

31545

T. C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

ANNE SÜTONON NMR  $1/T_1$  ORANININ ZAMAN BAĞLILIĞININ SAPTANMASI  
VE RÖLAKSASYON MEKANİZMASININ AÇIKLANMASI

( DOKTORA TEZİ )

Hatice BUDAK

TEZ YÖNETİCİSİ  
Prof. Dr. Salih ÇELİK

TEZ YÖNETİCİSİ  
Prof. Dr. Salih ÇELİK

DİYARBAKIR - 1993

Büyük bir özveride bulunarak doktora yöneticiliğimi üstlenen. doktora öğrenimim süresince ve tezimin hazırlanmasında devamlı ilgi ve desteğini esirgemeyen Biyofizik Anabilim Dalı başkanı rehber hocam sayın Prof.Dr. Salih ÇELİK'e, Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik bölümünün olanaklarından yararlanmama izin veren ve Nükleer Manyetik Rezonans konusundaki bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren Fizik Bölümü Başkanımız hocam sayın Prof.Dr.Ali YILMAZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hatice BUDAK

# İÇİNDEKİLER

SAYFA NO :

BÖLÜM 1: GİRİŞ .....	1
BÖLÜM 2: Manyetik Rezonansın Teorisi .....	3
2.1 Temel Kavramlar .....	3
2.2 Manyetik Alandaki Bir Spinin Klasik Anlatımı.....	4
2.3 Kuantum Mekaniksel İnceleme .....	7
2.4 T1 Spin-Örgü Rölaksasyonu .....	8
2.5 Spin-Örgü Rölaksasyon Olayını Doğuran Etkileşmeler.....	12
2.6 Paramanyetik Rölaksasyon .....	13
BÖLÜM 3: MATERYAL VE METOD .....	17
3.1.1 Materyal .....	17
3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	17
3.1.3 Kullanılan Araçlar .....	17
3.1.4 JEOL FX-60Q FT-NMR Spektrometresi.....	18
3.2 Metod .....	20
3.2.1 Deneysel Tekniğin Prensipleri ve Düzenek .....	20
3.2.2 Inversion Recovery Yöntemi .....	22
3.2.3 Süt Örneklerinin Hazırlanması .....	27
3.2.4 Stok Çözeltilerinin Hazırlanması .....	27
3.2.5 T1 Ölçümleri .....	28
3.2.6 Rölaksivite Ölçümleri .....	28
BÖLÜM 4: BULGULAR .....	34
BÖLÜM 5: TARTIŞMA VE SONUÇ .....	55
BÖLÜM 6: ÖZET .....	59
BÖLÜM 7: SUMMARY .....	60
BÖLÜM 8: KAYNAKLAR .....	61

## BÖLÜM 1: GİRİŞ

İçinde bulunduğumuz yirminci yüzyılda, spektroskopi alanındaki buluşlardan biri olan NMR'ın bilim ve teknolojiye olan katkısı sayılamıyacak kadar çoktur. NMR spektroskopisi, 1946 da Harvard'da Purcell, Pound, Torrey ve Stanford'dan Bloch, Hansen ve Packard'ın ilk başarılı deneylerinden sonra büyük bir hızla gelişti (6,20). Ancak fiziğin kurallarına dayanan böyle bir olgu, bir çok Fizikçinin yanısıra Kimyacıların, Biyologların ve hatta sağlık bilimcilerin de ilgisini çekerek bugün üzerinde en çok çalışılan bir spektroskopi yöntemi durumuna gelmiştir. Kısacası, birçok bilim dallarını ilgilendiren bir bilimsel araştırma kolu haline gelen NMR, bugün NMR görüntüleme yöntemi ile klinik uygulamalarda da çok önemli bir noktaya gelmiş bulunmaktadır(3).

NMR spektroskopisinin ilk yıllarında oluşturulan spektrometreler genellikle NMR'a çok duyarlı olan proton için yapılmıştır. Bugüne değin NMR görüntüleri de proton rezonansı kullanılarak elde edilmektedir. Bunun temel nedeni Biyolojik dokular ve özellikle insan vücudunun %75'inden fazlasının su olmasıdır. Her su molekülünde de iki protonun olduğu düşünülürse insan vücudundaki organların çoğunda proton yoğunluğu oldukça fazladır. Biyolojik örneklerin su muhtevası, protein yapıları, proteinlere iyon bağlanması gibi kıymetli bilgilerin elde edilmesinde de proton NMR spektrometreleri kullanılmıştır(7).

Biyolojik bir madde olan anne sütünün, ilk aylardaki bebekler için en uygun ve bu dönemde çocuğun tüm gereksinimlerini karşılayan bir besin olduğu bilinen bir gerçektir. Son yıllarda giderek artan bilgilerden anlaşılmaktadır ki en çağdaş yöntemlerle ve bilimsel tekniklere uygun olarak yapılmış en mükemmel endüstri sütleri bile anne sütünün çok yönlü nitelikleri düzeyinde değildir (23,24). Dünya sağlık örgütü ilk 4-6 aylık bebeklerin tek besin maddesi olarak anne sütü ile beslenmesini

özendirici uluslararası yasa olarak kabul etmiş ve tüm üye devletlerin bu yasaya uymaları kararını almıştır(12).

Anne sütünün yaygın olarak kullanılmasıyla anne sütünün kompozisyonu hakkında doğru bilgilere sahip olmak da çok önemli olmuştur(11). Sütün bileşimi çeşitli faktörlerin etkisi altında değişir. Kimyasal bileşimi; annenin beslenme şekline, bireysel durumuna ve laktasyon(emzirme) periyoduna göre değişmektedir. Doğumdan sonra 1-5 günde gelen süte kolostrum adı verilir, sarıya çalan renkte olup reaksiyonu alkalendir. Günde total 10-40 ml salgılanır. Birkaç gün sonra Laktasyon kolostrumdan geçici süt dönemine geçer ve 3-6'cı haftalarda olgun süte dönüşür(5).

Çeşitli kaynaklardan aldığımız değerlere göre, olgun anne sütünün ortalama olarak bileşimi 100 ml de 87.1(gr) su, 12.9 (gr) toplam katı madde bulunmaktadır. Bu katı maddeler; 1.06 (gr)protein, 4.5(gr) yağ, 6.8(gr) laktoz ve 0.17 (gr) mineralden ibarettir. Sütteki mineraller ise,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{+2}$  ve  $Mg^{+2}$  gibi elektropozitif elementler,  $P^{-3}$  ve  $Cl^-$  gibi elektronegatif elementler,  $Fe^{+3}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $S^{-2}$ ,  $I^-$  ve  $F^-$  gibi eser elementlerdir (9,10,11,19). Bunlardan  $Cu^{+2}$ e  $Fe^{+3}$ iyonları paramanyetik iyonlardır ve spin-örgü rölaksasyon zamanına katkıda bulunmaları beklenir(14).

Böylesine karmaşık bir yapıya sahip olan anne sütünün analizi ile ilgili daha önce yayınlanmış bir çok çalışma bulunmasına karşın, bu güne kadar NMR yöntemiyle anne sütü çalışılmamıştır. NMR yöntemi, suya ve paramanyetik iyonların eser miktarlarına duyarlı olduğundan ve tıpta da rutin olarak kullanıldığından, yüksek oranda su ve eser miktarda paramanyetik iyon ihtiva eden anne sütünü bu nedenle NMR yöntemi ile incelemeyi amaçladık. Bu çalışmadaki amacımız anne sütünün spinörgü rölaksasyon zamanının laktasyon periyotlarına bağlı olarak nasıl değiştiğini gözlemek ve değişmeye neden olan faktörleri araştırmaktır.

## BÖLÜM 2: MANYETİK REZONANSIN TEORİSİ(22)

### 2.1. Temel Kavramlar

Maddeyi oluşturan atom çekirdeklerinin tümünün bir yükü ve kütesinin olması yanında bunların bir çoğunun spini (açısal momentumu) vardır. Çekirdeklerin spini  $\vec{I}$  gibi bir sayı ile belirlenir ve böyle bir çekirdeğe  $\vec{I}$  spinli bir çekirdek denir. Her spin vektörüne bir  $\vec{\mu}$  manyetik moment vektörü karşılık getirilebilir. Spin vektörü  $\vec{I}$  ile manyetik moment vektörü  $\vec{\mu}$  arasında

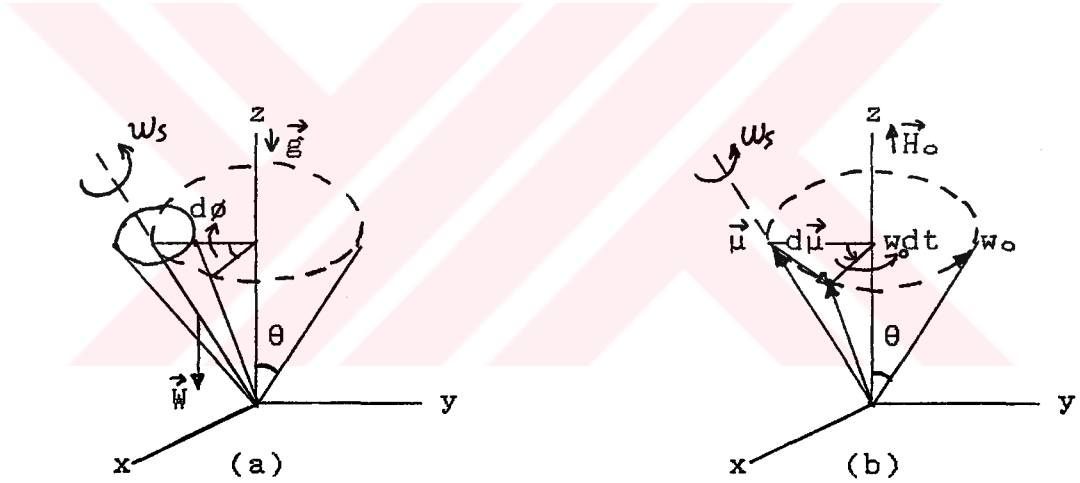
$$\vec{\mu} = \gamma \hbar \vec{I} \quad (2-1)$$

şeklinde bir bağıntı vardır. Burada  $\gamma$  jromanyetik oran olarak bilinir ve çekirdeğin belirgin bir özelliğidir.  $\hbar$  ise, Planck sabiti/ $2\pi$  dir.

Manyetik rezonans, yukarıda tanımlandığı gibi manyetik momentleri ve açısal momentumu olan sistemlerde görülen bir olaydır. Gerçekte bir manyetik sistem üzerine uygulanan bir manyetik alanla, bu sistemin sıfırdan farklı manyetik momentinin etkileşmesinden doğan fiziksel olayları inceleyen bir spektroskopi dalıdır. O halde NMR spektroskopisi yalnızca çekirdek spinleri sıfırdan farklı olan manyetik sistemleri inceler. Örneğin; spin kuantum sayısı 1/2 olan Hidrojen dışında  $^{19}\text{F}(I=1/2)$ ,  $^{23}\text{Na}(I=3/2)$ ,  $^{55}\text{Mn}(I=5/2)$ ,  $^{63}\text{Cu}(I=3/2)$  gibi çekirdekler de NMR'a duyarlı çekirdeklerdir. Atomik spektrumun belirgin frekansları arasındaki ve manyetik rezonans frekanslarının tipik olarak radyo frekans bölgesine düşmesi nedeniyle, çoğu zaman NMR epktroskopisi için radyo frekans (rf) spek troskopisi terimi de kullanılır.

## 2.2. Manyetik Alandaki Bir Spinin Klasik Anlatımı (4,22)

Dinamik olarak, spini sıfırdan farklı olan bir çekirdeğin manyetik alan içerisindeki hareketi yerçekimi alanı içindeki topağın hareketine benzetilebilir. Nasıl ki dönen bir topağ kendi simetri eksenini etrafında bir dönme hareketi yapmakla birlikte, yerçekimi alanı doğrultusunda (düşey eksen) etrafında bir presesyon hareketi yapıyorsa, manyetik alan içine konulmuş çekirdeğe karşı gelen  $\vec{\mu}$  manyetik moment vektörü de z eksenini etrafında Şekil 2.1 de görüldüğü gibi bir presesyon hareketi yapar.  $\vec{\mu}$ 'nin yaptığı bu harekete Larmor presesyon hareketi denir.



Şekil 2.1 Bir topağın yerçekimi alanı içindeki (a) ve bir manyetik momentin dış manyetik alan içindeki (b) presesyon hareketi.

Mekanik ve manyetik her iki modelde de sistem üzerine etki eden toplam kuvvet sıfır olduğu halde toplam tork sıfırdan büyüktür. Tork ifadeleri mekanik ve manyetik modellerde

$$\vec{\tau} = \vec{d} \times \vec{W} \quad (2-2)$$

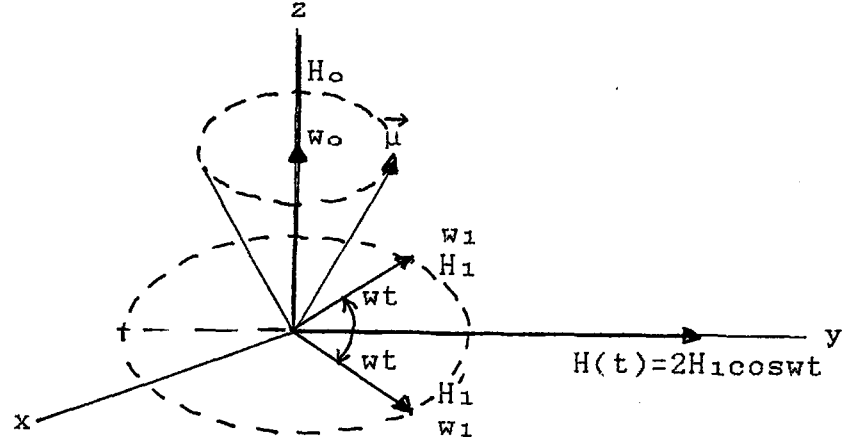
$$\vec{\tau} = \vec{\mu} \times \vec{H}_0 = \frac{d\vec{j}}{dt} \quad (2-3)$$

ifadeleri ile belirlenir.  $\vec{\mu} = \gamma \vec{J}$  bağıntısını göz önüne alarak

$$\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \vec{\mu} \times \gamma \vec{H}_0 \quad (2-4)$$

şeklinde yazılabilir.  $d\vec{\mu}$  hem  $\vec{\mu}$  'ye hem de  $\vec{H}_0$  'a dik olduğundan  $\vec{\mu}$ 'nün büyüklüğü sabit kalır ve  $\vec{H}_0$  etrafında presesyonu olur. Örneğin; spini  $I=1/2$  olan bir proton için koni ekseninin iki olası yönelmesi vardır. Manyetik momentin bu şekilde yönelmesi iki ayrı enerji düzeyi yaratır. Rezonansı oluşturabilmek için bu iki enerji düzeyi arasında bir geçiş oluşturmak gerekir. Böyle bir geçiş  $\vec{H}_0$  alanına dik doğrultuda (x-y) düzlemi içinde  $\omega$  frekansı ile dönen bir r.f alanı uygulanarak gerçekleşir. Bu rf alanı  $H(t) = 2H_1 \cos \omega t$  şeklinde alınır. Böylece manyetik moment vektörü  $\vec{\mu}$  olan spin sistemi, sabit dış alan  $\vec{H}_0$  ile birlikte rf alanın da etkisinde kalır. Bu durumda spin sisteminin davranışı Şekil 2.2 de gösterilmiştir.  $2H_1$  genlikli ve y yönündeki rf alanını,  $H_1$  genlikli biri saat yönünde diğeri zıt yönde dönen iki alanın bileşkesi olarak alınabilir. Bu durum  $H_1$ 'ler x ve y bileşenlerine ayrılıp toplanarak görülebilir.





Şekil 2.2 Sabit  $H_0$  ve değişken  $H(t)$  alanlarının etkisindeki bir manyetik moment vektörü.

$$\begin{aligned} \vec{H}_1 &= H_1 (i \sin \omega_1 t + j \cos \omega_1 t) \\ \vec{H}_1 &= H_1 (-i \sin \omega_1 t + j \cos \omega_1 t) \end{aligned} \quad (2-5)$$

$H_1$ ,  $\vec{\mu}$  ile aynı yönde  $H_1'$  de ters yönde döner. Zıt yönde dönenin  $\vec{\mu}$  üzerinde ortalama etkisi sıfırdır. Sadece  $\vec{\mu}$  ile aynı yönde dönen bileşen  $\vec{\mu}$  üzerinde etkili olabilir. Bu etki de  $\omega$  ile  $\omega_0$ 'ın bağıl durumuna bağlıdır.  $\omega_0$ , ve  $H_0$ 'a bağlı sabit bir değerdedir. Fakat  $\omega_1$  istenildiği gibi değiştirilebilir.

$$\omega_1 = \omega_0 \text{ (Rezonans koşulu)} \quad (2-6)$$

sağlandığında  $\vec{\mu}$  vektörü  $H_0$  etrafında presesyon hareketini sürdürmekle birlikte  $H_1$  etrafında da  $\omega_1 (= \omega_0)$  frekansı ile presesyon yapmaya başlar. Buna rezonans koşulu denir. Bu durum sağlandığında sistem dışarıdan enerji soğurur ve yeni bir enerji seviyesine geçişe başlar. Sistem, bir enerji seviyesinden diğerine geçerken spinin yönü değişir.

### 2.3. Kuantum Mekaniksel İnceleme (2,22)

Rezonans'ın kuantum mekaniksel anlatımına Schrödinger denkleminde başlanılır;

$$\mathcal{H}|U_i\rangle = E_i|U_i\rangle \quad (2-7)$$

Burada,  $\mathcal{H}$  spin sisteminin enerjisini belirleyen Hamiltoniyen operatörü ve  $E_i$  de  $|U_i\rangle$  özfonksiyonlarına karşı gelen enerji özdeğerleridir. Schrödinger denklemini çözerek rezonans koşulunu elde etmek için  $H_0$  alanı içinde bulunan bir protonu ele alalım. Proton spinin z doğrultusundaki bileşenini  $I_z$  operatörü ile gösterelim. O halde kuantum mekaniksel olarak olası spin özfonksiyonları  $|\alpha\rangle$  ve  $|\beta\rangle$  dir. Öyleki

$$I_z|\alpha\rangle = \hbar/2|\alpha\rangle$$

$$I_z|\beta\rangle = -\hbar/2|\beta\rangle \quad (2-8)$$

$I_z$  nin özdeğerleri  $m=\pm 1/2$  dir. Öte yandan (2-1) denklemine bezer şekilde,

$$\vec{\mu} = \gamma_n \hbar \vec{I} = g_n \frac{e\hbar}{4\pi M_p C} \vec{I} = g_n \mu_n \vec{I} \quad (2-9)$$

yazılır. Burada  $g_n$  çekirdek spektroskopik yarıma faktörü ve  $\mu_n$  nükleer magneton adını alır.

