T.C

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI BALIK DOKULARINDA SELENYUM BİRİKİMİNİN HİDRÜR OLUŞTURMA VE GRAFİT FIRIN ATOMİK ABSORBSİYON SPEKTROMETRİ İLE İNCELENMESİ

HASAN KURNAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DOÇ. DR. GÜLAY ŞEREN

EDİRNE -2013

BAZI BALIK DOKULARINDA SELENYUM BİRİKİMİNİN HİDRÜR OLUŞTURMA VE GRAFİT FIRIN ATOMİK ABSORBSİYON SPEKTROMETRİ İLE İNCELENMESİ

HASAN KURNAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

2013

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Ayten SAĞIROĞLU

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Gülay ŞEREN

Tez Danışmanı

Bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından Kimya Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri: İmza

Doç. Dr. Gülay ŞEREN

Doç. Dr. Hüseyin GÜHER

Yrd. Doç. Yıldız KALEBAŞI

Tarih: 07/10/2013

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

07/10/2013

Hasan KURNAZ

Yüksek Lisans Tezi

Bazı Balık Dokularında Selenyum Birikiminin Hidrür Oluşturma ve Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektrometri ile İncelenmesi

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada Gala Gölü, Enez'de yaşayan ve besin kaynağı olarak da tüketilen balık örneklerinde bulunan selenyumun (Se) Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (GFAAS) ve Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (HGAAS) yöntemlerinin karşılaştırılması esas alınarak tayini söz konusudur. Balık türü olarak Bulgar Tekkesi (*Carassius gibelio*) balığı üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu araştırma ile Gala Gölü'ndeki Bulgar Tekkesi (*Carassius gibelio*) balığındaki selenyum içeriğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Analizi yapılacak balık numuneleri Gala Gölü Balık Kooperatifinden taze olarak alınmıştır. Balıkların çeşitli organlarından (bağırsak, solungaç, kas, deri) alınan bir gramlık numunelerin üzerine 2 mL H_2O_2 ve 6 mL HNO_3 ilave edildi. Numunelerin asitle parçalanıp analize hazırlanması için CEM MARSXpress 5 mikrodalga çözme sistemi kullanıldı. Mikrodalga sistemi çözünürleştirmenin daha kısa sürede olması, daha az asit tüketilmesi ve uçucu bileşiklerin çözücü içinde kalması gibi üstünlüklerinden dolayı diğer klasik yöntemlere göre avantajlıdır. Çözünürleştirilen numuneler süzülerek ultra destile su ile 20 mL'ye tamamlandı ve analize kadar saklanmak üzere HDPE saklama kaplarına alındı ve derin dondurucuda -85 ^{0}C muhafaza edildi.

Çözünürleştirilen balık dokuları optimum şartları belirlenen GFAAS ve HGAAS ile analizlendi. Bu sonuçlara göre selenyum miktarı; bağırsak numunelerinde 0.265 µg/g (GFAAS) ve 0.504 µg/g (HGAAS); solungaç numunelerinde 0.201 µg/g (GFAAS) ve 0.489 µg/g (HGAAS); kas numunelerinde 0.132 µg/g (GFAAS) ve 0.437 µg/g (HGAAS); deri numunelerinde 0.147 µg/g (GFAAS) ve 0.376 µg/g (HGAAS) olarak bulunmuştur. Yapılan tüm analizlerde RSD değerleri %8' in altındadır. Elde edilen sonuçlar literatür değerleri ile uyumlu bulunmuştur.

Yıl : 2013

Sayfa Sayısı: 69

Anahtar Kelimeler: Bulgar Tekkesi, *Carassius gibelio*, HGAAS, GFAAS, Selenyum

Master Thesis

Investigation of selenium accumulation in some fish species with by hydride generation and graphite furnace atomic absorption spectrometry methods.

Trakya University Institute of Natural Sciences

Department of Chemistry

ABSTRACT

In this study, selenium contents of in the fish tissues samples were determined by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS) and Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry (HGAAS) at Lake of Gala, Enez. Studies have been conducted on fish species, *Carassius gibelio.* This research has been aimed to determine the selenium contents in *Carassius gibelio* samples in the Lake of Gala.

