişilebilirlik ölçümü için literatürde bulunan gastrointestinal bölümleri olan ve olmayan fizyolojik testler.....	20
Tablo 5.2. ICP-OES çalışma şartları.....	43
Tablo 5.3. RIVM ve UBM metotlarında kullanılan sindirim sıvısı bileşenleri.....	46
Tablo 6.1. Seçilen toprakların pH değerleri.....	50
Tablo 6.2. Toprak standart referans maddesinde toplam element konsantrasyonlarının belirlenmesi .....	51
Tablo 6.3. Bitki standart referans maddesi kullanarak element konsantrasyonlarının çözme koşullarının karşılaştırılması.....	51
Tablo 6.4. Toprak numunelerinin eser element içerikleri.....	52
Tablo 6.5. Bitki numunelerinin eser element içerikleri.....	53
Tablo 6.6. Gıda numunelerinin eser element içerikleri.....	55
Tablo 6.7. Türkiye topraklarında eser element seviyeleri.....	56
Tablo 6.8. Mikrodalga ile çözünürleştirilen toprak numunelerinin ICP-OES ile analiz sonuçları.....	57
Tablo 6.9. Mikrodalga ile çözünürleştirilen bitki numunelerinin ICP-OES ile analiz sonuçları.....	58
Tablo 6.10. Toprak numunelerine uygulanan RIVM ve UBM yöntemleriyle elde edilen % biyoalınabilirlik çalışması .....	61
Tablo 6.11. Bitki numunelerine uygulanan RIVM ve UBM yöntemleriyle elde edilen % biyoalınabilirlik çalışması.....	64
Tablo 6.12. Toprak numuneleri için literatürde var olan bazı çalışmalar ile bu çalışmaların % biyoalınabilirlik değerlerinin karşılaştırılması.....	65
Tablo 6.13. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen alüminyum.....	68
Tablo 6.14. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen bor.....	68
Tablo 6.15. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen baryum.....	69
Tablo 6.16. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen kadmiyum.....	69

Tablo 6.17. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen kobalt.....	69
Tablo 6.18. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen krom.....	69
Tablo 6.19. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen bakır.....	70
Tablo 6.20. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen demir.....	70
Tablo 6.21. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen lityum.....	70
Tablo 6.22. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen mangan.....	70
Tablo 6.23. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen sodyum.....	71
Tablo 6.24. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen nikel.....	71
Tablo 6.25. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen kurşun.....	71
Tablo 6.26. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen stronsiyum.....	71
Tablo 6.27. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen talyum.....	72
Tablo 6.28. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen çinko.....	72
Tablo 6.29. RIVM yöntemiyle ölçülen baryum.....	73
Tablo 6.30. RIVM yöntemiyle ölçülen kadmiyum.....	73
Tablo 6.31. RIVM yöntemiyle ölçülen kobalt.....	73
Tablo 6.32. RIVM yöntemiyle ölçülen mangan.....	73
Tablo 6.33. RIVM yöntemiyle ölçülen sodyum.....	74
Tablo 6.34. RIVM yöntemiyle ölçülen nikel.....	74
Tablo 6.35. RIVM yöntemiyle ölçülen stronsiyum.....	74
Tablo 6.36. RIVM yöntemiyle ölçülen talyum.....	74
Tablo 6.37. RIVM yöntemiyle ölçülen çinko.....	75
Tablo 6.38. UBM yöntemiyle ölçülen baryum.....	75
Tablo 6.39. UBM yöntemiyle ölçülen kadmiyum.....	75
Tablo 6.40. UBM yöntemiyle ölçülen kobalt.....	76
Tablo 6.41. UBM yöntemiyle ölçülen mangan.....	76
Tablo 6.42. UBM yöntemiyle ölçülen sodyum.....	76
Tablo 6.43. UBM yöntemiyle ölçülen nikel.....	76
Tablo 6.44. UBM yöntemiyle ölçülen stronsiyum.....	77
Tablo 6.45. UBM yöntemiyle ölçülen talyum.....	77
Tablo 6.46. UBM yöntemiyle ölçülen çinko.....	77
Tablo 6.47. Baryum için RIVM-UBM karşılaştırması.....	78
Tablo 6.48. Kadmiyum için RIVM-UBM karşılaştırması .....	78
Tablo 6.49. Kobalt için RIVM-UBM karşılaştırması.....	78

Tablo 6.50. Mangan için RIVM-UBM karşılaştırması.....	79
Tablo 6.51. Sodyum için RIVM-UBM karşılaştırması.....	79
Tablo 6.52. Nikel için RIVM-UBM karşılaştırması.....	79
Tablo 6.53. Stronsiyum için RIVM-UBM karşılaştırması.....	79
Tablo 6.54. Talyum için RIVM-UBM karşılaştırması.....	80
Tablo 6.55. Çinko için RIVM-UBM karşılaştırması.....	80

## ÖZET

Anahtar kelimeler: Toprak, bitki, eser element, mikrodalga yöntemi, indüktif eşleşmeli plazma-optik emisyon spektrometresi, biyoalınabilirlik, yapay sindirim modeli

Bu çalışmanın amacı, seçilen toprak ve bitkilerden eser elementlerin biyoalınabilirliği ve böylelikle kentsel ortamlarda potansiyellerinin insan sağlığı üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

Bu çalışmada, öncelikle Sakarya ilinden toplanan toprak, bitki ve gıda örneklerinde yaş yakma ve mikrodalga yöntemi kullanılarak, indüktif eşleşmeli plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) cihazı ile eser element seviyeleri belirlendi. Yöntemin doğruluğu, yaş yakma ve mikrodalga ile çözülen standart referans maddeler olan (SRM) NIST 7001 Light Sandy Soil ve NIST SRM 1515 Apple Leaves kullanılarak doğrulandı. Mikrodalga ile çözme yöntemi daha iyi sonuçlar verdi. Sonuçlar literatürdeki değerlerle kontrol edildi.

Sakarya ilinden toplanan toprak ve bitki örneklerinde mikrodalga yöntemi kullanılarak, ICP-OES cihazı ile eser element seviyeleri belirlendi. Biyoalınabilirlik çalışması için ise; iki yapay sindirim modeli kullanılarak toprak ve bitkiden insana geçen eser element seviyeleri belirlendi. İnsan fizyolojisine dayanan yapay sindirim modeline toprak ve bitki numunelerinin eklenmesiyle sindirim süreci başlamış olmaktadır. Böylelikle, insan sindirimine geçen eser element miktarının, toprak ve bitkide var olan eser element miktarına oranından % biyoalınabilirlik değerlerine ulaşılmaktadır. % Biyoalınabilirlik sonuçlarına göre, toprak numunelerinden insan sindirimine geçen element seviyeleri sırasıyla B = Cr = Cu = Fe = Pb = Li < Al < Ni < Co < Ba < Mn < Sr < Cd < Na < Zn < Tl < Mg < K < Ca; bitki numunelerinden insan sindirimine geçen element seviyeleri ise Cu = Fe = Ni = Pb = Tl = Na = Li < Co < Al < Sr < Ba < Mn < Cd < Cr < Zn < B < Mg < K < Ca olarak bulundu. ANOVA testine göre, çalışmada yapılan tüm elementler için  $p > 0.05$  ve  $F < F$  ölçüt olduğundan toprak numuneleri sonuçları arasında anlamlı bir fark yoktur, varyanslar homojen dağılmıştır. Yani toprak numunelerinin alındığı yerin değişmesi, RIVM ve UBM metotlarıyla ölçülen biyoalınabilirlik seviyelerinde önemli bir fark yaratmadı. RIVM ve UBM metotları arasında da anlamlı bir fark olmadığı sonuçlardan anlaşıldı. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde elde edilen sonuçların insan sağlığına zararlı seviyelere ulaşıp ulaşılmadığı kontrol edildi.

# INVESTIGATION OF BIOAVAILABILITY OF TRACE ELEMENTS FROM SOIL AND PLANT SAMPLES

## SUMMARY

Keywords: Soil, plant, trace element, microwave digestion, inductively coupled plasma-optic emission spectrometry, bioavailability, artificial digestion model

The main aim of this study was an investigation of the influence of selected soil and plant properties on the bioaccessibility of trace elements and hence, their potential impacts on human health in urban environments.

In this study, the determination of the trace elements in soil, vegetable, and food samples from Sakarya, was evaluated by inductively coupled plasma-optic emission spectrometry (ICP-OES) after wet and microwave digestion. The accuracy of the method was confirmed using certified referans materials (CRM) NIST 7001 Light Sandy Soil and NIST CRM 1515 Apple Leaves digested with regard to wet ashing and microwave digestion. The microwave digestion method offered best results. The results were checked with the literature values.

Determination of the trace elements in soil and vegetable samples from Sakarya, was evaluated by inductively coupled plasma-optic emission spectrometry (ICP-OES) after microwave digestion. Two artificial digestion models were used to determine trace element levels passing from soil and plants to man for bioavailability study. Digestive process is started by addition of soil and plant samples to artificial digestion model based on human physiology. Bioavailability % values are obtained from the ratio of the amount of element passing to human digestion to element content of soil and plants. According to bioavailability % results, element levels passing from soil samples to human digestion were  $B = Cr = Cu = Fe = Pb = Li < Al < Ni < Co < Ba < Mn < Sr < Cd < Na < Zn < Tl$ , while element levels passing from plant samples to human digestion were  $Cu = Fe = Ni = Pb = Tl = Na = Li < Co < Al < Sr < Ba < Mn < Cd < Cr < Zn < B$ . According to ANOVA test, there is no significant difference between soil samples results as  $p > 0.05$  and  $F < F_{criteria}$  for all elements in this study, variances are homogeneous spread. So, change in the place of the soil samples didnot create a substantial difference in bioavailability levels measured with RIVM and UBM methods. There is not a meaningful difference between RIVM and UBM methods. It was checked whether the results obtained reached harmful levels to human health by examining the literature.



## **BÖLÜM 1. GİRİŞ**

Eser elementler insanlar için potansiyel olarak zararlı kirleticiler olarak bilinmektedir [1]. Endüstriyel faaliyetler sonucunda çevreye sızan eser elementler, çok önemli kirlilik unsuru olup, canlı ekosistemlerde büyük zararlar meydana getirmektedir. Doğal ve yapay yollarla ortama katılan eser elementler kolayca birikip çevrede ve özellikle toprakta kompleks yapılar oluşturarak tehlikeli kirleticiler olarak tanımlanmaktadır [2].

Canlı organizmaların değişen miktarlarda eser elementlere gereksinimleri vardır. İnsanlar demir, kobalt, bakır, mangan, molibden ve çinkoya ihtiyaç duyarlar. Aşırı düzeyleri organizmaya zarar verebilir. Diğer eser elementler cıva, plütonyum ve kurşun gibi toksik metallerin ise organizmalar üzerinde bilinen yaşamsal ve yararlı etkileri yoktur ve zaman içinde vücutta birikmeleri ciddi hastalıklara yol açar. Normalde toksik olan bazı elementler ise, çeşitli organizmalar için bazı durumlarda yararlıdır. Bunların arasında vanadyum, tungsten ve hatta kadmiyum da bulunur [3,4].

Atmofere salınan eser elementler, önce yeryüzüne, sonra bitkilere, en son ise besin zinciri yoluyla hayvan ve insanlara ulaşırlar. Hayvan ve insanlar tarafından havadan aerosol veya toz halinde solunurlar. Ayrıca eser elementler, endüstriyel atık suların içme sularına karışması yoluyla veya eser elementlerle kirlenmiş partiküllerin tozlaşması yoluyla da hayvan ve insanlar üzerinde etkin olmaktadır [5].

İnsanların besinlerle alabileceği eser element miktarlarının tolerans limitleri bilinmektedir. Besin olarak kullanılan bazı maddeler, çeşitli organizmalarda depolanırlar, hatta besin zincirinin son üyesi olan insanlarda akut zehirlenmelere yol açarlar. Öyle ki, eser elementlerin yol açtığı toksik etki yüzünden bitkiler için gerekli

olan temel elementlerin alınamamasından dolayı enzimlerin yapısal bütünlükleri de bozular [6].

Biyoalınabilirlik, bir madde ya da elementin fraksiyonlarının bir kısmının yaşayan canlılar tarafından absorbe edilmesi olarak tanımlanır. Biyoerişilebilirlik, absorpsiyon için yararlı olan, mide ve bağırsak ortamında çözünmüş halde bulunan maddenin fraksiyonudur. Test objesi olarak hayvan kullanan deneysel çalışmalar in vivo çalışmalardır. İn vitro çalışmalar ise test objesi olarak hayvan veya insan kullanmaksızın suni çevre şartları oluşturularak yapılan kimyasal deneylerdir [7].

Biyoerişilebilirlik, insan vücudunda var olan, ağızda başlayan çiğnemeyle bağırsaklarda oluşan çökeltme arasındaki tüm fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik prosesleri içerir.

İnsan vücudundaki bir maddenin biyoerişilebilirliği biyoalınabilirlik prosesinin bir adımıdır. Belirli bir maddenin biyoerişilebilirlik değeri (sindirim sistemindeki çözünmüş miktar), biyoalınabilirlik değerinden (kan akışına ulaşan maddenin miktarı) daha büyük veya eşittir.

İnsan sindirimine geçebilecek toprak miktarlarının tahmini için bir mide ve bir bağırsak basamağını içeren sindirim simülasyon testleri kullanılır [8]. Bu testler; sadece tek faza (mide fazı) sahip olan basit fiziksel, kimyasal testler, gastrointestinal bölümleri olan ve birçok fazı içeren (tükürük, mide ve bağırsak fazları) fizyolojik testlerdir.

Çalışmada eser element tayini yapmamızın amacı, toprak ve bitkide var olan eser element seviyelerinin belirlenip aralarındaki geçişi görmemizi sağlamaktır. Belirlenen eser element seviyeleri çalışmamızın ilk basamağını oluşturmaktadır. Toprak ve üzerinde yaşayan bitkiden insana geçen miktarı bulmamızı sağlayan biyoalınabilirlik çalışmaları ise ikinci basamaktır. Yapay bir sindirim sistemi oluşturularak insana geçen eser element seviyesinin belirlenmesi amacıyla biyoalınabilirlik çalışmaları yapılmaktadır.

Bu çalışmada, biyoalınabilirlik çalışmaları kapsamında yapay bir sindirim ortamı hazırlandı ve bu ortama Sakarya ilinin çeşitli bölgelerinden toplanan toprak ve bitki örnekleri eklenerek bu örneklerdeki eser elementlerin insan sindiriminden geçişleri incelendi. Mikrodalga ile çözündürme yöntemi kullanılarak toprak ve bitkide belirlenen eser element değerleri, sindirimden sonraki belirlenen değerlerle oranlanıp yüzde biyoalınabilirlik sonuçlarına ulaşıldı. En yeni ve en çok kullanılan RIVM [9] ve UBM [10] yöntemleri esas alınarak toprak ve bitkiden insana geçen eser elementleri tayin edebilmek için çalışmalar yapıldı. Eser elementlerin sindirimden önceki ve sonraki miktarlarının belirlenmesiyle insan vücudundaki eser element birikimi ve toksik etkileri incelendi.

Özetle bu çalışmada, Sakarya ilinin çeşitli bölgelerinden toplanan toprak ve bitki numunelerini, oluşturulan yapay sindirim sistemine vererek insan bünyesinin hangi minerallerden ne kadar yararlandığını hangi elemente ihtiyaç duyup duymadığını, hangi elementlerin toksik etkilerine maruz kaldığını belirleyebilmek için eser element ve biyoalınabilirlik çalışmaları yapılmıştır.

## **BÖLÜM 2. TOPRAK, BİTKİ VE ESER ELEMENTLER**

### **2.1. Toprak**

Toprak; yeryüzünü örten, çeşitli kayaçların ve organik materyalin ayrışmasıyla oluşan, içinde ve üstünde geniş bir canlılar alemi bulunduran, karasal bitkilere durak yeri ve besin kaynağıdır. İçinde belli oranda su ve hava içerir. Ayrıca toprak, yaşayan organizmaların, yeryüzünün karasallaşma süreci içinde farklı zaman dilimlerinde karşılıklı etkileri sonucu ortaya çıkardığı ve çoğu kez birbirinden farklı katmanlardan kurulu canlı, dinamik ve üç boyutlu bir ortamdır [11].

Toprağın oluşumu uzun yıllar gerektirir. Mekanik, fiziksel, kimyasal ve biyolojik etmenler sonucu parçalanmış kayalar toprağı oluşturur. Toprağın bitki yetiştirecek hâle gelmesi de uzun zaman alır.

Toprak; kumlu, killi ve siltli olmak üzere üç çeşittir. Kumlu topraklar, geçirgendir, iyi havalanır, kolay işlenir ancak bitki besin maddelerince fakirdir. Kumlu topraklarda tanecikler arasında hava boldur.

Killi topraklar ise geçirgen değildir, iyi havalanmaz, kolay işlenmez ancak besin maddesince zengindir. Tanecikler arasındaki boşluklar küçük olduğundan hava da az bulunur. Bu nedenle killi topraklarda bitki yetiştirmek zordur. Bitki yetiştirmek için en uygun olan toprak-kumlu tınlı topraklardır.

Toprak reaksiyonu, toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkileyen en önemli toprak özelliğidir. Toprağın verimi, bitki gelişmesine uygunluğu ve mikroorganizmalar tarafından istenen özellikte olması toprağın asit, nötr ve alkali özellik göstermesine bağlıdır. Hidrojen ve hidroksil arasındaki ilişki pH değeri ile ifade edilir. Toprak çözeltisi içerisinde hidrojen iyonları fazla ise, toprak asit özelliği

gösterir. Toprak çözeltisinde hidroksil iyonları fazla ise, toprak alkalidir. Topraktaki hidrojen ve hidroksil iyonları eşit ise, toprak nötr özelliği gösterir [12].

Topraktaki asit özelliğın ortadan kaldırılması için kireçleme maddeleri kullanılır. Topraklarda kireçleme yapılıp, ortamdaki fazla miktardaki hidrojen iyonları nötralize edilerek bitki köklerinin kalsiyum ve bunun yanında magnezyum ve potasyum alımı daha dengeli bir şekilde sağlanmış olur [13]. Topraktaki asitliğin giderilmesi ve pH'ın yükseltgenmesine karşılık bazen de pH'ın düşürülmesi gerekir. Toprakta fazla miktarda hidroksil iyonu bulunduğunda toprağın verimliliği açısından pH düşürülmelidir.

Toprak pH'ı toprakta yaşayan canlılar üzerinde de etkilidir. Düşük pH değerlerinde topraktaki mantarların aktiviteleri artar. Yüksek pH'larda ise bakteriler hızla çoğalırlar. Bakteriler 6.0-8.0, mantarlar 4.0-5.0 pH derecelerinde maksimum seviyede yaşarlar.

Bazı bitkiler asitli toprakları severler. Bu bitkiler yetiştirilmek istendiğinde toprağın asitliğı artırılmalıdır. Toprakların asitlik derecesinin artırılıp, pH değerlerinin düşürülmesi için farklı maddeler kullanılır. Bu maddeler içinde elementel kükürt, sülfürik asit, alüminyum sülfat ve demir sülfat sayılabilir. Ayrıca amonyum sülfat ve amonyum fosfat gibi asit yapılı gübreler de bu amaç için kullanılabilir.

Toprağın yapısına katılan ve doğal olmayan maddeler, yerleşim alanlarından çıkan atıklar, egzoz gazları, endüstri atıkları, tarımsal mücadele ilaçları ve kimyasal gübreler toprak kirliliğine neden olur. Böyle topraklarda, bitkiler ve solucan gibi hayvanlar yaşayamaz, üstelik bitkilere geçen kirletici maddeler besin zinciri yoluyla insana kadar ulaşır [12].

### **2.1.1. Topraklarda eser elementler**

Toprağın en önemli rolü, canlılığın devamı için gerekli olan ortam olmasıdır. Eser elementlerle kontamine olmuş toprakta tarım ürünleri üretilebilir fakat bu ürünler

görünüşleri normal olmakla birlikte insanlar ve hayvanlar için güvenilir değildir [14].

Bakır, çinko, mangan, demir ve molibden gibi eser elementler doğal olarak topraklarda bulunurlar ve bitkiler için gerekli besin maddeleridir. Çeşitli yollarla toprağa önemli miktarda eser element girişi olmaktadır. Bu şekilde toprağa giren cıva, kadmiyum, nikel gibi eser elementler toprağın kolloid kompleksi tarafından özellikle üst toprakta ve humusta tutunurlar. Böylece toprak organizmaları üzerindeki toksik etkileri sebebiyle ölümlere yol açarlar. Ölü örtü ayrışması engellenir, toprak yapısı bozulur.

Eser elementler üst toprakta kuvvetle tutunduklarından alt toprağa doğru hareketleri zayıftır. Ancak toprak asitleşmeye başlarsa üst topraktaki eser elementler serbest kalarak taban sularına kadar ulaşabilir. Böylelikle eser elementler insanlar tarafından içme suyundan ve de bitki bünyesinden besin zinciri yoluyla alınabilirler. Ayrıca eser elementlerin toprak suyunda yoğun bir şekilde bulunması bitkiler için öldürücü etki yapar [15].

Eser elementlerin toprağın alt tabakalarına doğru süzülmesinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörler etkilidir. Bu olayda en önemli kimyasal faktörlerin pH, redoks potansiyeli, kation değişim kapasitesi, klor, kükürt, azot içerikleri, organik maddelerin miktar ve niteliğinin etkili olduğu bildirilmektedir [16].

Topraklarda fazla biriken eser elementler, sığ, kaba bünyeli (kumlu) ve organik madde içeriği düşük topraklarda pH'a bağlı olarak topraktan yıkanıp yeraltı sularına da karışabilmektedirler [17]. Eser elementlerin toprakta birikmesinin sadece toprak verimliliği ve ekosistem fonksiyonları üzerinde değil aynı zamanda besin zinciri yoluyla hayvan ve insan sağlığı üzerinde de önemli etkileri vardır [18].

Topraktaki eser elementlerin bitkilerin yapısına girmeleri, hareketli hale geçtiklerinde (serbest iyon haline) taban suyuna karışarak suyun niteliğini bozmaları, mikroorganizmalara zarar vermeleri, besin zincirine girerek, diğer canlılara dolaylı yoldan zararlı olmaları, hücrelerde plazmanın sertleşmesine, şişme-büzülmeye,

proteinlerin çökmesine, solunum intensitesinin ve dolayısıyla oksijen tüketiminin azalmasına neden olmaları en tehlikeli yanlarıdır [19].

## **2.2. Bitki**

Toprak ve bitkiler birbirine bağımlıdır. Bitkiler toprak ekosistemi için besin maddeleri sağlar ve suyun buharlaşma ile kaybını önlerler. Bitki ve toprak arasındaki ilişki dinamik bir dengedir. Aşırı ekim, aşırı otlatma, ormansızlaştırma, toprağın bitki örtüsünün yok olmasına neden olduğundan bu dinamik denge ortadan kalkar [20].

Toprakta yetişen bitkilerle, üzerinde yaşayan mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmeleri doğrudan ya da dolaylı olarak toprak reaksiyonuna bağlıdır.

Her bitkinin kendine uygun yaşadığı bir ortam vardır. Bu ortamlar asit, alkali, ve nötr olabilir. Bitkiler farklı ortamlarda yetiştirilmek istenirse ortamın pH'ı dolaylı ya da doğrudan bitki gelişimini etkileyebilir. Genel olarak bütün bitkiler fazla asidik topraklarda gelişemezler. Bitki besin elementlerinin bitkilere olan yararları ile pH değerleri arasında yakın bir ilişki vardır. Ortamın pH değerinin değişmesi bitkilerin topraktaki besin elementlerinden yararlanmasını zorlaştırır. Çünkü pH değeri değiştiğinde besin elementleri çözünmez bileşikler hâline geçebilirler. Böylelikle bitkiler bu maddeleri alamazlar.

Bitkiler topraktaki besin maddelerini en iyi pH 6.5 ve pH 7.5 arasında alır. Topraktaki asitlik artarsa bitki köklerinin hücre zarlarının yapısı bozularak geçirgenliği artar. Hücre içinden dışarıya madde geçişi olur. Bitki, besin elementlerinden yararlanamaz [12].

### **2.2.1. Bitkilerde eser elementler**

Bitkiler eser element çevriminde yer almaları ve besin zincirinin kontaminasyonunda ilk halkayı oluşturmaları bakımından önemli bir role sahiptirler. Bitkiler, eser elementleri dokuları içinde veya dış yüzeylerinde biriktirmektedirler. Böylece

bitkiler; eser elementlerin topraktan, kısmen de havadan ve sudan, insanlara ve hayvanlara geçişinde ara depolama yerleridir [14].

Bitkiler yetişmeleri sırasında, topraktaki elementleri kullanırlar. Bunların arasında eser elementler de vardır. Toprakta eser elementin fazla olması durumunda, bitki de kendi için bu metallere zehirlilik etkisi yapacak miktarda alabilmektedir. Eser elementler bitki filizine nazaran bitki tohumunda daha fazla birikmektedir [21].

Havayı kirleten katı maddeler arasında bulunan metal ve ametaller yağışlarla toprağı ulaşmaktadırlar. Bu eser element iyonları bitki tarafından alınarak, meyvelere geçerek veya et/sütte birikerek insanları etkileyecek düzeye ulaşabilmektedirler.

Çok küçük miktarlarda bile genellikle kuvvetli zehir etkisine sahip olan eser elementler, genellikle toprak ve su aracılığı ile bitkilere taşınmasına rağmen bazı durumlarda havadan direk olarak bitkilere, solunum yoluyla stomalardan girerek zarar verebilmektedirler. Eser elementler hücrelerde plazmanın sertleşmesine, şişme ve büzölmeye neden olmaktadır. Ayrıca bitki bünyesindeki proteinleri çöktürerek solunum intensitesi ve buna bağı olarak bitkinin oksijen tüketimini azaltırlar [15].