Bir  $H$  manyetik alanı çekirdeğin enerjisinde  $\vec{\mu} \cdot \vec{H}$  hadar bir etkileşme enerjisi doğurur. Bundan ötürü  $H_0$  manyetik alan içinde bulunan proton için  $\mathcal{H}$  Hamiltoniyen operatörü

$$\mathcal{H} = \mu \cdot H_0 = -\mu_z H_z = -g_n \mu_n H_z I_z \quad (2-10)$$

şeklinde yazılabilir. Bu Hamiltoniyenin özdeğerleri  $I_z$ 'nin özdeğerleri ile  $(g_n \mu_n H_z)$ 'ın çarpımına eşittir. O halde denk (2-7) ile verilen Schrödinger denkleminin bir proton için çözümü

$$\mathcal{H}|\alpha\rangle = (-g_n \mu_n H_z) I_z |\alpha\rangle = -1/2 g_n \mu_n H_z \quad (2-11)$$

$$\mathcal{H}|\beta\rangle = (-g_n \mu_n H_z) I_z |\beta\rangle = +1/2 g_n \mu_n H_z$$

olur. Buradan da izin verilen enerji düzeyleri

$$E_{\alpha\beta} = \pm 1/2 g_n \mu_n H_z \quad (2-12)$$

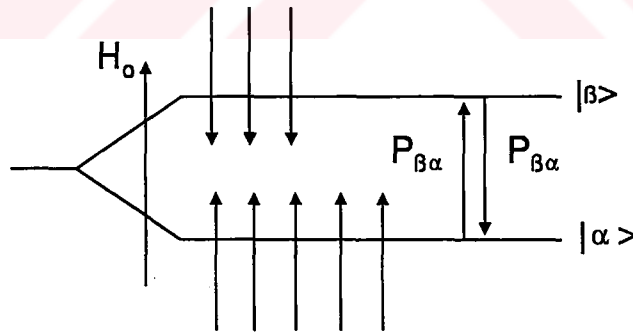
bulunur. Bu eşitlik Zeeman enerji terimi olarak bilinir. Bu enerji düzeyleri arasında geçişi oluşturmak için rf enerjisini

$$\Delta E = E_\beta - E_\alpha = g_n \mu_n H_z = \hbar \omega \quad (2-13)$$

Zeeman enerjileri arasındaki farka eşit olarak seçmek ve buna karşı gelen enerji soğurmasını gözlemek NMR spektroskopisinin temel ilkesini oluşturmaktadır.

#### 2.4. $T_1$ Spin-Örgü Rölaksasyonu (22)

Spin-örgü rölaksasyonunu anlamak için spin sisteminin dış alandan soğurduğu enerjiye bakmak gerekir. Rezonans olayının gözlemlendiği manyetik sistem, spin kuantum sayısı 1/2 olan yalıtılmış bir sistem olsun. Başlangıçta spinleri rastgele yönelmiş olan böyle bir sisteme büyüklüğü  $H_0$  olan bir manyetik alan uygulandığı zaman spin sistemi Şekil 2.3 de görüldüğü biçimde yönelme gösterir.  $|\alpha\rangle$  düzeyindeki spin sayısı  $N_\alpha$  ve  $|\beta\rangle$  düzeyindeki spin sayısı  $N_\beta$  olmak üzere bunlar arasındaki



Şekil 2.3  $H_0$  manyetik alan içindeki spinlerin yönelimi.

ilişki,

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = e^{(E_\alpha - E_\beta)/kT} \quad (2-14)$$

Boltzmann-Maxwell bağıntısı ile belirlenir. Burada  $E_\alpha$  ve  $E_\beta$  sırasıyla  $|\alpha\rangle$  ve  $|\beta\rangle$  düzeylerine karşı gelen enerji değerleri  $T$  mutlak sıcaklık ve  $k$  da Boltzman sabitidir. Sistemde ısı sal denge kurulduğunda

$N_\alpha > N_\beta$  olduğu bir gerçektir. Spin sistemine, frekansı sistemin doğal frekansı ile uyum içinde olabilecek bir rf alanı uyguladığında  $|\alpha\rangle$  ve  $|\beta\rangle$  düzeyleri arasında, olasılıkları  $P_{\alpha\beta}$  ve  $P_{\beta\alpha}$  olan geçişler oluşturacağından spin topluluğunda bir değişme beklenir.

$$\frac{dN_\alpha}{dt} = N_\beta P_{\beta\alpha} - N_\alpha P_{\alpha\beta} \quad (2-15)$$

$$\frac{dN_\beta}{dt} = N_\alpha P_{\alpha\beta} - N_\beta P_{\beta\alpha}$$

Spin sistemindeki toplam spin sayısı  $N = N_\alpha + N_\beta$ , herhangi bir andaki spin farkı  $n = N_\alpha - N_\beta$  ve  $P_{\alpha\beta} = P_{\beta\alpha} = P$  ise (2-15) denkleminin çözümü

$$\frac{dn}{dt} = -2Pn \quad (2-16)$$

$$n = n_0 e^{-2Pt}$$

olarak bulunur.  $n_0$ ,  $t=0$  iken düzeyler arasındaki spin farkıdır. Bu geçiş sırasında sistemin soğuracağı enerji, düzeyler arasındaki enerji farkı,  $\Delta E = E_\alpha - E_\beta$  ya bağlı olarak  $P\Delta E$  dir. O halde dış alandan soğrulan enerjinin değişim hızı,

$$\frac{dE}{dt} = \Delta E N_\alpha P_{\alpha\beta} - \Delta E N_\beta P_{\beta\alpha} \quad (2-17)$$

olacaktır. (2-16) ve (2-17) eşitlikleri kullanılarak;

$$\frac{dE}{dt} = \Delta E P n_0 e^{-2Pt} \quad (2-18)$$

şeklinde yazılabilir. Bu eşitlik gösteriyor ki dış alandan soğrulan enerjinin zamana göre değişimi düzeyler arasındaki spin sayısı farkına bağlıdır. Başlangıçta düzeyler arasındaki  $n_0$  spin farkı olan yalıtılmış bir spin sisteminde, rf alanı tarafından zamanla sifıra götürülür ve buna bağlı

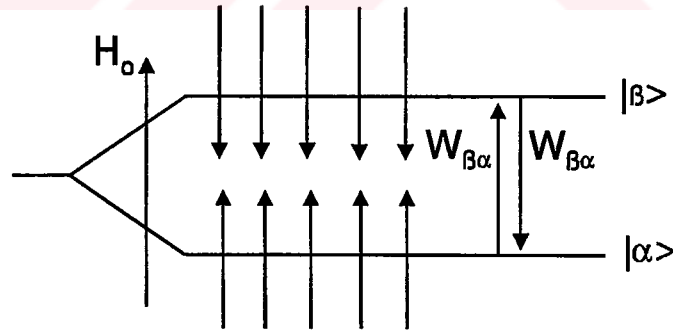
olarak soğurulan enerji de sifıra yaklaşır. Belli bir süre sonra soğurma durur.

Gerçekte fiziksel olarak örgüden yalıtılmış bir spin sistemi olamayacağı için enerji soğurma olasılığı spin-örgü etkileşmesi denen mekanizma ile ortadan kalkar.

şimdi spin sistemi ile örgü arasında bir ısısal etkileşme olduğunu varsayalım. Bu durumda spin sistemi enerji kaybeder. Spin sisteminin kaybettiği (örgü sistemine aktardığı) enerji,

$$\frac{dE}{dt} = K_1 k (T_s - T_o) \quad (2-19)$$

ile belirlenir. Burada  $k$  Boltzmann sabiti ve  $K_1$  de ısı akışı sabitidir.  $K_1$ 'in  $1/sn$  biriminde olması  $1/T_1$  şeklinde yazılabileceğini gösterir. Böylece elde edilen  $T_1$ , spin-örgü rölaksasyon zamanı olarak tanımlanır ve spin sistemi ile örgü sistemi arasındaki ısı iletimi olayının bir ölçüsüdür. Spin sisteminden örgü sistemine ısı akışı  $T_s = T_o$  oluncaya değin sürer ve bu durumda toplam sistem ısısal denge durumuna ulaşır.



şekil 2.4 r.f alanı kesildikten sonra spin sisteminin durumu.

Sonuç olarak r.f alanı uygulanmadığı zaman spin-örgü etkileşmesi ile enerji kaybına uğrayan spin sisteminde yeniden geçişler olur şekil 2.4  $|\alpha\rangle$  düzeyinden  $|\beta\rangle$  düzeyine geçiş olasılığı  $W_{\alpha\beta}$  ve ters yöndeki  $W_{\beta\alpha}$  ise, (2-15) denklemine benzer şekilde

$$\frac{dN_{\alpha}}{dt} = N_{\beta} W_{\beta\alpha} - N_{\alpha} W_{\alpha\beta} \quad (2-20)$$

$$\frac{dN_{\beta}}{dt} = N_{\alpha} W_{\alpha\beta} - N_{\beta} W_{\beta\alpha}$$

yazılabilir.  $N=N_{\alpha}+N_{\beta}$ ,  $n=N_{\alpha}-N_{\beta}$  alınarak yeniden yazılırsa,

$$\frac{dn}{dt} = (W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha}) \left( N \frac{W_{\beta\alpha} - W_{\alpha\beta}}{W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha}} - n \right)$$

burada;

$$W_{\alpha\beta} - W_{\beta\alpha} = 1/T_1$$

$$n_0 = \frac{W_{\beta\alpha} - W_{\alpha\beta}}{W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha}} N$$

tanımları yapılırsa

$$\frac{dn}{dt} = \frac{n_0 - n}{T_1} \quad (2-21)$$

ve buradan da

$$n = n_0 (1 - e^{-t/T_1}) \quad (2-22)$$

bulunur. Burada  $n_0$  sistem ısısal denge durumunda olduğu zaman düzeyler arasındaki spin farkıdır.  $W$ ' lar birim zamanda geçiş olasılıkları olduğu için  $T_1$  zaman birimindedir ve toplam sistemin ısısal denge durumuna yaklaşması için geçen süredir.

O halde manyetik rezonansın gerçekleşmesinde önemli rol oynayan, düzeyler arasındaki spin topluluğu farkı, (2-16) ve (2-21) eşitliklerinin toplamı şeklinde olmalıdır.

$$\frac{dn}{dt} = -2Pn + \frac{n_0 - n}{T_1} \quad (2-23)$$

Sistem kararlı duruma ulaştığı zaman  $dn/dt=0$  olacağından, düzeyler arasındaki spin farkı,

$$n = n_0 / (1 + 2PT_1) \quad (2-24)$$

ve soğrulan enerji değişimi de

$$\frac{dE}{dt} = \Delta E_0 \frac{P}{1 + 2PT_1} \quad (2-25)$$

olacaktır.

## 2.5 Spin-Örgü Rölaksasyon Olayını Doğuran Etkileşmeler (16,25)

Orjinal olarak Pryce ve Abragam tarafından geliştirilen spin hamiltoniyen formalizmi deteyda pekçok kitap ve makaleler de tanımlanmışlardır.

Mıknatıslanma vektörünün zamanla değişimini gözlemek istediğimiz spin sisteminin hamiltoniyeni

$$\mathcal{H} = \mathcal{H}_0 + \mathcal{H}_1(t) \quad (2-26)$$

dir. Burada  $\mathcal{H}_0$  ilgili Zeeman spin terimlerini ihtiva eder  $\mathcal{H}_1(t)$  rölaksasyonu artıran zamana bağlı pertürbasyon hamiltoniyenidir. Bir sitem içindeki spinlerin kendi aralarında ve örgüyle etkileşmelerini gösteren  $\mathcal{H}_1(t)$  Hamiltoniyeni aşağıdaki temel etkileşmeleri oluşturur(8).

1. **Manyetik Dipolar Etkileşmeler;** Bir spinin bulunduğu yerde öteki spinlerin meydana getirdiği manyetik alanla etkileşmesidir.
2. **Skaler Etkileşmeler;** Aynı molekül içindeki iki çeşit spinin çevrelerindeki elektron spinleri aracılığıyla dolaylı olarak etkileşmeleridir.
3. **Elektrik Quadrapol Etkileşmeler;** Quadrapol momente sahip spinlerin ( $I > 1/2$ ) çevrelerindeki elektrik alan gradyenti ile etkileşmeleridir.

4. **Düzgün Olmayan Kimyasal Kayma Etkileşmeleri;** Bir spinin çevresinin kendi üzerinde meydana getirdiği doğrultuya bağlı olarak manyetik alanla etkileşmesidir.

5. **Spinin-Dönme Etkileşmeleri;** Molekülün bireysel dönmesinin meydana getirdiği manyetik alanla, spinin manyetik momentinin etkileşmesidir.

## 2.6 Paramanyetik Rölaksasyon(1,16)

Paramanyetik iyonun elektron spini  $\vec{S}$  ile suyun çekirdek spini  $\vec{I}$  nin dipolar etkileşmesi, spin-örgü rölaksasyon zamanına katkıda bulunurlar.

Çekirdek ve elektron momentleri  $\vec{\mu}_c$  ve  $\vec{\mu}_e$  etkileşmelerinin hamiltoniyeni

$$\mathcal{H}_d = \frac{\vec{\mu}_e \cdot \vec{\mu}_c}{r^3} - \frac{3 \left( \vec{\mu}_e \cdot \vec{r} \right) \left( \vec{\mu}_c \cdot \vec{r} \right)}{r^5} \quad (2-27)$$

şeklinde olan bir çift manyetik iki kutuplunun etkileşmesidir

$$\vec{\mu}_c = \gamma \hbar \vec{I} \quad (2-28)$$

$$\vec{\mu}_e = \gamma' \hbar \vec{I}$$

bağıntılarından

$$\mathcal{H}_d = \frac{\hbar^2 \gamma \gamma'}{r^3} \left[ \vec{I} \cdot \vec{I} - 3 \frac{\left( \vec{I} \cdot \vec{r} \right) \left( \vec{I} \cdot \vec{r} \right)}{r^2} \right] \quad (2-29)$$

Olur. Operatör formda yazabilmek için  $\mathcal{H}_1(t)$  rastgele hamiltoniyeni,

$$\mathcal{H}_1(t) = \sum_q F^{(q)}(t) A^{(q)} \quad (2-30)$$



şeklinde yazılabilir.  $F^{(q)}(t)$  zamanın rastgele fonksiyonları  $A^{(q)}$  lar da spin operatörlerini gösterir. Dönen sistemde  $A^{(q)}$  lar

$$e^{iH_0 t} A e^{-iH_0 t} = A^{(q)}(t) = \sum_p A_p^{(q)} e^{i w_p^{(q)} t} \quad (2-31)$$

şeklinde zamana bağlı olurlar.  $\mathcal{H}_1(t)$  de dönen sistemde

$$\mathcal{H}_1^*(t) = e^{iH_0 t} \mathcal{H}_1(t) e^{-iH_0 t} = \sum_{pq} F^{(q)} A_p^{(q)} e^{i w_p^{(q)} t} \quad (3-32)$$

olur. Buna göre denk. (2-30)'un örgü ile ve spin ile ilgili kısımları ayırırsak,

$$F^{(1)} = \frac{\sin \theta \cos \theta e^{-i\theta}}{r^3}, \quad F^{(2)} = \frac{\sin^2 \theta e^{-2i\theta}}{r^3}, \quad F^{(3)} = \frac{1-3\cos^2 \theta}{r^3} \quad (3-33)$$

$$A^{(0)} = \alpha \left\{ -\frac{2}{3} I_z S_z + \frac{1}{6} (I_+ S_- + I_- S_+) \right\}$$

$$A^{(1)} = \alpha \{ I_z S_+ + I_+ S_z \} \quad (3-34)$$

$$A^{(2)} = \frac{1}{2} \alpha I_+ S_+, \quad \alpha = -\frac{3}{2} \chi_I \chi_S \hbar$$

elde ederiz. Esas hamiltoniyen

$$\mathcal{H}_0 = w_I I_z + w_S S_z \quad (3-35)$$

ile verilir. Buna göre dönen sistemde  $A^{(q)}$  lar aşağıdaki şekilde yazılırlar.

$$e^{i\mathcal{H}_0 t} A^{(0)} e^{-i\mathcal{H}_0 t} = -2/3 \alpha I_z S_z + 1/6 \alpha I_+ S_- e^{i(w_I - w_S)t} + 1/6 \alpha I_- S_+ e^{i(w_I - w_S)t}$$

$$e^{i\mathcal{H}_0 t} A^{(1)} e^{-i\mathcal{H}_0 t} = \alpha \left[ I_+ S_z e^{i w_I t} + I_+ S_z e^{i w_S t} \right] \quad (2-36)$$

$$e^{i\mathcal{H}_0 t} A^{(2)} e^{-i\mathcal{H}_0 t} = 1/2 \alpha I_+ S_+ e^{i(w_I + w_S)t}$$

Makroskopik örnek üzerinde gerçekleştirilen bir deneyde Mıknatıslanmanın ölçülen değerinin zamanla değişimi olan,

$$\frac{d \langle M \rangle^*}{dt} = -\{ \langle A \rangle^* - \langle A \rangle_0 \} \quad (2.37)$$

rölaksasyon denklemini elde ederiz.

$$A = 1/2 \sum_{pq} J_q(w_p^{(q)}) \{ A_p^{(q)}, (A_p^{(-q)}, M) \}$$

$J_p(w_p^{(q)})$  spektral yoğunluk ise;

$$J_p(w_p^{(q)}) = \int_{-\infty}^{\infty} \overline{F^{(q)}(t) F^{(q)}(t+\tau) e^{-i w_p^{(q)} \tau}} d\tau \quad (2.38)$$

olarak verilir. Denk(2-37) de yerine koyar ve  $M_z = I_z$  ifadesini yazarsak,

$$\frac{d \langle I_z \rangle}{dt} = -1/T_1^{II} (\langle I_z \rangle - I_0) - 1/T_1^{IS} (\langle S_z \rangle - S_0) \quad (2.39)$$

$$\frac{d \langle S_z \rangle}{dt} = -1/T_1^{SI} (\langle I_z \rangle - I_0) - 1/T_1^{SS} (\langle S_z \rangle - S_0)$$

I ve S indislerini değiştirmek yoluyla  $T_1^{SS}$  ve  $T_1^{SI}$  için benzer eşitlikler elde edilir.

$$1/T_1^{II} = \gamma_I^2 \gamma_S^2 \hbar^2 S(S+1) \left\{ 1/12 J^{(0)}(w_I - w_S) + 3/2 J^{(1)}(w_I) + 3/4 J^{(2)}(w_I + w_S) \right\}$$

$$1/T_1^{IS} = \gamma_I^2 \gamma_S^2 \hbar^2 I(I+1) \left\{ -1/2 J^{(0)}(w_I - w_S) + 3/4 J^{(2)}(w_I + w_S) \right\}$$

Bu eşitlikler kullanılarak, çiftlenmemiş bir elektron tarafından bir çekirdeğin rölaksasyonunu tanımlayan denklem,

$$\frac{1}{T_1^{II}} = \frac{2}{15} \frac{\gamma_I^2 g^2 S(S+1)}{r^6} \left( \frac{3\tau_c}{1+w_I^2 \tau_c^2} + \frac{7\tau_c}{1+w_S^2 \tau_c^2} \right) \quad (2.40)$$

olarak bulunur. Burada r çekirdek ve elektron(veya iyon) arasındaki mesafedir.  $w_S$  ve  $w_I$  elektron ve çekirdeğin larmor frekanslarıdır.  $\tau_c$  dipolar etkileşmenin dalgalanması için uygun korelasyon katsayısıdır.  $T_1^{II} = T_1$  yazılır ve  $w_S \gg w_I$  ve  $w_I^2 \tau_c^2 \ll 1$  olduğunu kullanırsak

$$\frac{1}{T_1} = \frac{2}{15} \frac{\gamma_I^2 g^2 \cdot S(S+1)}{r^6} \left( 3\tau_c + \frac{7\tau_c}{1 + \omega_s^2 \tau_c^2} \right) \quad (2-41)$$

elde edilir. Bir çekirdek spinini etrafındaki n tane spin ile etkileşiyorsa toplam rölaksasyon,

$$\frac{1}{T_1} = \sum_i^n \frac{1}{T_{1i}} = \frac{n}{T_{1i}} \text{ den bulunur.}$$

## **BÖLÜM 3: MATERYAL VE METOD**

### **3.1.1. Materyal**

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları Doğum kliniğinde ve Diyarbakır Doğum Hastanesinde doğum yapan annelerden alınan 25 kolostrum süt örneği(0-5 günlük), muayene amacıyla hastaneye baş vuran annelerden doğum öncesi alınan 5 prematüre süt örneği(5-8.5 aylık), doğum sonrası farklı aylarda alınan 5 matüre süt örneği (2-6 aylık) çalışmamızın materyalini oluşturdu. Toplam 35 süt örneği çalışıldı ve her anneden bir kez alındı.