Fish samples were taken fresh from the Cooperative of Gala Lake. 1 gram samples of fishes various organs (intestine, gill, muscle, skin) were dissolved with 6 mL HNO_3 and 2 mL H_2O_2. Preparation of samples for acid fragmentation analysis system was used to solve CEM microwave MARSXpress 5. The advantages of microwave digestion against the classical methods are shorter time, less consumption of acid and keeping volatile compounds in the solutions. Samples were filtration by filter paper. They were complete with distilled water to 20 mL and they were kept -85ºC until analysis in HDPE containers.

Samples were analyzed by GFAAS and (HGAAS). According to these results, the amount of selenium: 0.265 µg/g (GFAAS) and 0.504 µg/g (HGAAS) for intestinal samples; 0.201 µg/g (GFAAS) and 0.489 µg/g (HGAAS) for gill samples; 0.132 µg/g (GFAAS) and 0.437 µg/g (HGAAS) for muscle samples; 0.147 µg/g (GFAAS) and 0.376 µg/g (HGAAS) for skin samples. RSD values below %8 in all analyze. The results were in agreement with literature values.

Year : 2013

Number of pages : 69

Keywords : Prussian carp, *Carassius gibelio*, HGAAS, GFAAS, Selenium

TEŞEKKÜR

Tez danışmanlığımı üstlenen ve bana bu konuda çalışma fırsatı sağlayan, çalışmalarım sırasında manevi desteğini esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Gülay ŞEREN'e,

Laboratuvar çalışmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı ve manevi desteğini her zaman hissettiren hocam Sayın Yrd. Doç. Yıldız KALEBAŞI'na,

Tür tayini konusunda bize yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen hocam Sayın Yrd. Doç. Çiğdem GÜRSOY GAYGUSUZ'a ve tüm bölüm hocalarıma,

Tez çalışmam boyunca hiçbir desteği esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Yusuf KAYAALP'e, Nilgün DAĞDELEN'e, Mümün ŞENTÜRK'e, Fatih UZUN'a ve diğer tüm bölüm arkadaşlarıma,

Yüksek lisans eğitimim boyunca maddi, manevi desteği ile her an yanımda olan sevgili aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım…

Tez çalışmamız " Bazı Balık Dokularında Selenyum Birikiminin Hidrür Oluşturma ve Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektrometri ile İncelenmesi" isimli TÜBAP 2012/101 numaralı proje ile desteklenmektedir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLOLAR DİZİNİ	viii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	3
ATOMİK SPEKTROSKOPİ VE ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRE	3
2.1. Atomik Spektroskopi	3
2.2. Atomik Absorpsiyon Spektrometreleri	4
2.2.1. Atomlaştırıcılar	6
2.2.1.1 Alevli Atomlaştırıcılar	6
2.2.1.2 Elektrotermal Atomlaştırıcılar	8
2.2.2. Grafit Fırınında Isısal İşlemler ve Sıcaklık Programı	10
2.2.3 Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi	12
2.2.3.1. Yöntemin Esası ve Prensibi	12
2.3. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler ve Önlenmesi	14
2.3.1. Zemin Düzeltme Teknikleri	15
2.3.2. Hidrür Oluşturma Yönteminde Girişimler ve Önlenmesi	17
BÖLÜM 3	19
ESER ELEMENTLER	19
3.1. Eser Elementler ve Önemi	19
3.2. Eser Elementler ve Çevre	20
3.3. Eser Element ve Konsantrasyon Aralığı	22
3.4. Biyolojik Örneklerde Eser Elementler	23
3.5. Eser Element Analizlerinde Örnekleme ve Örnek Hazırlama	24
3.6. Eser Element Analizlerinde Çözünürleştirme Teknikleri	26
3.6.1. Eser Elementlerde Mikrodalga Çözünürleştirmeler	27
3.6.1.1. Tarihsel Gelişim	27
3.6.2. Çözünürleştirmede Kullanılan Asitler	29
3.7. Eser Element Analizlerinde Çözünürleştirme Metotlarında Sistematik Hatalar	30
3.8. Selenyum	31
3.8.1. Selenyumun özellikleri	31
3.8.2. Selenyumun Biyolojik Önemi ve Vücuttaki İşlevleri	31
3.8.3. Selenyum Kaynakları	33
3.8.4. Selenyum Alımı	33
3.8.5. Selenyum Eksikliği ve Buna Bağlı Hastalıklar	34
3.8.6. Selenyumun Zehirliliği	35
3.8.6.1. Selenyumun Gravimetrik Tayini	35
3.8.6.2. Selenyumun Titrimetrik Tayini	36
3.8.6.3. Selenyumun Elektrokimyasal Tayini	37
3.8.6.4. Selenyumun Spektroskopik Tayini	39