Toprakta eser elementlerin meydana getirdikleri kirliliğinin bitkilerdeki semptomları metalden metale değışebildiğı gibi bitki türleri arasında da farklılık gösterebilmektedir. Bitkilerdeki genel olarak görölen eser elementlerin toksisite belirtileri klorosis, kahverengi beneklerin oluşumu, yaprak, gövde ve kök kısımlarının deformasyonu gibi değışik nekrotik belirtiler şeklinde sıralanabilir [2].

Eser elementler genellikle toprakta toksik düzeylerde bulduklarında bitkilerde transpirasyon, stoma hareketleri, su absorpsiyonu, fotosentez, enzim aktivitesi, çimlenme, protein sentezi, membran stabilitesi, hormonal denge gibi birçok fizyolojik olayın bozulmasına neden olmaktadır [22].



### 2.3. Eser Elementler

Sanayileşmenin ve insan aktivitelerinin artması ile çevrede çeşitli kirlenmeler oluşmakta ve atmosfere çeşitli zararlı maddeler girmektedir. Bunun sonucunda, havada, suda, toprakta ve bitkilerde insan sağlığına zararlı olan eser elementler (Pb-Zn-Cu-Cr-Co-Cd vb.) birikmekte bu da karşımıza kirlilik olarak çıkmaktadır. İnsan ve diğer canlılar üzerinde zehirleyici etki yapan bu eser elementler toksik maddelerdir [20].

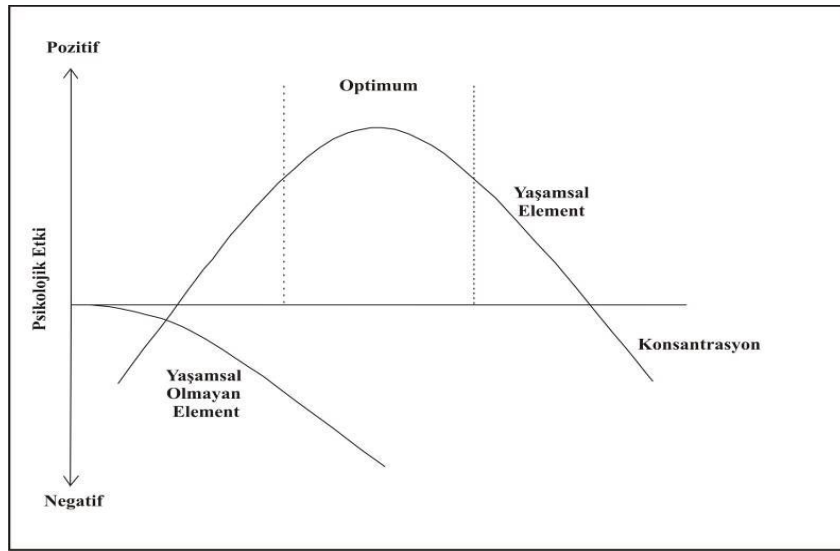
Fiziksel özellik açısından yoğunluğu  $5 \text{ g/cm}^3$ 'den daha yüksek olan metaller için kullanılırlar. Bu gruba kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, cıva ve çinko olmak üzere 60'dan fazla metal dahildir. Bu elementler yerkürede genellikle karbonat, oksit, silikat ve sülfürler halinde stabil bileşik olarak veya silikatlar içinde bulunurlar [23].

Eser elementler, periyodik cetvelin transisyon elementleri adı verilen geniş bir bölümünü kapsayan elementlerdir [24]. Eser elementleri diğer toksik elementlerden ayıran en önemli özellikleri, insanlar tarafından oluşturulabilir ya da yok edilebilir olmamalarıdır [25].

Besin zincirine ulaşan eser elementler, kimyasal veya biyolojik olarak bünyeden atılamazlar ve akümüle olurlar. Buna rağmen canlı organizmalarda her ne kadar taban, hava veya sulara rastlanılan konsantrasyonlardan çok daha yüksek oranda eser element konsantrasyon değerlerine ulaşılsa dahi, çok nadir olarak hayvan ve insanlarda sağlık riski doğuracak eser element akümülyasyon sınırına ulaşılır [23].

Eser elementler biyolojik proseslere katılma derecelerine göre yaşamsal ve yaşamsal olmayan olarak sınıflandırılırlar. Yaşamsal olarak tanımlananların organizma yapısından belirli bir konsantrasyonda bulunmaları gereklidir ve bu metallerin biyolojik reaksiyonlara katılmalarından dolayı düzenli olarak besinler yoluyla alınmaları zorunludur. Buna karşın yaşamsal olmayan eser elementler çok düşük konsantrasyonda dahi fizyolojik yapıyı etkileyerek sağlık problemlerine yol açabilmektedirler [26].

Eser elementler konsantrasyon sınırını aştıkları zaman toksik olarak etki gösterirler. Bu genel gösterimin aksine eser elementler canlı bünyelerde sadece konsantrasyonlarına bağlı olarak etki göstermezler, etki canlı türüne ve metal iyonunun yapısına bağlıdır (çözünürlük değeri, kimyasal yapısı, redoks ve kompleks oluşturma yeteneği, vücuda alınış şekli, çevrede bulunma sıklığı, lokal pH değeri vb.) [23].



Şekil 2.1. Vücut sıvısındaki konsantrasyona bağlı olarak eser elementlerin etkileri [23]

İnsan sağlığı açısından toksik olan bazı eser elementler, bu elementlerin özellikleri ve etkileri;

### 2.3.1. Bakır

Bakır canlılar için gerekli olan bir elementtir [27]. Ayrıca, bakır insanlar tarafından kullanılan ilk metallerden biridir ve doğada doğal olarak bulunur [28]. Bakırın en önemli özellikleri arasında yüksek elektrik ve ısı iletkenliği, aşınmaya ve korozyona karşı direnci sayılabilir. Ayrıca alaşımları çok çeşitli olup endüstride (otomotiv, basınçlı sistemler, borular, vanalar, elektrik santralleri ve elektrik, elektronik vb) değişik amaçlı kullanılmaktadır [23].

Hastalıklara karşı savunma mekanizmasında rolü vardır. Çoğunlukla molekül ağırlığı az olan organik maddelerle ve vitaminlerle bileşik meydana getirir. Fotosentez,

solunum, karbonhidrat parçalanması, azot kullanımı ve depolanması, hücre duvarı metabolizması gibi fizyolojik olaylarda önemli fonksiyonu vardır. DNA ve RNA'nın üremesini kontrol ettiği gibi, eksikliğinde ise bitkinin üremesi durur.

Tarımsal toprakta bulunan bakır miktarı 2-100  $\mu\text{g g}^{-1}$  arasında değişmektedir. Bakırın, eksikliğinde olduğu gibi fazlalığında da bitkiler doğrudan olmasa da dolaylı olarak zarar görür. Farklı bitki türleri farklı oranlarda bakıra ihtiyaç gösterirler.

Toprakta bakır içeren mineraller  $\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Cu}_3(\text{OH})_2(\text{CO}_3)_2$ ,  $\text{Cu}_2\text{O}$ ,  $\text{CuO}$ ,  $\text{Cu}_2\text{S}$ ,  $\text{CuS}$ ,  $\text{CuFeS}$ ,  $\text{Cu}_3\text{FeS}_4$ ,  $\text{Cu}_9\text{S}_5$ ,  $\text{Cu}_3\text{AsS}_4$  ve  $\text{Cu}_{12}\text{Sb}_4\text{S}_{13}$ 'dir. Toprak çözeltisinde bakır konsantrasyonunu, bu minerallerin hiçbiri tek başına kontrol edemez [29].

Bakırın bitkiler ve canlılar üzerindeki etkisi, kimyasal formuna ve canlının büyüklüğüne göre değişir. Küçük ve basit yapılı canlılar için zehir özelliği gösterirken büyük canlılar için temel yapı bileşenidir. Bu nedenle bakır ve bileşikleri fungusit, biyosit, anti bakteriyel madde ve böcek zehiri olarak tarım zararlılarına ve yumuşakçalara karşı yaygın olarak kullanılır.

Bakır oldukça zehirli bir metal olup, bazı bitkilerde doku hasarı, köklerde bozulma ve bitki renginde koyulaşma gibi zararlara sebep olur. Membran geçirgenliğinin bozulması sonucunda kök hücrelerinde iyon kaybı, DNA'nın zarar görmesi sonucunda da fotosentez işlemi bozulur.

Bakır zehirlenmesi sonucunda karaciğerde lekeler oluşabilir, bunun sonucunda da siroz, sinir sisteminin bozulması ve böbrek fonksiyonlarının zayıflaması gibi sonuçlar ortaya çıkmaktadır [30].

### 2.3.2. Çinko

2B grubu geçiş metalidir. Hayvan ve bitki metabolizması için gerekli bir eser element olmasına karşın; yüksek konsantrasyonlarının toksik etkileri bulunmaktadır. Canlılarda elliden fazla enzimin yapısında yer aldığı bilinmekle birlikte, aşırı dozları zararlı etkiye sahiptir.

Yüzey toprağındaki çinko miktarı, çeşitli ülkelerde 17-125 ppm arasında değişmektedir. Dünyada toprak için ortalama değer 64 ppm olarak kabul edilmektedir.

Kil ve topraktaki organik maddeler çinkoyu tutmada oldukça etkilidir. Topraktaki kil toplam çinkonun % 60'ını kontrol etmektedir [14]. Toprakta çinko içeren mineraller üç çeşittir:  $ZnCO_3$ ,  $ZnS$  ve  $Zn_4(OH)_2Si_2O_7 \cdot H_2O$  [29].

Aşırı çinko eksikliği ise insanlarda gelişimin yavaşlamasına, iskelet olgunlaşmasında gecikmeye, ishale, saç dökülmesine, iştahsızlığa ve davranışların değişmesine yol açar. Erkek ve kadın için tahmin edilen fizyolojik gerekli çinko emilimi sırasıyla 1.4 mg/gün ve 1.0 mg/gündür [31].

### 2.3.3. Demir

Demir doğada diğer metallere göre yüksek oranlarda bulunurken element halinde bulunmaz. Element halindeki demire sadece meteorların yapısında rastlanır. Buna karşın bileşikleri doğada bol ve yaygındır. Tabiatta oksit, sülfür ve karbonat bileşikleri şeklinde bulunur. Doğal olarak toprakta bulunan demir, akarsular ile deniz ve göllere taşınmaktadır. Ayrıca endüstriyel atıklarda kirletici kaynakları oluşturmaktadır [32]. Demir, insan organizmasında özellikle kırmızı kan hücrelerinin yapısında bulunan hemoglobinin fonksiyonel bir parçası olması bakımından önemlidir [33].

Toprakta demir mineralleri  $FeCO_3$ ,  $Fe_2O_3$ ,  $FeOOH$ ,  $Fe_3O_4$ ,  $FeS_2$  ve  $KFe_3(OH)_6(SO_4)_4$ dir [29].

### 2.3.4. Kadmiyum

2B grubundan, beyaz renkli bir metaldir. Çevresel olarak toksik (ekotoksik) metallerin en önemlilerindedir. Toprağın biyolojik aktivitesini, bitki metabolizmasını ve insanların sağlığını etkilemektedir. Besin zincirinde önemli

ölçüde birikmektedir. Düşük dozlarda bile insan için toksiktir. Doğal çevrede en önemli bulunuş şekli  $Cd^{+2}$ 'dir.

Topraktaki ortalama kadmiyum miktarı 0.06 ppm ile 1.1 ppm arasında değişmektedir. En yüksek kadmiyum konsantrasyonları ortalama 0.78 ppm ile organik toprak tabakasında, en düşük ortalama kadmiyum konsantrasyonları ise ortalama 0.37 ppm ile kumlu topraklarda bulunur [16]. Toprak kadmiyum seviyeleri toprak tipine ve pH değerine bağlıdır. Toprak pH'ındaki artışın bitkilerin kadmiyum alımını önemli ölçüde azalttığı bilinmektedir.

Kadmiyum, metabolik proseslerde gerekli olmayan bir element olarak bilinmesine karşın bitkiler tarafından köklerle ve yaprak sistemleriyle etkili bir şekilde absorplanmakta ve toprak organizmalarında da birikmektedir. Topraktaki kadmiyum miktarı ile bitkilerdeki kadmiyum miktarı arasında lineer bir ilişki bulunmaktadır [14].

İnsanlarda kadmiyumun en önemli etkisi ise hipertansiyona neden olmasıdır. Ağız yoluyla 15 mg kadmiyum alınması insanlarda derhal mide bulanması ve kusmaya neden olmaktadır. En fazla etkilenen organ ise böbreklerdir [16].

### 2.3.5. Kobalt

Kobalt en az sıklıkla bulunan elementler grubundadır. En çok süper alaşım olarak kullanılırken, bileşikleri ise petrol ve seramik endüstrisinde katalizör ve boyalarda pigment, mürekkep ve verniklerde kurutma maddesi olarak kullanılır [23].

Toprakta kobalt içeren mineraller ise;  $CoAsS$ ,  $CoAsS_{2-3}$  ve  $Co_3(AsO_4)_2 \cdot 8H_2O$ 'dir [29].

Havada bulunan toz halindeki kobaltın solunması ve kobalt tuzlarına deri teması neticesinde kobalt zehirlenmesi gerçekleşir. Toz halinde alınan element kobalt akciğerlerde çözünerek kana ve idrara karışır.

Suda çözünürlüğü olmayan kobalt oksit ( $\text{Co}_3\text{O}_4$ ) solunum yolu ile alındığında vücut tarafından çok iyi emilmekte ve hücrelerde bir kaç günde çözünerek kana karışmaktadır. Suda çözünür kobalt bileşikleri ağız yolu ile alındığında % 75'i tekrar atılırken geriye kalan kobalt kan, karaciğer, akciğer, böbrek, testisler ve bağırsaklarda toplanmaktadır [23].

### 2.3.6. Krom

Krom genellikle toprakta +3 değerlikli halinde bulunur. +6 değerlikli krom bileşiği deri tabaklama, elektro kaplama, boya pigmentleri ve boya fabrikalarında, çelik ve otomobil üretim endüstrilerinde yaygın olarak kullanılır. +6 değerlikli krom ayrıca enerji tesislerindeki nükleer atıklarda bulunur [34].

Bitkiler tarafından çoğunlukla +6 değerlikli krom iyonu şeklinde alınan krom, bitkilerin kök kısmında kalarak +3 değerlikli kroma dönüşmekte ve böylece çözünürlüğü çok düşük olan krom bileşikleri meydana gelmektedir.

$\text{Cr}^{+3}$  ve  $\text{Cr}^{+6}$ 'nın toksisite, çözünürlük ve hareketliliğindeki farklılıklar, toprakta tolere edilebilen maksimum krom seviyesinin tahmini, çevredeki düzenlemelerde birçok zorluğa yol açmıştır. Türkiye'de, Toprak Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği  $\text{pH}>6$  olan tarım topraklarında, toplam krom için maksimum konsantrasyon miktarını 100 mg/kg olarak hazırlamıştır [35]. Kromun, kayalardan ve topraktan suya, bitkilere, havaya ve tekrar toprağa olmak üzere doğal bir dönüşümü vardır [36].

Düşük seviyelerde kroma maruz kalındığında, deride irritasyon ve ülser meydana gelir [28]. Laboratuvar denemelerinde kromun kanserojen özelliği tespit edilmiştir ve kanserojen etki özellikle bronş sisteminde etkindir [36]. Kromun inhale edilmesi ve aşırı maruziyeti çeşitli hastalıklara sebep olur. Ayrıca karaciğere, böbreklere, dolaşım sistemine, sinir hücrelerine, kan ve dolaşım sistemi organlarına hasar verebilir [16].

### 2.3.7. Kurşun

Araçların egzoz gazları, sıvı ve katı fosil yakıtlarının yakılması, maden çıkarılması, işlenmesi, arıtılması aşamalarında meydana gelen katı atıklar, kurşun arsenat içerikli insektisit (böcek ilaçları) ve pestitlerin kullanımı topraktaki kurşun kirliliğinin başlıca kaynaklarıdır [30].

Kurşunun çözünürlüğü, toprak pH'nın nötr düzeylerinde en yüksek iken, kireç veya fosfatlı topraklarda, alkali pH'da çözünürlüğü azalır. Toprakta 16-20 ppm düzeyinde kurşun bulunur.

Tarım topraklarının kurşun içerikleri 2-2000 ppm gibi çok geniş bir aralıkta değişim göstermektedir. Kurşun toprakta kuvvetli bağlandığından immobil halde üst horizonlarda birikmekte ve alt katlara yıkanmamaktadır.

Kurşun vücutta zehir etkisi yaptığı için, kanda ve yumuşak dokularda belli bir seviyeye kadar birikir. Yaş, beslenme ve fizyolojik durumlar gibi birçok etmene bağlı olarak bu birikim seviyesi değişmektedir [16].

### 2.3.8. Mangan

Mangan yaşam için gerekli olup pek çok gıdada bulunan esansiyel bir eser elementtir. Demir-çelik fabrikaları, güç santralleri, yakma fırınları ve maden yataklarının tozlarından havaya karışabilir. Suya ve toprağa karışımı doğal kaynaklardan, atıkların deşarjıyla ve atmosferik taşınım ile olmaktadır. Nehir, göl ve yer altı sularında doğal olarak bulunur ve sudaki bitkiler tarafından bir miktar alınarak birikebilir. Genellikle karaciğer, böbrek ve pankreasta birikim gösterir.

Toprakta mangan mineralleri,  $MnCO_3$ ,  $MnO_2$ ,  $Mn_3O_4$ ,  $MnOOH$ ,  $(Mn, Si)_2O_3$  ve  $MnSiO_3$  şeklindedir. Toprak çözeltisindeki mangan konsantrasyonunun mineral tarafından kontrolü toprağın oksidasyon-redüksiyon şartlarına bağlıdır [29].

### 2.3.9. Nikel

Çelik alaşımlandırma elementi olarak önem kazanan nikel daha sonra elektrolitik olarak kaplama teknolojisinin geliştirilmesiyle geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Toprakta eser element olarak bulunan nikel, demir ve alüminyum silikatların latisinde yer almaktadır.

Parlak gümüşümsü sert bir ferromanyetik olan nikel metali nitrik asitte çözünebilirken seyreltik hidroklorik ve sülfürik asitte az oranda çözünebilmekte, sıcak-soğuk su veya amonyakta ise hiç çözünürlük göstermemektedir. Nikelin büyük bir çoğunluğu (%80), korozyon ve ısı direncinin yüksek, sertliğinin ve dayanımının iyi olması sebebiyle alaşım üretiminde kullanılmaktadır.

Nikel yakıtların yanması, madencilik ve rafinasyon işlemleri ve kentsel atıkların külleştirilmesi ile atmosfere yayılmaktadır. Bunun yanı sıra lağım çamuru karışmış toprakta ve sigarada (0 - 0.51 µg/sigara) bulunmaktadır [23].

Toprakta nikel içeren mineraller  $(Fe, Ni)_9S_8$ ,  $Ni_3Fe$ ,  $(Fe, Ni)_3C$ ,  $(Fe, Ni)_{23}C_6$ 'dır [29]. Bazı bitki türleri, örneğin; baklagiller, için yararlı bir element olan nikel, belli bir doz aşımında (0.18-5 ppm) zehirleyici olmaktadır [23].

Besin olarak toplam nikel alımı, hayvan yiyecekleri veya bitkilerin tükettikleri miktarlara bağlıdır. Günlük nikel alımının yaklaşık yarısı ekmek, içecek ve tahılların tüketilmesiyle olmaktadır. Besinlerin günlük 150 µg'dan az nikel içermesi tavsiye edilmektedir. İngiltere'de günlük değer; yetişkinler için 140-150 µg, çocuklar için 14-250 µg, A.B.D'de 69-162 µg ve Danimarka'da ortalama 130 (60-260) µg'dır [37].



## **BÖLÜM 3. BİYOALINABİLİRLİK**

### **3.1. Biyoalınabilirlik Tanımı**

Biyoalınabilirlik, bir madde ya da elementin fraksiyonlarının bir kısmının yaşayan canlılar tarafından absorbe edilmesi olarak tanımlanır. Biyoerişilebilirlik; absorpsiyon için yarayışlı olan, mide ve bağırsak ortamında çözülmüş halde bulunan maddenin fraksiyonudur. Test objesi olarak hayvan kullanan deneysel çalışmalar in vivo çalışmalardır. İn vitro çalışmalar test objesi olarak hayvan veya insan kullanmaksızın suni çevre şartları oluşturularak yapılan kimyasal deneylerdir [7].

ABD Ulusal Araştırma Konseyi (NRC) biyoalınabilirlik prosesini, toprak ve sediment ile ilgili kimyasallara organizmaların maruz kalmasını sağlayan bireysel fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkileşimler olarak tanımlar [38].

Dinamik bir proses olarak görülen biyoalınabilirlik 3 aşamaya ayrılır;

#### **3.1.1. Çevresel alınabilirlik**

Fizikokimyasal proseslerle kontrol edilen topraktaki kirliliğin alınabilirliği, toprakların katı ve sıvı fazları arasındaki madde ayrımıdır. Çevresel alınabilirlik, fizikokimyasal desorpsiyon proseslerinin bir sonucu olarak organizmalar için potansiyel olarak alınabilen kirletici fraksiyon olarak tanımlanır [39].

#### **3.1.2. Çevresel biyoalınabilirlik**

Organizma tarafından kirletici emilimi, söz konusu türlerin spesifik fizyolojik kriterlerine bağlıdır. Çevresel biyoalınabilirlik, fizyolojik proseslerle absorbe olan bir organizmanın çevredeki bir kimyasalın alınabilen fraksiyonudur [39].

Çevresel biyoalınabilirlik, biyolojik veya bitkilerle iyileştirme metodu içeren bir iyileştirme prosesindeki organik kirleticilerin bozunmasının potansiyel düzeyini tahmin etmek için kullanılabilir. Çevresel biyoalınabilirlik, topraktaki kirleticilerin düşmesi için mikroorganizmaların kabiliyetini veya emmek için bir bitkinin yeteneğini tahmin etmek için kullanılır.

### 3.1.3. Toksikolojik biyoalınabilirlik

Toksikolojik biyoalınabilirlik, organizmadaki kirleticilerin toksik etkisi, birikimi ve / veya dağılımına karşılık gelir [40]. Başka bir deyişle, biriken veya bir toksik etki ile ilgili iç konsantrasyonudur. Bu tanım insanlar, memeliler ve diğer organizmalardaki iç konsantrasyonları ifade eder [39].

Biyoerişilebilirlik, insan vücudundaki ağızdaki çiğnemeyle bağırsaklardaki çökelme arasındaki tüm fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik prosesleri içerir [8]. İnsan vücudundaki bir maddenin biyoerişilebilirliği, biyoalınabilirlik prosesinin bir adımıdır. Belirli bir maddenin biyoerişilebilirlik değeri (sindirim sistemindeki çözülmüş miktar), biyoalınabilirlik değerinden (kan akışına ulaşan maddenin miktarı) daha büyük veya eşittir.

İnsanın maruz kaldığı toksikolojik biyoalınabilirlik için, bir mide ve bir bağırsak basamağını içeren sindirim simülasyon testleri kullanılması önerilir [8].

Basit kimyasal testler sadece tek faza sahiptir (mide fazı) ve protokoller: SGS-modifiye edilmiş TCLP (Toksiste Karakteristik Yıkama Prosedürü) hiçbir psikolojik şart (testler 37°C'de yürütülmez) olmadan sadece inorganik kimyasal reaktanları (HCl) kullanır.

Basit fizyolojik testler sadece tek faza (genellikle mide fazı) sahiptir. Protokoller fizyolojik koşulları sağlayarak (testler 37°C'de yürütülür) birkaç kimyasal reaktan (glinin, fosfat, HCl) kullanır. İlgili yöntemler; RBALP8 (Bağıl Biyoerişilebilirlik Yıkama Prosedürü) veya SBET (Basitleştirilmiş Biyoerişilebilirlik Ekstraksiyon

Testi), fosfat (örnek) ile test, glisin (örnek) ile test, Kanada Sağlık tarafından HCl ile testtir.

Gastrointestinal bölümleri olan fizyolojik testler, birçok fazı (tükürük, mide ve bağırsak) içerir ve bağırsak bölümlerine (enzimler, safra tuzları) denk gelen özellikle kompleksreaktanların fazla sayıda olması gereklidir. Bu kategorideki testler, PBET (Fizyolojik Esaslı Ekstraksiyon Testi), IVG (İn VitroGastrointestinal Metot), RIVM test, SHIME (İnsan Bağırsak Mikrobiyal Ekosistem Simülatörü), UBM (Birleşik BARGE Biyoerişilebilirlik Yöntemi), DIN test (Alman Standardı), TIM (TNO Gastrointestinal Modeli), AOAC (Analitik Topluluklar Pepsin Sindirilebilirlik Testi Derneği), US Kodeks model ve MB&SR metodudur (Kütle Dengesi ve Toprak Reseptörü) [39].

37° C’de yürütülen biyoerişilebilirliğin belirlenmesi için kullanılan in vitro fizyolojik testler;

- Birkaç reaktan (HCl, glisin, fosfat) kullanan ve sadece mide fazını değiştiren basit fizyolojik testler,
- En az iki faz (mide ve bağırsak) değiştiren gastrointestinal bölümleri ile fizyolojik testler (örneğin enzimler, safra tuzları),

Bu testler 1990'lardan bu yana farklı uluslararası yazarlar tarafından geliştirilmiştir. Protokoller bu nedenle literatürde mevcuttur. Bu in vitro testler, Tablo 3.1'de listelenmiştir.