### **3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

- 1) Hidroklorik asit (HCL); Tüplerin temizlenmesinde
- 2) Fosforik asit; Süt'ün pH'ını düşürmede
- 3) Askorbik asit; Paramanyetizmanın ölçülmesinde
- 4) Bakır sülfat, Çinko klorid, Demir sülfat ve Demir nitrat ise paramanyetik iyonlar için stok çözeltilerinin hazırlanmasında kullanıldı.

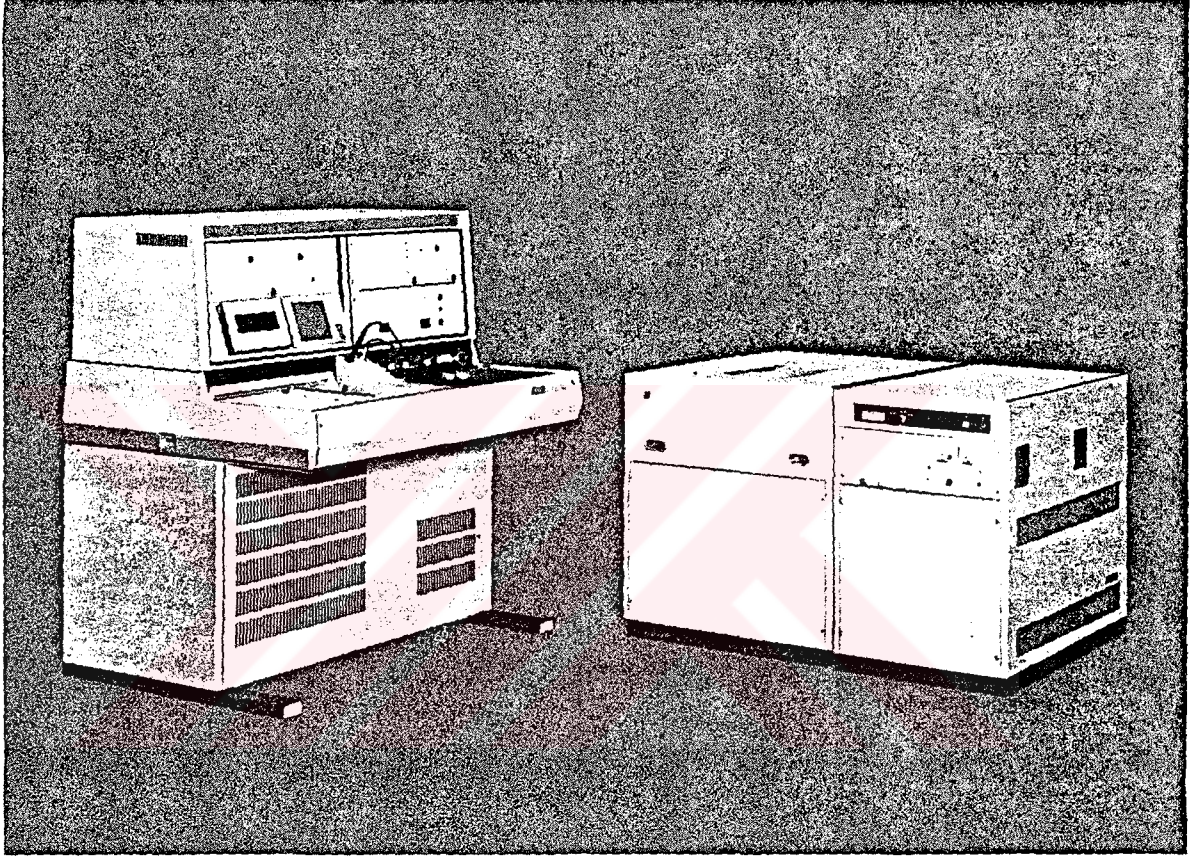
### **3.1.3. Kullanılan Araçlar**

- 1) 60 MHz'de çalışan JEOL FX-60Q FT-NMR spektrometresi
- 2) Santrifüj (Hettich-Rotofix II)
- 3) Etüv (NEL)
- 4) pH metre (NEL model 1982 ingold elektroduyla)
- 5) Mikroenjektör (Hamilton)
- 6) Mikroliter-pipet (100µl)
- 7) Pastör pipetleri
- 8) Konik dipli santrifüj tüpleri
- 9) 10mm çapında NMR tüpleri
- 10) 0.02 ml lik pipetler

### 3.1.4. JEOL FX-60Q FT-NMR Spektrometresi(13)

JEOL FX60Q FT-NMR spektrometresi 15,00MHz karbon ( $^{13}\text{C}$ ) ve 59,75 MHz de proton ( $^1\text{H}$ ) rezonanslarını gözleme yeteneğine sahip bir yüksek çözümlü FT-NMR sistemidir. Bilgisayar kontrollü olan spektrometrede kullanılan bilgisayar, 64K kapasiteli Texas Instrument Co, model JEOL-9808 dir. Sistemde enson Fourier Transform NMR tekniği, Digital Quadrature Dedection (DQD) yöntemi kullanılmaktadır. Ayrıca bu sistemde LPCS(light Pen Control System) kullanılmaktadır. Böylelikle işlem olukça hızlı ve elde edinilen sonuç oldukça güvenilirdir. Bunun dışında yeni geliştirilen bir program (Auto Stacking Program)'ın kullanılması ile farklı türdeki deneylerin seri ölçümleri operatörlerin katılımı en az düzeye indirilerek otomatik olarak yapılabilir.

FX- 60Q spekrometeresi standart ünite şeklinde bir  $^{13}\text{C}/^1\text{H}$  ikili başlık taşımaktadır. İncelenen örneği değiştirmeden  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  rezonanslarını, düğmeyi bir konumdan diğer konuma çevirmek sureti ile hızlı bir şekilde gözleme olanağı vardır. Yukarıda özelliklerinden bahsedilen JEOL FX-60Q FT-NMR spektrometresi Şekil 3.1 de görülmektedir.



Şekil 3.1 Standart JEOL FX-60Q FT-NMR Spektrometresi

## 3.2. METOD

### 3.2.1. Deneysel Tekniğin Prensipleri ve Düzenek(4)

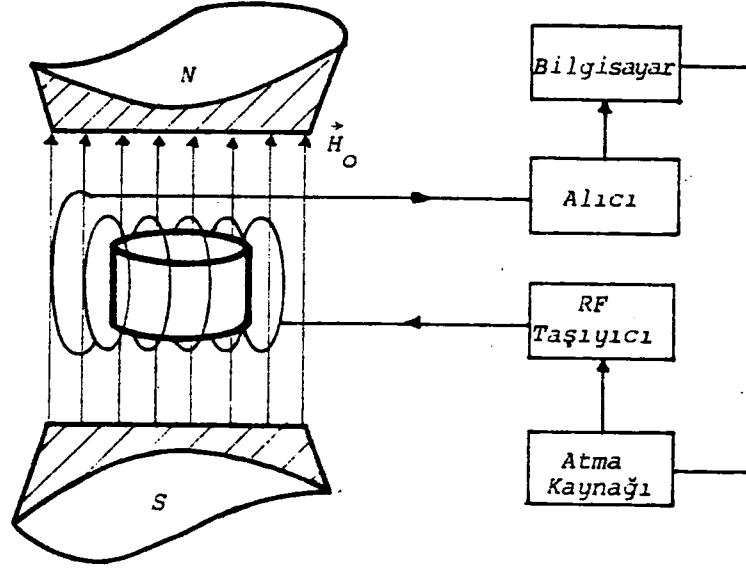
Manyetik rezonanstaki deneysel işlem, kuvvetli bir dış manyetik alan içine konan spin sistemi içinde oluşan enerji düzeyleri arasında ikincil olarak uygulanan zayıf rf alanı sonucu uyarılan geçişlere karşı gelen spektrumları gözlemektir. Bu nedenle NMR'da deneysel teknik üç temel ilke üzerine kuruludur.

1. spin sistemi üzerine kuvvetli bir manyetik alan uygulamak. Böyle bir alan genel olarak elektromıknatıslardan elde edilir.

2. Bu kuvvetli manyetik alan içinde spinlerin yönelmelerine karşı gelen enerji düzeyleri arasında geçişleri uyarmak için spin sistemi üzerine lineer yada dairesel olarak kutuplanmış r.f alanı uygulamak. Bu iş için spin sisteminin çevresine sarılan bir makarada r.f alanı oluşturacak bir r.f osilatörü kullanılır

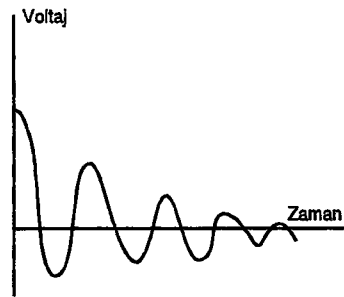
3. r.f enerjisi yardımı ile uyarılan spinlerin soğurduğu enerjiyi ölçmek için gerekli bir alıcı sistem.

Sonuç olarak bir NMR düzenegi şekil 3.2 de görüldüğü gibi temelde bir elektromıknatıs, bir rf atma kaynağı, bir rf taşıyıcısı, bir taşıyıcı/alıcı sarım, bir algılama sistemi ve bir de bilgisayar gibi araçlardan oluşmaktadır.

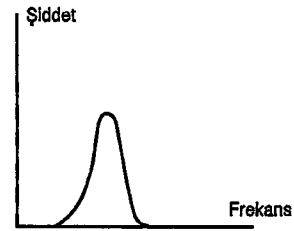


Şekil 3.2 Bir NMR sisteminin temel öğeleri.

NMR'de rf atmasından hemen sonra gözlenen NMR sinyaline Serbest Indüksiyon Bozunması (Free Induction Decay) kısacası FID denir. Şekil 3.3'te görüldüğü gibi NMR sinyali zamanla serbestçe bozunur, çünkü kendisini oluşturan neden (rf atması) ortadan kalkmıştır. Gerçekte şekil 3.3'te görülen bozunma bir NMR spektrumu değildir. Ancak bu FID sinyaline Fourier dönüşümleri uygulanarak Şekil 3-4' te görüldüğü gibi frekansa bağlı olarak bir sinyal türetilir.



Şekil 3.3 NMR sinyalinin zamanla bozunumu(FID).

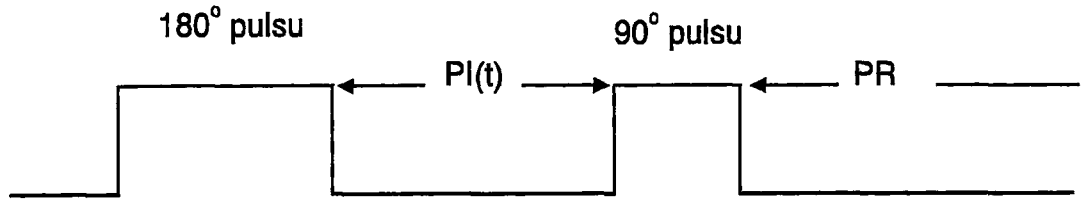


Şekil 3.4 Bir NMR spektrumu



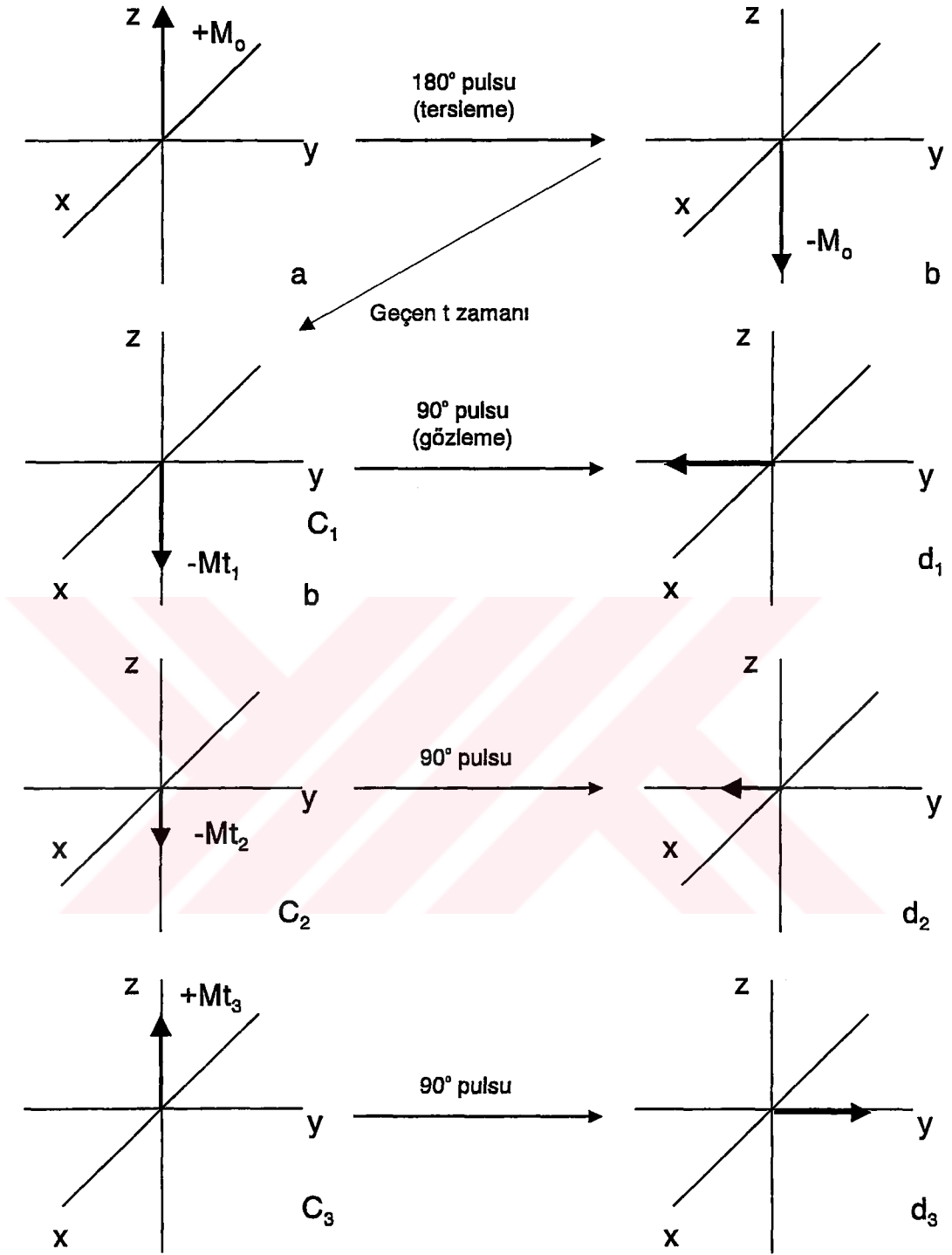
### 3.2.2. Inversion Recovery Yöntemi(13)

Spin-örgü rölaksasyon zamanı  $T_1$ 'i ölçmek için genelde kullanılan bir yöntem olan IR (Inversion Recovery) tekniği;  $180^\circ$ - $90^\circ$  puls adımlarının kullanılması ile  $M$  mıknatıslanma vektörünün davranışının incelenmesi esasına dayanır. Puls adımları şekil 3.5'de ve bu adımlar kullanıldığında  $M$ 'nin davranışı ise şekil 3.6 ve 3.7'de gösterilmektedir.

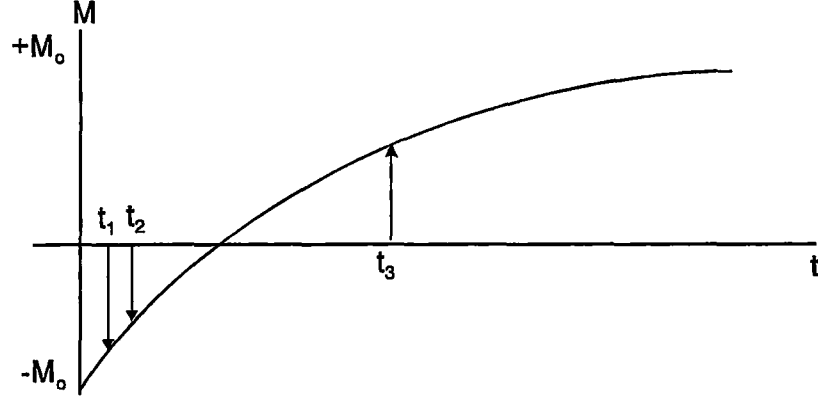


Şekil 3.5 Puls adımlarının gösterimi.

Bu puls adımları şu şekilde açıklanabilir; Termal denge durumunda  $H_0$  sabit manyetik alan doğrultusu  $+z$  yönündeki magnetizasyon vektörü  $M_0(a)$ ,  $180^\circ$  puls ile  $-z$  yönüne çevrilerek  $M_0(b)$  şekline dönüştürülür. rf alanı kaldırıldıktan sonra magnetizasyon vektörü tekrar  $H_0$  alanı doğrultusuna dönmeye alışır. Puls aralık zamanı  $-Mt_1$  haline dönüşür. Bu anda  $90^\circ$  uygulamak suretiyle magnetizasyon  $x-y$  düzlemine döndürülür ve FID (Free Induction Decay) sinyali  $d_1$  gözlenir. Fourier dönüşümü uygulanarak bu sinyal bir spektrum pikine dönüştürülür. Zamanı  $t_1 < t_2 < t_3 < 5t_1$  koşullarına uygun olarak çeşitli  $t$ 'ler için seçilirse  $C_1, C_2, C_3$  magnetizasyon vektörleri ya da  $d_1, d_2, d_3$  sinyalleri gözlenir.



Şekil 3.6 Inversion recovery yöntemine göre magnetizasyon vektörünün davranışı.



Şekil 3-7 Magnetizasyonun zamana göre değişimi.