BÖLÜM 4

41
MATERYAL VE METOT 41
4.1. Gala Gölü ve Coğrafi Konumu 41
4.2. Balık Örneklerinin Toplanması 42
4.3. Numunelerin Analize Hazırlanması 42
4.4. Numunelerin Çözünürleştirilmesi 42
4.5. GFAAS'de Çalışma Koşulları ve Metot Geliştirme 43
4.6. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre ile Analiz 45
4.7. Ultrasaf Su Sistemi 46
4.8. Analitik Terazi 46
4.9. Numunelerin Analizinde Kullanılan Kimyasal Maddeler 46
4.10. Tez Çalışmasında İncelenen Balık Türü Bulgar Tekkesi (*Carassius gibelio*) 47

BÖLÜM 5 48
SONUÇLAR 48
5.1. Numunelerin Hazırlanması 48
5.2. GFAAS Analiz Sonuçları 49
5.3. HGAAS Analiz Sonuçları 51
5.4. Balık Numunelerindeki Se Konsantrasyonlarının GFAAS ve HGAAS Sonuçları Açısından Karşılaştırılması 53
KAYNAKLAR 62
ÖZGEÇMİŞ 69

SİMGELER DİZİNİ

AAS : Atomik Absorpsiyon Spektrometri

AFS : Atomik Fluoresans Spektrometri

EPA : Environmental Protection Agency

ETAAS: Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrometri

FAAS : Flame Atomik Absorpsiyon Spektrometri

GFAAS: Graphite Furnace Atomik Absorpsiyon Spektrometri

HDPE : High Density Poly Ethylene

HGAAS: Hydride Generation Atomik Absorpsiyon Spektrometri

ICP : Inductively Coupled Plasma

ICP-AES : Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry

ICP-MS: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

ICP-OES: Inductively Coupled Plasma Optic Emission Spectrometry

ISO : International Organization for Standardization

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

LOD : Limit of Detection

LOQ : Limit of Quantitation

MHS-15: Mercury Hydride System

NAA : Neutron Activation analysis

QTA : Quartz Tube Atomizer

RSD : Relative Standard Deviation

STPF : Stabilized Temperature Platform Furnace

THGA: Transversely Heated Graphite Atomizer

XFS : X-IĢınları Fluoresans Spektroskopisi

EDL : Elektrotsuz boĢalım lambası

OKL : Oyuk Katot Lambası

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Atomik absorbsiyon spektrometresinin genel şeması 4

Şekil 2.2. Oyuk katot lambası 5

Şekil 2.3. Alevde atomlaşma basamakları ve alevdeki diğer olaylar 7

Şekil 2.4. a) Bir grafit fırının kesiti b) L'vov platform ve grafit fırındaki durumu 9

Şekil 2.5. Hidrür oluşturma sistemi 13

Şekil 2.6. Magnetik alanda hatların yarılması 16

Şekil 4.1. Gala Gölü Milli Parkının konumu 41

Şekil 4.2. Balık Anatomisi 42

Şekil 4.3. Mikrodalga çözünürleştirme sistemi 45

Şekil 4.4. Atomik absorpsiyon spektrofotometre (Perkin Elmer AAnalyst 800 model) 46

Şekil 4.5. Bulgar Tekkesi Balığı (*Carassius gibelio)* 47

Şekil 5.1. GFAAS yöntemiyle bulunan Se içeriklerinin organlara göre dağılımı 50

Şekil 5.2. HGAAS yöntemiyle bulunan Se içeriklerinin organlara göre dağılımı 52

Şekil 5.3. Bağırsak için iki yöntemin karşılaştırılması 54

Şekil 5.4. Solungaç için iki yöntemin karşılaştırılması 55

Şekil 5.5. Kas için iki yöntemin karşılaştırılması 56

Şekil 5.6. Deri için iki yöntemin karşılaştırılması 57

Şekil 5.7. İki yöntemin ortalamalarının karşılaştırılması 58

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Farklı yaşlarda bulunan kişilerin günlük selenyum ihtiyaçları 34