Tablo 3.1. Biyoerişilebilirlik ölçümü için literatürde bulunan gastrointestinal bölümleri olan ve olmayan fizyolojik testler [39]

	Fizyolojik Test	Basit	Gastrointestinal Bölümleri Olan	Geliştirilen Ülke
1	Fizyolojik Esaslı Ekstraksiyon Testi (PBET)		X	Amerika
2	Drexler tarafından modifiye edilen PBET		X	Amerika
3	Basit Biyoerişilebilir Ekstraksiyon Testi (SBRC tarafından geliştirilen SBET, çoğunlukla RBALP denir) ve onun değişik biçimleri örnek fosfat ve örnek glisin	X		Amerika
4	In Vitro Gastrointestinal Metod (IVG)		X	Amerika
5	Alman Standardı DIN 19738		X	Almanya
6	Açlık ve beslenme koşulları altında Halk Sağlığı ve Çevre (RIVM) için Hollanda Ulusal Enstitüsü tarafından geliştirilen sindirim modelleri		X	Hollanda
7	Birleştirilmiş Barge Protokolü: Birleştirilmiş Biyoerişilebilirlik Metodu (UBM) Avrupa		X	Avrupa
8	Beslenme şartları altında Beslenen Organik Tahmini İnsan Simulasyon Testi (FOREHST)		X	İngiltere
9	Çocuklarda İnsan Bağırsak Mikrobiyal Ekosistemin Simülatörü (SHIME)		X 1 Dinamik bölüm	Belçika
10	TNO Gastrointestinal Modeli (TIM)		X Dinamik	Belçika
11	US Kodeks Metod (USP XII 1990)		X	Amerika
12	Kütle Dengesi (MB) ve Toprak Reseptör Metodu (SR)		X	Amerika
13	Pepsin Sindirilebilme Testi (AOAC 2000)		X	Amerika

Biyoerişilebilirlikleri için bağırsak bölümleri olan in vitro fizyolojik testlerin arkasındaki tüm genel ilkeleri şunlardır:

Amaçları, yemeye toprak kirlenmelerine en çok maruz kalan, potansiyel nüfus olarak kabul edilen özellikle çocuklarda, insan vücudunun fizyolojik koşullarına benzemektir. Bu testlerin çoğu topraklardaki kirlenmelerin biyoerişilebilirliklerini (başlangıç olarak inorganik) incelemek için geliştirilmiştir. Ancak bazıları, beslenme çalışmaları çerçevesinde geliştirilmiştir (SHIME, TIM).

Genellikle kurutma ve eleme sonrası potansiyel olarak kirlenmiş toprak, özel olarak tasarlanmış cam kaba konulur ve çalışılan çeşitli mide-bağırsak bölümlerindeki fizyolojik koşulları temsil eden sindirim çözeltileri ile temas halinde yerleştirilir. Bu sindirim çözeltilerinin bileşenleri her bir test için özeldir.

En çok çalışılan bölümler mide ve ince bağırsaktır (çözünmüş kirliliğin emilimine en çok yol açan bölümler) [8]. Bazı testler tükürük fazını (RIVM, UBM, DIN) içerir. Diğerleri ince bağırsak ya da kolonun (TIM, SHIME) çeşitli bölümleri arasında ayırım yapar.

pH, fizyolojik olarak karşılaşılan gerçek pH'ı temsil etmek için her aşamada ayarlanır. Düşük pH değerleri (teste bağlı olarak genellikle 1 ile 2.5 arasında) mide fazları için kullanılırken daha yüksek pH değerleri ise (5.5 ile 7.5 arasında) bağırsak fazları için kullanılır. Ayrıca, tükürük fazını uygulayan testler pH değeri olarak 5.5 veya 6.5 kullanır.

Ortam, manyetik karıştırma çubukları, kürek rotor, çalkalama platformu veya baş aşağı döndürme (peristaltizme benzetmek için) ile karıştırılır. Testler anaerobik koşullar (argon veya azot gazı kullanılarak) ya da aerobik şartlar altında gerçekleştirilir. Ayrıca insan fizyolojisine uygun olarak 37°C sıcaklıkta testler gerçekleştirilmektedir.

Her bölümde kalma süresi teste bağlı olarak değişir. Bu süreler, tükürük fazları için (birkaç dakika) kısa, mide fazları için 1 ve 2.5 saat ve bağırsak fazları için 2-18 saat arasında değişmektedir.

Testlerin çoğu açlık haline benzeterek yapılır ancak bazıları gerçek şartları çoğaltmak için yemek girişine (DIN'de süt tozu girişi olur) izin verir. Toprak kirleticilerinin inorganik veya organik olup olmadığına bağlı olarak gıda, biyoerişilebilir fraksiyondaki bir artış veya bir azalışa olası bir neden olabilir.

Örnekler mide ve bağırsak biyoerişilebilirliklerini tahmin etmek için genellikle (tükürük aşaması hariç) çeşitli sindirim aşamalarının sonunda toplanır.

Konsantrasyonlar ölçülmeden önce, numuneler santrifüjlenir veya filtre edilir, daha sonra 4°C'de saklanır ya da (metal çalışmaları için) asit eklenerek stabilize edilir. Böylelikle elde edilen ekstraktlar uygun yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir.

Genel olarak, in vitro testlerin sonuçları, aşağıdaki denklemle hesaplanan bir yüzde olan biyoerişilebilir fraksiyon (BAF) olarak ifade edilmiştir [39].

$$\text{BAF (\%)} = \left( \frac{[\text{Element}]_{\text{biyoerişilebilir}}}{[\text{Element}]_{\text{toplam}}} \right) \times 100$$

[Element] biyoerişilebilir = mide ya da bağırsak fazından sonra ekstrakte edilen madde veya elementin konsantrasyonu

[Element] toplam = toprakta başlangıç olarak var olan madde veya elementin konsantrasyonu (sık kullanılan analitik teknikler ile ölçülen)

Elementlerin veya maddelerin biyoerişilebilir konsantrasyonları  $\text{mgkg}^{-1}$  kuru madde (DM) olarak ifade edilir.

### 3.2. Sindirim Sistemi

İnsan, yaşam için gerekli enerjiyi ancak besinlerdeki kimyasal maddelerden alabilir. Sindirim sisteminin görevi karbonhidrat, yağ, protein gibi başlıca besin maddeleriyle, su ve elektrolitlerin vücuda alınmasını sağlamaktır. Besin maddeleri kanaldan geçirilirken mekanik olarak parçalanır, kimyasal olarak sindirilir, basit moleküllerine ayrıştırılır; gerekli ve yararlı olanları emildikten sonra artıklar dışarı atılır [41].

Besin maddelerinin vücuda alınması, gerekli organlara ulaştırılması, bölünerek yapı taşlarına ayrılması, tüm hücrelere ulaşması, kana karışması ve atık ürünlerinin dışarı atılması olayına sindirim denir.

Sindirim aşamaları;

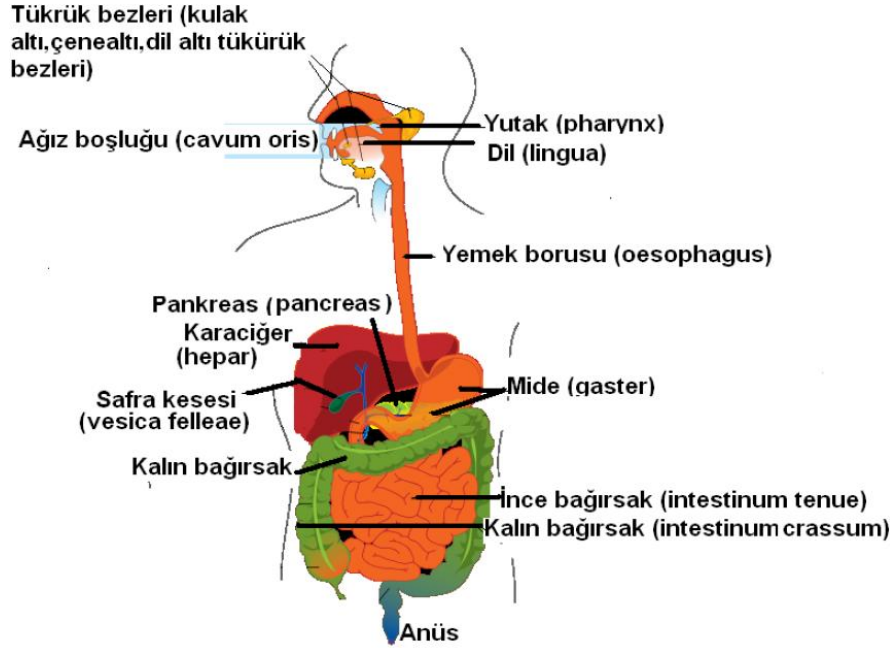
- **Yeme:** Sindirimin ilk aşaması olan yeme, besinlerin ağız yoluyla vücuda alınmasıdır.
- **Mekanik sindirim:** Besin maddelerinin yutulabilmesi için dişler aracılığı ile koparılması, parçalanması, ufalanıp öğütülmesi ve mideye gönderilmesi işlemidir.
- **Sindirim:** Besin moleküllerinin daha küçük yapı taşlarına ayrılması, kimyasal olarak yıkımıdır.
- **Salgılanım:** Sindirim kanalının epitel ve bezler tarafından su, asit, enzim ve tuzların serbestleşmesi ile gerçekleşir. Salgılanan sıvılar besinlerin sindirim ve emiliminde rol oynar.
- **Emilim:** Yapı taşlarına ayrılmış olan besin moleküllerinin bağırsak duvarlarında kan ve lenfatik sisteme emilerek alınması işlemidir.
- **Dışkılama:** Sindirilemeyen ve emilemeyen besin artıklarının vücuttan dışarı atılmasıdır.

### 3.2.1. Sindirim kanalı

Sindirim kanalı, ağız boşluğundan başlar, anüste sonlanır. Sindirim olayını gerçekleştiren organ ve yapılara sindirim sistemi denir. Sindirim sistemi iki temel bölüme ayrılarak incelenir [42].

- **Sindirim kanalı:** Ağızdan anüse kadar uzanan 8-10 metrelik bir kanaldır. Bu kanalın ağız, yutak, yemek borusu, mide, ince bağırsaklar, kalın bağırsaklar ve anüs olarak adlandırılan bölümleri vardır.

- **Sindirime yardımcı organ ve bezler:** Yaptıkları salgılarını özel boşaltım kanallarıyla sindirim kanalına boşalttıklarından sindirim kanalının eklenti organları olarak da adlandırılır. Bunlar karaciğer, pankreas ve tükürük bezleridir.



Şekil 3.1: Sindirim sistemi organları ve sindirime yardımcı bezler [42]

### 3.2.2. Sindirim sistemi sıvıları

Sindirim sistemi sıvıları; tükürük bezleri, mide, pankreas, karaciğer ve bağırsaklar gibi bez ve organlar tarafından salgılanan sıvılardır.

Sindirim sistemi sıvıları değişik pH'larda olup pek çok proenzim, enzim ve diğer maddeleri içerirler. Sindirim sistemi sıvıları besin maddelerinin sindirimi ve emilimi olaylarına katkıda bulunurlar [43].

#### 3.2.2.1. Tükürük sıvısı

Tükürük, memelilerdeki üç çift büyük bez ile ağız mukozasının dil, dudak, yanak ve damak kısmındaki daha küçük bezlerin salgılarının karışımıdır. Görevi, besinlerin



tümünü ıslatmak ve yutmak için kaygan bir duruma getirmektir. Ayrıca tükürük içeriğindeki  $\alpha$ -amilaz enzimi nişastanın sindirimini başlatır [44].

Tükürüğün dansitesi 1002-1020 arasında ve donma noktası  $-0.2^{\circ}\text{C}$  ile  $-0.7^{\circ}\text{C}$  arasında değişir. İstirahat halinde insanlarda tükürüğün pH'ı 5.8-7.1 (ortalama 6.7)'dir. Açlıkta tükürük pH'ı değişebilir.

Tükürük; %99.5 su, %0.17 inorganik maddeler ve %0.33 organik maddelerden oluşmuştur. Hormonlar tükürüğün miktarını etkilememekle birlikte bileşimini etkilerler.

Tükürükte bulunan inorganik maddeler  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  ve  $\text{HCO}_3^-$ 'dir. İnsanda tükürükte en çok bulunan inorganik iyonlar  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarıdır; bu iyonların tükürükteki konsantrasyonları, tükürüğün akış hızı ile artarken  $\text{K}^+$  konsantrasyonu ise tükürüğün akış hızı ile değişmez.

Tükürükte bulunan organik maddeler müsin, enzimler, immünoglobülinler, glukoz, üre, laktat, vitaminler, vb. maddelerdir. Müsin, tükürükte 2.7 g/L kadar bulunur; tükürüğün yapışkanlığından sorumludur; önemli ölçüde sublingual ve submandibuler bezler tarafından salgılanır.

$\alpha$ -amilaz enzimi tükürüğün sindirimde rol oynayan enzimdir; başlıca parotis bezinden gelir.  $\alpha$ -amilaz enzimi, glikojen ve nişastayı  $\text{NaCl}$  varlığında dekstrinlere ve maltoza hidrolize eder.

Parotis bezinin aynı zamanda bir lipaz da salgıladığına inanılır; ancak bunun aktivitesi düşük ve sindirimdeki önemi tartışmalıdır.

Tükürükte çoğu aminoasitler, düşük ve değişebilen konsantrasyonlarda bulunurlar. Tükürükte amonyak, kreatinin, ürik asit ve üre de bulunur; ancak önemleri bilinmemektedir [43].

### 3.2.2.2. Mide sıvısı

Mide sıvısı gastrik mukozada meydana gelen salgıların bir karışımıdır. İnsanlarda mide sıvısının pH'ı 1.1-1.8 arasındadır. Erişkin bir insanda, normal yemek ve açlık periyotlarını içeren 24 saatte 2-3 litre mide sıvısı salgılanır. Mide sıvısının salgılanma hızı, yaşlanma ile azalır.

Mide sıvısının bileşiminde %97-98 oranında su bulunur. Geri kalanı inorganik maddeler ve organik maddelerdir. Mide sıvısında bulunan inorganik maddelerden anyonların başlıcaları klorür, bikarbonat, fosfat ve sülfattır. Mide sıvısında bulunan kanyonlar da  $H^+$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  ve  $Mg^{2+}$ 'dur [43].

Midenin paryetal hücrelerinden HCl salgılanır [44]. Yemeklerden sonra kana geçen  $HCO_3^-$  miktarı artar. Mide sıvısının asit içeriği, proteinlerin büyük bir kısmını denatüre ederek enzimlerin proteinlere etkisini ve böylece proteinlerin sindirimini kolaylaştırır. Ayrıca konsantre HCl birçok mikroorganizmayı öldürür.

Midede yer alan bezlerin nonparyetal hücrelerinden pepsinojen salgılanır. Pepsinojen, midenin asit ortamında  $H^+$  iyonları etkisiyle ve ortamda az miktarda bulunan pepsin etkisiyle otokatalitik olarak aktiflenir ve böylece midede en önemli proteolitik enzim olan pepsin oluşur. Pepsinojen, pepsin haline dönüştükten sonra proteinlerin sindiriminde rol alır.

Mide sıvısı normalde renksizdir. Mide sıvısı içerdiği fazla miktarda HCl nedeniyle karakteristik keskin kokuludur [43].

### 3.2.2.3. Bağırsak sıvısı

Bağırsak mukoza hücrelerinden salgılanan sıvı çeşitli sindirim enzimleri içerir. İnce bağırsaklarda sindirimden sorumlu enzimlerin bir kısmı intestinal hücrelerden bağırsak lümenine salgılandıkları halde bazı enzimler intestinal epitel hücre sitozolünde veya membranda bulunurlar.

İnce bağırsak mukoza hücrelerinden ince bağırsak lümenine salgılanan enzimler enteropeptidazlar (enterokinazlar) ve fosfatazlardır. İnce bağırsak mukoza hücresi membranlarında veya sitozolünde bulunan enzimler aminopeptidazlar, dipeptidazlar, izomaltaz, maltaz, sakkaraz, laktaz, lipaz, nükleaz, nükleotidaz, nükleozidaz, fosfatidil kolin esteraz gibi enzimlerdir [43].

Pankreastan sindirim kanalına günde 17-20 mL/kg miktarında ekzokrin salgı salgılanır. Pankreasın ekzokrin salgısının salgılanması ve bu salgının bileşimi bireyin sağlık durumuna, son yemekten sonra geçen süreye ve bir uyarıcı alınıp alınmadığına bağlı olarak büyük değişiklikler gösterir.

Pankreasın ekzokrin salgısı normalde renksiz, kokusuz,  $\text{NaHCO}_3$  tadında ve düşük viskoziteli bir sıvıdır. Aç ve uyarılmış halde pankreasın ekzokrin salgısının dansitesi insanlarda 1007-1015 arasındadır. Pankreasın ekzokrin salgısının pH'ı insanlarda 7.0-8.5 arasındadır. Pankreatin, pankreasın ekzokrin hücrelerinin sentezlediği amilaz, lipaz ve proteaz gibi enzimlerin ortak adıdır.

Pankreasın ekzokrin salgısında en çok bulunan inorganik iyonlar  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  ve  $\text{HCO}_3^-$  iyonlarıdır; ayrıca potasyum, kalsiyum, magnezyum, çinko, fosfat, sülfat iyonları bulunur. Pankreasın ekzokrin salgısında  $\text{Cl}^-$  ve  $\text{HCO}_3^-$  iyonlarının molar konsantrasyonlarının toplamı sabittir; uyarı ile salgı hızının artması,  $\text{HCO}_3^-$  iyonlarının artmasına  $\text{Cl}^-$  iyonlarının ise azalmasına neden olur. Pankreasın ekzokrin salgısındaki sodyum, potasyum ve kalsiyum konsantrasyonları salgı hızından bağımsızdır.

Pankreasın ekzokrin salgısındaki organik maddelerin büyük kısmını enzimler ve zimojenleri oluşturur; az kısmını da albümin ve globülinler oluşturur.

Pankreasın ekzokrin salgısında en çok bulunan enzimler protein sindiriminde görevli tripsin, kimotripsin ve karboksipeptidazlardır [44]. Çeşitli hayvanların pankreas salgılarında kolinesteraz, psödokolinesteraz, elastaz, RNAz, DNAz,  $\beta$ -glikozidaz,  $\beta$ -galaktozidaz, lipaz, fosfolipaz A, kolesterol esteraz ve  $\alpha$ -amilaz da bulunmuştur.

Memelilerin pankreas sıvısı yüksek amilolitik ve lipolitik aktivite gösterir, ancak sığırların pankreas sıvısında istisna olarak her iki aktivite de düşüktür [43].

#### 3.2.2.4. Safra sıvısı

Safra, karaciğerden günde yaklaşık 1-2 litre kadar ve devamlı olarak salgılanan sıvıdır. Karaciğerden salgılanan safra hepatik kanala boşalır ve safra kesesinde depo edilir. Safra kesesinin duvarı safranın suyunu absorbe ederek safrayı konsantre hale getirir ve böylece karaciğerin safra salgısı için daha fazla yer sağlar. Safra kesesi aynı zamanda  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  ve diğer iyonları da absorbe eder; bu suretle safra ilk haline göre en az dört defa konsantre edilmiş olur. Safra normalde berrak, altın sarısı veya kahverengimsi sarı renklidir, reaksiyonu alkalidir.

Karaciğer safrası ile safra kesesi safrasının bileşimi farklıdır. Karaciğer safrası %97-98 oranında, kese safrası ise %85 oranında su içerir. Katı maddeler karaciğer safrasında %2-3 oranında, kese safrasında ise %10-15 oranındadır.

Safrada bulunan inorganik maddeler  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , fosfat ve sülfattır ki sekretin, safradaki  $\text{HCO}_3^-$  miktarını artırır. Safrada bulunan organik maddeler safra asitleri, müsin, bilirubin, ester kolesterol, lesitin, esterleşmiş veya serbest yağ asitleri ile alkalin fosfataz gibi bazı enzimlerdir. Safra içerdiği safra asitleriyle ince bağırsakta yağların misel oluşturmaya katkıda bulunmaktadır.

pH, karaciğer safrasında 8.0-8.6 arasında, safra kesesi safrasında ise 6-8 arasındadır. Safra bağırsağa boşalarak bağırsak ortamının pH'ını alkali tarafa kaydırmakta ve böylece sindirim enzimleri için optimum pH ortamı oluşmasını sağlamaktadır. Karaciğer safrası sarı renkli, safra kesesi safrası ise yeşil renklidir [43].

### 3.2.3. Sindirim bölümleri

#### 3.2.3.1. Ağızda sindirim

Hipotalamusta bulunan beslenme doyma merkezlerinin uyarılarıyla açlık ya da iştah gibi nedenlerle besin maddeleri ağız yoluyla alınır. Besin maddelerinin ağız yoluyla alınmasına alimentatio (ingestio-yeme) denir.

Besinler tükürük salgısı tarafından ıslatılır, dil, yanak ve çene kasları yardımıyla dişler tarafından da mekanik olarak parçalanır. Bu olaylar çiğneme adı verilen ağız hareketleriyle gerçekleşir. Çiğneme istemli başlar ve refleks olarak devam eder. Çiğneme merkezi soğanilik ve ponstadır. Mekanik parçalama ve ıslatma ağızda oluşur. Mekanik parçalama çiğneme ve tükürük salgısının sulandırma etkisiyle gerçekleşir. Bu parçalanmayla besin maddeleri küçük parçalara bölünür. Tükürük, ağza yiyecek alınmasıyla veya çeşitli uyarılarla salgılanmaya başlar. Besinler mekanik olarak parçalanırken tükürük içindeki organik ve inorganik maddelerin aracılığıyla kimyasal olarak da dönüşüme uğrar, bu da sindirimi hızlandırır. Tükürük sayesinde besinler, yemek borusundan kolayca kayar.

Yutulmaya hazır hâle gelmiş besin lokma olarak adlandırılır. Yutma ağızda bulunan lokmanın dil üstüne istemli toplanmasıyla başlayan ve lokmayı yutağa iten reflektir. Yutma dilin lokmayı yumuşak damağa bastırması ile başlar. Bu bölüme istemli yutma denir. Daha sonra istemsiz yutma(refleks) başlar. Yutma esnasında çene kapanır ve yumuşak damak yukarı kalkar. Burun, boğaz boşluğu kapanır. Lokma yutağa doğru itilir. Lokmanın soluk borusuna kaçmaması için refleks olarak soluk tutulur ve gırtlak epiglotu tarafından kapatılır. Lokma yemek borusunu geçince epiglot eski hâline döner. Yutağın alt kısmında bulunan kaslar ve dil lokmayı yemek borusuna ve aşağı doğru iter. Yemek borusunun üst bölümündeki sfinkterler gevşeyerek lokmanın geçmesini sağlar ve yemek borusundaki peristaltik hareketler başlar. Bir yutma işleminde yaklaşık olarak 35 mL besin alınır. Kısaca yutma işlemi ağız aşaması, yutak aşaması ve yemek borusu aşaması olarak üç aşamada gerçekleşir [42].

### 3.2.3.2. Midede sindirim

Midenin depo fonksiyonu, besinleri karıştırma fonksiyonu, sindirilmeleri ve emilebilmeleri için besinleri bağırsağa iletme fonksiyonları vardır.

Mide sindirim sisteminin en geniş organıdır ve alınan besinler depolanır. Besinlerin sindirilmesi için mide sıvısıyla reaksiyona girmesi ve karıştırılması gerekir. Besinler midenin peristaltik hareketleriyle karıştırılır.

Mide dolu iken her 20 saniyede bir peristaltizm yaparak katı ve sıvıyı birbirine karıştırır. Bu karışıma kimus denir. Meydana gelen karışım yavaş yavaş pilor bölümünden duodenuma geçer [44]. Sıvılar mideyi katılardan daha hızlı terk eder. Bu süre yaklaşık 20 dakikadır. Kimus ise 1,5 saatte mideyi terk eder [42].

### 3.2.3.3. İnce bağırsakta sindirim

İnce bağırsaklar sindirimde büyük rol oynar. Bağırsak sindiriminin % 90'ı burada gerçekleşir. İnce bağırsakların sindirimi gerçekleştirebilmesi için bazı salgı ve enzimlere ihtiyacı vardır. Midenin asidik içeriği ince bağırsaklara geçtiğinde duodenumun başlangıç bölümünde bulunan burunner bezleri tarafından müsin salgılanır [44]. Müsin bağırsak mukozasını mide asidine karşı korur ve mukozayı kayganlaştırır. Bunun dışında ince bağırsaktan salgılanan salgılar da sindirimde rol oynar.

Bu salgıların etkileri ile mideden gelen kimusun sindirim işlemi tamamlanır. Kimusun onikiparmak bağırsağı geçici hızlıdır, ortalama 15 dakikada gerçekleşir. İnce bağırsakta bu ilerlemenin süresi 4-5 saattir. İnce bağırsak mukozasının pH'ı ise 7.6'dır [42].

Karbonhidratların sindirimi ağızda başlar. Tükürükte bulunun pityalin enzimi ile karbonhidratlar glikoz, maltoz ve dekstrine kadar parçalanır. Sindirimin tamamlandığı yer ince bağırsaktır. Onikiparmak bağırsağına pankreas tarafından salınan amilaz enzimi karbonhidratları glikoza kadar parçalar. Midede karbonhidrat sindirimi

görülmez. Karbonhidratların sindiriminde görev alan enzimlerin genel adı karbonhidratazdır.

Proteinlerin sindirimi ağızda olmaz. Proteinlerin sindirimi midede başlar ve ince bağırsaklarda tamamlanır. Protein sindiriminde; pepsin, tripsin, kimotripsin görev alır. Bu enzimlere proteaz enzimler denir. Pepsin, proteinleri etkileyerek proteinleri polipeptit ve aminoasitlere parçalar. Bu karışım ince bağırsaklara geçer. Proteinler ince bağırsaklarda pankreas enzimleri ve ince bağırsak sıvısında bulunan enzimler yardımıyla sindirilerek serbest aminoasitlere parçalanır. Aminoasitlere parçalanan proteinler ince bağırsaklardan emilerek kan dolaşımına verilir.