$t$  puls aralığına karşı gelen Magnetizasyon vektörü  $M_t$ ,

$$M_t = M_0 \{1 - 2\exp(-t/T_1)\} \quad (3-1)$$

denkleminde gösterildiği gibi  $T_1$  spin-örgü relaksasyonu olarak bilinir. Bu değişim denklemini  $180^\circ$  pulsuna ile  $-z$  yönüne çevrilmiş olan  $-M_0$  magnetizasyon vektörünün tekrar denge durumuna gelmesi sürecinin süresini,

$$\frac{dM}{dt} = \frac{M_0 - M_z}{T_1} \quad (3-2)$$

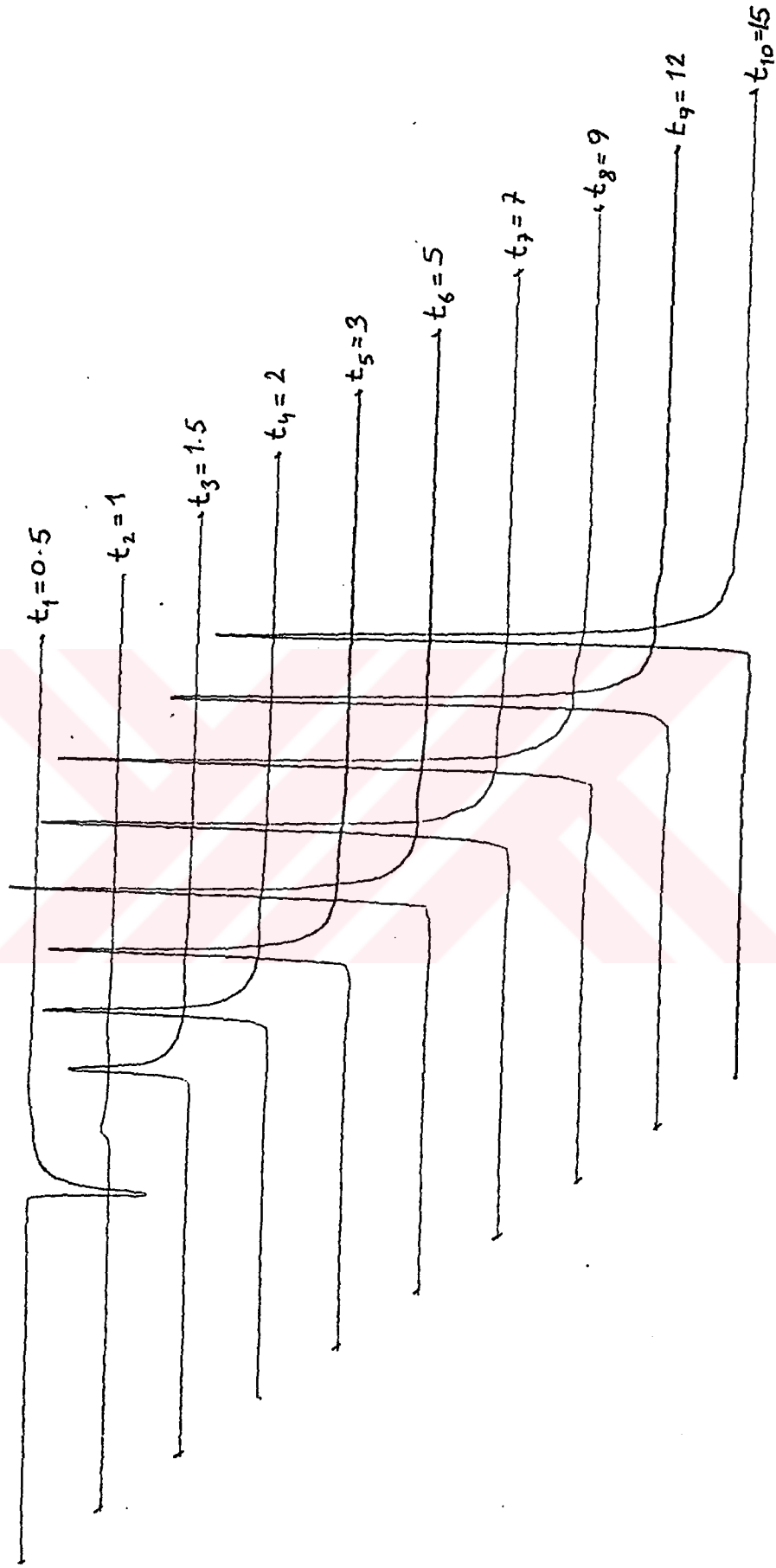
diferansiyel denkleminin çözümü ile bulabiliriz.

$90^\circ$  pulsuna ve Fourier dönüşümü yapıldıktan sonra FID sinyali örneklendiğinde  $M_0$ ,  $M_t$  spektrumunun pik şiddeti olarak elde edilir.

Bu ölçme yönteminde magnetizasyon vektörü,  $180^\circ$  pulsuna eklendiğinde ısıl denge durumunda olmalıdır.  $t=3T_1$ ,  $4T_1$ ,  $5T_1$  veya  $6T_1$  durumunda, Denklem (3-1) de  $M_t=M_0$  durumunu elde ettiğimizde buna karşılık gelen  $M_t=0.90 M_0$ ,  $0.96 M_0$  ve  $0.995 M_0$  çevrimi elde edilebilir.  $4$   $5T_1$  zamanı,  $90^\circ$  pulsundan sonra sıcaklık dengesinin yeniden kurulabilmesi için gereklidir.

Bu yöntemle elde ettiğimiz spektrum örneği şekil 3.8 de görülmektedir. t puls aralıkları 10 nokta elde edilecek şekilde ayarlanmıştır. Değerleri saniye cinsinden şunlardır;  $t_1=0.5s$ ,  $t_2=1s$ ,  $t_3=1.5s$ ,  $t_4=2s$ ,  $t_5=3s$ ,  $t_6=5s$ ,  $t_7=7s$ ,  $t_8=9s$   $t_9=12s$  ve  $t_{10}=15s$  dir.  $90^\circ$  pulsundan  $t_1=0.5$  saniye sonra M vektörü terslenmiştir.Zamanla yukarı yönelen spin sayısı artmakta ve  $t_{10}=15$  saniye sonunda  $M_0$  durgun manyetik alan doğrultusundaki orjinal değerine erişmektedir.





Şekil 3.8  $T_1$  Ölçümü için alınan IR Spektrumu (Örnek:anne sütü)

$T_1$ 'in bulunması için başka bir yöntem de "SIFIR YÖNTEMİ" dir. Mıknatıslanmanın sıfır olması için geçen t süresi (3-1) denkleminde hesaplanırsa,

$$t = T_1 \ln 2 \longrightarrow T_1 = 1.44t$$

Olacağından t ölçülerek  $T_1$  bulunabilir.

### 3.2.3. Süt Örneklerinin Hazırlanması

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde ve Diyarbakır Doğum Hastanesinde doğum yapan, muayene amacıyla hastaneye başvuran annelerden; 25 Kolstrum süt(0-5 günlük), 5 prematüre süt(doğum öncesi 5-8 aylık), 5 matüre süt (2-6 aylık) olmak üzere 35 süt örnekleri alındı. Kolostrum sütleri, 2'şer ml ler halinde alındı ve steril olarak hazırlanmış NMR tüplerine aktarılarak  $T_1$  ölçümleri için hazır duruma getirildi. Olgun anne sütleri (matüre süt) ise 25'er ml olacak şekilde alındı ve aşağıdaki işlemlere tabi tutuldu.

1. Her bir süt örneğinden 5ml alındı ve  $T_1$  ölçümü için ayrıldı. Geriye kalan süt 20 dakika süreyle 2000g'de santrifüj edildi ve bileşenlerine ayrıldı. Santrifüjden sonra üstteki yağ tabakasının (fat globule) altında kalan süt sıvısından (decelled süt) 1.5ml lik örnekler alınarak  $T_1$ 'i ölçmek için NMR tüplerine aktarıldı.

2. Kalan 20ml sütün 5ml si pH'a bağlı rölaksivite deneylerine ayrıldı diğer 15ml süte fosforik asit eklenerek pH'ı 2'ye indi. pH'ı 2'ye ayarlanmış süttten 6ml(her bir iyon için 1.5ml) alınıp rölaksivite deneyleri için ayrıldı. Geriye kalan süt ise 20 dakika süreyle 2000g'de santrifüj edildi ve yağ tabakası atıldı. Elde edilen süt sıvısının pH'sı tekrar 2'ye ayarlandı ve rölaksivite deneylerinde kullanıldı.

### 3.2.4. Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Deneyde kullanılan  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$  ve  $Fe^{+3}$  stok çözeltileri, sırasıyla (0.031mMol, 0.031mMol, 0.036mMol, 0.089mMol) konsantrasyonlara sahip olacak şekilde tartılmış az miktarda Bakır sülfat

( $C_4SO_4.5H_2O$ ), Çinko klorid (ZnCl), Demir sülfat ( $FeSO_4.7H_2O$ ) ve Demir nitrat ( $Fe_3(NO)_3$ )'ın ayrı ayrı balon şişelerde deiyonize suda çözülerek elde edildi. Bu çözeltiler her defasında deneye başlarken taze olarak hazırlandı ve relaksivite deneylerinde kullanıldı.

### 3.2.5. $T_1$ Ölçümleri

Ölçülen tüm süt ve süt sıvısı örneklerinden elde edilen NMR sinyali Şekil 3.9 da görülmektedir. Büyük sinyal su protonlarının ve küçük sinyal sütteki yağa aittir. Çünkü sadece yağ bileşeninde bu sinyalin şiddeti artmaktadır. NMR  $T_1$  ölçümlerinde suya ait büyük sinyal kullanıldı.

Tüm süt, süt sıvısı ve paramanyetik iyon eklenmiş süt sıvısının  $T_1$  ölçümleri, proton için 60 MHz'de çalışan bir JEOL FX-60Q FT-NMR spektrometresi ve 10mm dış çaplı NMR tüpleri kullanılarak gerçekleştirildi (26). Inversion-Recovery puls adımı( $180^\circ - \tau - 90^\circ$ ) kullanıldı. Puls aralığı( $\tau$ ) tüm süt ve süt sıvısı için 0.5sn-15sn aralığında ve paramanyetik iyon eklenen süt sıvısı için ise 0.5sn-7sn arasında değiştirildi. Puls tekrarlama süresi 20sn idi. Prob sıcaklığı JNM-VT-3C otomatik sıcaklık kontrol sistemi vasıtasıyla ( $20+0.5$ )°C de tutuldu.

Tüm süt, süt sıvısı ve iyon eklenmiş süt sıvısının  $T_1$  ölçümleri ile ilgili Inversion Recovery spektrumlarının birer örneği şekil 3.10, 3.11 ve 3.12 de gösterilmektedir.

Demir iyonu eklenen sütte  $T_1$  değerleri zamanla değiştiği için, demirli deneylerde  $T_1$  ölçümleri null metodu ile yapıldı.

### 3.2.6. Rölaksivite Ölçümleri

Öncelikle rölaksivite deneylerinde kullanılmak üzere doğal pH da ve pH=2 ye ayarlanmış 1.5ml ler halinde ayrılan tütüt ve süt sıvısına askorbik asit eklenmeden önce ve sonra ölçülen ( $1/T_1$ ) değerinden süt ve süt sıvısının paramanyetizması ölçüldü.

Öte yandan rölaksivitenin pH'a bağılılığını gözlemek için, pH'ı sırasıyla 6,4 ve 2'ye arlanmış süt sıvısına ayrı ayrı daha önce hazırlanan  $\text{Cu}^{+2}$  ve  $\text{Fe}^{+3}$  çözeltilerinden 50 $\mu\text{l}$  ilave edildi ve rölaksasyon ölçümleri yapıldı. Ölçülen  $1/T_1$  değerleri kullanılarak rölaksivitenin iyi bilinen formülü olan

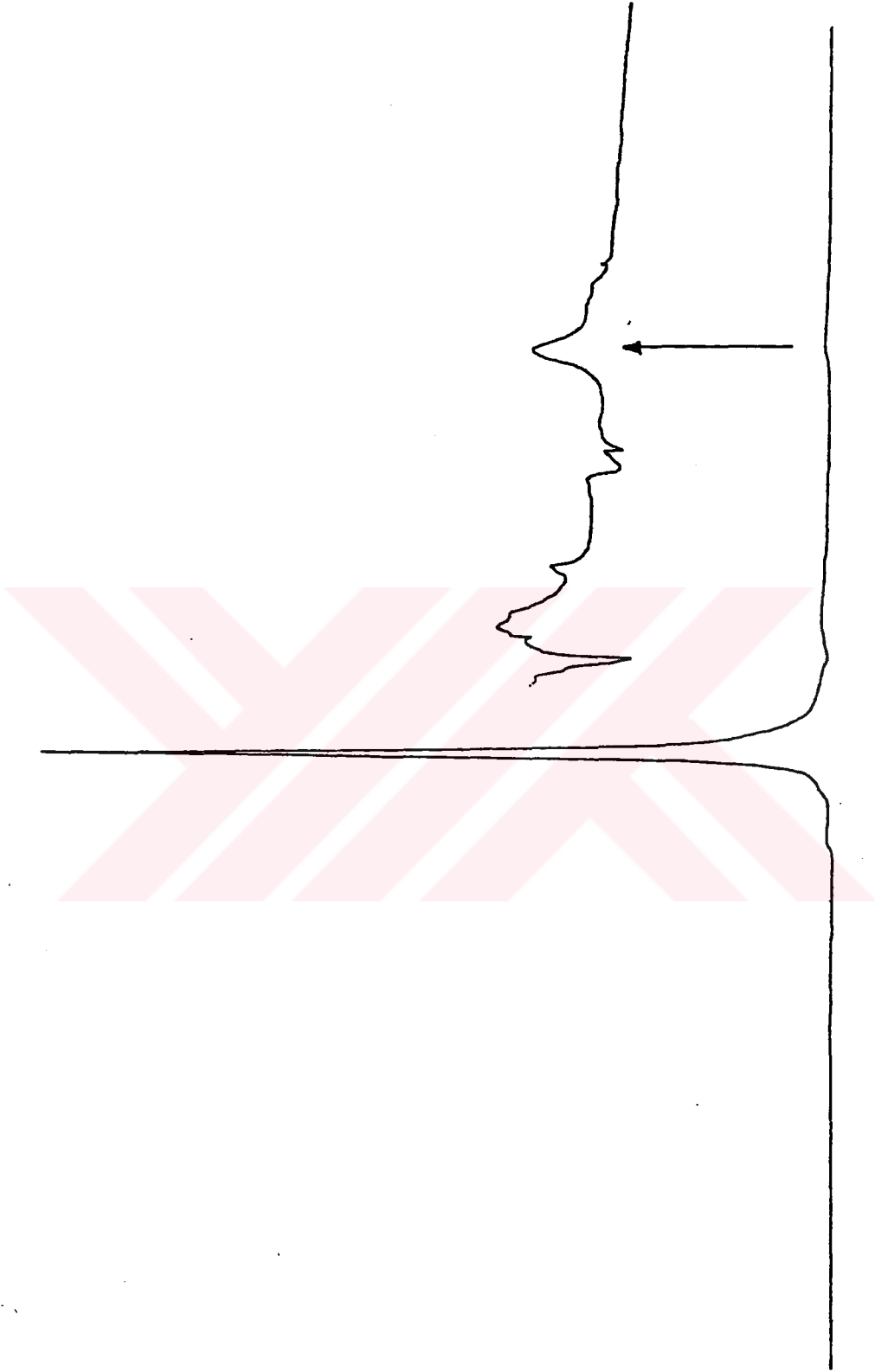
$$R = \frac{1/T_{1ö} - 1/T_{1s}}{C} \quad (3-3)$$

eşitliğinden yararlanılarak süt sıvısındaki  $\text{Cu}^{+2}$  ve  $\text{Fe}^{+3}$  iyonlarının farklı pH lardaki rölaksiviteyi hesaplandı. Burada  $1/T_{1ö}$  ve  $1/T_{1s}$  sırasıyla iyonların eklenmeden önceki ve sonraki rölaksasyon oranları, R süt sıvısındaki iyonun proton rölaksivitesi ve C de iyonun konsantrasyonunu göstermektedir.

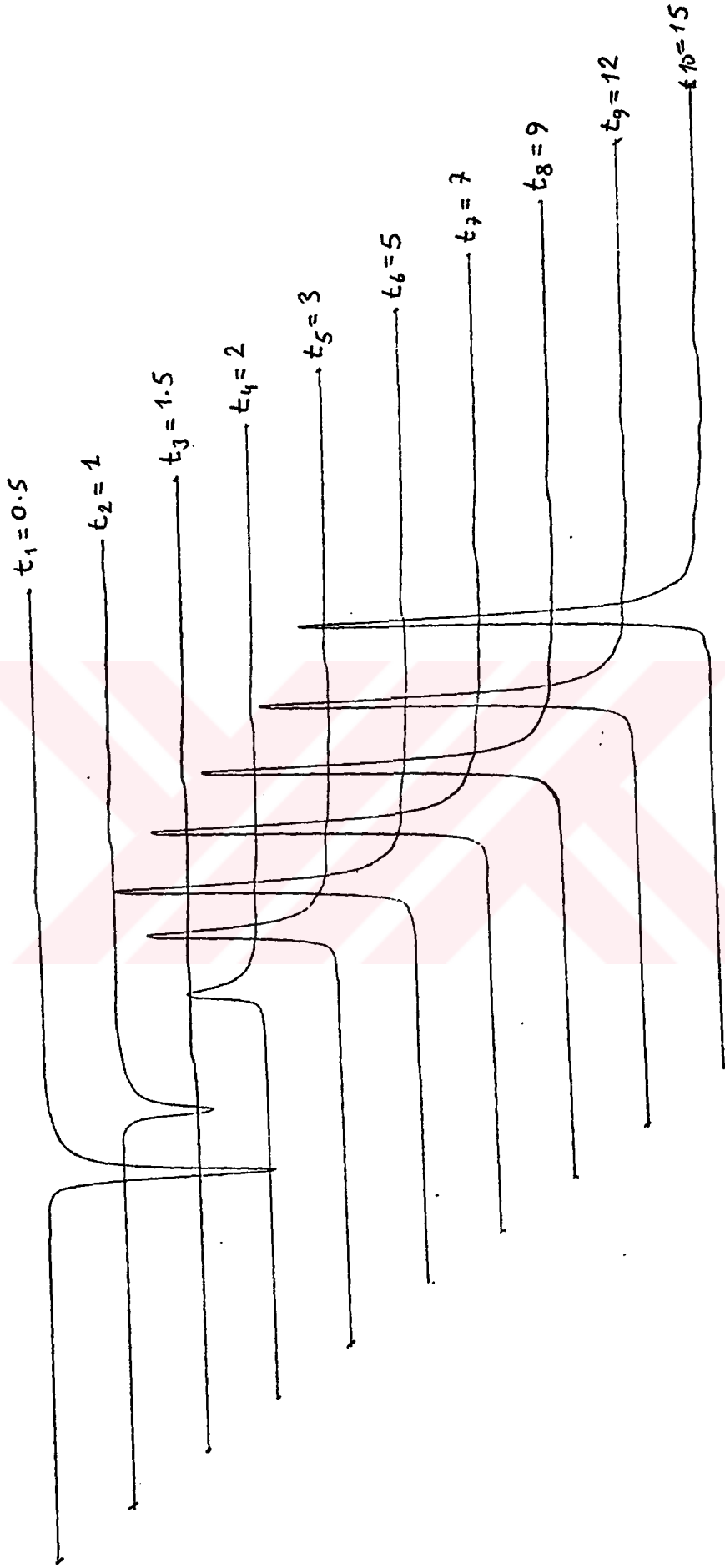
Ayrıca Anne sütündeki paramanyetik iyonların spin-örgü rölaksasyon oranına yaptıkları katkıyı gözlemek için pH=2'ye ayarlanmış 1.5ml süt ve süt sıvısının her birine ayrı ayrı daha önce hazırlanan  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$  ve  $\text{Fe}^{+3}$  stok çözeltilerinden 25 $\mu\text{l}$  ilave edildi ve  $T_1$  ölçümleri yapıldı. Eklenen stok iyon çözeltileri konsantrasyonları 100 $\mu\text{l}$  olacak şekilde bu adımlar dört kez tekrarlandı. Rölaksasyon oranının herbir iyon için konsantrasyona karşı grafikleri çizildi. Çizilen grafiklerden iyonların proton rölaksiviteyi bulundu.

$\text{Fe}^{+3}$  iyonu eklendikleri sütün  $T_1$  değerlerini zamanla değiştirdiği için,  $\text{Fe}^{+3}$  iyonunun eklenmesinden hemen sonra ve 20 dakikalık beklemeden sonra  $T_1$  ölçümleri yapıldı. Ölçülen  $1/T_1$  değerlerinin iyon konsantrasyonuna karşı çizilen grafiklerden  $\text{Fe}^{+3}$ 'ün proton rölaksiviteyi bulundu.  $\text{Fe}^{+2}$  nin paramanyetik katkısı küçük ve  $\text{Fe}^{+3}$  gibi zamanla değiştiği için rölaksivitesinin bulunmasına gerek kalmadı.