Tablo 4.1. Örneklerin çözünürleştirilmesinde kullanılan mikrodalga yakma programı 43

43

Tablo 4.2. Yıkama metot parametreleri

44

Tablo 4.3. GFAAS'de çalışma koşulları

44

Tablo 4.4. Se örnekleri analizinde uygulanan sıcaklık programı

Tablo 5.1. *Carassius gibelio* (Bulgar tekkesi) için ağırlık ölçümleri 48

Tablo 5.2**.** GFAAS yöntemiyle balık örneklerindeki Se içeriklerinin organlara göre dağılımı 50

Tablo 5.3. HGAAS yöntemiyle balık örneklerindeki Se içeriklerinin organlara göre dağılımı 52

Tablo 5.4. Bağırsak için iki yöntemin bulunan Se içerikleri (µg/g) 54

Tablo 5.5. Solungaç için iki yöntemin bulunan Se içerikleri (µg/g) 55

Tablo 5.6. Kas için iki yöntemin bulunan Se içerikleri (µg/g) 56

Tablo 5.7. Deri için iki yöntemin bulunan Se içerikleri (µg/g) 57

Tablo5.8. İki yöntemin ortalamalarının karşılaştırılması 58

Tablo 5.9. GFAAS ve HGAAS ölçüm sonuçlarının istatistiksel karşılaştırılması 59

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Temel (esansiyel) elementler canlı vücudunda önemli fonksiyonlara sahiptirler. İskelet yapısının formasyonu, kolloidal sistemin (osmotik basınç, viskozite, difüzyon) devamı ve asit-baz dengesinin düzenlenmesinin yanı sıra hormonlar ve enzimleri aktive eden önemli bileşenlerdir. Spesifik eser elementler (Fe, Mn, Cu, Co, Zn, Mo, Se vb.) metaloenzimlerde, tek bir katalitik fonksiyonu yürüten spesifik bir protein ile birleşirler ve birçok enzim sisteminde kofaktör olarak görev yaparlar [1, 2].

Sulardaki anorganik kirlenmenin en önemli kaynağını ağır metaller oluşturur. Ağır metaller erozyonla taşınan kaya parçalarıyla, rüzgarın taşıdığı tozlarla, volkanik aktivitelerle, ormanların yanmasıyla ve bitki örtüsüyle sulara taşınır. Kimyasal kirleticiler atmosfer yoluyla da önemli ölçüde sucul ortama karışır. Çünkü atmosferde bulunan bu elementler zamanla rüzgar ve yağışlarla suya geçmekte ve sucul sistem üzerinde etkili olmaktadır. Sulardaki ağır metal kirliliğinin sebeplerinin başında madencilik endüstrisi gelmektedir. Maden cevherlerinden metallerin kazanılması sırasında meydana gelen atıklar, çoğu kez tabi tutuldukları işlemlerle aktifleşip birer kirlilik kaynağı haline gelir. Bu metaller daha sonra atmosferik etkilerle çözünerek yeryüzü ve yeraltı sularına geçmektedir. Önemli kirleticiler arasında bulunan ağır metaller sonuçta organizmalarda birikerek zararlı seviyelere ulaşmakta ve canlı hayatını tehdit etmektedir. Sedimentte biriken ağır metallerin konsantrasyonu dipte bulunan sediment parçacıklarının oranına, parçacıkların boyutuna ve sedimentte organik maddelerin bulunup bulunmamasına göre değişiklik gösterir. Sediment ağır metaller için önemli bir birikim yeridir ve bu nedenle sucul ortamların metal kirliliğinin

belirlenmesinde kullanılır [3].

Ağır metaller beslenme zinciriyle, ya doğrudan planktonlarla ya da su ortamındaki diğer tüketici organizmalarla balıklara geçmektedir. Bu metallerin balıklardaki konsantrasyonu, balık türünün beslenme alışkanlığı ile ilgili olduğu gibi balığın dokuları ve organları arasında da farklılık gösterir. Sucul ortamdaki ağır metallerin balıklar tarafından bünyelerine alınması en fazla solungaçlar, vücut yüzeyi ve sindirim sistemi ile olmaktadır. Biyolojik döngünün bir halkasını oluşturan ve önemli bir protein kaynağı olarak tüketilen balıklarda giderek artan ağır metal birikimi hem balıklarda toksik etki yapmakta hem de insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir.