Yağların sindirimi ağız ve midede olmaz. Yağların sindirimi onikiparmak bağırsağında başlar ve ince bağırsaklarda devam eder. Karaciğerin salgısı olan safra tuzları, yağları küçük yağ damlacıkları haline getirir. Bu durum yağların sindirimini kolaylaştırır. Pankreastan salgılanan lipaz enzimi ile safra salgısı yağların sindiriminde rol oynar.

#### **3.2.3.4. Kalın bağırsakta sindirim**

Kalın bağırsak, ince bağırsaktan sonra gelen sindirim sisteminin son bölümüdür. Sindirilemeyen besinler ince bağırsaktan geçerek birkaç saat içinde kalın bağırsağa ulaşır. Kalın bağırsağa geçen besinler sıvı haldedir. Besinler kalın bağırsağın içinde ilerlerken suyu emilerek katılaşmaya başlar. Kalın bağırsağın en önemli görevi; suyun geri emilimini sağlamaktır. Bu emilim oldukça önemlidir ve günde 500-1500 litre arasında değişir. Böylece su kaybı önlenir ve dışarıya atılması gereken maddelerin koyulaşması sağlanır. Kalın bağırsakta ayrıca; inorganik tuzlar, bir miktar glikoz ve kısa zincirli yağ asitleri emilir.

Kalın bağırsağın, ince bağırsaklar gibi karıştırıcı ve peristaltik hareketleri vardır. Peristaltik hareketler sayesinde bağırsak içeriği bir boğumdan diğerine geçerek ileriye doğru itilir. Kalın bağırsağın çeşitli fonksiyonları vardır. Bunlar kimustaki su ve elektrolitlerin geri emiliminin sağlanması, atık maddelerin atılincaya kadar depo

edilmesi ve kalın bağırsaktaki bazı simbiyotik bakteriler tarafından B ve K vitamini gibi vitaminlerin sentezlenmesidir.

Sindirim sonucu emilmeyen atık maddeler kalın bağırsak vasıtasıyla rektuma iletilir ve dışkılama ihtiyacı olur. Dışkılama isteği ile makatı kontrol eden rektumdaki kaslar gevşer, karın içi basıncı artar ve atık maddeler (dışkı, feçes, gaita) rektuma itilir. Dışkının rektumdan dışarı atılmasına defekasyon denir. Kalın bağırsakta oluşan dışkı içeriğinde; bakteri, su, inorganik maddeler, sindirilmemiş bitki lifleri, mukoza hücreleri ve sindirim enzimleri vardır. Kalın bağırsaktan günlük atılan dışkı miktarı 200-400 gramdır [42].

#### **3.2.4. Besinlerin emilimi**

Besinlerin emilimi, çoğunlukla bağırsaklarda ve öncelikle ince bağırsağın yukarı bölümünde gerçekleşir. Karıştırma hareketleri ile besinlerin mukoza ile teması sağlanır. Normal insanda karışık besin maddelerinin alımından sonra karbonhidratların % 100'ü, yağların % 95'i ve proteinlerin % 90'ı ince bağırsaklardan geçerken emilir. Besin maddelerinden çabuk emilenler jejunumdan, geç emilenler ileumdan emilir. Karbonhidratların emilimi özellikle onikiparmak bağırsağı ve jejunumda gerçekleşir. Emilen karbonhidratların büyük çoğunluğu vena porta, geri kalanıysa lenf yoluyla dolaşıma katılır. Proteinlerin emilimi jejunumda gerçekleşir. Bu emilim ancak proteinler aminoasitlerce parçalanmışlarsa yapılabilir. Aminoasitlere parçalanan proteinler ince bağırsak villuslarından emilerek kana verilir. Safra tuzları ve B12 vitamini ileumun son kısmından emilir.

Lipitlerin emilimi onikiparmak bağırsağının sonu ile jejunumun başlangıcında gerçekleşir. Yağda eriyen vitaminler lipitler gibi emilir ve lenf yoluyla dolaşıma geçer. Besinler ve içilerek alınan suyun büyük bölümüyle elektrolitler, ince bağırsaklardan geri emilir. Besinlerin emilemeyen ve kana geçmeyen kısımları ince bağırsak tarafından kalın bağırsağa gönderilir [42].



## **BÖLÜM 4. ÇÖZÜNÜRLEŞTİRME METOTLARI VE İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA-OPTİK EMİSYON SPEKTROMETRESİ**

Örneklerin çözülmesi için genellikle üç temel metot kullanılır: Bunlar; yaş yakma, kuru yakma ve mikrodalga ile çözünürleştirilmedir. Bu metotlardan hangisinin seçileceği örneğin özelliğine, kullanılacak donanım ve analizi yapılacak olan elemente bağlıdır.

### **4.1. Yaş Yakma Metodu**

Bu metotta, katı örnekler homojenize edildikten sonra sabit tartıma gelinceye kadar kurutulur. Bir beher içerisinde kurutulan örnekten belirli bir miktarda tartılarak üzerine çözünürleştirmede kullanılacak olan reaktif ilave edilir. Kullanılabilecek reaktifler genellikle inorganik asit veya karışımlarıdır. Reaktif ilavesinden sonra örneğin bulunduğu beher üzerine saat camı kapatılarak sıcak plaka üzerinde örnek çözülür. Çözünme zamanı kullanılan reaktiflere (örneğin  $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$  için bu süre 10 dakika) göre değişir. Çeker ocakta çözelti berraklaşınca kadar çözünürleştirme işlemine devam edilir. Oda sıcaklığına kadar soğutulan çözelti deiyonize su ile seyreltildikten sonra süzülür ve analiz edilir [29].

### **4.2. Kuru Yakma Metodu**

Bu metotta ise, homojen hale getirilen katı örnekler krozeyle alınır. Bazı çalışmalarda kül etme işlemini hızlandırmak için katı örnekler üzerine etil alkol eklenerek  $400^\circ\text{C}$ 'de ön yakma işlemi yapılır. Krozeler kül fırınına yerleştirilir. Daha sonra kül fırınının sıcaklığı  $500-700^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanır. Krozede yanmamış madde kalmayana kadar (yaklaşık 2 saat) yakma işlemine devam edilir. Krozede elde edilen kül rengi açık gri ise yakma işlemi tamamlanmıştır. Siyah kül rengi malzemenin tamamen yakılmadığı

ve halen organik kısımların olduğunu gösterir. Daha sonra krozeler oda sıcaklığına kadar soğutulur ve asit/asit karışımları ilave edilerek örnek çözülür. Son olarak çözelti deiyonize su ile seyreltikten sonra süzülür ve analiz edilir. Kuru yakma metodunda sadece fırına ihtiyaç duyulması ve çok çeşitli örneklere uygulanabilir olması avantaj gibi görünmekle beraber bazı elementlerin bu işlem sırasında buharlaşması ve bazı kirlenmelerin oluşması gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Kuru yakmada kullanılan krozeler de oldukça önemlidir. Kuartz krozeler özellikle asit ve halojenlere dayanıklı olup bazlara karşı dayanıklı değildir. Porselen krozeler ise kuartzta benzer özellik gösterirler. Ancak bazı elementler bu krozelerin çeperlerine yapışabilir. Bu nedenle kullanılmadan önce asitlerle yıkanmalıdır. Paslanmaz çelik krozeler asit ve bazlara dirençli olmalarına karşın elementlerin analizinde kullanılamaz. Platin kroze inert olmasından dolayı analizlerde tercih edilmelidir. Ancak platin krozeler diğer krozelere göre çok pahalıdır [45].

### 4.3. Mikrodalga Metodu

Geleneksel kullanılan yaş ve kuru örnek hazırlama metotlarında büyük hacimli reaktifler kullanılır ve fazla zaman tüketilir. Ayrıca açık kaplarda ve yüksek miktarda reaktiflerle çalışıldığından örneğin kirlenme riski yüksek olur. Bu çalışmalar sırasında çıkan dumanlar aşındırıcı oldukları için, analizi yapan kişiye ve çevreye zarar verir. Bu nedenle bir diğer çözme tekniği olan mikrodalga çözünürleştiriciler temiz kimya prensibiyle bu sistemlerin yerini almaya başlamıştır. Mikrodalga ilk kez 1975 yılında yaş yakma açık sistemlerde hızlı ısıtma amacıyla kullanılmıştır. Biyolojik örneklerin erlenmayer içinde asitle parçalandığı konvansiyonel yöntemle 1-2 saat süren parçalama süresi mikrodalga ısıtma ile 5-15 dakikaya indiği belirlendikten sonra mikrodalga ile yeni örnek hazırlama teknikleri hızla gelişmeye başladı. Başlangıçta bu işlemler cam kaplarda ve açık teflon kaplarda yapılırken şimdi bu işlem için kapalı kaplar tercih edilmektedir. Çözünürleştirme için kapalı kapların kullanılması zararlı buharların yayılmasını ve örnek kirlenmesini engellerken, kolay programı yardımıyla çözünürleştirme yapılır. Bu nedenle mikrodalga ile çözünürleştirmede basınç, sıcaklık, süre ve çözünürleştirme için kullanılan reaktif seçimi önemlidir. Çözünürleştirme için genellikle nitrik asit, hidroklorik asit, hidroflorik asit, sülfürik asit, perklorik asit kullanılmaktadır.

Hidrojen peroksit ve bunların değişik kombinasyonları da kullanılabilir. Ayrıca katı örneklerin çözülmesi için 10 mL gibi diğer metotlara göre oldukça az miktarda çözücüler kullanılır. Ayrıca geleneksel ısıtma metotlarında ısı, gıda maddesine kondüksiyon, konveksiyon ve/veya radyasyon ile transfer olurken mikrodalga ısıtmada tersine ısı direkt olarak gıda maddesinin içine girer. Bu yüzden mikrodalga ısıtma geleneksel ısıtmaya göre daha hızlıdır. Bunun yanında mineral asitler, mikrodalga enerjisini aniden ısıya dönüştürdüklerinden örneğin ısınması hızlı olur ve reaksiyon kısa sürede tamamlanır. Modern analiz laboratuvarlarında mikrodalga ile çözünürleştirme metotları eser ve ultra eser elementlerin analizinde örneğin çözünürleştirilmesinde gittikçe yaygınlaşarak kullanılmaktadır. Özellikle un, buğday, yenilen deniz ürünleri, şarap gibi farklı gıda maddelerinde ve referans maddelerde eser element analizlerinde farklı çözünürleştirme metotları kullanılmış ve en iyi sonucun mikrodalga ile çözünürleştirmenin verdiği görülmüştür [46,47].

#### **4.4. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometre Cihazı**

ICP-OES, birçok elementin aynı anda nicel tayininde kullanılan analitik metotlardan birisidir. Düşük derişim seviyelerinin tayininde başarılı bir analitik yöntemdir. ICP kaynağı, argon gibi inert gazlardan yüksek enerjili ve yüksek frekanslı iyonlaşmış bir plazmayı üretir. Bir numune plazmanın merkezine enjekte edildiğinde, 10.000 K sıcaklıktaki plazma, numunedeki elementlerin ayrışma, atomlaşma ve uyarılma işlemlerinin gerçekleşmesini sağlar. Bu olaylar, çalışılan elementlerin kendilerine özgü frekansta ışığı yayması ile sonuçlanır. Bu ışık şiddeti, numune içerisindeki elementlerin derişimi ile doğru orantılıdır ve bir emisyon spektrometresi ile ölçülür. Spektrometre özgün frekansları farklı dalga boylarına ayırabilme ve nicel sonuç alabilmeyi sağlar [48].

ICP-OES'in bazı avantajları:

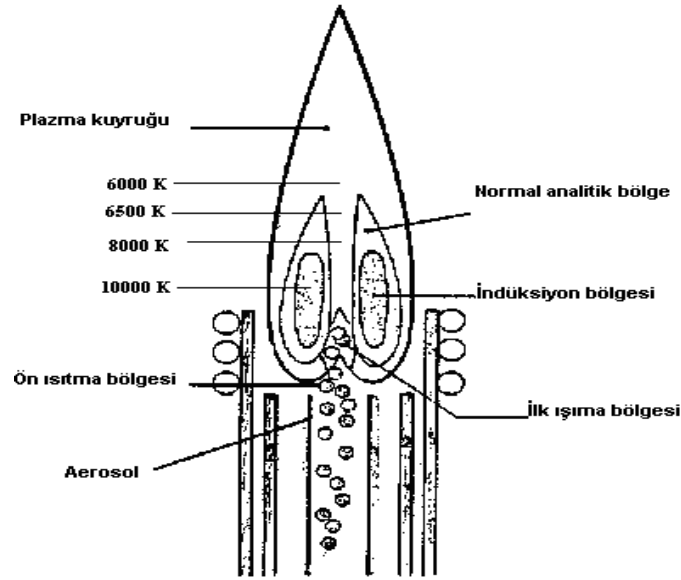
- Geniş, doğrusal çalışma aralığı
- Düşük gözlenebilme sınırı
- Kimyasal girişimin olmaması
- Elementler arası en düşük etki

- Oldukça iyi kesinlik ve doğruluk [49].

ICP-OES cihazı; ICP kaynağından oluşan serbest atom ya da iyonların oluşturduğu emisyon spektrumu temeline dayanan bir elementel analiz tekniğidir.

Plazma, içinde iyonlaşan atomların oluşturduğu iletken bir gazdır (Ar plazma  $Ar^+$  ve  $e^-$  içerir). Plazma genellikle gaz olarak argonun kullanıldığı, bileşiklerin veya moleküllerin uyarılmış atom veya iyonlara dönüşmesini sağlayan yüksek enerjili bir gazdır. Plazma elektromanyetik olarak argon gazının indüksiyon sarımlarında bir radyo frekans (RF) jeneratörü ile uyarılmasıyla elde edilir. Sıcak plazmanın gelen gazı iyonlaştırması ve işlemin sürekli olarak devam etmesiyle bu olay gerçekleşir [48,49].

Bir radyo frekanslı yayıcısına bağlanan su soğutmalı indüksiyon bobini argon bulunan oldukça küçük bir hacim içerisinde güçlü ve yüksek frekanslı bir manyetik alan açığa çıkarır. Argon gazı akımında ilk elektronların oluşturulması bir elektron kaynağı (Tesla boşalımı) ile sağlanır ve elektronlar indüksiyon sarımının oluşturduğu manyetik alanda hızlanarak argon atomlarıyla çarpışırlar ve argon iyonları ile daha fazla sayıda elektronun oluşmasını sağlarlar. Şekil 4.1’de gösterildiği gibi 10.000 K sıcaklık değerine ulaşılan hücrede, iç çeperlerin soğutulması için argon gaz akışı girdaplı olarak geçirilir. Bu akış ayrıca plazmanın merkezi ve sabit çalışmasını sağlar. Yüksek sıcaklık ve numunenin uzun süreli muamelesi, numune çözücüsünün tamamen buharlaşmasını ve analitin tamamen serbest atomlara dönüşmesini sağlar ve serbest atomlar uyarılır. Bu işlem kimyasal olarak inert bir çevrede gerçekleşir [50].



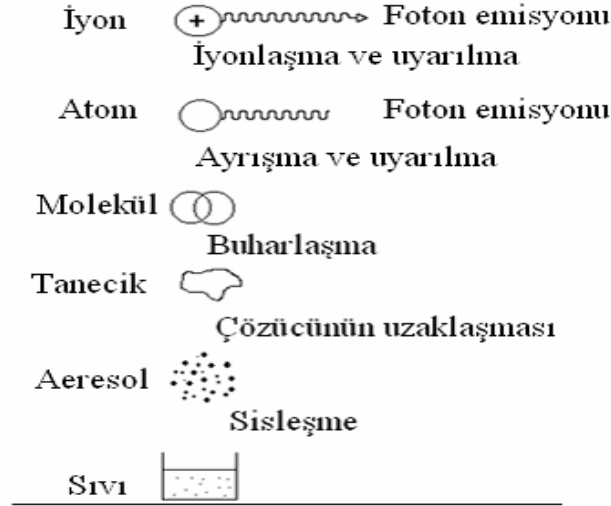
Şekil 4.1. Plazma geometrisi ve dikey sıcaklık profili [50]

Bir spektrometre; analitin emisyon hatlarından kaynaklanan ışığı, numunedeki diğer türlerin dalga boylarından ve plazmanın zemin değer emisyonundan ayırır. Bir spektrometre iyi bir hassasiyet sağlamak için optik ağ, ince bir yarık ve bir görüntüleme sistemi içerir. Birbirine oldukça yakın hatların üst üste çakışmasını engellemek için iyi düzeyde ayırma gücüne ihtiyaç vardır. ICP’de kullanılan başlıca iki temel spektrometre vardır. Birincisi, monokromatördür ve sadece bir tane ikincil yarığa sahiptir, böylece belirli bir sürede sadece bir dalga boyu ölçümü yapılabilir. Monokromatör kullanıldığında birçok element tayini ardışık olarak yapılır. İkinci spektrometre türü polikromatördür ve seçilen her bir analiz hattı için sabitlenen ikincil bir yarığa sahiptir. Eğer her bir yarığın kendine ait foto çoğaltıcı tüpü varsa, bir numunedeki elementlerin tamamı aynı anda tayin edilebilir [49,50].

#### 4.4.1. ICP-OES çalışma prensibi

Sisleştirme sonunda numune sulu bir aerosol olarak plazma içerisine gelir. Aerosol plazma içerisinde yukarıya doğru hareket ettikçe birçok olay meydana gelir. Bu olaylar Şekil 4.2’de özetlenmiştir. İlk olarak; aerosol damlacıklarındaki çözücü buharlaşır ve katı bir tuz oluşur. Daha sonra, gaz fazındaki moleküler türlerin oluşumu için bu parçacıklar buharlaştırılır. Moleküler türler iyonlaşma için yeterli

enerji ile atom veya iyonları oluştururlar. Atomlar ve iyonlar kararlı moleküler türlerin oluşumu için diğer serbest atomlarla bir araya gelebilirler [51].



Şekil 4.2. Atomlaşma ve uyarılmanın şematik gösterimi [51]

Enerjinin korunumu yasasına göre; bir atom ışımaya yapacaksa, öncelikle bu atomun plazma gibi yüksek enerjili bir harici kaynak tarafından yayılan yüksek enerjiyi absorplaması gereklidir. Sonra, atomlara sağlanacak daha fazla enerji ile elektronlar uyarılmış seviyeye geçerler.

Analitin hat emisyonu uyarılmış atom veya iyonun daha düşük enerji seviyesine dönerken ışık yayması ile oluşur [49].

#### 4.4.2. Numune girişi

ICP-OES cihazı; sıvı, gaz ve katı numunelerin cihaza girişi için gerekli olan birçok değişik aletle kullanılabilir bir cihazdır.

##### 4.4.2.1. Sıvı numune girişi

Sıvı örneklerin kullanımında çoğunlukla sisleştirme yöntemi kullanılır. Metotta sıvının girişi, uyarılma kaynağına aerosol halinde gönderilmesiyle sağlanır.

Sisleştirme teknikleri basittir, güvenilir ve bağıl olarak ucuzdur. Dezavantajı ise yavaş oluşu, girişimlerin oluşması ve %99.5 oranına kadar numunenin atık olmasıdır.

#### **4.4.2.2. Gaz numune girişi**

Gaz numuneleri herhangi bir işleme tabii tutulmadan doğrudan ICP'ye gönderilebilirler.

#### **4.4.2.3. Katı numune girişi**

Katı numune girişi, sıvılara ait yapılan araştırmalar kadar ayrıntılı araştırılmamıştır. Kalibrasyon, numune ortamı ve analitik performans göz önüne alındığında bazı tekniklerin zorluğu vardır. Buna rağmen, doğrudan giriş, ark ya da kıvılcım kaynaklı aletler, elektrotermal buharlaştırma ve lazer aşındırma uygulamaları katı numune girişi için başarılı olarak uygulanmaktadır [48].

#### **4.4.3. Girişimler**

Mevcut analitik tekniklerin hiçbiri için girişim tamamen yoktur denilemez. Belirli bir analiz için tercih edilen cihaz, o analize ait gerekliliklere sahip olmalıdır. ICP-OES tekniğine ait bazı temel girişimler aşağıda anlatılmaktadır.

##### **4.4.3.1. Ortam girişimi**

Numune giriş sisteminin etkinliği, yüzey gerilimi, viskozite ve numunedeki çözülmüş katı madde miktarı ile ilgilidir. Numune ve standart çözeltiler arasındaki bu farklılıklar sisleştirici alım hızı ve plazmaya transfer olan maddenin etkinliğinde farklılıklar meydana getirebilir. Bu etkiler analiz sonuçlarında dalgalanmalar meydana getirir. ICP analizlerinde en iyi sonuçlar için, numune içerisindeki toplam çözülmüş katı madde içeriği en fazla %0.5 seviyesinde olmalıdır. Bu seviyeden yüksek düzeylerde sisleştiricide tıkanma meydana gelir ve düzenli temizlik gereklidir. Ortam girişimleri, ortam benzetilmesi ya da iç standart veya standart ekleme metotlarının kullanımı ile giderilebilir [49].

#### 4.4.3.2. Kimyasal ve fiziksel girişimler

Argon plazmanın sahip olduğu yüksek sıcaklık nedeniyle (10000 K) ICP'deki kimyasal girişimler engellenmiş olur. Bu sıcaklık birçok kimyasal bağın parçalanması ve bileşiklerin atomlara ayrışması için oldukça yeterlidir. Plazma oksijen içermemektedir. Fiziksel girişimler; numune tüketimi, numune taşınma hızında değişimler ve damlacık oluşum işlemi nedeniyle oluşur. Tüketim hızı oldukça küçük olduğundan, bu işlemlerin ICP üzerinde belirgin bir etkileri yoktur. ICP'de numune akış hızı peristaltik pompa ile kontrol edilir. Bu sayede fiziksel girişimler en aza düşürülür ve numune alım hızı numune viskozitesinden bağımsız hale gelir [48].

#### 4.4.3.3. İyonlaşma girişimleri

İyonlaşma girişimleri, numune içerisinde analit haricindeki türlerin elektron alışverişinden ve bu yolla tayin edilecek türlerin atom ya da iyon derişimlerinin değişmesinden kaynaklanır. İyonlaşmış argon gazının sahip olduğu zengin elektron doğası, yüksek sıcaklık ortamının iyonlaştırma etkisini tamponlar. Böylece ICP'de oluşan iyonlaşma oranı sabit kalır.

#### 4.4.3.4. Spektral ya da zemin değer girişimleri

Zemin değer girişimleri, uyarma kaynağının analitin dalga boyunda ışık yayması ile oluşur. Spektral girişimler ise, bir numunedeki herhangi bir elementin analitin dalga boyuna yakın seviyede emisyon hattına sahip olduğu durumlarda oluşur. Üç tip spektral girişim vardır; ışığın dağılması, kısmi üst üste binme, hat genişlemesi veya doğrudan üst üste binmedir. Girişimler; ortam, çözücü, hava ve diğer gazlardan kaynaklanan istenmeyen emisyonlarından oluşabilir. Spektral girişimler, doğru dalga boyu seçimi, zemin değer düzeltilmesi ve girişim yapan elementin uzaklaştırılması ile en aza düşürülebilir [52].



## **BÖLÜM 5. MATERYAL VE METOT**

### **5.1. Materyal**

#### **5.1.1. Numunelerin toplanması**

Bu çalışmada materyal olarak Sakarya ilinin çeşitli bölgelerinden (Pamukova, Geyve, Ferizli, Hendek, Söğütü ve Kaynarca) toprak ve bitki örnekleri toplanmıştır.

Aynı zamanda toprak ve bitki (maydonoz ve marul) tohumları temin edilerek saksılama işlemi de yapılmıştır. Saksıda yetiştirilen marul bitkisi bir haftada, maydonoz bitkisi ise 3 haftada oluşmaya başlamıştır. Düzenli sulama yapılarak yetiştirilen marul ve maydonoz bitkilerine de çeşitli bölgelerden toplanan toprak ve bitki örneklerine uygulanan yöntemler uygulanmıştır.

#### **5.1.2. Numunelerin hazırlanması**

Toprak numuneleri oda sıcaklığı veya en fazla 40°C'ye kadar kurutulduktan sonra <0.2 mm olacak şekilde öğütülüp elendi. Numuneler, analize başlayıncaya kadar ağzı kapalı naylon poşetlere etiketlenerek konuldu. Aynı şekilde bu bölgelerde yetişen bitki numuneleri de 60-80°C'de kurutulduktan sonra öğütülüp analize kadar ağzı kapalı poşetlerde saklandı. Saksıda yetiştirilen bitki ve toprak numuneleri de aynı işlemlerden geçip analize kadar saklandı. Yerel marketlerden alınan gıda örnekleri ise 105°C'de kurutulduktan sonra analize kadar saklandı.

#### **5.1.3. Standart referans madde analizi**

Standart referans madde kullanarak geri kazanım değerleri belirlendi. Her numune için duplikasyonlar, blank ve sertifikalanmış standartları içeren ICP-OES analizleri

için hazırlandı. Toprak numunesi için standart referans maddenin (Light Sandy Soil - CRM No. 7001) analizi, geniş aralıktaki element konsantrasyonlarında doğruluk ve kesinliğin belirlenmesini sağlar.

#### 5.1.4. Çözünürleştirmede kullanılan asitler

- **Nitrik Asit:** Birçok metali yükseltgeyebilen bir asittir. 2M derişimin altında yükseltgeme gücü zayıftır. Ancak yükseltgeme gücü klorat, permanganat, hidrojen peroksit ve brom katılmasıyla veya basınç ve sıcaklık yükselttilerek artırılabilir.
- **Hidroklorik Asit:** Yükseltgeyici değildir. Metal karbonatlar, peroksitler ve alkali hidroksitler hidroklorik asitle çözülebilir. Altın, kadmiyum, demir ve kalay gibi bazı metaller hidroklorik asitle çözülebilir ancak başka asitlerle çözünürlükleri artırılabilir. Genellikle nitrik asit kullanılır.
- **Hidrojen Peroksit:** Genelde % 30'luk hidrojen peroksit çözünürleştirme için yeterlidir. Hidrojen peroksit yüksek derişimde tek başına birçok organik bileşikle patlayıcı reaksiyon verir. Hidrojen peroksit, oksitleme gücünü arttırmak için genelde başka asitlerle karıştırılarak kullanılır. Sülfürik asitle kombinasyonu olan monoperoksosülfürik asit çok güçlü bir yükseltgeyicidir. Bu nedenlerle hidrojen peroksit çözünürleştirme işlemlerinde en çok tercih edilen asittir [53].