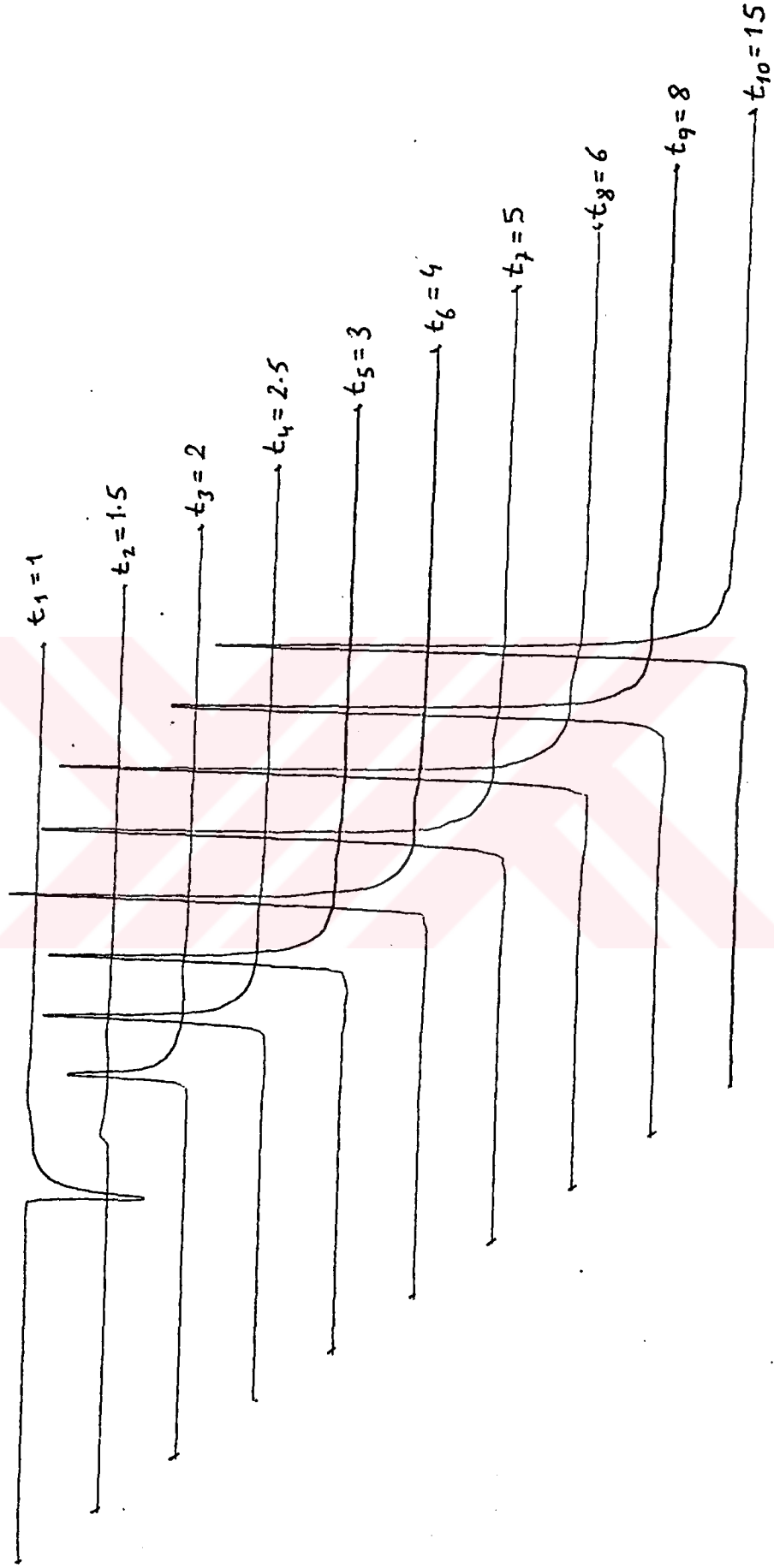




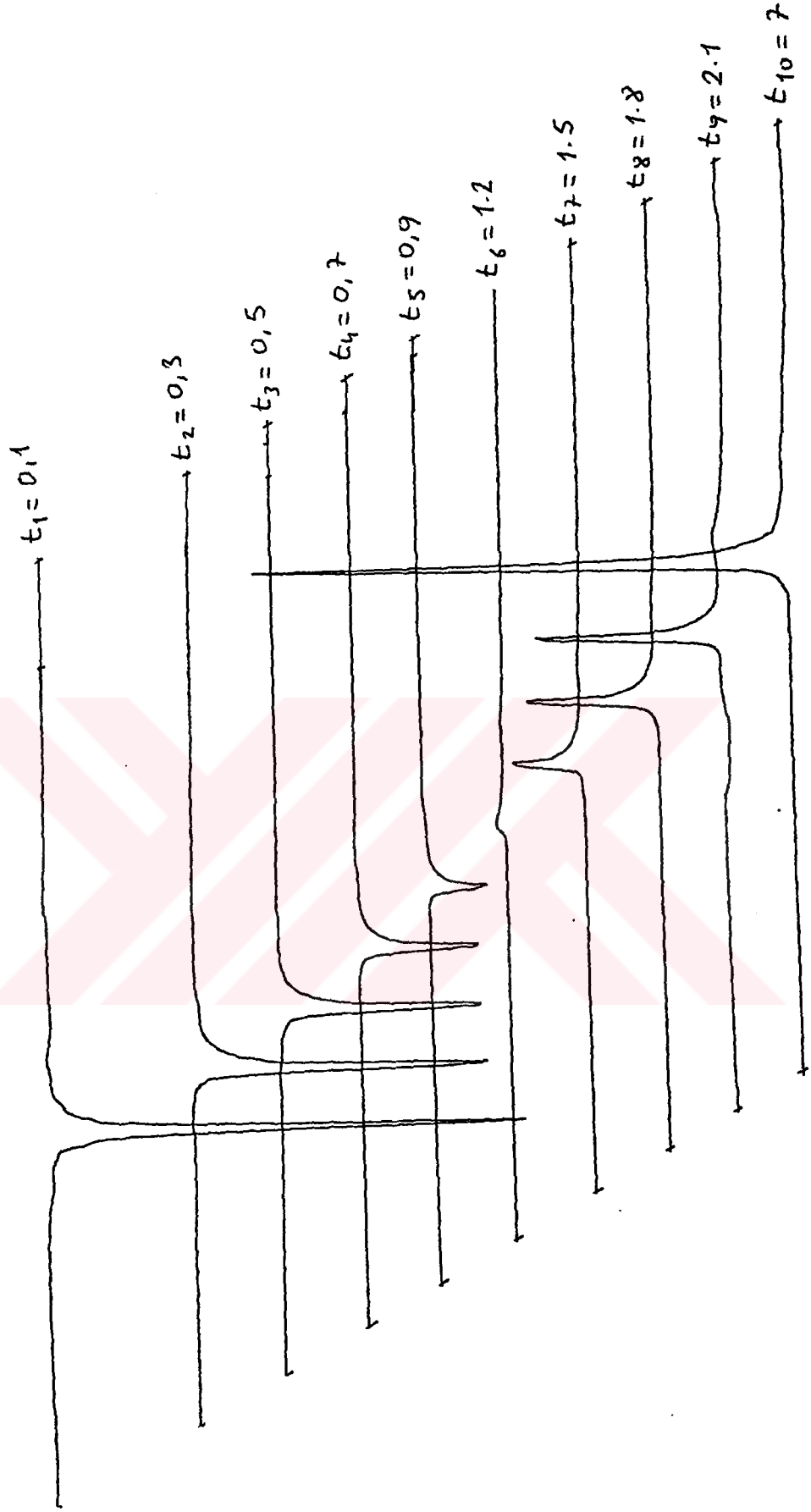
Şekil 3.9 Süt ve süt sıvısından elde edilen NMR sinyali



Şekil 3.10 Tüm Sütün Inversion Recovery Spektrumu( $T_1=2.19sn$ )



Şekil 3.11 Süt Sıvısının IR Spektrumu ( $T_1=2.04sn$ )



Şekil 3.12 İyon Eklenmiş Süt sıvısının IR spektrumu( $T_1=1.47s$ )

## BÖLÜM 4: BULGULAR

4.1) Doğum öncesi ve sonrası zamanlara ait anne sütü örneklerinin  $T_1$  rölaksasyon zamanı ve  $1/T_1$  rölaksasyon oranlarına ait değerler Tablo 4.1'de verilmiştir. Bu veriler kullanılarak  $1/T_1$  oranlarının zamana karşı değişimi ise grafik halinde Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Kolostrumdaki hızlı değişimi daha iyi gözleyebilmek için, doğum sonrası 0-5 günleri arasındaki ve ilk 24 saatteki sütlere ait  $1/T_1$  değişimi Tablo 4.2 ve 4.3'te ve bunların grafikleri Şekil 4.2 ve 4.3'te verilmiştir.

Doğum sonrası sütün  $1/T_1$  oranının Tablo 4.4 teki deney sonuçlarının günlere karşı çizilen grafiği ise, Şekil 4.4 te verilmiştir.

4.2) Fizyolojik pH'da ve pH=2 ye ayarlanmış süt ve süt sıvısına askorbik asit eklenmeden evvel ve sonraki süt ve süt sıvısının ölçülen  $1/T_1$  değerleri ise Tablo 4.5 te verilmiştir

4.3) Farklı pH'lardaki süt sıvısına  $Fe^{+3}$  ve  $Cu^{+3}$  iyonların eklenmesinden önce ve sonra ölçülen  $1/T_1$  değerleri ve bu iyonların proton rölaksiviteleri Tablo 4.6 ve 4.7 de ve değişim grafiği ise Şekil 4.5 de verilmiştir.

4.4) pH=2'ye ayarlanmış tüm süt ve süt sıvısına değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış  $Cu^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  iyonların eklenmesiyle elde edilen örneklerin ölçülen  $1/T_1$  değerleri Tablo 4.8 da verilmiştir. Eklenen  $Cu^{+2}$  iyonunun neden olduğu paramanyetik katkının konsantrasyona bağlılığı Şekil 4.6 ve  $Zn^{+2}$  iyonunun konsantrasyonuna,  $1/T_1$ 'in bağlılığı ise Şekil 4.7 de görülmektedir.

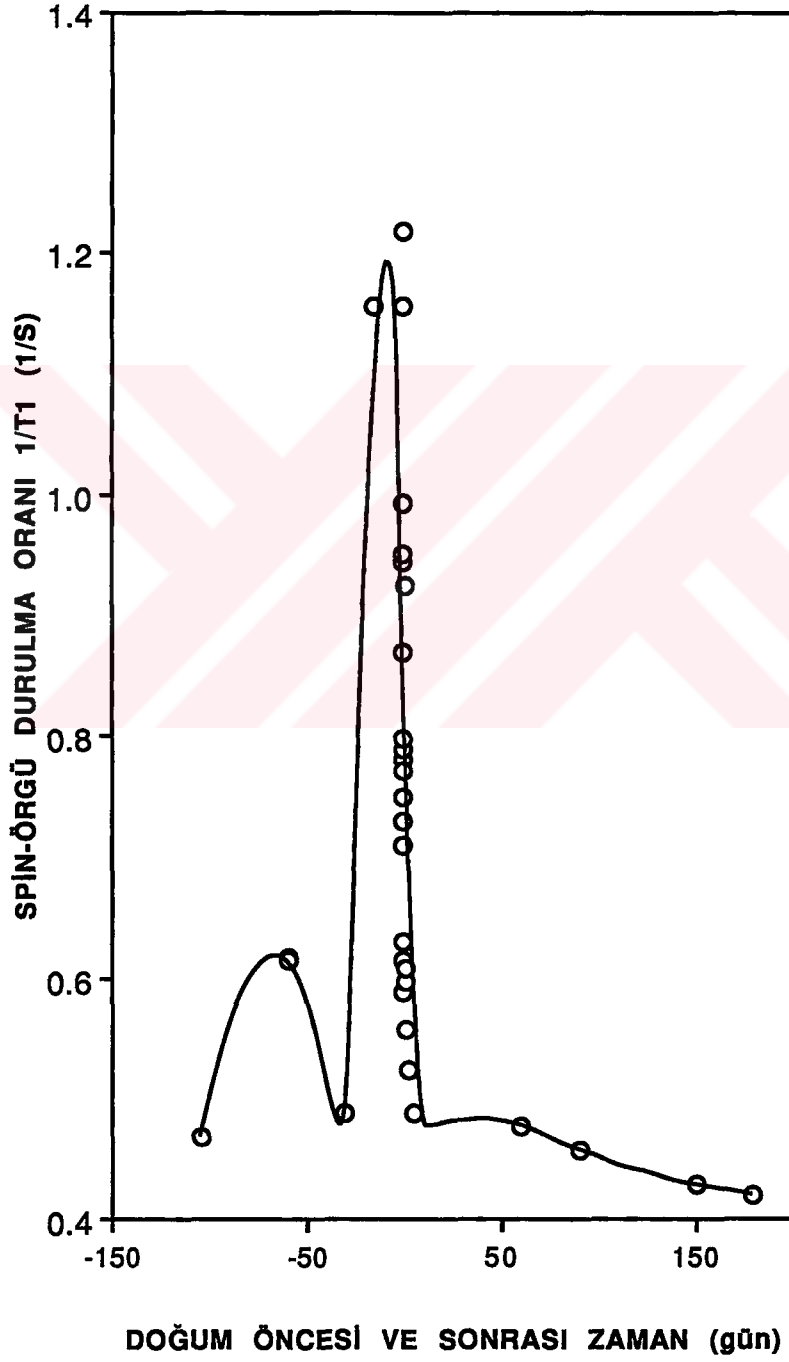
$Fe^{+3}$  iyonu eklenen süt ve süt sıvısındaki  $1/T_1$  oranının, iyonun eklenmesinden hemen sonra ölçülen değeri ile 20 dakikalık beklemeden sonraki değeri Tablo 4.9 da ve konsantrasyona bağlılığı ise Şekil 4.8 ve 4.9 da görülmektedir. Ayrıca 4.6 dan 4.9'a kadar olan grafiklerin en küçük kareler fitinden elde edilen veriler Tablo 4.10 da verilmektedir.

4.5) Son olarak pH=2'ye ayarlanmış süt ve süt sıvısına sabit konsantrasyondaki Fe<sup>+2</sup> iyonun eklenmesiyle lilen T<sub>1</sub> ve 1/T<sub>1</sub> Deney sonuçları Tablo 4.11 ve 4.12 de ve 1/T<sub>1</sub>'in zamana göre değişimi grafik halinde Şekil 4.10 ve 4.11 de verilmiştir.



No	Zaman(gün)	T <sub>1</sub> (s)	1/T <sub>1</sub> (1/s)
1	-105	2.131	0.469
2	-60	1.627	0.614
3	-60	1.620	0.617
4	-30	2.045	0.489
5	-15	0.864	1.157
6	0	0.864	1.157
7	0	0.864	1.157
8	0	0.821	1.218
9	0	1.008	0.992
10	0	1.051	0.951
11	0	1.059	0.944
12	0	1.152	0.868
13	0	1.253	0.798
14	0	1.267	0.789
15	0	1.282	0.780
16	0	1.297	0.771
17	0	1.332	0.750
18	0	1.368	0.730
19	0	1.410	0.709
20	0	1.584	0.631
21	0	1.627	0.614
22	0	1.699	0.588
23	1	1.795	0.557
24	1	1.672	0.598
25	1	1.642	0.609
26	1	1.081	0.925
27	2	1.908	0.525
28	3	2.044	0.489
29	5	2.049	0.488
30	60	2.092	0.478
31	60	2.092	0.478
32	90	2.188	0.457
33	150	2.336	0.428
34	180	2.380	0.420

Tablo 4.1 Doğum öncesi ve sonrası farklı zamanlara ait anne sütünün ölçülen T<sub>1</sub> ve 1/T<sub>1</sub> değerleri.

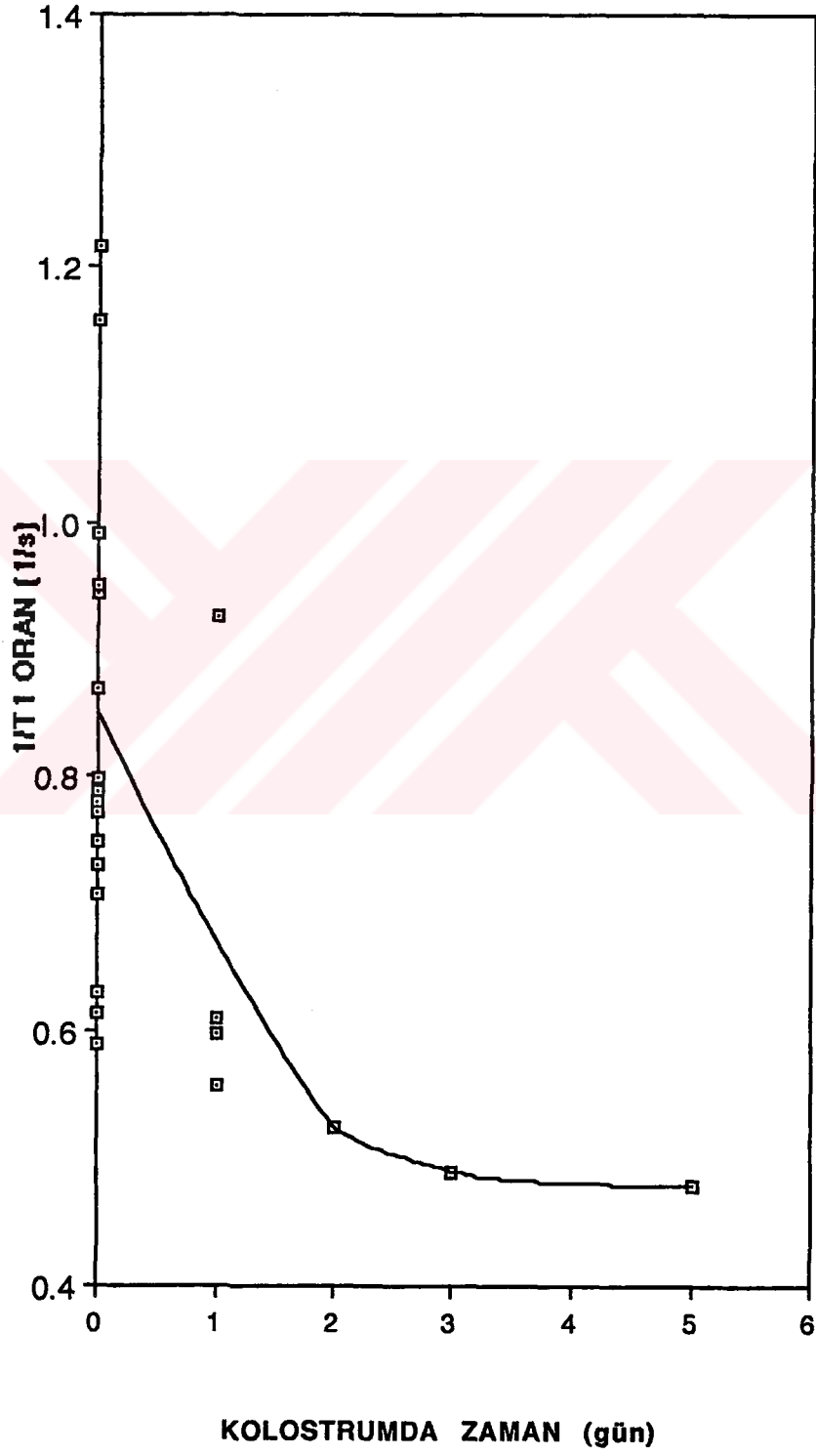


Şekil 4.1 Anne sütünün  $1/T_1$  oranının zamana bağlılığı



No	Zaman(gün)	T <sub>1</sub> (s)	1/T <sub>1</sub> (1/s)
1	0	0.864	1.157
2	0	0.864	1.157
3	0	0.821	1.218
4	0	1.008	0.992
5	0	1.051	0.951
6	0	1.059	0.944
7	0	1.152	0.868
8	0	1.253	0.798
9	0	1.267	0.789
10	0	1.282	0.780
11	0	1.297	0.771
12	0	1.332	0.750
13	0	1.368	0.730
14	0	1.410	0.709
15	0	1.584	0.631
16	0	1.627	0.614
17	0	1.699	0.588
18	0	1.795	0.557
19	1	1.672	0.598
20	1	1.642	0.609
21	1	1.081	0.925
22	1	1.908	0.525
23	2	2.044	0.489
24	3	2.049	0.488
25	5	2.092	0.478

Tablo 4.2 kolosturumun T<sub>1</sub> ve 1/T<sub>1</sub> değerlerinin günlere göre değişimi.