Biyolojik örneklerde eser element analizleri için kullanılan yöntemler FAAS (Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi), ETAAS (Elektrotermal Atomik Aborpsiyon Spektroskopisi, GFAAS), HGAAS (Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi), ICP-AES (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Atomik Emisyon Spektroskopisi), NAA (Nötron Aktivasyon Analizi), AFS (Atomik Fluoresans Spektroskopisi), XFS (X-Işınları Fluoresans Spektroskopisi) gibi yöntemlerdir. FAAS en çok tercih edilen yöntemdir ve gözlenebilme sınırları mg/L seviyesinde olduğu zaman kullanılır. Gözlenebilme sınırları µg/L seviyesinde ise ETAAS tercih edilmektedir. Ancak arsenik, selenyum, antimon, bizmut, kalay, kurşun gibi kolay buharlaşabilen elementlerin µg/L ve daha düşük derişimlerinin tayini söz konusu olduğu zaman ETAAS'de analitik problemlerle karşılaşılmaktadır. Çeşitli matriks düzenleyicilerle (matrix modifier) bu problemler giderilmeye çalışılsa da her zaman yeterli olmamaktadır. Bu nedenle bu tip elementlerin asidik ortamda sodyum borhidrür ile uçucu hidrürlerinin oluşturulabilmesi özelliğinden yararlanılarak HGAAS tekniği geliştirilmiştir. HGAAS, FAAS ve ETAAS'ye göre atomizasyon verimini arttırması, analiz elementini uçucu bir bileşiğine çevirerek matriksten ayırması nedeniyle gözlenebilme sınırlarını düşürmekte ve yüksek seçimlilik sağlamaktadır.

Bu çalışmada Gala Gölü'nde yaşayan ve besin kaynağı olarak da tüketilen Bulgar Tekkesi (*Carassius gibelio*) balık numunelerinde selenyumun (Se) GFAAS ve HGAAS yöntemlerinin karşılaştırılması esas alınarak tayini söz konusudur. Bugüne kadar Gala Gölü'nde, Bulgar Tekkesi (*Carassius gibelio*) balığında ağır metal içeriği üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu araştırma ile Gala Gölü'nde Bulgar Tekkesi balığı (*Carassius gibelio*) selenyum içeriğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

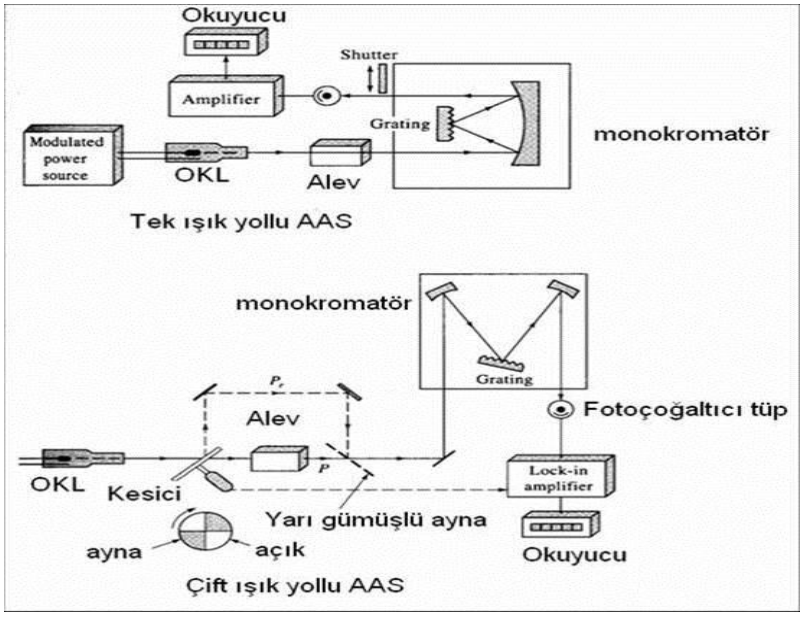
BÖLÜM 2

ATOMİK SPEKTROSKOPİ VE ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRE

2.1. Atomik Spektroskopi

Işığın renklerinin dalga boylarına göre dizilişi anlamında kullanılmış olan "spektrum" kelimesi, 1686 yılında, Newton' un bir prizmadan geçen güneş ışığının renklere ayrıldığını gözlemesi ile bilim diline girmiştir. Önce 1802 yılında Wollaston' un, daha sonra da Fraunhofer'in güneş ışığı spektrumun da bazı karanlık çizgiler gözlemeleri spektroskopinin başlangıcı olarak alınabilirse de, bilimsel olarak bu çizgileri 1859-1860 yıllarında Kirschoff'un, alev çalışmalarını esas alarak açıklaması ile başlatmak da mümkündür [4].