#### 5.1.5. Kullanılan cihazlar

Bu çalışmada, numunelerin çözünürleştirilmesi için, Start D Mikrodalga kapalı sistemi (Milestone, Sorisole-Bg, İtalya) ve ağır metal ölçümleri için ise, SPECTRO ARCOS model (SPECTRO Analitik Cihazlar, Kleve, Almanya) ICP-OES cihazı kullanılmıştır. Tablo 5.2'de analizi yapılan elementler için ICP-OES cihazı ile ilgili çalışma şartları verilmiştir.

Tablo 5.2. ICP-OES çalışma şartları

Cihaz	: SPECTRO ARCOS
Görüş yüksekliği (mm)	: 12
Dalga boyu	: nm
Replikasyon	: 3
RF Güç (W)	: 1450
Sprey odası	: Siklonik
Nebulizer	: Modife edilmiş ışık
Nebulizer akışı (L/dk)	: 0.8
Plazma Tork	: Kuartz, karıştırılmış, 3.0 mm Enjektör tüp
Replikasyon okuma zamanı	: 50 sn her replikasyon
Plazma gaz akışı (L/dk)	: 13
Yardımcı gaz akışı (L/dk)	: 0.7
Örnek aspirasyon oranı (mL/dk)	: 2.0
Örnek pompa hızı (rpm)	: 25

ICP-OES, birçok elementin aynı anda nicel tayininde kullanılan analitik metotlardan birisidir. Düşük derişim seviyelerinin tayininde başarılı bir analitik yöntemdir.

ICP kaynağı, argon gibi inert gazlardan yüksek enerjili ve yüksek frekanslı iyonlaşmış bir plazmayı üretir. Bir numune plazmanın merkezine enjekte edildiğinde, 10000 K sıcaklıktaki plazma, numunedeki elementlerin ayrışma, atomlaşma ve uyarılma işlemlerinin gerçekleşmesini sağlar. Bu olaylar, çalışılan elementlerin kendilerine özgü frekansta ışığı yayması ile sonuçlanır. Bu ışık şiddeti, numune içerisindeki elementlerin derişimi ile doğru orantılıdır ve bir emisyon spektrometresi ile ölçülür [54].

Geniş, doğrusal çalışma aralığı, düşük gözlenebilme sınırı, kimyasal girişimin olmaması, oldukça iyi kesinlik ve doğruluk elde edilmesi, hızlı ve aynı zamanda birçok elementin tayin edilebilmesinden dolayı çalışmamızda ICP-OES cihazı kullanıldı.

## 5.2. Metot

### 5.2.1. Yaş yakma metodunun uygulanması

Yaş yakma işleminde,  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  (6:2),  $\text{HCl}/\text{HNO}_3$  (6:2) karışımları 1.0 g numuneye eklendi. Her bir karışımdan 16 mL'lik bir kısım 1.0 g örnek için kullanılmıştır. Her bir karışım, ısıtıcı üzerinde 4 saat boyunca  $130^\circ\text{C}$ 'ye kadar ısıtıldı. Kalıntı mavi bant filtre kâğıdı ile filtre edildi. Daha sonra örnek destile deiyonize su ile 10 mL'ye seyreltildi. Son çözeltinin element konsantrasyonları ICP-OES ile ölçüldü.

### 5.2.2. Mikrodalga metodunun uygulanması

Toprak ve bitki numunelerindeki toplam element miktarlarının tayini için, toprak ve bitkilerin tam olarak çözeltilmeye alınması gerekir. Tam olarak çözeltilmeye alabilme ise ancak toprak ve bitki örneklerinin uygun şekilde çözünürleştirilmesi ile mümkündür. Kısa, hızlı ve en yeni geliştirilmiş çözündürme yöntemi olduğu için mikrodalga yöntemi kullanıldı.

#### 5.2.2.1. Toprak numunelerine uygulanması

Kurutulup öğütülen toprak örneklerinden 0.25'er g tartıldı. Örnekler 100 mL teflon kaplara transfer edildi. Toprak numunelerine  $\text{HCl}/\text{HNO}_3$  (3:1) asit karışımı eklenerek çözündürüldü ve distile deiyonize su (Millipore Milli-Q 18.2 M $\Omega$ .cm) ile 25 mL'ye tamamlanarak ICP-OES ile analiz edildi. Toprak numuneleri için çözünürleştirme sistemi mikrodalga koşulları 800 W 10 dk., 800 W 15 dk., havalandırma 11 dk. olarak uygulanmıştır.

#### 5.2.2.2. Bitki numunelerine uygulanması

Kurutulup öğütülen bitki örneklerinden 0.25'er g tartıldı. Örnekler 100 mL teflon kaplara transfer edildi. Bitki numunelerine  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  (3:1) asit karışımı eklenerek çözündürüldü ve distile deiyonize su (Millipore Milli-Q 18.2 M $\Omega$ .cm iletkenlik) ile

25 mL'ye tamamlanarak ICP-OES ile analiz edildi. Bitki numunelerinin mikrodalga koşulları ise, 250 W 2 dk., 0 W 2 dk., 250 W 6 dk., 400 W 5 dk., 600 W 8 dk., havalandırma 11 dk. olarak ayarlanmıştır.

### **5.2.2.3. Gıda numunelerine uygulanması**

Kurutulmuş gıda numuneleri 1.0'er g tartıldı. Örnekler 100 mL teflon kaplara transfer edildi. Taze hazırlanmış HCl/HNO<sub>3</sub> (6:2) asit karışımından 8 mL eklenerek çözüldürüldü ve distile deiyonize su (Millipore Milli-Q 18.2 MΩ.cm) ile 25 mL'ye tamamlanarak ICP-OES ile analiz edildi.

Gıda numunelerinin mikrodalga koşulları ise, 250 W 2 dk., 0 W 2 dk., 250 W 6 dk., 400 W 5 dk., 550 W 8 dk., havalandırma 8 dk. olarak ayarlandı.

### **5.2.3. İn vitro sindirim metotları**

İn vitro sindirim metodu olarak 2 prosedür çalışıldı. Bu prosedürler RIVM (Netherlands National Institute for Public Health and the Environment) [9] ve UBM (Unified Bioaccessibility Method, BARGE: Bioaccessibility Research Group of Europe) [10] metotlarıdır. İki metotta da in vitro sindirim olarak tükürük, mide ve bağırsak ortamları bulunmaktadır. Aralarındaki en büyük fark ise ortamların karışma süreleri ve UBM [10] metodunda mide fazında da ekstrakt alınmasıdır.

İki metot da gastrointestinal metotlardır. Yapay olarak hazırlanan sindirim sularının bileşimleri insan fizyolojisine dayanmaktadır. Bu metotlar, Sakarya ilinin farklı bölgelerinden toplanan toprak ve bitki örneklerine uygulandı.

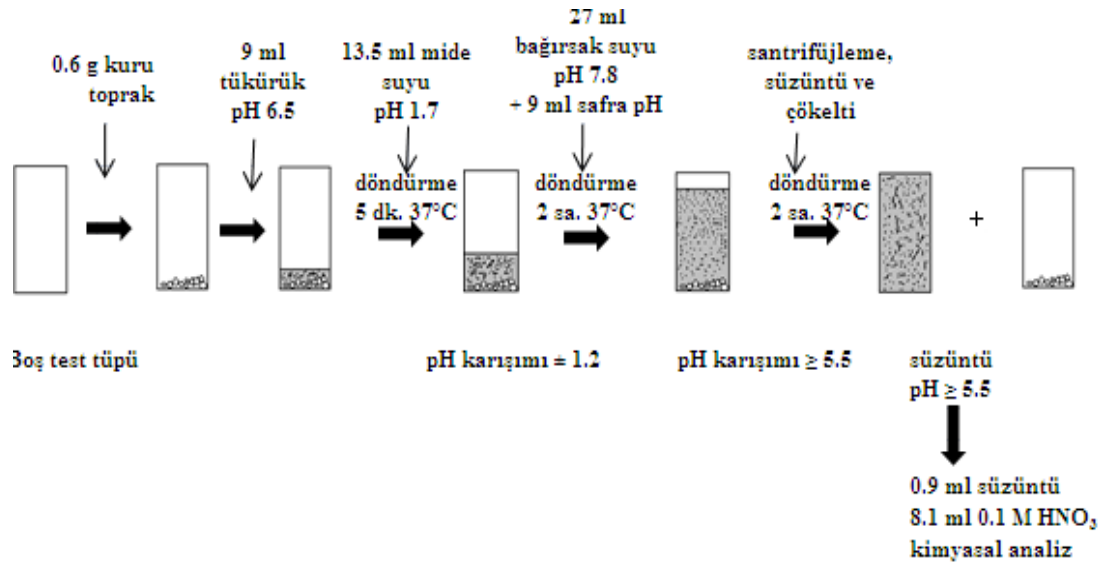
### 5.2.3.1. İn vitro sindirim metotlarının sıvıları

Tablo 5.3. RIVM [9] ve UBM [10] metotlarında kullanılan sindirim sıvısı bileşenleri

	Tükürük	Mide	Bağırsak	Safra
<b>İnorganik Çözelti</b>	10 mL KCl 89.6 g/L	15.7 mL NaCl 175.3 g/L	40 mL NaCl 175.3 g/L	30 mL NaCl 175.3 g/L
	10 mL KSCN 20 g/L	3.0 mL NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 88.8 g/l	40 mL NaHCO <sub>3</sub> 84.7 g/L	68.3 NaHCO <sub>3</sub> 84.7 g/L
	10 mL NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 88.8 g/L	9.2 mL KCl 89.6 g/L	10 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 8 g/L	4.2 mL KCl 89.6 g/L
	10 mL Na <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 57 g/L	18 mL CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O 22.2 g/L	6.3 mL KCl 89.6 g/L	200 µl HCl 37% g/g
	1.7 mL NaCl 175.3 g/L	10 mL MgCl <sub>2</sub> 5 g/L	10 mL MgCl <sub>2</sub> 5 g/L	
	1.8 mL NaOH 40 g/L	8.3 mL HCl 37 %g/g	180 µl HCl 37% g/g	
<b>Organik Çözelti</b>	8 mL üre 25 g/L	10 mL glukoz 65 g/L	4 mL üre 25 g/L	10 mL üre 25 g/L
		10 mL glukuronik asit		
		3.4 mL üre 25 g/L		
		10 mL 33 g/L glukozaminhidroklorit		
<b>Karışıma eklenen</b>	145 mg α-amilaz	1 g BSA	9 mL CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O 22.2 g/L	10 mL CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O 22.2 g/L
<b>Organik+İnorganik Çözelti</b>	15 mg ürik asit	1 g pepsin	1 g BSA	1.8 g BSA
	50 mg müsin	3 g müsin	3 g pankreatin	6 g safra (Tavuk)
			0.5 g lipaz	
<b>pH</b>	6.5 ± 0.2	1.7 ± 0.07	7.8 ± 0.2	8.0 ± 0.2

İnorganik ve organik çözeltiler distile suyla 500 mL'ye artırıldı. Gerektiği zaman suyun pH aralığı uygun şekilde ayarlandı.

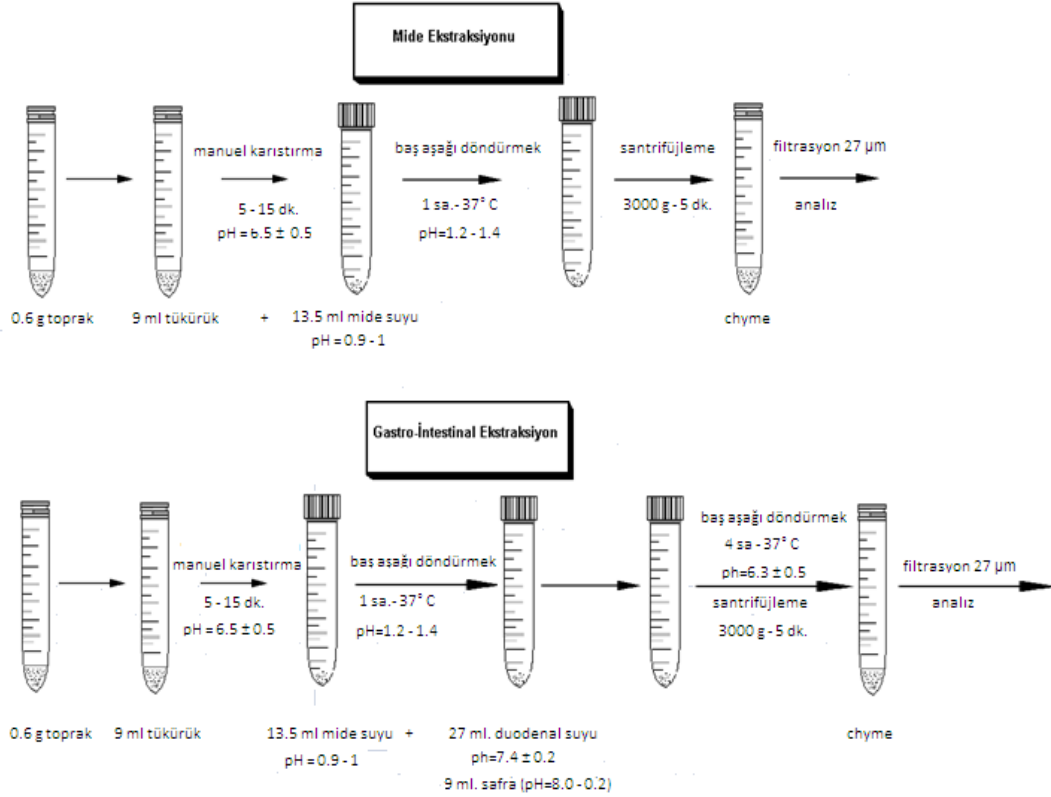
### 5.2.3.2. RIVM metodu



Şekil 5.1. RIVM [9] metoduna göre gastrointestinal ekstraksiyonun aşamaları

RIVM [9] metoduna göre; 0.6 g tartılan toprak ve bitki numunelerine pH  $6.5 \pm 0.2$ 'de 9 mL tükürük sıvısı eklendi. Örnekler önceden  $37^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış su banyosuna konuldu. Manuel karıştırmaya uygun olacak şekilde 5-15 dakika karıştırıldıktan sonra pH  $1.07 \pm 0.07$ 'de 13.5mL mide sıvısı eklenerek 2 saat su banyosu içinde döndürüldü. 27 mL bağırsak sıvısı pH  $7.8 \pm 0.2$ 'de ve 9 mL safra pH  $8.0 \pm 0.2$ 'de aynı anda eklendi ve karışım 2 saat döndürüldü. İn vitro sindirimi sonunda, sindirim tüpleri 5 dakika  $3000\text{ g}$ 'da santrifüj edildi. Whatman no:41 ile filtre edilen süzüntüden 1 mL alınıp 9 mL 0.1 M HNO<sub>3</sub> ile tamamlandı.  $2-8^{\circ}\text{C}$ 'deki buzdolabına konulan numuneler analize kadar burada saklandı. Analiz çözeltileri için ICP-OES kullanıldı.

### 5.2.3.3. UBM metodu



Şekil 5.2. UBM [10] metoduna göre, mide ve gastro-intestinal ekstraksiyonu aşamaları (duodenal: bağırsak, chyme: tükürük, mide, bağırsak suyu)

UBM [10] metoduna göre; ikişer tane 0.6 g tartılan toprak ve bitki numunelerine 9 mL tükürük sıvısı eklendi. Numuneler 37°C'deki su banyosuna konuldu. 5-15 dakika karıştırıldı. pH 1.2-1.7'de 13.5 mL mide sıvısı eklenerek 1 saat su banyosunda döndürüldü. Numunelerden biri 1 saat sonunda alınarak 5 dakika 3000 g'da santrifüj edildi. Whatman no:41 ile filtre edildikten sonra 1 mL alınan süzüntüye 9 mL 0.1 M HNO<sub>3</sub> eklendi. 2-8 °C'deki buzdolabında analize kadar saklandı. Diğer numuneye ise 27 mL bağırsak sıvısı ve 9 mL safra aynı anda eklenerek 4 saat boyunca karıştırıldı. Daha sonra 5 dakika 3000 g'da santrifüj edildi. Whatman no:41 ile filtre edildikten sonra 1 mL alınan süzüntüye 9 mL 0.1 M HNO<sub>3</sub> eklendi. 2-8 °C'de saklanan numuneler ICP-OES ile analiz edildi.



## **BÖLÜM 6. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA**

### **6.1. Toprak Numunelerinin pH Değerleri**

Tarım topraklarının çoğunda pH değeri 5-8.5 arasındadır. Mineral topraklarda ise pH 3.5-10 arasında olabilir. Bitkilerin hangi pH sınırları arasında yetiştiği bilirse, toprak pH'ı ile karşılaştırılarak durum değerlendirilmesi yapılabilir. Toprak pH'ı yükseltip düşürülebilir.

Genel olarak bitkilerin büyük çoğunluğu 6.5-7.5 pH değerleri arasında iyi bir gelişme gösterirler. Toprak pH değerinin bunun üzerinde veya altında olması birçok bitki için istenmeyen bir durumdur. Toprak pH değerinin çok düşük veya çok yüksek olması durumunda toprağın yapısında bozulmalar meydana gelebileceği gibi bitkinin kök sisteminde de gelişme yavaşlar. Toprağın pH değerinin 5'in altında olduğu durumlarda toprakta demir, alüminyum ve mangan toksitesi, 5-6 pH değerleri arasında fosfor ve molibden fiksasyonu meydana gelerek bitki gelişmesi engellenir.

Toprağın pH değerinin yüksek olması özellikle 8'den fazla olması durumunda mikro elementlerden demir, bakır, mangan, çinko ve bor alınmasında ve ayrıca fosforun elverişliliğinde önemli bir azalma görülür. Toprak pH değerinin 8.7'nin üzerinde olması durumunda ortamdaki hidroksil iyonu miktarı artar, aynı zamanda toprakta fazla miktarda kalsiyumun yanında sodyum da bulunabilmektedir.

Toprak pH'ının 7.3-8.7 arasında olması durumunda toprakta en fazla bulunan katyon kalsiyumdur. 8.7'nin üzerinde olan pH değerinde ise sodyum katyonu fazla bulunur ve tuzluluk problemi başlar. Toprağın çok düşük ve çok yüksek pH değeri, mevcut mikroorganizmaların aktivitelerini de aksatmaktadır. Bu yüzden toprağın bünyesinde bulunan besin elementlerinin yarayışlı hale geçmesi yavaşlayacağı için toprağın verimlilik gücü düşer [13].

Tablo 6.1. Seçilen toprakların pH değerleri

Bölge	Cins	pH
Saksı	Marul	8.64
Saksı	Maydonoz	8.62
Geyve	Tere	7.97
Geyve	Roka	8.34
Pamukova	Buğday	8.46
Kaynarca	Mısır	8.28
Geyve	Dereotu	7.77
Söğütlü	Buğday	7.88
Geyve	Yeşil Soğan	8.08
Ferizli	Pancar	7.89
Geyve	Enginar	8.37
Hendek	Mısır	8.31
Söğütlü	Ispanak	8.18
Pamukova	Ispanak	8.62

Tablo 6.1’de görüldüğü gibi, alınan toprakların pH değerlerinin 5’in altında olmamasından dolayı toprakta demir, alüminyum ve mangan toksitesi, 5-6 pH değerleri arasında da olmamasından dolayı fosfor ve molibden fiksasyonu meydana gelmeyerek bitki gelişmesi engellenmemiştir. Ayrıca değerler 8.7’nin üzerinde olmadığından, ortamdaki hidroksil iyonu miktarı artmamaktadır. pH’ın 8’den fazla olması ise, mikro elementlerden demir, bakır, mangan, çinko ve bor alınmasında ve ayrıca fosforun elverişliliğinde önemli bir azalma görülmesine sebep olur.

## 6.2. Standart Referans Madde Analiz Sonuçları

Toprak standart referans maddesinin (Light Sandy Soil CRM No. 7001) analiz sonuçları Tablo 6.2’de, bitki standart referans maddesinin (NIST CRM 1515 Apple Leaves) Tablo 6.3’de verilmiştir.

Tablo 6.2. Toprak standart referans maddesinde (Light Sandy Soil CRM No. 7001) toplam element konsantrasyonlarının ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) belirlenmesi, N=3

Elementler	Standart Değer	Ölçülen Değer	(%) GeriKazanım
Co	$9.66 \pm 0.61$	$10.10 \pm 1.50$	104.6
Cr	$71.9 \pm 5.9$	$72.2 \pm 3.1$	100.4
Cu	$28.9 \pm 0.8$	$28.1 \pm 0.5$	97.2
Mn	$479 \pm 18$	$483 \pm 10$	100.8
Ni	$31.8 \pm 1.2$	$32.4 \pm 1.3$	101.9
Zn	$108.0 \pm 3.5$	$109.0 \pm 3.6$	100.9

Tablo 6.2’de elde edilen % geri kazanım değerleri tüm elementler için kantitatifdir. Standart referans maddenin analiz sonuçları %95 güven seviyesindeydi. Geri kazanım değerlerinden de anlaşıldığı gibi toprak referans maddesinin içerdiği elementler  $\text{Cu} < \text{Cr} < \text{Mn} < \text{Zn} < \text{Ni} < \text{Co}$  sırasındadır.

Tablo 6.3. Bitki standart referans maddesi kullanarak element konsantrasyonlarının ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) çözme koşullarının karşılaştırılması (NIST CRM 1515 Apple Leaves)  $\pm$  S.D., N=3

Elementler	Standart Değer	Mikroalga Metodu		YaşYakma Metodu			
		HNO <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Geri Kazanım	HNO <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Geri Kazanım	HCl/HNO <sub>3</sub>	Geri Kazanım
		(6:2)	(%)	(6:2)	(%)	(6:2)	(%)
		Ölçülen Değer		Ölçülen Değer			
Co	0.09	$0.10 \pm 0.01$	111	$0.12 \pm 0.02$	133	$0.11 \pm 0.01$	122
Cr	0.30	$0.35 \pm 0.03$	117	$0.37 \pm 0.02$	123	$0.36 \pm 0.01$	120
Cu	5.64	$5.58 \pm 1.12$	99	$5.53 \pm 1.36$	98	$5.53 \pm 2.10$	98
Fe	83	$82.17 \pm 3.45$	99	$80.51 \pm 2.78$	97	$81.34 \pm 3.10$	97
Mn	54	$52.92 \pm 2.78$	98	$51.64 \pm 3.65$	96	$53.23 \pm 4.12$	99
Ni	0.91	$0.90 \pm 0.13$	99	$0.92 \pm 1.03$	101	$0.89 \pm 0.09$	98
Se	0.050	$0.048 \pm 0.003$	96	$0.044 \pm 0.001$	88	$0.045 \pm 0.002$	90
Zn	12.5	$12.38 \pm 0.69$	99	$12.25 \pm 1.12$	98	$12.63 \pm 2.19$	101

Bitki referans maddesinin deney sonuçlarına göre, mikroalga sonuçlarının yaş yakma sonuçlarından daha iyi olduğu görüldüğünden mikroalga ile çözme

yönteminin yaş yakma yöntemine göre daha verimli olduğu anlaşılmaktadır. Böylelikle, HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6:2) oranında çözücü kullanarak mikrodalga yöntemini uyguladığımızda en verimli sonucu alabiliriz.

Mikrodalga ile çözme yöntemi kolay, hızlı ve doğru bir yöntemdir. Yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Metot validasyonu sertifikalı ve standart referans maddelerin analiziyle sağlanmıştır.

### 6.3. Toprak Numuneleri Analiz Sonuçları

Toprak numunelerindeki element konsantrasyonları 0.6-1.7 (Co), 4.2-8.5 (Cr), 2.5-8.5 (Cu), 46.2-69.9 (Mn), 4.7-7.6 (Ni) and 5.3-9.4 (Zn)  $\mu\text{g g}^{-1}$  Tablo 6.4'dedir. Bu sonuçlara göre, mangan en yüksek konsantrasyonda, selenyum ise tayin sınırının altında bulundu. Avrupa Birliği önerilerine göre, toprak numunelerinde maksimum izin verilebilir limit (MAC) kobalt için 0.5-65  $\mu\text{g g}^{-1}$  aralığındadır [55]. Toplam krom konsantrasyonu için <100  $\mu\text{g g}^{-1}$ ; bakır için 2-250  $\mu\text{g g}^{-1}$  [56]; mangan için 164-1330  $\mu\text{g g}^{-1}$  [57]; nikel için <100  $\mu\text{g g}^{-1}$ ; çinko için ise 1-900  $\mu\text{g g}^{-1}$  [56] aralığındadır. Çalışmadaki kobalt, krom, bakır, nikel ve çinko değerleri bu sınırlar içindedir. Mangan değerleri ise bu sınırlardan düşük bulunmuştur.