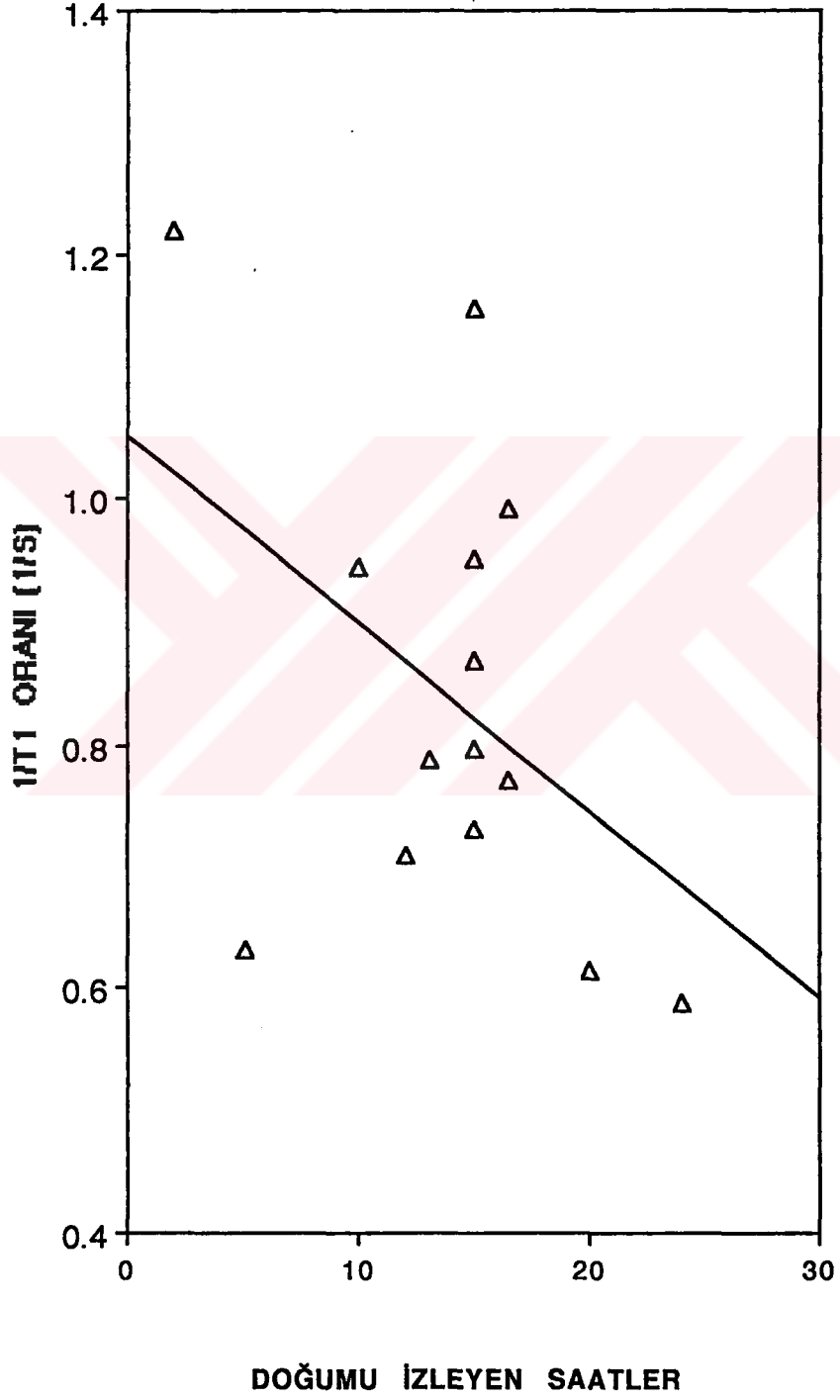
Şekil 4.2 Kolostrumun  $1/T_1$  oranının zamana bağlılığı

No	Zaman(saat)	$T_1$ (s)	$1/T_1(1/s)$
1	2	0.821	1.218
2	5	1.584	0.631
3	10	1.059	0.944
4	12	1.410	0.709
5	13	1.267	0.789
6	15	0.864	1.157
7	15	1.051	0.951
8	15	1.152	0.868
9	15	1.253	0.798
10	15	1.368	0.730
11	16	1.008	0.992
12	16	1.297	0.771
13	20	1.627	0.614
14	24	1.699	0.588

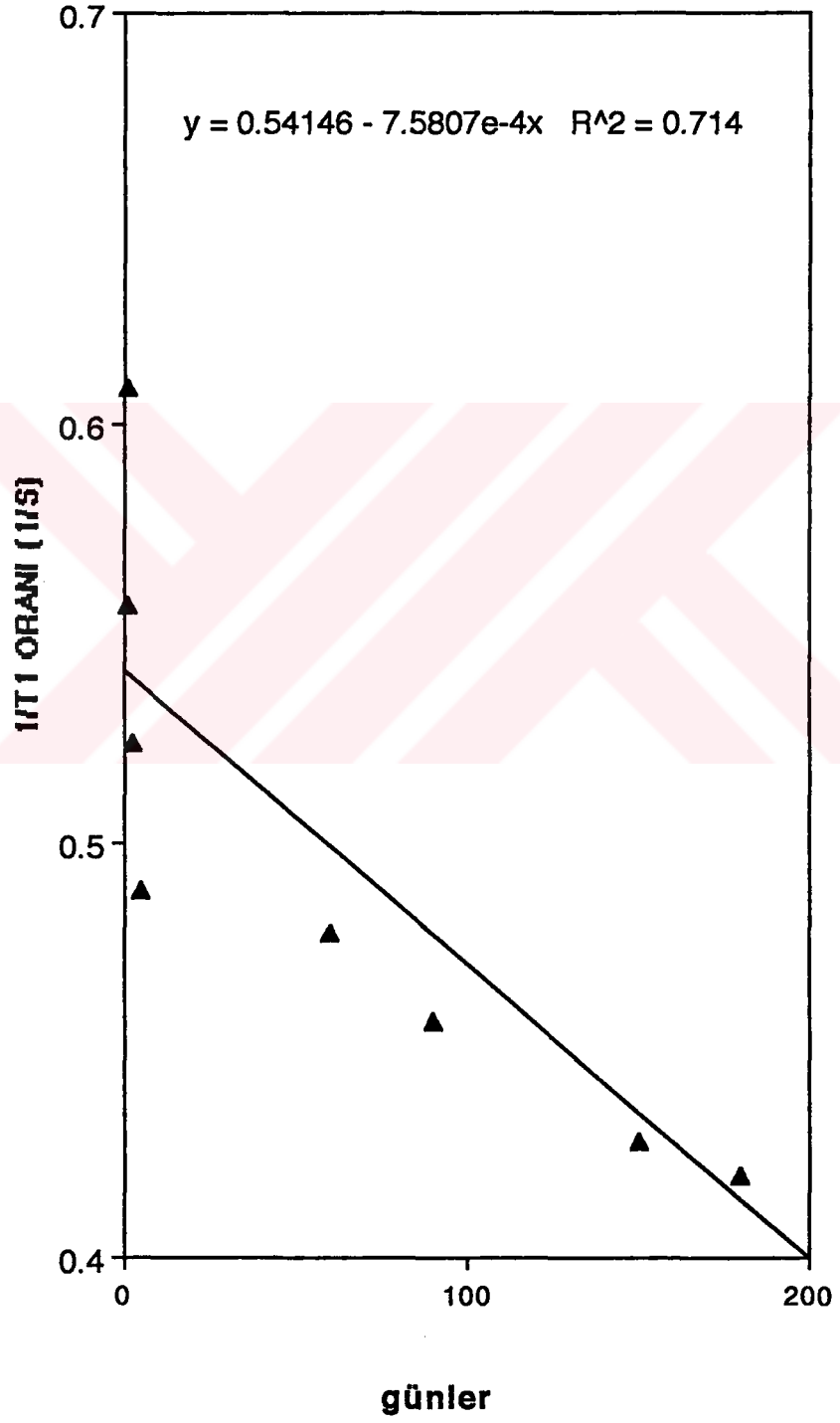
Tablo 4.3 Kolostrumun  $T_1$  ve  $1/T_1$  değerlerinin ilk 24 saatteki değerleri.

No	Zaman(gün)	$T_1$ (s)	$1/T_1(1/s)$
1	1	1.642	0.609
2	1	1.795	0.557
3	2	1.908	0.524
4	3	2.044	0.489
5	5	2.049	0.488
6	60	2.092	0.478
7	90	2.188	0.457
8	150	2.336	0.428
9	80	2.380	0.420

Tablo 4.4 Doğum sonrası günlere ait anne sütünün ölçülen  $T_1$  ve  $1/T_1$  değerleri.



Şekil 4.3 Kolostrumun ilk 24 saatteki  $1/T_1$  oranının zamana bağlılığı.



Şekil 4.4 Doğum sonrası sütün  $1/T_1$  Oranının zaman bağılılığı.

	pH=2			pH≈7 (Fizyolojik)		
	1/T <sub>1</sub> ö	1/T <sub>1</sub> s	(Δ1/T <sub>1</sub> )	1/T <sub>1</sub> ö	1/T <sub>1</sub> s	(Δ1/T <sub>1</sub> )
Tüm Süt	0.503	0.489	0.014	0.469	0.462	0.007
Süt sıvısı	0.477	0.470	0.007	0.461	0.456	0.005

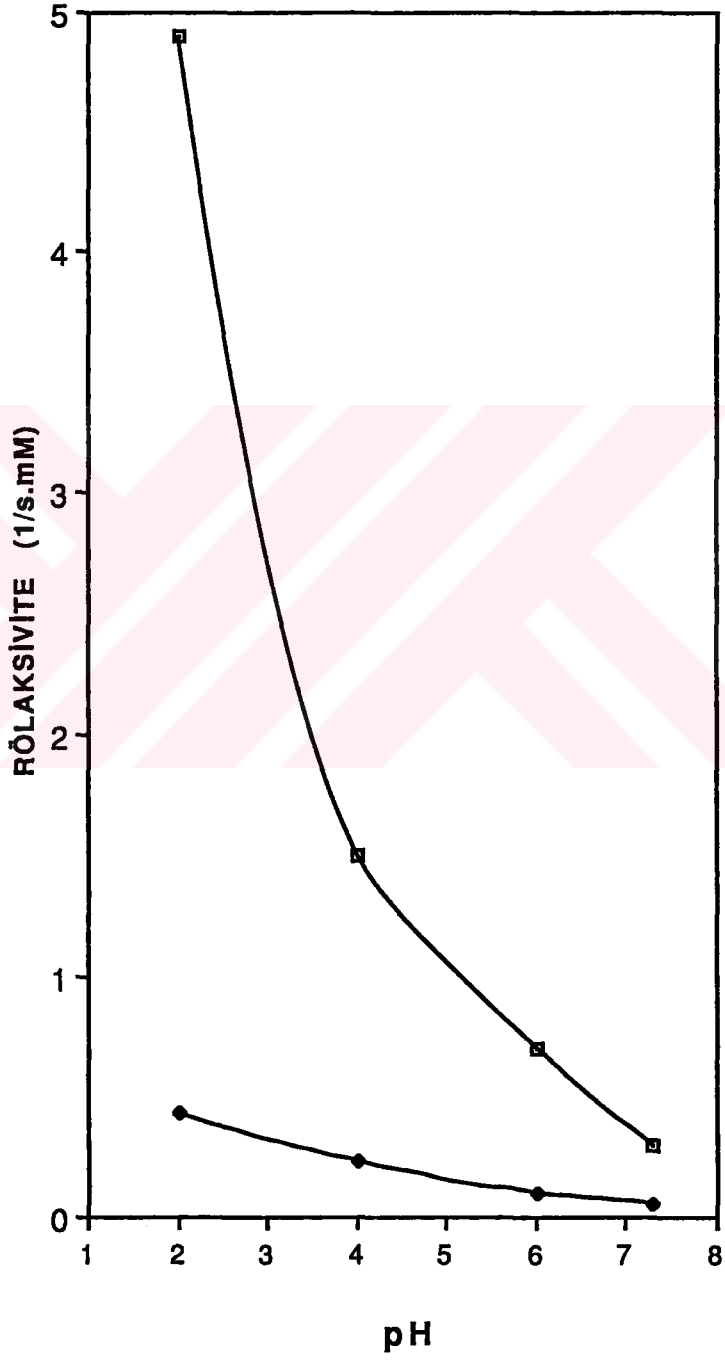
Tablo 4.5 pH≈7 de ve pH=2 de askorbik asit eklenmeden önceki ve sonraki süt ve süt sıvısının 1/T<sub>1</sub> oranları.

pH	Konsantrasyon (mM)		$\Delta 1/T_1$ (1/s)	R
	0	0.072		
	$1/T_1(1/s)$	$1/T_1(1/s)$		
7.28	0.454	0.477	0.023	0.3
6	0.460	0.511	0.051	0.7
4	0.472	0.580	0.108	1.5
2	0.481	0.833	0.352	4.9

Tablo 4.6 Değişik pH larda süt sıvısında  $Fe^{+3}$  iyonunun proton rölaksivitesi.

pH	Konsantrasyon (mM)		$\Delta 1/T_1$ (1/s)	R
	0	0.063		
	$1/T_1(1/s)$	$1/T_1(1/s)$		
7.26	0.483	0.487	0.004	0.06
6	0.488	0.495	0.007	0.10
4	0.503	0.518	0.015	0.23
2	0.547	0.574	0.027	0.43

Tablo 4.7 Değişik pH larda süt sıvısında  $Cu^{+2}$  iyonunun proton rölaksivitesi.



Şekil 4.5 Süt sıvısında Fe<sup>3+</sup> ve Cu<sup>2+</sup> iyonların proton rölaksiviteilerinin pH'a bağıllığı.

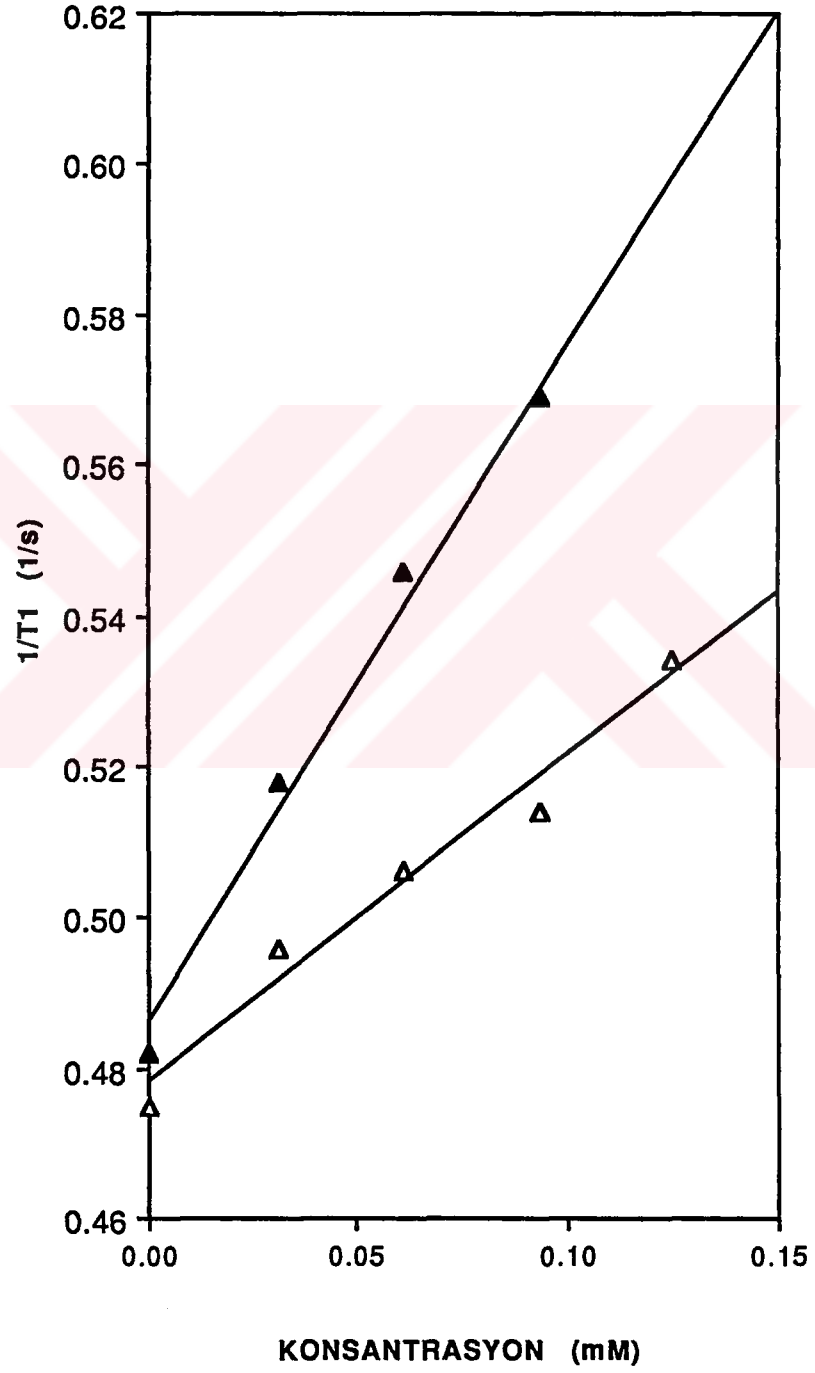


İYON	Konsantrasyon (mM)	1/T <sub>1</sub> SÜT (1/s)	1/T <sub>1</sub> Süt Sıvısı (1/s)
Cu+2	0	0.482	0.475
	0.031	0.518	0.496
	0.063	0.546	0.506
	0.094	0.569	0.514
	0.126	-	0.534
Zn+2	0	-	0.475
	0.031	-	0.475
	0.061	-	0.475
	0.092	-	0.475
	0.122	-	0.475