Tablo 6.4. Toprak numunelerinin eser element içerikleri ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), N=3

Bölge	Elementler						
	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Se	Zn
Pamukova	0.6±0.1	6.3±1.2	7.4±1.3	48.5±3.8	4.7±0.8	-	5.8±0.9
Pamukova	0.6±0.1	7.4±1.3	3.6±0.8	52.3±4.1	5.5±0.9	-	6.6±0.9
Ferizli	1.1±0.1	8.5±1.3	2.9±0.6	67.2±4.8	6.8±1.1	-	8.4±1.4
Hendek	0.7±0.1	7.4±1.4	2.6±0.4	52.8±3.9	6.5±1.0	-	9.4±1.5
Adapazarı	1.1±0.1	5.3±1.3	7.1±1.2	69.9±5.1	6.1±1.2	-	7.5±1.4
Pamukova	0.8±0.1	6.2±1.5	2.8±0.6	58.4±4.6	5.8±0.9	-	6.3±1.5
Geyve	1.7±0.2	4.2±1.0	3.2±0.9	59.0±4.7	6.1±1.2	-	6.7±1.3
Geyve	1.4±0.3	7.6±1.3	3.6±0.9	63.5±5.0	5.3±0.9	-	8.9±1.8
Geyve	0.7±0.1	5.3±1.2	8.5±1.2	53.4±4.3	6.5±1.0	-	8.6±1.4
Söğütlü	1.5±0.2	8.2±1.6	4.4±1.1	46.2±3.6	6.3±1.1	-	5.6±0.9
Söğütlü	1.4±0.2	8.1±1.4	2.5±0.9	60.4±4.7	7.6±1.2	-	6.8±1.2

(-) TSA: Tayin sınırının altında

#### 6.4. Bitki Numuneleri Analiz Sonuçları

Bitki numunelerindeki element konsantrasyonları 0.2-1.1 (Cu), 27.2-114.6 (Fe), 3.8-6.5 (Mn), and 2.1-8.9 (Zn)  $\mu\text{gg}^{-1}$  Tablo 6.5'dedir. Bu sonuçlara göre, en yüksek konsantrasyon demir, tayin sınırının altında ise kobalt, krom, nikel ve selenyum bulundu. Araştırılan maksimum izin verilebilir limit (MAC) bakır için 2.5-16  $\mu\text{gg}^{-1}$  [58] aralığındadır. Çalışmadaki bakır değerleri bu aralığın altındadır. Mangan konsantrasyonu sadece (maydonoz) 3.8; ve (marul) 6.5 $\mu\text{gg}^{-1}$  için, literatürdeki sınırların 9-16.6  $\mu\text{gg}^{-1}$  [59] içindedir.

Demir konsantrasyonu [59] (roka) için 27.2; (marul) için 114.6  $\mu\text{gg}^{-1}$  FAO-WHO [60]'da verilen maksimum izin verilebilir limit (MAC) <425  $\mu\text{gg}^{-1}$  sınırlarındadır. Çinko seviyeleri <100  $\text{mgkg}^{-1}$  kabul edilen sınırların altındadır.

Bitkilerde ağır metaller kirlenmiş hava, toprak ve sudan absorbe edilirler. Ağır metallerin yüksek dozları yapraklı bitkilerin yaprak kısımlarında birikirler [61].

Tablo 6.5. Bitki numunelerinin eser element içerikleri ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), N=3

Cins	Elementler							
	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Se	Zn
Roka	-	-	0.5±0.1	27.2±3.1	4.4±0.7	-	-	3.7±0.3
Marul	-	-	1.1±0.3	114.6±9.3	6.5±1.4	-	-	2.1±0.1
Maydonoz	-	-	0.4±0.1	35.5±4.5	3.8±0.6	-	-	2.2±0.2
Yeşilsoğan	-	-	0.20±0.04	73.1±2.1	4.7±0.3	-	-	2.4±0.3
Ispanak	-	-	0.6±0.1	53.1±4.7	4.2±0.1	-	-	8.9±1.6

(-) TSA: Tayin sınırının altında

#### 6.5. Gıda Numuneleri Analiz Sonuçları

Gıda numunelerindeki element konsantrasyonları 0.04-0.94 (Co), 0.24-5.64 (Cr), 2.55-15.92 (Cu), 4.82-37.55 (Fe), 1.12-30.17 (Mn), 0.43-2.27 (Ni), 0.03-0.94 (Se) and 2.93-20.91 (Zn)  $\mu\text{gg}^{-1}$  Tablo 6.6'dadır. Bu sonuçlara göre, en yüksek

konsantrasyonun demirin olduğu, sonra da sırasıyla mangan ve çinkonun demiri takip ettiği görülmektedir.

Türk Gıda Kodeksi [62]'ne göre, gıda örneklerinde kobaltın maksimum izin verilebilir limiti (MAC)  $<0.2 \text{ mgkg}^{-1}$ 'dir. Literatürdeki krom içerikleri, Pakistan [63]'dan çeşitli yaz meyvelerinde  $1.48-6.43 \text{ mgkg}^{-1}$  yaş ağırlık aralığındadır. Pakistan [64]'dan kuru meyve örneklerinde bakır konsantrasyonu,  $3.90-25.0 \text{ } \mu\text{gg}^{-1}$  kuru ağırlık aralığındadır. Mısır marketlerinden alınan meyvelerin araştırılan aralığı  $1.22-18.3 \text{ mgkg}^{-1}$ [65], Kayseri, Türkiye'den alınanlarınkise  $1.68-4.52 \text{ } \mu\text{gg}^{-1}$  kuru ağırlıktır [66]. Bulunan kobalt değerleri değişkenlik gösterirken, krom değerleri sınırların içinde, bakır değerleri ise sınırların üstündedir.

Çalışmada bulunan demir konsantrasyonu,  $4.82-37.55 \text{ } \mu\text{gg}^{-1}$  aralığındadır. Pakistan [64]'dan kuru meyve örneklerinde demir konsantrasyonu,  $19.0-45.0 \text{ } \mu\text{gg}^{-1}$  ve Kayseri, Türkiye'den kuru meyvelerde  $6.76-64.1 \text{ } \mu\text{gg}^{-1}$  kuru ağırlık aralığındadır. Türk Gıda Kodeksi [67]'ne göre, gıda örneklerinde demirin maksimum izin verilebilir limiti (MAC)  $15 \text{ mgkg}^{-1}$ 'dir.

Pakistan [64]'dan kuru meyve örneklerinde mangan konsantrasyonu,  $2.14-17.23 \text{ } \mu\text{gg}^{-1}$ , Türkiye [66]'den  $4.74-25.5 \text{ } \mu\text{gg}^{-1}$  kuru ağırlık aralığındadır. Çalışmadaki mangan değerleri  $1.12-30.17 \text{ } \mu\text{gg}^{-1}$  aralığında bulundu. Pakistan [63]'dan yaz meyvelerinde nikel değerleri  $1.0-8.9 \text{ mgkg}^{-1}$  aralığındadır. Çalışmadaki nikel değerleri  $0.43-2.27 \text{ } \mu\text{gg}^{-1}$  aralığında bulundu. Gıda örneklerinde nikelin maksimum izin verilebilir limiti (MAC)  $<0.2 \text{ mgkg}^{-1}$ 'dir [62]. Çalışmadaki nikel değerleri sınırların üstündedir.

Çalışmada selenyum konsantrasyonu,  $0.03-0.94 \text{ } \mu\text{gg}^{-1}$  aralığında bulundu. Türk Gıda Kodeksi [67]'ne göre, gıda örneklerinde çinkonun maksimum izin verilebilir limiti (MAC)  $<5 \text{ mgkg}^{-1}$ 'dir. Bu sonuçlara göre gıda örneklerindeki çinko değerleri sınır değerlerinden fazla bulunmuştur.

Tablo 6.6. Gıda numunelerinin eser element içerikleri ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), N=3

Cins	Elementler							
	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Se	Zn
Bulgur	0.84±0.20	1.16±0.25	3.48±0.07	17.69±3.14	15.32±3.25	1.70±0.05	0.09±0.03	16.51±2.47
Kuru kivi	0.59±0.10	0.83±0.16	7.11±2.10	7.82±2.14	20.29±2.45	1.90±0.10	0.10±0.03	10.87±1.65
Kuru domates	0.31±0.06	3.80±0.36	10.30±2.14	37.55±6.45	4.83±1.12	1.75±0.16	0.31±0.04	12.71±1.45
Fındık	0.79±0.18	0.49±0.04	11.49±2.41	18.61±2.78	26.79±3.48	1.41±0.25	0.18±0.04	7.18±1.18
Kuru erik	0.82±0.14	1.73±0.14	2.55±0.16	16.77±3.14	2.69±0.12	0.98±0.14	0.76±0.06	6.94±2.12
Kabak çekirdeği kabuğu	0.08±0.02	0.24±0.04	4.48±1.14	4.82±1.13	4.35±0.16	0.46±0.03	0.03±0.01	3.54±0.15
Kabak çekirdeği	0.41±0.03	1.40±0.23	15.92±2.36	22.89±4.45	24.15±1.78	1.49±0.14	0.94±0.04	20.91±1.87
Ayva	0.04±0.02	1.50±0.17	2.83±0.16	30.41±3.14	1.12±0.02	0.43±0.01	0.07±0.01	2.93±0.08
Domates	0.57±0.11	5.64±0.42	15.21±3.67	35.54±3.41	5.79±2.54	2.15±0.25	0.36±0.08	15.07±2.65
Ceviz	0.94±0.15	1.06±0.07	7.26±1.36	29.72±4.21	30.17±3.65	2.27±0.14	0.04±0.02	9.14±2.10

## 6.6. Biyoalınabilirlik Sonuçları

Genel olarak, in vitro testlerin sonuçları, aşağıdaki denklemle hesaplanan bir yüzde olan biyoerişilebilir fraksiyon (BAF) olarak ifade edilmiştir [39].

$$\text{BAF (\%)} = ( [\text{Element}] \text{ biyoerişilebilir} / [\text{Element}] \text{ toplam} ) \times 100$$

[Element] biyoerişilebilir = Mide ya da bağırsak fazından sonra ekstrakte edilen madde veya elementin konsantrasyonu

[Element] toplam = toprakta başlangıç olarak var olan madde veya elementin konsantrasyonu (sık kullanılan analitik teknikler ile ölçülen)

### 6.6.1. Toprak numunelerindeki toplam element sonuçları

Türkiye topraklarında eser element seviyeleri Tablo 6.7’de verilmiştir. Çalışmadaki mikrodalga ile çözünürleştirilen toprak numunelerinin ICP-OES ile analiz sonuçları ise Tablo 6.8’de verilmiştir. Seçilen topraklar pH>6’ydı. Seçilmiş toprakların eser element seviyeleri, Türkiye topraklarındaki eser element seviyeleri ile karşılaştırıldı [68]. Bu sonuçlara göre, seçilen topraklardaki krom, bakır ve çinko seviyeleri çok düşük bulundu.

Ayrıca seçilen toprakların mikrodalga yöntemiyle ölçülen eser element seviyelerinin sonuçlarına göre, aynı bölgedeki farklı toprakların farklı bitkilerinde element seviyeleri birbirine çok yakındır. Farklı bölgedeki toprak numunelerinin element seviyeleri az da olsa değişmektedir.

Tablo 6.7. Türkiye topraklarında eser element seviyeleri (mg kg<sup>-1</sup>) [68]

Eser elementler	pH 5-6	pH>6
Cd	1	3
Cr	100	100
Cu	50	140
Pb	50	300
Ni	30	75
Zn	150	300

### 6.6.2. Bitki numunelerindeki toplam element sonuçları

Mikrodalga ile çözünürleştirilen bitki numunelerinin ICP-OES ile analiz sonuçları ise Tablo 6.9’da verilmiştir. Bu sonuçlara göre, bitki numunelerinde sodyum ve talyum elementleri tayin sınırının altında bulunmuştur. Öyle ki, bitki numuneleri bu elementleri, yetiştiği topraklardan yeteri kadar alamamaktadır.



Tablo 6.8. Mikrodalga ile çözünürleştirilen toprak numunelerinin ICP-OES ile analiz sonuçları (mg kg<sup>-1</sup>), N=3

Bölge	Cins	Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Li	Mn	Na	Ni	Pb	Sr	Tl	Zn
Saksı	Marul	494.5±4.7	4.0±0.4	19.0±2.5	0.10±0.02	1.3±0.2	6.6±0.8	3.1±0.3	1869.2±9.3	14.4±1.6	55.0±4.2	6.9±1.2	5.8±0.6	1.6±0.1	19.1±2.3	0.20±0.02	5.9±0.5
Saksı	Maydonoz	428.1±2.9	4.6±0.7	19.4±2.2	0.40±0.01	1.6±0.1	7.2±1.3	3.6±0.3	1945.6±8.4	15.0±1.8	59.6±4.5	6.3±1.1	7.0±1.2	1.9±0.3	20.0±2.2	0.50±0.01	6.5±1.1
Geyve	Tere	498.6±3.8	5.7±1.2	20.3±3.1	0.20±0.02	1.3±0.2	6.9±0.9	3.1±0.2	1904.4±8.6	14.2±1.1	56.7±4.3	7.3±1.3	6.0±0.9	1.9±0.2	9.4±1.6	0.30±0.01	8.6±1.2
Geyve	Roka	522.1±5.2	6.1±0.7	20.3±3.2	0.10±0.01	1.3±0.2	8.3±1.5	4.9±0.3	1962.1±9.1	15.0±1.3	56.6±4.3	8.6±1.6	7.1±1.3	2.3±0.5	23.1±2.4	0.10±0.02	7.5±1.2
Pamukova	Buğday	475.4±4.5	8.3±1.4	17.3±2.1	0.20±0.01	1.5±0.1	6.1±0.7	4.9±0.4	1956.8±9.7	14.7±1.9	56.8±4.4	5.8±0.9	6.2±0.8	1.6±0.2	22.8±2.3	0.30±0.01	8.2±1.1
Kaynarca	Mısır	559.9±6.1	5.8±1.2	18.7±2.3	0.20±0.01	1.6±0.2	8.5±1.6	3.2±0.3	2453.5±8.3	18.9±2.1	47.7±3.9	9.2±1.7	7.8±1.3	2.4±0.6	8.6±1.3	0.20±0.02	8.7±0.9
Geyve	Dereotu	425.5±2.7	6.1±0.6	18.5±3.6	0.10±0.01	1.3±0.3	6.3±1.0	3.0±0.3	1827.7±9.6	13.1±1.2	54.8±4.1	5.5±0.8	5.8±0.4	1.6±0.1	18.7±2.1	0.30±0.01	6.6±0.9
Söğütlü	Buğday	450.1±3.1	4.6±0.8	20.4±3.1	0.10±0.02	1.4±0.3	8.2±1.4	2.9±0.2	2062.1±7.9	15.3±1.5	56.0±4.3	8.0±1.4	6.5±0.5	1.8±0.2	18.1±2.0	0.20±0.02	8.4±1.0
Geyve	Yeşil Soğan	425.1±2.6	4.5±0.5	16.0±2.5	0.30±0.01	1.4±0.2	9.3±1.8	5.8±0.6	1727.9±8.2	12.7±1.7	48.7±3.8	9.2±1.8	8.0±1.1	2.0±0.4	17.4±1.8	0.40±0.01	9.1±1.3
Ferizli	Pancar	495.7±4.9	6.3±0.9	16.6±2.3	0.20±0.02	1.6±0.1	8.5±1.7	2.9±0.2	2395.8±9.6	18.9±2.1	59.6±4.5	8.7±1.6	7.9±0.8	2.5±0.5	11.2±1.6	0.10±0.02	7.5±1.2
Geyve	Enginar	420.9±2.2	4.1±0.4	18.5±3.6	0.10±0.02	1.3±0.2	6.3±0.9	3.3±0.3	1875.6±9.2	14.2±1.3	57.8±4.3	5.4±0.7	6.1±0.8	1.7±0.3	19.0±1.9	0.30±0.01	6.5±1.1
Hendek	Mısır	477.1±3.6	10.1±0.8	17.2±3.9	0.20±0.02	1.5±0.1	7.4±1.2	3.6±0.4	2272.7±9.3	18.4±2.0	54.8±4.2	6.9±1.2	7.0±0.9	2.5±0.4	17.3±1.6	0.10±0.02	11.0±1.5
Söğütlü	Ispanak	468.1±3.3	4.9±1.1	20.2±3.3	0.20±0.01	1.5±0.1	8.8±1.6	3.3±0.3	2116.8±8.1	16.2±1.6	56.3±4.3	7.8±1.3	7.2±0.8	1.9±0.4	18.5±1.9	0.30±0.01	6.6±0.8
Pamukova	Ispanak	426.9±2.7	4.0±0.9	17.7±3.7	0.10±0.02	1.3±0.3	6.2±0.9	4.1±0.4	1900.1±8.9	13.7±1.1	56.5±4.3	5.0±0.7	6.3±0.7	1.7±0.2	19.3±1.9	0.30±0.01	8.3±0.9

Tablo 6.9. Mikrodalga ile çözünürleştirilen bitki numunelerinin ICP-OES ile analiz sonuçları (mg kg<sup>-1</sup>)

Bölge	Cins	Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Li	Mn	Na	Ni	Pb	Sr	Tl	Zn
Saksı	Marul	132.9±3.2	2.2±0.1	2.0±0.1	0.030±0.002	0.090±0.005	0.40±0.01	1.10±0.10	130.3±3.0	0.80±0.03	6.1±0.8	-	0.60±0.03	0.010±0.002	8.1±1.5	-	3.9±0.3
Saksı	Maydonoz	21.7±1.9	2.3±0.2	3.6±0.3	0.010±0.001	0.030±0.002	0.10±0.02	0.50±0.02	29.3±1.8	0.70±0.02	3.5±0.4	-	0.20±0.02	0.040±0.001	7.8±1.4	-	3.0±0.2
Geyve	Yeşil Soğan	86.1±2.5	2.1±0.2	2.5±0.2	0.010±0.001	0.050±0.002	0.30±0.01	0.80±0.04	72.0±2.2	0.70±0.03	3.4±0.3	-	0.40±0.03	0.060±0.001	14.6±1.6	-	2.5±0.1
Pamukova	Ispanak	47.8±2.2	4.4±0.3	1.8±0.2	0.050±0.002	0.090±0.004	0.20±0.02	1.00±0.10	51.9±2.0	0.80±0.03	2.9±0.2	-	0.60±0.02	0.050±0.002	10.5±1.4	-	12.2±1.3
Geyve	Tere	103.4±2.9	2.9±0.2	2.3±0.2	0.030±0.002	0.070±0.005	0.30±0.01	0.50±0.02	84.9±2.4	1.20±0.10	5.4±0.5	-	0.50±0.02	0.060±0.002	12.8±1.4	-	5.4±0.5
Geyve	Roka	17.2±1.8	3.0±0.2	3.0±0.3	0.030±0.002	0.020±0.002	0.10±0.02	0.30±0.01	23.1±1.8	1.40±0.10	2.9±0.3	-	0.20±0.02	0.050±0.001	40.7±2.1	-	3.7±0.3
Geyve	Dereotu	8.4±1.6	2.4±0.2	1.0±0.1	0.010±0.001	0.020±0.001	0.10±0.02	1.00±0.10	16.2±1.7	0.20±0.02	3.6±0.4	-	0.40±0.01	0.020±0.003	7.4±1.3	-	4.6±0.4

(-) TSA: Tayin sınırının altında

### 6.6.3. % Biyoalnabilirlik sonuçları

RIVM [9] ve UBM [10] metotlarının numunelere uygulanmasıyla bulunan sonuçlar, toplam element konsantrasyonu ile oranlanıp 100 ile çarpılarak % biyoalnabilirlik sonuçlarına ulaştık.

#### 6.6.3.1. Toprak numunelerine uygulanma sonuçları

Biyoalnabilirlik ve biyoerişilebilirlik ile ilgili yapılan toprak çalışmalarından bu çalışmaya benzerlikte olan az sayıdaki çalışmalar ile yapılan karşılaştırmaya bakılacak olursa, literatürdeki verilere paralel değerler elde edilmiştir. Bitkiler için ise literatürde hesaplanan % biyoalnabilirlik değerlerine hiç rastlanmadığından karşılaştırma yapılamamaktadır.

Toprak numuneleri hazırlanan yapay sindirim ortamına verilip sindirildikten sonra ölçülen değerlerle başlangıçta toprakta var olan değerlerin oranı bize % biyoalnabilirliği vererek, topraktan insana ne kadar geçtiğini göstermiştir. Bu değerlere göre, topraktan, B, Cr, Cu, Fe, Li ve Pb geçişi tayin sınırının altındadır. Tablo 6.8'den de görüldüğü gibi, bu çalışmada toprak numunelerinde B, Cr, Cu, Fe, Li ve Pb değerleri tayin sınırının altında olduğu için % biyoalnabilirlik değerleri hesaplanamamıştır.

Aynı şekilde bitkilerden insana geçen element seviyelerini de yine % biyoalnabilirlik değerlerinden görmekteyiz. Bu sonuçlara göre, bitkilerden Cu, Fe, Li, Na, Ni, Pb ve Tl geçişi tayin sınırının altındadır ve % biyoalnabilirlik değerleri hesaplanamamıştır.

Toprak örneklerinden RIVM [9] sindirim metodu ile alınan kadmiyum seviyeleri; 0.01-0.09 mg kg<sup>-1</sup>, kobalt seviyeleri 0.01-0.06 mg kg<sup>-1</sup>, mangan seviyeleri 0.5-3.6 mg kg<sup>-1</sup> ve çinko seviyeleri 0.2-6.3 mg kg<sup>-1</sup> aralığındadır. UBM [10] metodu ile kadmiyum seviyeleri; 0.01-0.04 mg kg<sup>-1</sup>, kobalt seviyeleri 0.01-0.05 mg kg<sup>-1</sup>, mangan seviyeleri 0.5-2.4 mg kg<sup>-1</sup> ve çinko seviyeleri 0.1-2.6 mg kg<sup>-1</sup> aralığındadır. Bu metotlarla bakır, demir, krom ve kurşun tayin sınırının altında bulundu. Toprak

numunelerine uygulanan RIVM [9] ve UBM [10] metotlarıyla belirlenen % biyoalınabilirlik sonuçları Tablo 6.10'da verilmiştir.

Tablo 6.10. Toprak numunelerine uygulanan RIVM [9] ve UBM [10] yöntemleriyle elde edilen % biyoalınabilirlik çalışması

Toprak Numuneleri		Metot	% Biyoalınabilirlik																
Bölge	Cins		Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Tl	Zn	Sr	Na	Li	
Saksı	Marul	Oomen	0	-	3	14	1	-	-	-	2	-	-	23	40	9	25	-	
		Barge	Mide	0	-	12	14	5	-	-	-	22	2	-	31	6	23	-	-
			Bağırsak	0	-	3	14	1	-	-	-	2	1	-	31	27	9	29	-
Saksı	Maydonoz	Oomen	0	-	2	4	1	-	-	-	2	1	-	10	13	8	39	-	
		Barge	Mide	1	-	11	9	5	-	-	-	21	2	-	-	13	22	-	-
			Bağırsak	0	-	2	4	2	-	-	-	3	0	-	13	13	8	34	-
Geyve	Yeşil Soğan	Oomen	0	-	3	49	4	-	-	-	1	1	-	13	1	9	-	-	
		Barge	Mide	1	-	21	6	4	-	-	-	18	2	-	17	6	32	22	-
			Bağırsak	0	-	3	12	2	-	-	-	1	1	-	22	29	10	20	-
Pamukova	Ispanak	Oomen	0	-	2	14	1	-	-	-	2	1	-	7	14	8	-	-	
		Barge	Mide	1	-	16	28	5	-	-	-	23	2	-	34	84	28	45	-
			Bağırsak	0	-	3	14	1	-	-	-	3	1	-	27	14	9	44	-
Geyve	Tere	Oomen	0	-	2	11	1	-	-	-	1	0	-	25	1	16	30	-	
		Barge	Mide	1	-	19	23	9	-	-	-	36	3	-	32	6	34	32	-
			Bağırsak	0	-	2	11	1	-	-	-	1	0	-	19	9	17	-	-
Geyve	Roka	Oomen	0	-	2	14	1	-	-	-	1	0	-	65	2	11	21	-	
		Barge	Mide	0	-	15	14	3	-	-	-	16	1	-	65	1	36	26	-
			Bağırsak	0	-	3	14	1	-	-	-	1	0	-	52	7	12	-	-
Geyve	Dereotu	Oomen	0	-	2	14	1	-	-	-	2	0	-	19	27	10	29	-	
		Barge	Mide	1	-	17	14	7	-	-	-	29	2	-	33	5	34	48	-
			Bağırsak	0	-	2	14	3	-	-	-	1	1	-	20	1	11	30	-

(-) TSA: Tayin sınırının altında

Tablo 6.10. Toprak numunelerine uygulanan RIVM [9] ve UBM [10] yöntemleriyle elde edilen % biyoalnabilirlik çalışması (devam)

Toprak numuneleri		Metot	% Biyoalnabilirlik																
Bölge	Cins		Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Tl	Zn	Sr	Na	Li	
Pamukova	Buğday	Oomen	0	-	2	7	2	-	-	-	2	0	-	15	11	9	29	-	
		Barge	Mide	1	-	12	21	7	-	-	-	21	3	-	-	34	23	-	-
			Bağırsak	0	-	2	7	1	-	-	-	3	1	-	-	18	7	-	-
Söğütlü	Buğday	Oomen	0	-	2	13	2	-	-	-	1	1	-	39	2	9	24	-	
		Barge	Mide	1	-	14	13	6	-	-	-	23	3	-	31	15	27	29	-
			Bağırsak	0	-	2	13	2	-	-	-	2	1	-	-	26	9	12	-
Ferizli	Pancar	Oomen	1	-	2	45	3	-	-	-	6	2	-	39	84	12	23	-	
		Barge	Mide	12	-	27	23	11	-	-	-	27	9	-	52	18	39	24	-
			Bağırsak	0	-	1	11	3	-	-	-	4	2	-	53	5	11	-	-
Geyve	Enginar	Oomen	0	-	2	13	1	-	-	-	3	1	-	-	12	8	-	-	
		Barge	Mide	1	-	14	26	5	-	-	-	25	3	-	32	100	29	50	-
			Bağırsak	0	-	2	13	3	-	-	-	3	1	-	25	30	8	-	-
Hendek	Mısır	Oomen	0	-	2	9	1	-	-	-	1	0	-	52	8	11	17	-	
		Barge	Mide	0	-	14	18	6	-	-	-	24	2	-	65	6	39	31	-
			Bağırsak	0	-	2	18	2	-	-	-	2	0	-	52	2	12	25	-
Kaynarca	Mısır	Oomen	1	-	1	11	3	-	-	-	6	3	-	34	3	6	22	-	
		Barge	Mide	15	-	20	23	14	-	-	-	27	10	-	43	9	17	26	-
			Bağırsak	1	-	1	11	3	-	-	-	5	2	-	34	18	6	22	-
Söğütlü	Ispanak	Oomen	0	-	1	9	1	-	-	-	3	0	-	17	50	8	-	-	
		Barge	Mide	1	-	12	18	6	-	-	-	24	3	-	28	91	30	29	-
			Bağırsak	0	-	2	9	1	-	-	-	3	0	-	28	18	9	23	-

(-) TSA: Tayin sınırının altında

### 6.6.3.2. Bitki numunelerine uygulanma sonuçları

Bitki numunelerinden RIVM [9] metoduyla alınan kadmiyum seviyeleri;  $<0.02 \text{ mg kg}^{-1}$ , krom seviyeleri  $0.02-0.09 \text{ mg kg}^{-1}$ , mangan seviyeleri  $0.2-0.8 \text{ mg kg}^{-1}$  ve çinko seviyeleri  $0.7-2.8 \text{ mg kg}^{-1}$  aralığındadır. UBM [10] metoduyla kadmiyum seviyeleri;  $<0.02 \text{ mg/kg}$ , krom seviyeleri  $0.04-0.08 \text{ mg kg}^{-1}$ , mangan seviyeleri  $0.3-1.0 \text{ mg kg}^{-1}$  ve çinko seviyeleri  $0.7-3.3 \text{ mg kg}^{-1}$  aralığındadır. Her iki metotla da, bakır, demir, kobalt ve kurşun tayin sınırının altında bulundu. Bitki numunelerine RIVM [9] ve UBM [10] metotlarının uygulanmasıyla elde edilen % biyoalınabilirlik sonuçları Tablo 6.11'de verilmiştir.

% Biyoalınabilirlik sonuçlarına göre, toprak numunelerinden insan sindirimine geçen element seviyeleri sırasıyla  $B = Cr = Cu = Fe = Pb = Li < Al < Ni < Co < Ba < Mn < Sr < Cd < Na < Zn < Tl < Mg < K < Ca$ ; bitki numunelerinden insan sindirimine geçen element seviyeleri ise  $Cu = Fe = Ni = Pb = Tl = Na = Li < Co < Al < Sr < Ba < Mn < Cd < Cr < Zn < B < Mg < K < Ca$  olarak bulundu.

En çok geçişin UBM [10] yönteminde mide fazında olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, bağırsak bölümünün daha yüksek bir pH ortamı olması nedeniyle elementlerin kimyasal çökmesi veya pepsin ile kompleksleşmesine bağlı olabilir.

İki yöntemin arasında çok da belirgin fark olmasa da UBM [10] yöntemi, RIVM [9] yönteminden daha çok biyoalınabilirlik sağlamaktadır.

Tablo 6.11. Bitki numunelerine uygulanan RIVM [9] ve UBM [10] yöntemleriyle elde edilen % biyoalnabilirlik sonuçları

Bitki Numuneleri		Metot	% Biyoalnabilirlik																
Bölge	Cins		Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Tl	Zn	Sr	Na	Li	
Saksı	Marul	Oomen	0	21	7	57	-	12	-	-	12	-	-	-	20	13	-	-	
		Barge	Mide	1	55	51	11	19	36	-	-	58	-	-	-	62	58	-	-
			Bağırsak	0	51	9	57	19	12	-	-	13	-	-	-	27	16	-	-
Saksı	Maydonoz	Oomen	1	26	13	17	-	24	-	-	16	-	-	-	31	15	-	-	
		Barge	Mide	5	86	64	17	57	12	-	-	62	-	-	-	66	58	-	-
			Bağırsak	3	27	17	17	-	36	-	-	20	-	-	-	29	18	-	-
Geyve	Yeşil Soğan	Oomen	0	26	4	17	-	13	-	-	11	-	-	-	29	9	-	-	
		Barge	Mide	1	54	31	34	68	65	-	-	86	-	-	-	40	21	-	-
			Bağırsak	0	31	5	17	-	26	-	-	23	-	-	-	28	6	-	-
Pamukova	Ispanak	Oomen	2	30	7	34	-	32	-	-	20	-	-	-	23	2	-	-	
		Barge	Mide	4	77	36	68	57	89	-	-	66	-	-	-	76	14	-	-
			Bağırsak	2	28	5	34	19	40	-	-	21	-	-	-	27	2	-	-
Geyve	Tere	Oomen	0	25	12	57	-	16	-	-	15	-	-	-	16	17	-	-	
		Barge	Mide	1	52	46	11	24	44	-	-	54	-	-	-	63	53	-	-
			Bağırsak	0	21	15	57	24	22	-	-	18	-	-	-	48	21	-	-
Geyve	Roka	Oomen	1	32	2	57	-	43	-	-	8	-	-	-	22	3	-	-	
		Barge	Mide	2	53	11	57	85	14	-	-	29	-	-	-	54	10	-	-
			Bağırsak	1	22	2	57	85	57	-	-	9	-	-	-	29	3	-	-
Geyve	Dereotu	Oomen	1	6	10	34	-	85	-	-	17	-	-	-	16	15	-	-	
		Barge	Mide	6	68	54	17	-	21	-	-	58	-	-	-	83	54	-	-
			Bağırsak	2	39	17	17	-	57	-	-	24	-	-	-	18	21	-	-

(-) TSA: Tayin sınırının altında



Tablo 6.12. Toprak numuneleri için literatürde var olan bazı çalışmalar ile bu çalışmanın % biyoalınabilirlik değerlerinin karşılaştırılması

Literatür Çalışmaları	% Biyoalınabilirlik																Metot
	Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Li	Mn	Na	Ni	Pb	Sr	Tl	Zn	
[71]	-	-	-	49	18	1	31	-	-	-	-	12	33	-	-	22	UBM Mide
	-	-	-	17	7	1	29	-	-	-	-	6	11	-	-	13	UBM Bağırsak
[73]	-	-	-	27	-	5	-	-	-	-	-	7	15	-	-	-	RIVM
[70]	-	-	-	-	-	40	61	-	-	-	-	-	57	-	-	46	RIVM
[69]	-	-	-	83	-	-	-	-	-	-	-	-	55	-	-	33	UBM Mide
	-	-	-	45	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-	10	UBM Bağırsak
[38]	-	-	-	68	-	-	-	-	-	-	-	-	62	-	-	47	UBM Mide
	-	-	-	31	-	-	-	-	-	-	-	-	32	-	-	23	UBM Bağırsak
[72]	-	-	-	61	-	-	-	-	-	-	-	-	42	-	-	-	UBM Mide
	-	-	-	56	-	-	-	-	-	-	-	-	26	-	-	-	UBM Bağırsak
Bu çalışma	0	-	2	16	2	-	-	-	-	2	19	1	-	10	26	19	RIVM
	3	-	16	18	7	-	-	-	-	24	26	3	-	33	33	28	UBM Mide
	0	-	2	12	2	-	-	-	-	2	17	1	-	10	27	16	UBM Bağırsak

(-) TSA: Tayin sınırının altında

Çalışmadaki biyoalınabilirlik sonuçlarının literatürdeki bazı araştırmalarla karşılaştırılması Tablo 6.12’de verilmiştir.

### 6.6.3.3. Literatürdeki bazı çalışmalar ile karşılaştırma

Pelfrene ve arkadaşları [69] tarafından, Kuzey Fransa tarım topraklarında insan biyoerişilebilirliği için, Cd, Pb ve Zn’nin ekstrakte edilebilirliği incelendi. Ağır metal biyoalınabilirliğini değerlendirmek için bu elementlerin biyoerişilebilirliği kullanıldı (UBM metodu ile). Aralarında  $Zn < Pb < Cd$  ilişkisi bulundu. Biyoerişilebilir fraksiyon değerleri olarak mide fazında Cd %82, Pb %55, Zn %33 bulunurken bu değerler bağırsak fazında %45, %20 ve %10’a düştü.

Miguel ve arkadaşları [70] tarafından, İspanya Madrid’de 16 farklı topraktan numune toplandı. As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb ve Zn in vitro biyoerişilebilirliği, mide ortamı ve mide-bağırsak sindirimi olan 2 ekstraksiyon prosesiyle ölçüldü. RIVM [9], SBET metotları karşılaştırıldı.  $Cr < Ni < Co < As = Cu = Pb = Zn$  olan biyoerişilebilirlik değerleri %7-%63 aralığında bulundu.

Barsby ve arkadaşları [71] tarafından, Kuzey İrlanda’daki topraklardaki eser elementlerin biyoerişilebilirliğini belirlemek için UBM [10] metodu kullanıldı. As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb ve Zn biyoerişilebilir konsantrasyonları belirlendi. As mide fazı  $0.28-2.73 \text{ mgkg}^{-1}$ , bağırsak fazı  $0.31-2.31 \text{ mgkg}^{-1}$ ; Cd mide fazı  $0.12-0.85 \text{ mgkg}^{-1}$ , bağırsak fazı  $0.03-0.21 \text{ mgkg}^{-1}$ ; Co mide fazı  $0.46-7.17 \text{ mgkg}^{-1}$ , bağırsak fazı  $0.19-2.26 \text{ mg/kg}$ ; Cr mide fazı  $0.20-4.56 \text{ mgkg}^{-1}$ , bağırsak fazı  $0.25-2.98 \text{ mg/kg}$ ; Cu mide fazı  $3.43-25.96 \text{ mgkg}^{-1}$ , bağırsak fazı  $2.69-23.43 \text{ mgkg}^{-1}$ ; Ni mide fazı  $0.93-10.57 \text{ mgkg}^{-1}$ , bağırsak fazı  $0.53-5.86 \text{ mg/kg}$ ; Pb mide fazı  $2.97-65.37 \text{ mgkg}^{-1}$ , bağırsak fazı  $0.71-18.88 \text{ mgkg}^{-1}$ ; Zn mide fazı  $6.22-45.58 \text{ mgkg}^{-1}$ , bağırsak fazı  $4.84-15.87 \text{ mgkg}^{-1}$  bulundu.

Wragg ve arkadaşları [72] tarafından, NIST 2710 toprak referans maddesine ardışık ekstraksiyon uygulandı. İnsan sindiriminde biyoerişilebilen fraksiyonu belirlemek için UBM [10] yöntemi kullanıldı. As, Cd ve Pb’de sırasıyla %51.6; %68; %68.4 bulundu. Ni ise eser düzeyde bulundu.

Roussel ve arkadaşları [38] tarafından, 24 tane bahçe toprağı numunesi toplandı. Cd, Pb ve Zn analiz edildi. Bu elementlerin insana biyoerişilebilirliğini belirlemek için UBM [10] metodu kullanıldı. Mide fazında sırasıyla %68, %62 ve %47 bulunurken, bağırsak fazında da %31, %32 ve %23 bulundu.

Broadway ve arkadaşları [73] tarafından, Glaskow topraklarında krom biyoalınabilirliği incelendi. UBM [10] metodu uygulandı. Topraklardaki Cr konsantrasyonları mide fazında 3-19 mgkg<sup>-1</sup>, mide-bağırsak fazında 5-9.2 mgkg<sup>-1</sup> aralığında bulunmuştur.

Literatürdeki bazı çalışmalar ile bu çalışma karşılaştırılarak sonuçlar arasında ilişki kurulmaktadır. Böylelikle çalışmamızın doğrulukları görülmekte, farklılıkları ortaya koyulmaktadır.

### **6.7. ANOVA Testi (Varyans Analizi)**

Varyans analizi iki ya da daha fazla ortalama arasında fark olup olmadığı ile ilgili hipotezi test etmek için kullanılır. Gruplar arasındaki ve grupların kendi içlerindeki varyansını hesaplayarak birbirine oranlar ve bu varyansların büyüklüklerine göre bir karar verir.

Eğer gruplar arasında sadece tek bir faktörün etkisine bakılacaksa tek yönlü varyans analizi yapılır. Tek yönlü varyans analizinde gruplar tek bir faktörle belirlenir. Birden fazla faktörün birbiriyle ilişkisinin incelendiği durumlarda çok yönlü varyans analizi uygulanır.

Bu test grup içi ve gruplar arası varyansların oranına dayanmaktadır. Sıfır hipotezinin doğru olması halinde değişkenin grupların genelindeki varyasyonu ile gruplar arasındaki varyasyonu aynı olmalıdır. Testin adının varyans analizi olması da buradan gelmektedir.

ANOVA testi grup için ve gruplar arası varyansların birbirine oranlanmasından (F oranı) oluşur. Bu oran F dağılımına uymaktadır.

Gruplar arası varyansların kareleri ortalamasının, gruplar içi varyansların kareleri ortalamasına bölünmesi F değerini vermektedir [74].

Varyans analizinde kaç grup olursa olsun tek bir F değeri ve buna karşılık gelen tek bir p değeri hesaplanır. Eğer  $p < 0.05$  ise, grup ortalamaları eşit değildir. Hangi grup ya da grupların ortalamalarının farklı olduğunu araştırmak için çoklu karşılaştırma yöntemleri uygulanmalıdır. Eğer  $p > 0.05$  ise, grup ortalamaları eşittir ve bu durumda çoklu karşılaştırma testlerine gerek kalmaz.

### 6.7.1. Toprak numunelerine testin uygulanması

#### 6.7.1.1. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen eser elementlerin ANOVA testi sonuçları

Mikrodalga yöntemiyle belirlenen eser element seviyelerinin ANOVA testi sonuçları her bir element için Tablo 6.13 ile Tablo 6.28 arasında verilmiştir.

Tablo 6.13. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen alüminyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.19	2	0.095	5.29E-05	0.999947	3.238096
Gruplar İçinde	70103.28	39	1797.52			
Toplam	70103.47	41				

Tablo 6.14. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen bor

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.112857	2	0.056429	0.018495	0.981684	3.238096
Gruplar İçinde	118.99	39	3.051026			
Toplam	119.1029	41				

Tablo 6.15. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen baryum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.009048	2	0.004524	0.002139	0.997863	3.238096
Gruplar İçinde	82.47214	39	2.11467			
Toplam	82.48119	41				

Tablo 6.16. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen kadmiyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.003333	2	0.001667	0.230964	0.794846	3.238096
Gruplar İçinde	0.281429	39	0.007216			
Toplam	0.284762	41				

Tablo 6.17. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen kobalt

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.001429	2	0.000714	0.041053	0.95982	3.238096
Gruplar İçinde	0.678571	39	0.017399			
Toplam	0.68	41				

Tablo 6.18. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen krom

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.663333	2	0.331667	0.248187	0.781437	3.238096
Gruplar İçinde	52.11786	39	1.336355			
Toplam	52.78119	41				

Tablo 6.19. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen bakır

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.024762	2	0.012381	0.01554	0.984586	3.238096
Gruplar İçinde	31.07143	39	0.796703			
Toplam	31.09619	41				

Tablo 6.20. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen demir

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.047619	2	0.02381	5.07E-07	0.999999	3.238096
Gruplar İçinde	1831950	39	46973.08			
Toplam	1831950	41				

Tablo 6.21. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen lityum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.003333	2	0.001667	0.000398	0.999603	3.238096
Gruplar İçinde	163.5064	39	4.192473			
Toplam	163.5098	41				

Tablo 6.22. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen mangan

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.11619	2	0.058095	0.004939	0.995074	3.238096
Gruplar İçinde	458.7821	39	11.76364			
Toplam	458.8983	41				

Tablo 6.23. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen sodyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.017619	2	0.00881	0.004203	0.995806	3.238096
Gruplar İçinde	81.74714	39	2.096081			
Toplam	81.76476	41				

Tablo 6.24. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen nikel

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.003333	2	0.001667	0.00291	0.997095	3.238096
Gruplar İçinde	22.33786	39	0.572766			
Toplam	22.34119	41				

Tablo 6.25. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen kurşun

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.00619	2	0.003095	0.027466	0.972926	3.238096
Gruplar İçinde	4.395	39	0.112692			
Toplam	4.40119	41				

Tablo 6.26. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen stronsiyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.007619	2	0.00381	0.000188	0.999812	3.238096
Gruplar İçinde	789.0936	39	20.23317			
Toplam	789.1012	41				

Tablo 6.27. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen talyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.004286	2	0.002143	0.169811	0.844445	3.238096
Gruplar İçinde	0.492143	39	0.012619			
Toplam	0.496429	41				

Tablo 6.28. Mikrodalga yöntemiyle ölçülen çinko

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.14619	2	0.073095	0.038694	0.962082	3.238096
Gruplar İçinde	73.67286	39	1.889048			
Toplam	73.81905	41				

ANOVA testine göre,  $p > 0.05$  olduğunda gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı,  $p < 0.05$  olduğunda ise gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu anlaşılır.  $p > 0,05$  ise varyanslar homojen dağılmıştır,  $p < 0,05$  ise varyanslar homojen dağılmamıştır. Aynı zamanda p değeri, F değeri elde etme yüzdesidir.

Bu sonuçlar ışığında; ANOVA testine göre, çalışmamızda yapılan tüm elementler için  $p > 0.05$  olduğundan toprak numuneleri sonuçları arasında anlamlı bir fark yoktur ve varyanslar homojen dağılmıştır sonucuna varmaktayız. Yani toprak numunelerinin alındığı yerin değişmesi, mikrodalgayla ölçtüğümüz eser element seviyelerinde önemli bir fark yaratmamıştır.

#### 6.7.1.2. RIVM yöntemiyle ölçülen eser elementlerin ANOVA testi sonuçları

RIVM yöntemiyle belirlenen eser element seviyelerinin ANOVA testi sonuçları her bir element için Tablo 6.29 ile Tablo 6.37 arasında verilmiştir.



Tablo 6.29. RIVM yöntemiyle ölçülen baryum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000271	2	0.000136	0.007676	0.992355	3.238096
Gruplar İçinde	0.689557	39	0.017681			
Toplam	0.689829	41				

Tablo 6.30. RIVM yöntemiyle ölçülen kadmiyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.001086	2	0.000543	0.344171	0.710939	3.238096
Gruplar İçinde	0.061514	39	0.001577			
Toplam	0.0626	41				

Tablo 6.31. RIVM yöntemiyle ölçülen kobalt

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	4.29E-05	2	2.14E-05	0.067826	0.934533	3.238096
Gruplar İçinde	0.012321	39	0.000316			
Toplam	0.012364	41				

Tablo 6.32. RIVM yöntemiyle ölçülen mangan

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.1579	2	0.07895	0.082014	0.921418	3.238096
Gruplar İçinde	37.54301	39	0.962641			
Toplam	37.70091	41				

Tablo 6.33. RIVM yöntemiyle ölçülen sodyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000186	2	9.29E-05	0.00011	0.99989	3.238096
Gruplar İçinde	32.95692	39	0.845049			
Toplam	32.95711	41				

Tablo 6.34. RIVM yöntemiyle ölçülen nikel

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000119	2	5.95E-05	0.012013	0.988063	3.238096
Gruplar İçinde	0.193243	39	0.004955			
Toplam	0.193362	41				

Tablo 6.35. RIVM yöntemiyle ölçülen stronsiyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000133	2	6.67E-05	0.000346	0.999654	3.238096
Gruplar İçinde	7.52	39	0.192821			
Toplam	7.520133	41				

Tablo 6.36. RIVM yöntemiyle ölçülen talyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.001129	2	0.000564	1.069049	0.353181	3.238096
Gruplar İçinde	0.020586	39	0.000528			
Toplam	0.021714	41				

Tablo 6.37. RIVM yöntemiyle ölçülen çinko

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000633	2	0.000317	0.000109	0.999891	3.238096
Gruplar İçinde	113.4194	39	2.90819			
Toplam	113.42	41				

RIVM [9] metoduyla elde edilen biyoalınabilirlik değerlerine uygulanan ANOVA testine göre,  $p > 0.05$  olduğundan elde edilen biyoalınabilirlikler arasında anlamlı bir fark yoktur ve varyanslar homojen dağılmıştır sonucuna varmaktayız. Yani toprak numunelerinin alındığı yerin değişmesi, RIVM [9] metoduyla ölçülen biyoalınabilirliklerde önemli bir fark yaratmamıştır.

### 6.7.1.3. UBM yöntemiyle ölçülen eser elementlerin ANOVA testi sonuçları

UBM yöntemiyle belirlenen eser element seviyelerinin ANOVA testi sonuçları her bir element için Tablo 6.38 ile Tablo 6.46 arasında verilmiştir.

Tablo 6.38. UBM yöntemiyle ölçülen baryum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000186	2	9.29E-05	0.005836	0.994181	3.238096
Gruplar İçinde	0.620493	39	0.01591			
Toplam	0.620679	41				

Tablo 6.39. UBM yöntemiyle ölçülen kadmiyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	4.29E-05	2	2.14E-05	0.183386	0.833161	3.238096
Gruplar İçinde	0.004557	39	0.000117			
Toplam	0.0046	41				

Tablo 6.40. UBM yöntemiyle ölçülen kobalt

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000205	2	0.000102	0.399001	0.673698	3.238096
Gruplar İçinde	0.010007	39	0.000257			
Toplam	0.010212	41				

Tablo 6.41. UBM yöntemiyle ölçülen mangan

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000633	2	0.000317	0.000731	0.999269	3.238096
Gruplar İçinde	16.88666	39	0.432991			
Toplam	16.8873	41				

Tablo 6.42. UBM yöntemiyle ölçülen sodyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	7.62E-05	2	3.81E-05	4.24E-05	0.999958	3.238096
Gruplar İçinde	35.05502	39	0.898847			
Toplam	35.0551	41				

Tablo 6.43. UBM yöntemiyle ölçülen nikel

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000186	2	9.29E-05	0.030218	0.970257	3.238096
Gruplar İçinde	0.119843	39	0.003073			
Toplam	0.120029	41				

Tablo 6.44. UBM yöntemiyle ölçülen stronsiyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000776	2	0.000388	0.001637	0.998364	3.238096
Gruplar İçinde	9.245186	39	0.237056			
Toplam	9.245962	41				

Tablo 6.45. UBM yöntemiyle ölçülen talyum

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.00049	2	0.000245	0.313877	0.732437	3.238096
Gruplar İçinde	0.030471	39	0.000781			
Toplam	0.030962	41				

Tablo 6.46. UBM yöntemiyle ölçülen çinko

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.001776	2	0.000888	0.001518	0.998483	3.238096
Gruplar İçinde	22.81936	39	0.585112			
Toplam	22.82113	41				

UBM [10] metoduyla elde edilen biyoalınabilirlik değerlerine uygulanan ANOVA testine göre,  $p > 0.05$  olduğundan elde edilen biyoalınabilirlikler arasında anlamlı bir fark yoktur ve varyanslar homojen dağılmıştır sonucuna varmaktayız. Yani toprak numunelerinin alındığı yerin değişmesi, UBM [10] metoduyla ölçülen biyoalınabilirliklerde önemli bir fark yaratmamıştır.

#### 6.7.1.4. RIVM ve UBM yöntemleriyle elde edilen biyoalınabilirliğin ANOVA testiyle karşılaştırılması

RIVM ve UBM yöntemleriyle elde edilen biyoalınabilirlik değerlerinin ANOVA testiyle karşılaştırılma sonuçları her bir element için Tablo 6.47 ile Tablo 6.55 arasında verilmiştir.

Tablo 6.47. Baryum için RIVM-UBM karşılaştırması

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.013729	1	0.013729	0.833506	0.369649	4.225201
Gruplar İçinde	0.428243	26	0.016471			
Toplam	0.441971	27				

Tablo 6.48. Kadmiyum için RIVM-UBM karşılaştırması

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000804	1	0.000804	1.023801	0.320943	4.225201
Gruplar İçinde	0.020407	26	0.000785			
Toplam	0.021211	27				

Tablo 6.49. Kobalt için RIVM-UBM karşılaştırması

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	5.71E-05	1	5.71E-05	0.224138	0.639856	4.225201
Gruplar İçinde	0.006629	26	0.000255			
Toplam	0.006686	27				

Tablo 6.50. Mangane için RIVM-UBM karşılaştırması

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.014175	1	0.014175	0.02224	0.882602	4.225201
Gruplar İçinde	16.57164	26	0.637371			
Toplam	16.58581	27				

Tablo 6.51. Sodyum için RIVM-UBM karşılaştırması

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.180804	1	0.180804	0.207495	0.652519	4.225201
Gruplar İçinde	22.65541	26	0.871362			
Toplam	22.83621	27				

Tablo 6.52. Nikel için RIVM-UBM karşılaştırması

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	5.71E-05	1	5.71E-05	0.014568	0.904859	4.225201
Gruplar İçinde	0.101986	26	0.003923			
Toplam	0.102043	27				

Tablo 6.53. Stronsiyum için RIVM-UBM karşılaştırması

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.0175	1	0.0175	0.080961	0.778253	4.225201
Gruplar İçinde	5.619971	26	0.216153			
Toplam	5.637471	27				

Tablo 6.54. Talyum için RIVM-UBM karşılaştırması

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.000229	1	0.000229	0.374775	0.54573	4.225201
Gruplar İçinde	0.015857	26	0.00061			
Toplam	0.016086	27				

Tablo 6.55. Çinko için RIVM-UBM karşılaştırması

Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0.221432	1	0.221432	0.126906	0.724536	4.225201
Gruplar İçinde	45.36618	26	1.744853			
Toplam	45.58761	27				

RIVM [9] ve UBM [10] metotları arasında anlamlı bir fark olup olmadığı F testinden anlaşılmaktadır. Tüm elementler için  $F < F$  ölçütü ( $F_h < F_k$ ) olduğundan uygulanan metotlar arasında anlamlı bir fark yoktur.