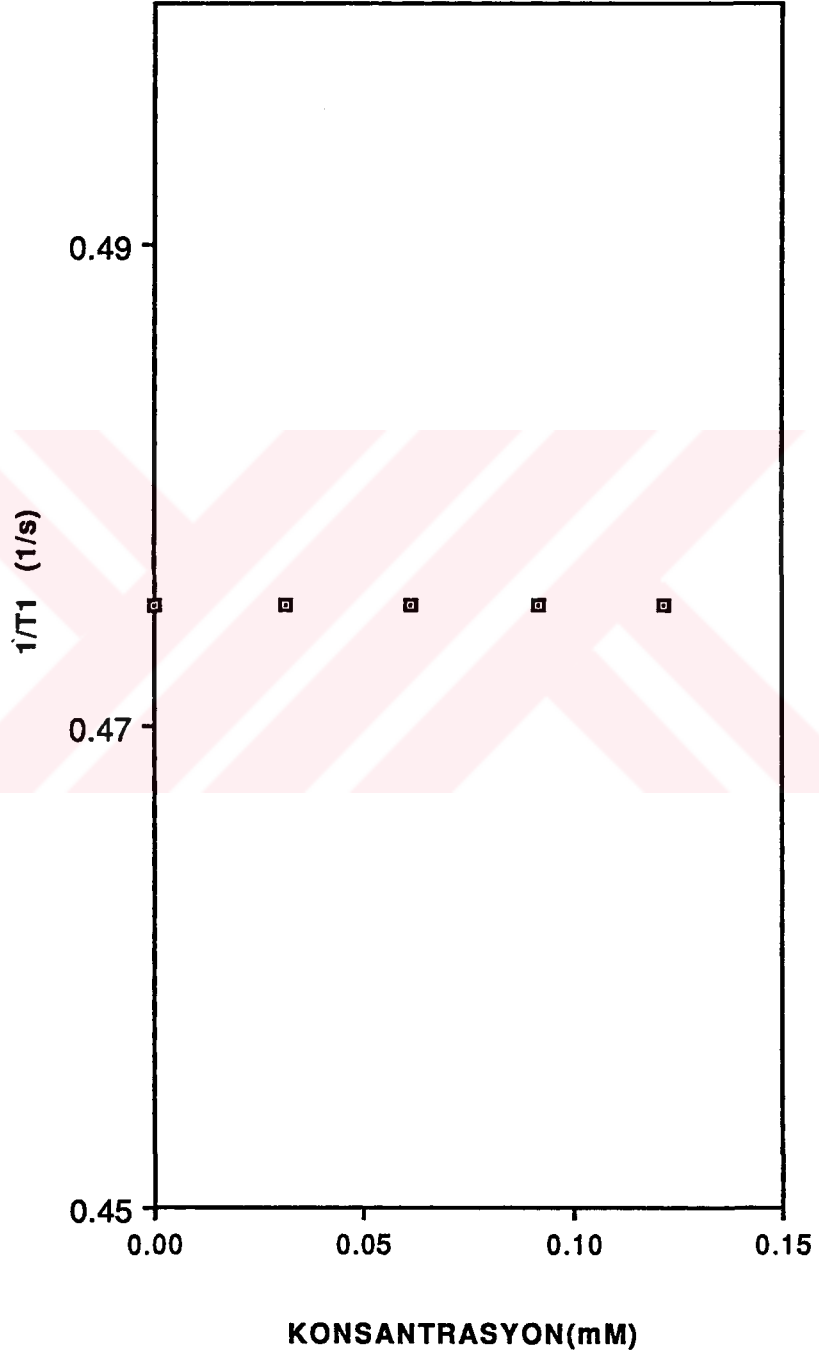
Tablo 4.8 Olgun anne sütüne ve süt sıvısına pH=2 de iken ilave edilen iyonların konsantrasyonlarına bağı olarak ölçülen 1/T<sub>1</sub> değerleri.

	KON (mM)	1/T <sub>1</sub> süt (1/s)	1/T <sub>1</sub> süt b (1/s)	1/T <sub>1</sub> süt s (1/s)	1/T <sub>1</sub> süt s b (1/s)
Fe <sup>+3</sup>	0	0.455	0.455	0.450	0.450
	0.036	0.590	0.522	0.570	0.518
	0.072	0.725	0.579	0.750	0.584
	0.107	0.827	0.609	0.930	0.694
	0.143	1.050	0.675	1.157	0.812

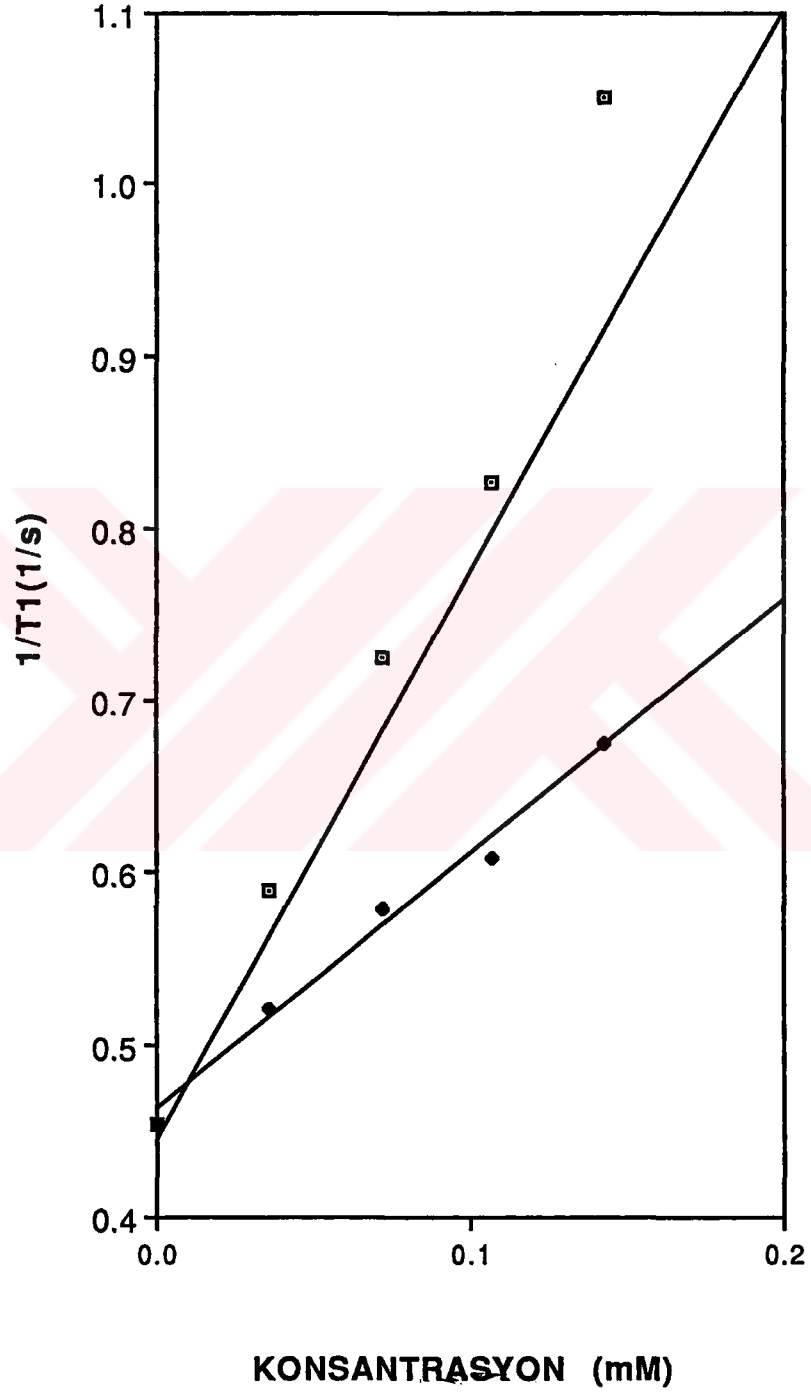
Tablo 4.9 Olgun anne sütüne ve süt sıvısına pH=2 de iken Fe<sup>+3</sup>'ün eklenmesiyle hemen ve beklemeden sonra(1/T<sub>1</sub>süt b) iyonun konsantrasyonuna bağı olarak ölçülen 1/T<sub>1</sub> değerleri.



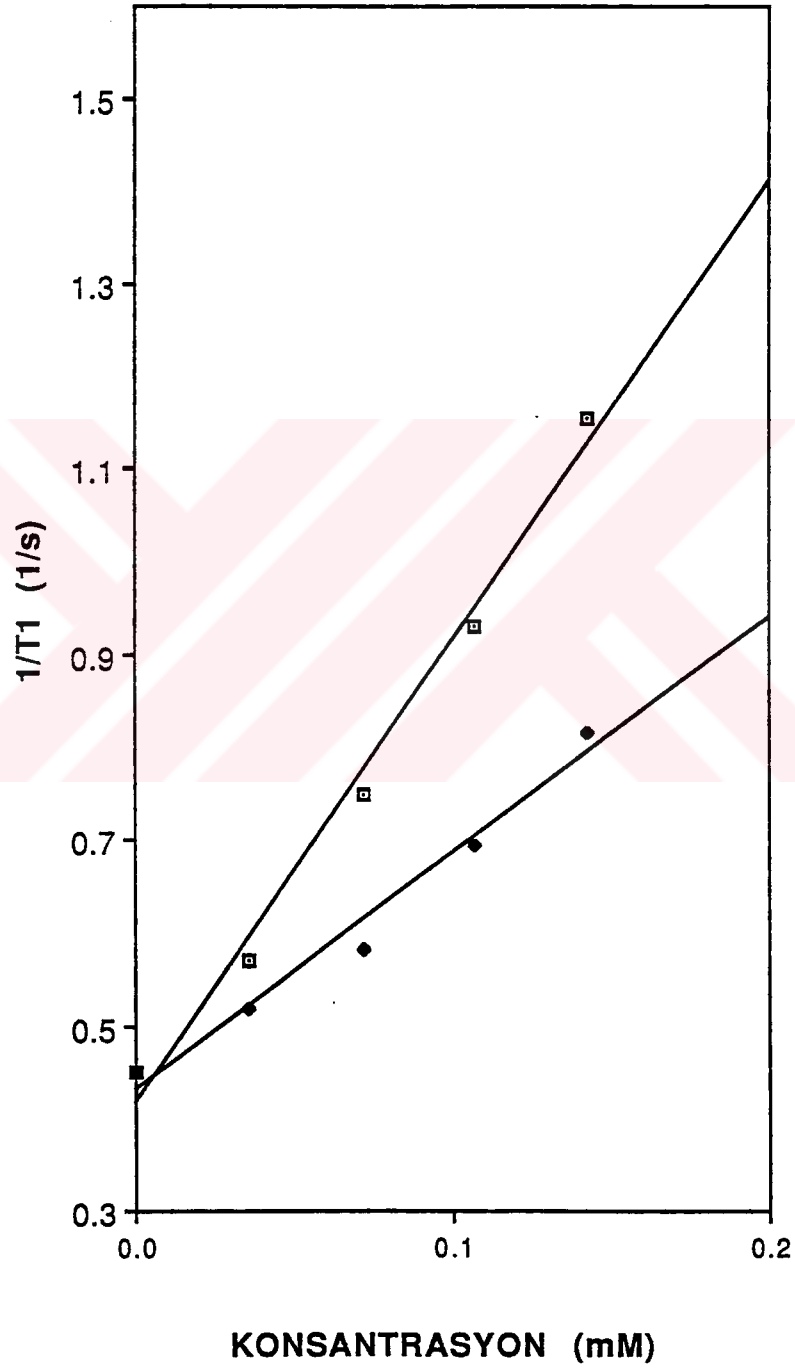
Şekil 4.6 Süt ve süt sıvısının  $1/T_1$  Oranının  $\text{Cu}^{+2}$  iyon konsantrasyonuna bağlılığı.



Şekil 4.7 Süt ve süt sıvısının  $1/T_1$  oranının  $Zn^{+2}$  iyonu konsantrasyonuna bağlılığı.



Şekil 4.8  $Fe^{+3}$  iyonun eklenmesiyle ve beklemeden sonraki ölçülen bütün  $1/T_1$  oranının iyon konsantrasyonuna bağılılığı.



Şekil 4.9 Fe<sup>3+</sup> iyonunun eklenmesiyle ve beklemeden sonraki süt sıvısının 1/T<sub>1</sub> oranının iyon konsantrasyonuna bağlılığı.

	İyon	R	r	En küçük kareler fiti
Tüm Süt	Cu <sup>+2</sup>	0.930	0.99	1/T <sub>1</sub> (süt)=0.486+0.930x
	Zn <sup>+2</sup>	0	0	1/T <sub>1</sub> (süt)=0.475
	Fe <sup>+3</sup>	3.990	0.99	1/T <sub>1</sub> (süt)=0.443+3.990x
Süt sıvısı	Cu <sup>+2</sup>	0.430	0.98	1/T <sub>1</sub> (s.s.)=0.478+0.430x
	Zn <sup>+2</sup>	0	0	1/T <sub>1</sub> (s.s.)=0.475
	Fe <sup>+3</sup>	4.970	0.99	1/T <sub>1</sub> (s.s.)=0.416+4.970x

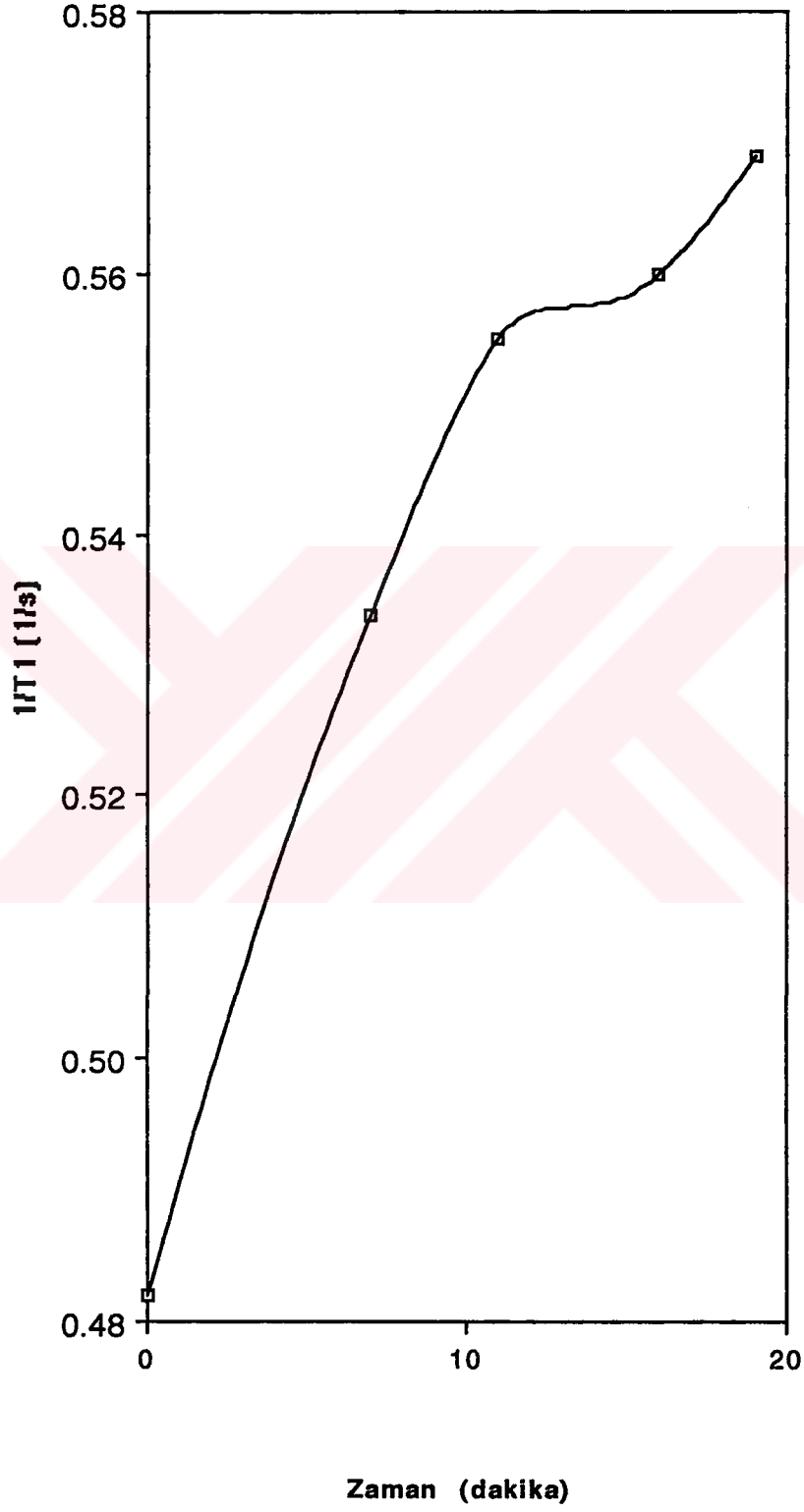
Tablo 4.10 Süt ve süt sıvısının 1/T<sub>1</sub> oranının Cu<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup> ve Fe<sup>+3</sup> iyonlarının konsantrasyonlarına karşı en küçük kareler fit değerleri.

Konsantrasyon (mM)	Zaman (dak)	T <sub>1</sub> Süt (s)	1/T <sub>1</sub> Süt (1/s)
0	0	2.074	0.482
0.089	7	1.872	0.534
	11	1.800	0.555
	16	1.786	0.560
	19	1.757	0.569

Tablo 4.11 pH=2 de anne sütünne Fe<sup>+2</sup> iyonun eklenmesiyle zamanla değişen T<sub>1</sub> ve 1/T<sub>1</sub> değerleri.

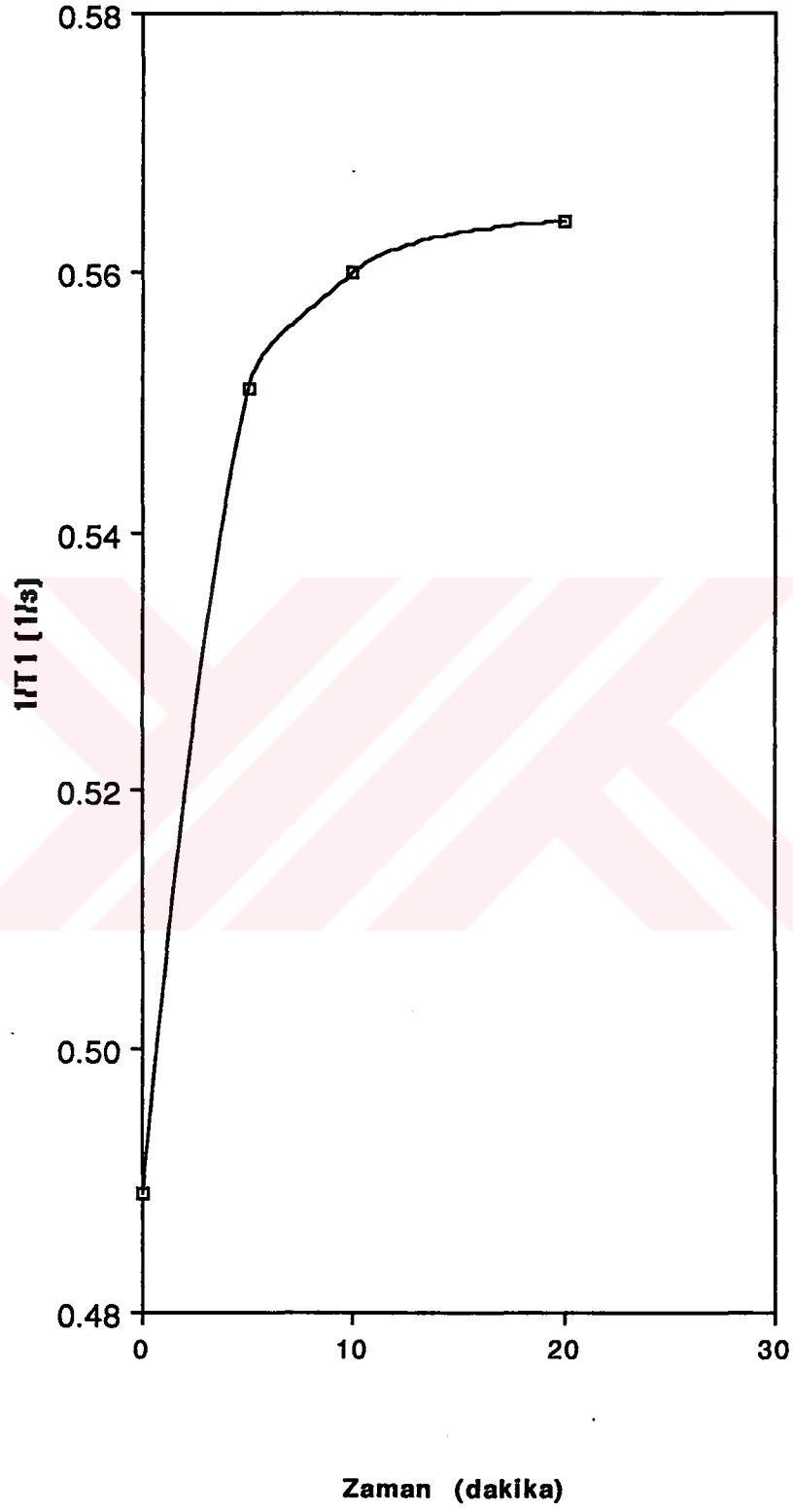
Konsantrasyon (mM)	Zaman (dak)	T <sub>1</sub> Süt Sıvısı (s)	1/T <sub>1</sub> Süt sıvısı (1/s)
0	0	2.045	0.489
0.089	5	1.814	0.551
	10	1.786	0.560
	20	1.771	0.564

Tablo 4.12 pH=2 de sütün sıvısına Fe<sup>+2</sup> iyonun eklenmesiyle zamanla değişen T<sub>1</sub> ve 1/T<sub>1</sub> değerleri.