ANOVA testine göre, çalışmamızda yapılan tüm elementler için  $p > 0.05$  ve  $F < F$  ölçüt olduğundan toprak numuneleri sonuçları arasında anlamlı bir fark yoktur ve varyanslar homojen dağılmıştır sonucuna varmaktayız. Yani toprak numunelerinin alındığı yerin değişmesi, RIVM ve UBM metotlarıyla ölçülen biyoalınabilirlik seviyelerinde önemli bir fark yaratmamıştır. Ayrıca RIVM ve UBM metotları arasında da anlamlı bir fark olmadığı sonuçlardan anlaşılmaktadır.

## 6.8. Eser Element Biyoalınabilirliğinin İnsan Sağlığına Etkisi

Ulusal Bilimler Akademisi [75], Tıp Enstitüsü, sağlıklı nüfusun diyetlerini değerlendirme ve planlamanın yanı sıra başka amaçlar için de kullanılacak günlük referans alımları (DRIs) oluşturdu.



### 6.8.1.Önerilen diyet izni (RDA)

Ortalama günlük diyet besin alımı düzeyi, belirli yaşam alanı ve cinsiyet grubundaki neredeyse tüm (% 97-98) sağlıklı bireylerin besin ihtiyacını karşılamak için yeterlidir.

### 6.8.2. Tolere edilebilir üst alım düzeyi (UL)

En yüksek ortalama günlük alım seviyesi, genel nüfustaki hemen hemen tüm bireyler için olumsuz sağlık etkilerinin risk taşımama olasılığı yüksektir. (UL)' nin üstünde alım artarsa yan etkilerin potansiyel riski artabilir.

Tolere edilebilir üst alım düzeyleri (ULs), aksi belirtilmedikçe (gıda takviyesi içeren) gıda, su ve diyet tamamlayıcılarının alımına dayanır. (UL), uzun süre günlük kullanım içindir. Tolere edilebilir üst alım düzeyleri (ULs), yan etkiler hakkındaki veriler sınırlı olduğundan her cinsiyet/yaşam alanı grupları için tüm gerekli besinler için kullanılamaz.

Tolere edilebilir üst alım düzeyi (UL), doz sonundaki etki verileri ve tehlike teşhisi (yan etkilerin öncelikli bulguları) için hesaplanır. Besin için uygun kritik yan etkiler, görülmeyen yan etkiler (NOAEL) olarak belirlenmiş sayılır. Bu, bireysel çalışmalarda herhangi yan etkisi görülmeyen bir besinin en yüksek alımı veya dozudur. (NOAEL) belirlemek için yeterli veri yoksa en düşük gözlenen yan etki düzeyleri (LOAEL) kullanılır. Bu, yan etki gösterdiği en düşük alım veya dozdur [76].

Kadmiyum ise, toprağın biyolojik aktivitesini, bitki metabolizmasını ve insanların sağlığını etkilemektedir. Besin zincirinde önemli ölçüde birikmektedir. Düşük dozlarda bile insan için toksiktir. Topraktaki ortalama kadmiyum miktarı 0.06 ppm ile 1.1 ppm arasında değişmektedir. Toprak kadmiyum seviyeleri toprak tipine ve pH değerine bağlıdır. Toprak pH'ındaki artış bitkilerin kadmiyum alımını önemli ölçüde azalttığı bilinmektedir. İnsanlarda kadmiyumun en önemli etkisi ise hipertansiyona neden olmasıdır. Ağız yoluyla 15 mg kadmiyum alınması insanlarda derhal mide bulanması ve kusmaya neden olmaktadır. En fazla etkilenen organ ise böbreklerdir [77].

Krom, bitkiler tarafından çoğunlukla +6 değerlikli iyon şeklinde alınırken, bitkilerin kök kısmında kalarak +3 değerlikli kroma dönüşmekte ve böylece çözünürlüğü çok düşük olan krom bileşikleri meydana gelmektedir. pH>6 olan tarım topraklarında, toplam krom için maksimum konsantrasyon miktarı 100 ppm'dir [35]. Tolere edilebilir üst alım düzeyi (UL), belirlenmiş değildir. Ulusal inceleme verisi, çeşitli yüzdelerde krom alımına uygun değildir. Üçüncü ulusal sağlık ve beslenme inceleme verilerine göre, %95' de kromun ortalama gereken alımı erkekler için 100 µg/gün; kadınlar için 127 µg/gündür.

Bakır, canlılar için gerekli olan bir elementtir [27]. Hastalıklara karşı savunma mekanizmasında rolü vardır. Yetişkin erkek ve kadınlar için önerilen diyet izni (RDA), 900 µg/gündür. Amerika Birleşik Devletleri'nde gıdadan alınan ortalama bakır yetişkin erkek ve kadınlar için yaklaşık 1-1.6 µg/gündür. Yetişkinler için tolere edilebilir üst alım düzeyi (UL), kritik yan etki olarak karaciğer hasarından koruma esaslı bir değer olan 10.000 µg/gün (10 mg/gün) dür. Görülmeyen yan etkiler (NOAEL) 10 mg/gün dozunun görülmeyen yan etkileri (NOAEL) genel nüfus için koruyucu olduğu kabul edildi.

Nikelin yetişkin erkek ve kadınlar için ortalama gereken alımı, yaklaşık 5 µg/gündür. Bu nedenle, diyet ve takviyelerden nikelin yetişkin tüketimi yaklaşık 79-105 µg/gündür.

Çinko, hayvan ve bitki metabolizması için gerekli bir eser elementtir fakat yüksek konsantrasyonlarının toksik etkileri bulunmaktadır. Yüzey toprağındaki çinko miktarı, çeşitli ülkelerde 17-125 ppm arasında değişmektedir. Dünyada toprak için ortalama değer 64 ppm olarak kabul edilmektedir. Erkek ve kadın için tahmin edilen fizyolojik gerekli çinko emilimi sırasıyla 1.4 mg/gün ve 1.0 mg/gün'dür [31]. Yetişkinler için önerilen diyet izni (RDA), kadınlar için 8 mg/gün; erkekler için 11 mg/gündür. Son yıllarda, Amerika Birleşik Devletleri'nde gıdadan ortalama alım kadınlar için yaklaşık 9 mg/gün; erkekler için 14 mg/gündür. Yetişkinler için tolere edilebilir üst alım düzeyi (UL), eritrosit bakır-çinko süperoksit dismutaz aktivitesindeki azalmaya dayanan bir değer olan 40 mg/gün'dür.

## **BÖLÜM 7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER**

Bu çalışmada, öncelikle Sakarya ilinden toplanan toprak, bitki ve gıda örneklerinde yaş yakma ve mikrodalga yöntemi kullanılarak, İndüktif Eşleşmeli Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) cihazı ile eser element seviyeleri belirlenmiştir. Yöntemin doğruluğu, yaş yakma ve mikrodalga ile çözülen standart referans maddeler olan (SRM) NIST 7001 Light Sandy Soil ve NIST SRM 1515 Apple Leaves kullanılarak doğrulanmıştır.

Metot validasyonu, sertifikalı ve standart referans maddelerin analiziyle sağlanmıştır. Ayrıca standart referans madde analiz sonuçları %95 güven seviyesinde bulunmuştur. Mikrodalga yöntemiyle çözme uygulamasıyla yüksek geri kazanım değerleri elde edildiği görülmüştür. Sonuçlar literatürdeki değerlerle kontrol edilmiştir.

Çalışmanın ilk adımı olarak toprak ve bitki numunelerinin toplam eser element seviyeleri, çalışmanın ikinci adımı olan biyoalınabilirlik değerlerinin elde edilebilmesi için kullanılmıştır.

Yapılan bu çalışmadaki orjinallik, biyoalınabilirlik çalışmasında görülmektedir. Biyoalınabilirlik çalışmasında, birden çok element geçişi, bitki örneklerine uygulanması ve iki farklı yöntem denenmesi incelenmiştir. Öyle ki, Sakarya bölgesinde herhangi bir biyoalınabilirlik çalışmasına rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, iki yapay sindirim modeli (RIVM ve UBM) element geçişlerini belirlemek için kullanılmıştır. İki metotta da in vitro sindirim olarak tükürük, mide ve bağırsak ortamları bulunmaktadır. Aralarındaki en büyük fark ise ortamların karışma süreleri ve UBM [10] metodunda mide fazında da ekstrakt alınmasıdır. Yapay olarak hazırlanan sindirim sularının bileşimleri insan fizyolojisine dayanmaktadır.

İki yapay sindirim modeli kullanılarak toprak ve bitkiden insana geçen eser element seviyeleri belirlenmiştir. İnsan fizyolojisine dayanan yapay sindirim modeline toprak ve bitki numunelerinin eklenmesiyle sindirim süreci başlamış olmaktadır. Böylelikle, insan sindirimine geçen eser element miktarının, toprak ve bitkide var olan eser element miktarına oranından % biyoalınabilirlik değerlerine ulaşılmaktadır. % Biyoalınabilirlik sonuçlarına göre, toprak numunelerinden insan sindirimine geçen element seviyeleri sırasıyla  $B = Cr = Cu = Fe = Pb = Li < Al < Ni < Co < Ba < Mn < Sr < Cd < Na < Zn < Tl < Mg < K < Ca$ ; bitki numunelerinden insan sindirimine geçen element seviyeleri ise  $Cu = Fe = Ni = Pb = Tl = Na = Li < Co < Al < Sr < Ba < Mn < Cd < Cr < Zn < B < Mg < K < Ca$  olarak bulunmuştur.

İki sindirim metodu karşılaştırıldığında, metot üstünlüğünün UBM metodunda olduğu sonuçlardan anlaşılmaktadır. UBM metodu az da olsa RIVM metodundan daha fazla biyoalınabilirlik sağlar. UBM metodunda çoğu geçiş mide aşamasındadır. Bu sonuçlar bağırsak bölümünün daha yüksek pH ortamına bağlı olarak elementlerin pepsin ile kompleksleşmesi ve kimyasal çökmesiyle ilişkili olabilir.

ANOVA testine göre, çalışmamızda yapılan tüm elementler için  $p > 0.05$  ve  $F < F$  ölçüt olduğundan toprak numuneleri sonuçları arasında anlamlı bir fark yoktur ve varyanslar homojen dağılmıştır sonucuna varmaktayız. Yani toprak numunelerinin alındığı yerin değişmesi, RIVM ve UBM metotlarıyla ölçülen biyoalınabilirlik seviyelerinde önemli bir fark yaratmamıştır. Ayrıca RIVM ve UBM metotları arasında da anlamlı bir fark olmadığı sonuçlardan anlaşılmaktadır.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde elde edilen sonuçların insan sağlığına zararlı seviyelere ulaşıp ulaşılmadığı kontrol edilmiştir. Bu çalışmada görülüyor ki, numune alınan bölgelerdeki toprak ve bitkilerden insanlara geçen eser element seviyeleri çok düşüktür. Bulunan sonuçlar toksik değerlerden çok uzaktır. Bu sonuçlar da bölgede su ve hava yoluyla fazla kirliliğin olmadığını, bu yüzden de toprak ve bitkilerden insana geçişin de çok olmadığını göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] ZHANG, Z., ABUDUWAILI, J., JIANG, F., Determination of occurrence characteristics of heavy metals in soil and water environments in Tianshan mountains Central Asia. *Anal. Letters*. 46:2122–2131, 2013.
- [2] SÜMER, A., ADİLOĞLU, S., ÇETİNKAYA, O., ADİLOĞLU, A., SUNGUR, A., AKBULAK, C., Karamenderes havzası topraklarında bazı ağır metallerin (Cr, Ni, Pb) kirliliğinin araştırılması. *J. Tekirdag Agricul. Fac.* (10)1, 2013.
- [3] LANE, TW., MOREL, FM., A biological function for cadmium in marine diatoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 97(9):4627–4631, 2000.
- [4] LANE, TW., SAITO, MA., GEORGE, GN., PICKERING, IJ., PRINCE, RC., MOREL, FM., Biochemistry: a cadmium enzyme from a marine diatom. *Nature*. 435(7038):42, 2005.
- [5] TOSYALI, K., Araç egzozlarından kaynaklanan ağır metallerin tayini, Marmara Uni. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2006.
- [6] DEMİR, R., AYDIN, F., Foseptik atıkları ile sulanan marullarda (*Lactuca Sativa L. var. longifolia Lam.*) ağır metal miktarları üzerinde bir çalışma. *Eko. Çevre Der*, 9(36):11–17, 2000.
- [7] SÖNMEZ, O., AYDEMİR, S., SAYGAN, E., Kurşun ve kurşun biyo-alınabilirliğinin belirlenmesi. *Harran Uni. Ziraat Fak. Der.*, 11(3/4):1-8, 2007.
- [8] NG, J., JUHASZ, A., SMITH, E., NAIDU, R., Contaminant bioavailability and bioaccessibility-part1:A. *Sci. Tech. Rev*, 2010.
- [9] OOMEN, AG., ROMPELBERG, CJM., BRUIL, MA., DOBBE, CJG., PEREBOOM, DPKH., SIPS, AJA., Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 44:281-287, 2002.
- [10] WRAGG, J., CAVE, M., TAYLOR, H., BASTA, N., BRANDON, E., CASTEEL, S., GRON, C., OOMEN, A., VANDEVIELE, T., Inter-laboratory trial of a unified bioaccessibility procedure. *Nottingham British Geological Survey*, 2009.

- [11] BAKIRCIOĞLU, D., Toprakta makro ve mikro element tayini. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 2009.
- [12] MEGEP., Toprak oluşumu, bahçecilik. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara, 2008.
- [13] <http://www.toros.com.tr/ÇiftçiDostu/BağcılıktaDengeliGübreleme.>, Erişim Tarihi: 29.04.2015.
- [14] BELİVERMİŞ, M., Trakya bölgesinde ağır metal dağılımının kuzey-güney doğrultusunda değişimi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı, 2004.
- [15] <http://mfozelders.blogspot.com/2012/05/agir-metallerin-topraga-etkisi>, Erişim Tarihi: 18.05.2014.
- [16] DAĞDEVİREN, Ş., Çorlu ve civarındaki topraklarda ağır metal konsantrasyonunun belirlenmesi ve sonuçlarının yapay sınır ağları ile değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çorlu Mühendislik Fakültesi, 2007.
- [17] DÖKMECİ, AH., Gala gölü ve gölü besleyen su kaynaklarında ağır metal kirliliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.
- [18] KOCAER, OF., BAŞKAYA, SH., Metallerle kirlenmiş toprakların temizlenmesinde uygulanan teknolojiler. Uludağ Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi, 8:1, 2003.
- [19] OKCU, M., TOZLU, E., KUMLAY, AM., PEHLUVAN, M., Ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi Dergisi, 14-26, 2009.
- [20] KELEŞ, CT., Konya şehir merkezi yol ve parklarında ağır metal kirliliği. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 2007.
- [21] OK, G., Sakarya bölgesindeki topraklardaki inorganik kirlenmelerin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, 2008.
- [22] ASRİ, FÖ., SÖNMEZ, S., Ağır metal toksisitesinin bitki metabolizması üzerine etkileri. Derim Batı Akdeniz Tarımsal Enstitüsü Dergisi, 23(2):36-45, 2006.
- [23] KAHVECİOĞLU, Ö., KARTAL, G., GÜVEN, A., TİMUR, S., Metallerin çevresel etkileri-I. İstanbul Teknik Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Dergisi, 2004.
- [24] DEVECİLER, H., Uludağ üniversitesi tarımsal uygulama ve araştırma merkezi tarım topraklarının ağır metal içeriklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, 2005.

- [25] KARAKAŞ, D., Ağır metallerin toksik etkileri. TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Eğitim Notları, 2000.
- [26] BAKAR, C., BABA, A., Metaller ve insane sağlığı: yirminci yüzyıldan bugüne ve geleceğe miras kalan çevresel sağlığı sorunu. 1. Tıbbi Jeoloji Çalışmayı, 2009.
- [27] STERN, BR., SOLIOZ, M., KREWSKI, D., AGGETT, P., AW, TC., BAKER, S., CRUMP, K., DOURSON, M., HABER, L., HERTZBERG, R., KEEN, C., MEEK, B., RUDENKO, L., SCHOENY, R., SLOB, W., STARR, T., Copper and human health: biochemistry, genetics and strategies for modeling dose response relationships. *J. Toxicol. Environ. Health, Part:B*,(10)3:157-222,2007.
- [28] DAĞHAN, H., Doğal kaynaklarda ağır metal kirliliğinin insan ve sağlığı üzerine etkileri, Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(2):15-25, 2011.
- [29] DEVECİ, T., Gaziantep'te atık sulardan etkilenen toprak ve bitkilerde eser element (Cu, Co, Mn, Zn ve Fe) konsantrasyonlarının ICP-MS ile tayini. Yüksek Lisans Tezi, Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 2012.
- [30] YILMAZ, E., Toprakta bulunan eser miktardaki bazı ağır metalleri bazı tiyosemikarbazonlarla organik bir faza ekstrakte ettikten sonra ICP-AES ile tayini. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı, 2006.
- [31] EZER, M., One and two color laser induced fluorescence studies of cadmium, chromium, antimony and other elements in electrothermal atomizers inductively coupled plasma and flame. The University of Iowa, Ph. D. Thesis, 1-4, 2001.
- [32] TUNCAY, Y., Kovada Gölü'nde yaşayan ıstakozlarda ağır metal birikiminin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
- [33] ALHAS, E., OYMAK, SA., KARADEDE-AKIN, H., Heavy metal concentrations in two barb from *Barbus anthopter* and *Barbus rajanorum my staceus* from Atatürk Dam Lake, Turkey. *Environ. Mon. Assess*, 148:11-18, 2009.
- [34] CAMARGOA, FAO., OKEKEB, BC., BENTOA, FM., FRANKENBERGERB, WT., Diversity of chromium-resistant bacteria isolated from soils contaminated with dichromate. *Appl. Soil Eco.*, 29:193-202, 2005.

- [35] KOLELI, N., Speciation of chromium in 12 agricultural soils from Turkey. *Chemosphere*. ZHANG, Z., ABUDUWAILI, J., JIANG, F., Determination of occurrence characteristics of heavy metals in soil and water environments in Tianshan mountains Central Asia. *Anal. Lett.* 57:1473–1478, 2004.
- [36] YAŞAR, Y., Polimerik şelatlaştırıcıların sorpsiyon yöntemiyle eser ağır metallerin tayininde kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
- [37] WHO., Trace elements in human nutrition and health. 1996.
- [38] ROUSSEL, H., WATERLOT, C., PELFRENE, A., PRUVOT, C., MAZZUCA, M., DOUAY, F., Cd, Pb and Zn oral bioaccessibility of urban soils contaminated in the past by atmospheric emissions from two lead and zinc smelters. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 58:945-954, 2010.
- [39] RECORD., Bioavailability and bioaccessibility of pollutants in contaminated soils: state of present knowledge and research avenues. 10-0671/1A, 259, 2012.
- [40] GUNEEY, M., ZAGURY, GJ., DOGAN, N., ONAY, TT., Exposure assessment and risk characterization from trace elements following soil ingestion by children exposed to playgrounds, parks and picnic areas. *J. Hazard. Mater.*, 182, 656-664, 2010.
- [41] ERDAL, S., Sindirim sistemi fizyolojisi. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyolojisi, 2007.
- [42] MEGEP., Alanlar ortak, sindirim sistemi. 720S00029., 2012.
- [43] [www.mustafaaltinisik.org.uk/89-2-08](http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-2-08), Erişim Tarihi: 10.03.2015.
- [44] GUYTON, AC., HALL, JE., Tıbbi fizyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri., 2007.
- [45] MILACIC, R., KRALJ, B., Determination of Zn, Cu, Cd, Pb, Ni and Cr in some Slovenian food stuffs. *Eur. Food Res. Tech.*, 217:211-214, 2003.
- [46] MANTOVI, P., BONAZZI, G., MAESTRI, E., MARMIROLI, N., Accumulation of copper and zinc from liquid manure in agricultural soils and crop plants. *Plant and Soil*, 250:249-257, 2003.
- [47] VALIENTE, L., PICCINNA, M., ALE, ER., GRILLO, A., SMICHOWSKI, P., Determination of selenium in dietary supplements by ETAAS and HG-AAS: A comparative study. *At. Spectrosc.*, 23:129-134, 2002.
- [48] SKOOG, DA., HOLLER, FJ., NIEMAN, TA., Principles of instrumental analysis. 5<sup>th</sup>. Ed. Belmont, 33:230-251, 1998.



- [49] ÖZCAN, N., Sakarya I. Organize sanayi bölgesi cadde tozlarında eser element türlendirme çalışması. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 2011.
- [50] ALTUNDAĞ, H., Katı faz ekstraksiyon tekniği ile talyum türlendirme çalışması. Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
- [51] PETERA, AL., VIRARAGHAVAN, T., Thallium: a review of public health and environmental concerns. *Environ. Inter.*, 31:493-501, 2005.
- [52] İMAMOĞLU, M., Altın, paladyum ve bakırın modifiye silika jel ile zenginleştirme şartlarının araştırılması. Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
- [53] BAŞGEL, S., Çeşitli şifalı bitkilerde eser element ve bazı önemli polifenollerin tayini. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.
- [54] ZENGİN, O., Van gölü ve gölü besleyen kaynaklarda ağır metal kirliliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü., 2008.
- [55] ALTINBAŞ, U., HAKERLERLER, H., ANAÇ, D., TUNCAY, H., OKUR, B., E.U. Rektör. Araş. Fonu Proje, 91, 1994.
- [56] ALLOWAY, BJ., Record number: 19901948863, 33, 1990.
- [57] KABATA-PENDİAS, A., PENDİAS, H., CRC Press. Boca Raton, 365, 1992.
- [58] BAHEMUKA, TE., MUBOFU, EB., *Food Chem.* 66(1):63, 1999.
- [59] CHOWDHURY, TR., TOKUNAGA, H., ANDO, M., *Sci. Tot. Environ.* 308(1-3):15, 2003.
- [60] WHO., Tech. Report Series No: 683, 1982.
- [61] DEMIREZEN, D., AKSOY, A., Heavy metal levels in vegetables in Turkey is within safe limits for Cu, Zn, Ni and exceeded for Cd and Pb. *J. Food Qual.* 29:252, 2006.
- [62] ANONYMOUS., Off. Gazette Iss: 24908, 2002.
- [63] ZAHOR, A., JAFFAR, M., SAQIB, M., Elemental distribution in summer fruits of Pakistan. *Nutr. Food Sci.*, 33(5):203-207, 2003.
- [64] SATTAR, A., WAHID, M., DURRANI, SK., Concentration of selected heavy metals in spices, dry fruits and plant nuts. *Plant Food Hum. Nutr.*, 39:279-286, 1989.

- [65] RADWAN, MA., SALAMA, AK., . Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. *Food Chem. Toxicol.*, 44(8):1273-1278, 2006.
- [66] DURAN, A., TUZEN, M., SOYLAK, M., Trace element levels in some dried fruit samples from Turkey. *Inter. J. Food Sci. Nutr.*, 59(7-8):581-589, 2008.
- [67] SARACOGLU, S., TUZEN, M., SOYLAK, M., Evaluation of trace element contents of dried apricot samples from Turkey. *J. Hazard. Mater.*, 167(1-3):647-652, 2009.
- [68] TÜRKİYE TOPRAK KİRLİLİĞİ KONTROLÜ YÖNETMELİĞİ., Resmi Gazete. 25831., 2005.
- [69] PELFRENE, A., WATERLOT, C., MAZZUCA, M., NISSE, C., BIDAR, G., DOUAY, F., Assessing Cd, Pb, Zn human bioaccessibility in smelter contaminated agricultural top soils. *Environ. Geochem. Health*, 33:477-493, 2001.
- [70] MIGUEL, ED., MINGOT, J., CHACON, E., CHARLESWORTH, S., The relationship between soil geochemistry and the bioaccessibility of trace elements in playground soil. *Environ. Geochem. Health*, 34:677-687, 2012.
- [71] BARSBY, A., MCKINLEY, JM., OFTERDINGER, U., YOUNG, M., CAVE, MR., WRAGG, J., Bioaccessibility of trace elements in soils in Northern Ireland. *Sci. Tot. Environ.* 433:398-417, 2012.
- [72] WRAGG, J., CAVE, M., Assessment of a geochemical extraction procedure to determine the solid phase fractionation and bioaccessibility of potentially harmful elements in soils: A case study using the NIST 2710 reference soil. *Anal. Chim. Acta.* 722:43-54, 2012.
- [73] BROADWAY, A., CAVE, MR., WRAGG, J., FORDYCE, FM., BEWLEY, RJF., GRAHAM, MC., NGWENYA, BT., FARMER, JG., Determination of the bioaccessibility of chromium in Glasgow soil and the implications for human health risk assessment. *Sci. Tot. Environ.* 409:267-277, 2010.
- [74] AKTÜRK, Z., ACEMOĞLU, H., Sağlık çalışanları için araştırma ve pratik istatistik. 1-328, 2011.
- [75] INSTITUTE OF MEDICINE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES., Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington, DC: National Academy Press, 2001.
- [76] DRISKELL, JA., Upper safe levels of intake for adults: vitamins and minerals, University of Nebraska-Lincoln Extension Publications, NebGuide, 2009.

- [77] KARAKAŞ, D., Ağır metallerin toksik etkileri. TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Eğitim Notları, 2000.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Sinem ALBAYRAK, 18.02.1984'de Adapazarı'nda doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Sakarya'da tamamladı. 2002 yılında Sakarya Anadolu Lisesinden mezun oldu. 2002 yılında başladığı İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya bölümünü 2006 yılında bitirdi. 2006 yılında Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans yapmaya başladı ve 2008 yılında mezun oldu. Aynı yıl Analitik Kimya Ana Bilim Dalında doktora programına başladı.