Şekil 4.10  $Fe^{+2}$  iyonu eklenmiş sütün  $1/T_1$  oranının zamana bağlılığı.





Şekil 4.11  $Fe^{+2}$  iyonu eklenmiş süt sıvısının  $1/T_1$  oranının zamana bağlılığı.

## BÖLÜM 5: TARTIŞMA VE SONUÇ

Şekil 4.1 de görüldüğü üzere incelenen süt örnekleri gözönüne alındığında  $1/T_1$  rölaksasyon oranı kolostrumda en yüksek değeri almakta, matüre süt döneminde düzenli olarak azalmaktadır. Doğum öncesi ile ilgili alınan birkaç süt örneğinin  $1/T_1$ 'i de kolostrum sütünden düşük olduğu gözlenmektedir. Biz bu araştırmada dikkatimizi kolstrum ve daha sonraki dönem (matüre süt) üzerine yoğunlaştırdık.

Kolostrum dönemine ait (0-5 gün)  $1/T_1$ 'in zamana göre grafiğinden görüldüğü gibi (Şekil 4.2) rölaksasyon oranı ilk 24 saat içerisinde hızlıca düşmekte ve daha sonraki düşüş yavaşlamaktadır. Bu nedenle dikkatimizi ilk 24 saatin datasına teksif ettik.

Doğumu izleyen ilk 24 saatin  $1/T_1$  oranının zamana bağlılığından (Şekil 4.3) görüldüğü üzere rölaksasyon oranının düşüşü hemen hemen lineer olmaktadır.

Kolostrum ve matüre süt dönemleri bir arada düşünülürse, rölaksasyon oranının zamana göre düşüşü (Şekil 4.4) görüldüğü gibi lineer olmaktadır.

Anne sütü temel olarak su, yağ, proteinler ve iyonlardan meydana gelmiştir(11). Geçmiş çalışmalardan iyi bilinmektedir ki kolostrumdan başlayarak laktasyon dönemi boyunca sütteki protein ve iyon miktarı azalmaktadır (9). Öte yandan herhangi bir çözeltideki rölaksasyon oranının ( $1/T_1$ ) o çözeltinin protein ve paramanyetik iyon konsantrasyonundan katkı aldığı çok iyi bilinmektedir (14,17). Bu nedenle de kolostrum sonrası sütün rölaksasyonundaki düşüş protein ve iyon miktarındaki azalmayla ilgili olmalıdır.

Sütteki en temel paramanyetik iyonlar  $Fe^{+3}$  ve  $Cu^{+2}$  olmaktadır. Bu iyonlar askorbik asidin eklenmesiyle indirgenliğini ve indirgenmiş halin paramanyetizmasının da hemen hemen sıfır olduğu bilinmektedir. Bu nedenle doğal pH'daki süt ve süt sıvısına askorbik asit eklenmeden önce

ve sonra ölçüm yapıldı. Çok zayıf bir paramanyetik katkının varlığı tespit edildi (Tablo 4.5). Öte yandan bir paramanyetik iyon çözeltisinin pH'ı azaltıldığında paramanyetik katkının arttığı biliniyor (15). Birim iyon konsantrasyonu (Mm) başına paramanyetik katkının artışını ifade eden röleksivitenin pH'a bağlılık grafiği (Şekil 4.5) daha önceki çalışmaları doğrulamaktadır. Bundan dolayı tüm süt ve süt sıvısının pH=2' de askorbik asit eklenmeden evvel ve sonraki  $T_1$  değerlerini de ölçerek bu paramanyetik etki daha iyi algılanabilir hale getirildi. Tablo 4.5 sütün  $1/T_1$  oranına paramanyetik katkının varlığını kesin olarak doğrulamaktadır.

Bu katkının daha çok  $Cu^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$  ve  $Zn^{+2}$  iyonlarından mı yoksa herhangi bir iyondan mı geldiğini anlamak için, Tüm süt ve süt sıvısının her birinden bu iyonların röleksivitesi saptandı. Tablo 4.8 ve 4.9 de görülen değerlerin grafiklerinden (Şekil 4.6-4.9) Tablo 4.10 daki veriler elde edildi. Tablodan görüldüğü üzere  $Fe^{+3}$ 'ün proton röleksivitesi  $Cu^{+2}$  nin proton röleksivitesinden sütte 5 kere, süt sıvısında 10 kere daha büyüktür. Bu nedendenle sütteki paramanyetik katkının  $Fe^{+3}$ 'den geldiği düşünülebilir.

Bununla beraber gerek  $Fe^{+2}$  ve gerek  $F^{+3}$  iyonu eklenen sütte dinamik denge hemen kurulamamakta ve bu nedenle röleksasyon zamana bağlı olmaktadır.  $Fe^{+2}$  eklenmiş süt ve süt sıvısı için röleksasyon zamana bağlılığından (Tablo 4.11,4.12 ile Şekil 4.10, 4.11) görüldüğü üzere röleksasyon 20 dakika sonra kararlı hale gelebilmektedir. Buradaki röleksasyon artışı  $Fe^{+2}$  nin  $Fe^{+3}$ 'e yükseltgenmesini akla getirmektedir. Bu nedenle de bu verilerden  $Fe^{+2}$ 'nin röleksivitesini tespit etmek mümkün değildir. Bununla beraber  $Fe^{+2}$  nin röleksivitesinin çok küçük olduğu bilinmektedir (15). Bu nedenle de sütte bir paramanyetik katkıda bulunması düşünülemez.  $Zn^{+2}$ 'nin röleksivitesi çok küçük olduğundan (Tablo 4.8) süte bir paramanyetik katkısı beklenemez. Bu nedenle gözlenen katkı  $Fe^{+3}$  ve  $Cu^{+2}$ 'den gelmelidir. Yukarıda da belirtildiği gibi

katkının  $Fe^{+3}$  geldiğini akla getirir. Burada şunu da belirtelim ki  $Fe^{+3}$  eklenen sütün rölaksasyonu da zamana bağlılık göstermektedir.  $Fe^{+2}$  nin aksine rölaksivite azalmaktadır. Biz rölaksivite için ilk ölçümün değerlerini kullandık. Nümuneye  $Fe^{+3}$  ün eklenmesinden ilk ölçüm yapılmasına kadar geçen süre içerisinde rölaksivitede bir miktar azalmanın olması kaçınılmazdır. Bu nedenle de orjinal rölaksivite değeri 5 ten daha büyük olmalıdır.  $Fe^{+3}$ 'ün rölaksivitesinin azalması bir çökmeye veya bağlanma gibi olaylarla ilintili olabilir.

Bir çözeltideki paramanyetik iyonun varlığını çözeltinin  $1/T_1$  oranını artırdığı NMR nin ilk günlerinden beri bilinmektedir (14,21). Bu teorinin ana hatları Kesim 2.6 da paramanyetik durulma adı altında incelendi ve  $1/T_1$  için (2-41) formülü türetildi. Bu bağıntılar sütü de içeren bütün paramanyetik çözeltilere uygulanabilir ve deney ile teorinin uyuşup uyuşmadığı sımanabilir. Ne varki biz bundan ziyade bir paramanyetik iyonun rölaksasyonu kısaltma yeteneği ile (rölaksivite) ilgilendik. Tablo 4.10 dan görüldüğü üzere süt ve süt sıvısının herbiri ve  $Cu^{+2}$  ve  $Fe^{+3}$  iyonlarının herbiri için  $1/T_1$ 'in iyon konsantrasyonuna bağlılığı anlamlı olarak,

$$1/T_{1S} = 1/T_{10} + RC \quad (5-1)$$

bağıntısına uymaktadır.  $1/T_{10}$ ,  $1/T_{1S}$  sırasıyla iyon eklenmeden önceki ve sonraki çözelti rölaksasyon zamanı olmaktadır. R iyonun proton rölaksivitesi, C ise iyon konsantrasyonu olmaktadır.

Bir çözeltideki su protonu iki farklı çevre (a ve b) arasında hızlı değiş-tokuş yaparsa

$$1/T_1 = P_a / T_{1a} + P_b / T_{1b} \quad (5-2)$$

ile verilir (27). Burada  $P_a$ , a çevresinde ve  $P_b$  ise b çevresinde su protonunun bulunma olasılığıdır.  $1/T_{1a}$  ve  $1/T_{1b}$  ise sırasıyla a ve b çevresinde su protonunun rölaksasyon oranıdır. (5-2) bağıntısı yeni düzenlemelerle (5-1) denklemine benzer hale getirilebilir. Şöyleki;

çevresinde su protonunun rölaksasyon oranıdır. (5-2) bağıntısı yeni düzenlemelerle (5-1) denklemine benzer hale getirilebilir. Şöyleki;

$$1/T_1 = P_a / T_{1a} + P_b / T_{1b}$$

toplam olasılık;

$$P_a + P_b = 1 \Rightarrow P_a = 1 - P_b$$

dir.

$$\begin{aligned} 1/T_1 &= \frac{1 - P_b}{T_{1a}} + \frac{P_b}{T_{1b}} \\ &= \frac{1}{T_{1a}} - P_b \left( \frac{1}{T_{1b}} - \frac{1}{T_{1a}} \right) \end{aligned}$$

$$P_b = KC$$

yazılır.

$$1/T_1 = \frac{1}{T_{1a}} + K \left( \frac{1}{T_{1a}} - \frac{1}{T_{1b}} \right) C \quad (5-3)$$

$$1/T_1 = 1/T_{1a} + [\text{Sabit}]C$$

Bu durumda süt ve süt çözeltisinin her ikisinde de su protonlarının paramanyetik iyonların koordinasyon küresi ile (bağlı hal) serbest faz arasında kimyasal teğiş-tokuş yaptığı düşünülebilir ve rölaksasyon mekanizması bu iki faz arasında ortalanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada, sütün  $1/T_1$  oranının Laktasyon süresi boyunca azaldığı ve bunun da protein ve iyon azalmasına paralellik gösterdiği vurgulandı. Süt ve süt sıvısının  $1/T_1$  oranına  $Fe^{+3}$  ün anlamlı bir katkıda bulunduğu belirlendi ve iyon eklenen çözeltilerin durulma mekanizmasının, iyona bağlı su ile serbest su arasındaki hızlı kimyasal değış-tokuştan kaynaklandığı kanıtlandı.

## BÖLÜM 6 : ÖZET

Bu çalışmada anne sütünün  $T_1$  rölaksasyon mekanizmasının zamanla nasıl değiştiğini açıklamak için, doğum öncesi ve sonrası dönemlere ait anne sütünün  $1/T_1$  oranlarının laktasyon periyotlarına bağlılığı incelenmiştir. Ölçümler 60 MHz de çalışan FT-NMR spektrometresi kullanılarak Inversion Recoveri ve Null metoduyla yapılmıştır.  $1/T_1$  oranının kolostrumdan olgun süte doğru laktasyon dönemleri süresince azaldığı gözlenmiştir.  $1/T_1$  deki bu azalma, sütteki total protein ve paramanyetik iyonun (özellikle  $Fe^{+3}$ ) konsantrasyonunun azalmasına paralel olduğu düşünülmektedir.

Ayrıca olgun anne sütüne çeşitli konsantrasyonlarda karıştırılan paramanyetik iyonların ( $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$ ) sütün  $1/T_1$  oranının etkileri iyon konsantrasyonuna bağlı olarak incelenmiştir. olgun anne sütünün  $1/T_1$  oranının paramanyetik iyonların eklenmesinden önceki ve sonraki değerlerinden proton rölaksivitesi hesaplanmıştır. Proton rölaksivitesi  $Fe^{+3}$  iyonu için anlamlıca, diğer iyonlar için çok küçük bulunmuştur. Bundan dolayı sütün  $1/T_1$  oranına iyon katkısının yalnızca  $Fe^{+3}$  iyonundan gelebileceği sonucuna varılmıştır.  $Fe^{+3}$  iyonu varlığında bu işlemler yapılırken fizyolojik pH da ( $pH \approx 7$  civarı)  $1/T_1$  oranının küçük olduğu  $pH=2$ 'ye indirilirken bu oranın oldukça büyüdüğü gözlenmiştir.

## BÖLÜM 7 : SUMMARY

In this study, the dependence of spin-lattice relaxation rates ( $1/T_1$ ) in human milk, belonging to pre and post-birth periods, to the lactation periods has been investigated in order to explain how relaxation process in human milk changes over time. The measurements were carried out by inversion recovery and null methods, using an FT-NMR spectrometer operating at 60 MHz. It was observed that relaxation rate of human milk decreased during lactation periods from colostrum towards mature milk. It has been supposed that this decrease in  $1/T_1$  is paralel to that of total protein and paramagnetic ions concentrations (especially  $Fe^{+3}$ ) in human milk.

Moreover, the effects of paramagnetic ions ( $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$ ) added to the milk at various concentrations, on relaxation rate of the milk have been investigated, depending on ion concentrations. The relaxivity of proton has been calculated through the values of relaxation rate of mature milk before and following the addition of paramagnetic ions. The relaxivity of proton has been found to be significant for  $Fe^{+3}$  ions while it has been very small for other ions. Therefore, it has been concluded that the ion contribution of the milk to relaxation rate may be based upon  $Fe^{+3}$  only. While these processes were conducted in the existence of  $Fe^{+3}$  ion, it has been observed that the relaxation rate was small in physiological pH (near  $pH \approx 7$ ), and that this rate increased considerably as it was lowered to  $pH=2$

## BÖLÜM 8 : KAYNAKLAR

1. ABRAGAM, A.,The principle of Nuclear Magnetism, Oxford press,1961.
2. APAYDIN, F.,Manyetik Rezonans,Çağdaş Fizik Bilimsel ve Mesleki Dergi,8;24-33,1979.
3. APAYDIN, F., NMR Görüntüleme, Çağdaş Fizik Bilimsel ve Mesleki Dergi,15;15-25,1983.
4. APAYDIN, F.,NMR Spektroskopisinde son Gelişmeler, Çağdaş Fizik Bilimsel ve Mesleki dergi,18;18-29,1986.
5. BİLİR, Ş.,Ana ve Çocuk Sağlığı 14;Hacetepé Üniversitesi yayını 1979.
6. BLOCH, F.,HANSEN,W.W.,and PACKARD,M.,Nuclear Induction Phys. Rev.,69;127(1946).
7. BOVEY, F.A., High Resolution NMR Of Macromolecules, Academic Press, New York and London, 1972.
8. FARRAR,T.C.,and BECKER, E.D., Pulse and Fourier Transform NMR, Acad, Press Inc, New York,1971.
9. GEORGE,D.N. and LEBENTHAL, Human Breast Milk in Comparison to Cow's Milk. Textbook of gastroenterology and nutrition in infancy, ed, E Lebenthal, pp.295-320, New York, Raven press.,1981.
10. GÜLTEKİN,A.,Anne ve İnek Sütünün özellikleri ile suni veya yapay beslenme.C.Ü.Tıp Fak.Dergi,8(1-2);233-243(1986).
11. HABRAEUS, L., Human Milk Composition. Nutur, Abstracts Rewiews., 54:219-236(1984).
12. Infant and child feeding current issues. WHO/UNICEF, Geneva, 1981.
13. Instrumentations Jeol,Jeol.,Tokyo,Japan
14. KOENİG,S.H.,BROWN III R.D.,Relaxation of solvent protons by paramagnetic ions and its Dependence on Magnetic Field and Chemical Environment: Implications for NMR imaging, 1(4);478-495(1987).
15. KOENİG, S.H., BAGLİN.C.M., and BROWN III.,R.D., Magnetic field dependence of solvent proton relaxation in aqueous solutions of Fe(III) complexes,Magn.Reson.Med(2);283-8(1985).



16. KOWALEWSKI,J.,NORDENSKIÖLD,L.,BENETIS,N. and WESTLUND, P.,Theory of nuclear Spin relaxation in paramagnetic Systems in Solution, Progress in NMR Spectroscopy.17;141-185(1985).
17. MARY, E.,(RIEPE) FABARY,KOENIG,S.H., and SCHILLINGER, W.E.,Nuclear Magnetic Relaxation Dispersion in Protein Solutions, The Journal of Biological Chemistry,245(17),4256-4262 (1970).
18. MORGAN,L.O.,NOLLE,A.W., J.Chem,Phys.,31,356(1959).
19. OYSUN, G., Süt Kimyası ve Biyokimyası.1.45. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayını,Yayın No.18,SAMSUN 1987.
20. PURCELL,E.M., TORREY,H.C.,and POUND, R. V., Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid, Phys. Rev. 69;37(1946).
21. RAEYMAEKERS,H.H., BORGHYS,D., and EISENDRATH ,H., Determinants of Water Proton T1 in Blood Serum, Magnetic Resonance in Medicine 6;212-216(1988).
22. SLICHTER, C.P., Principles of Magnetic resonance, New York 1963
23. TANZER,F. ve SUNEL,S., Yirmi Altı Hafta Anne Sütüyle Beslenmede Anne Sütüyle Anne ve Bebeklerin Serum Kalsiyum, Fosfor ve Magnezyum Düzeyleri. Doğa Tıp ve Ecz. Derg. 11(1); 11-120(1987).
24. The Importance Of Breast Feeding And Health Assigment Children Unicef, Geneva. 1981.
25. THOMAS I.Cames, Nuclear Magnetic Resonance in Bio-chemistry, 15-45, Academic Press, New York, San Francisco London(1975)
26. YILMAZ, A., CHU,S.C., and OSMANOĞLU,Ş., Dependence Of The Solvent Proton  $1/T_1$  On The Iron Content In Normal Human Serum, Magn. Reson.Med.7;337-9(1988).
27. ZIMMERMAN,J.R.,AND BRILTIN,W.E.,Nuclear magnetic Resonance Studies in Multiple Phase Systems: Lifetime of a water molecule in an absorbing phase on silica gel.61;1328-1333 (1957).