Atomik spektroskopi, atomik haldeki elementlere ait uyarılmış atomların ışın yaymasına veya temel haldeki atomların ışın absorpsiyonuna dayanmaktadır. Uyarılmış atom ve iyonlardan yayılan ışının dalga boyunun, elemente özgü olması ve yayılan ışın şiddetinin elementin değişimine bağlı olmasını esas alan atomik spektroskopik yönteme atomik emisyon spektroskopisi denir. Temel haldeki element atomlarının, kendilerine özgü dalga boylarında ışın absorplamalarına dayanan atomik spektroskopik yönteme de atomik absorpsiyon spektroskopisi denir. Atomik spektroskopi teknikleri içerisinde atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), 1950'lerden beri seçiciliği, basitliği ve kolaylığından dolayı en yaygın kullanılan tekniklerden biridir. AAS jeolojik, biyolojik, metalurjik, cam, çimento, yağ, sediment, farmakolojik ve atmosferik örneklerdeki eser metal analizlerinde sıklıkla kullanılmaktadır [4].



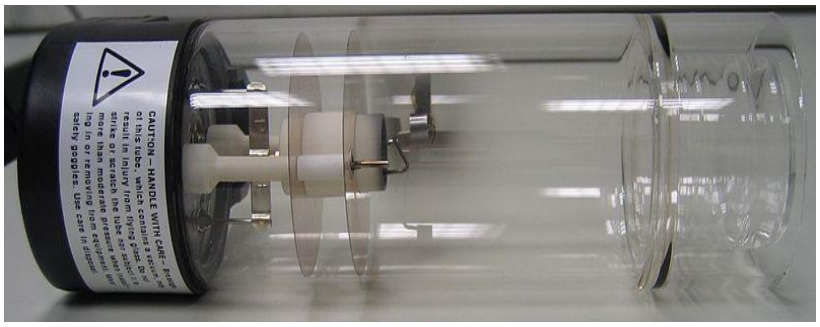
Şekil 2.1. Atomik absorbsiyon spektrometresinin genel şeması

2.2. Atomik Absorpsiyon Spektrometreleri

İlke olarak, diğer absorpsiyon spektrometrelerine benzeyen atomik Absorpsiyon spektrometrelerinin en önemli bileşenleri, analitin absorplayacağı ışını yayan ışık kaynağı, örnek çözeltisinin atomik buhar haline getirildiği atomlaştırıcı, çalışılan dalga boyunun diğer atomik dalga boylarından veya dağınık ışıktan ayrıldığı monokromator ve ışık şiddetinin ölçüldüğü dedektör olarak belirtilebilir [5].

AAS'de çeşitli ışık kaynakları kullanılmakla birlikte, günümüzde çoğunlukla oyuk katot lambaları kullanılmaktadır. Oyuk katot lambaları düşük basınçta (birkaç mm Hg) neon veya argon gibi asal bir gazla doldurulmuş silindir biçiminde lambalardır. Lambadaki katot, oyuk bir silindir şeklinde olup analiz elementinden yapılmıştır. Anot ise tungsten veya nikelden yapılmış teldir. Anot ile katot arasına 100 - 400 voltluk bir gerilim uygulandığında lamba içindeki asal gaz atomları iyonlaşır. Böylece ortamda iyonlar ve elektronlar oluşur. Bu iyonlar, katoda çarparak yüzeydeki metal atomlarını koparır. Atomlar, enerjik iyon ve elektronlarla çarpışarak uyarılırlar. Uyarılan atomlar, temel enerji düzeyine dönerken katot elementine özgü dalga boyunda ışın yayarlar. İncelenen

her element için, o elemente özgü oyuk katot lambasının spektrometreye yerleştirilmesi gerekir. Atomik absorpsiyon spektroskopisi ile tayinlerin en önemli dezavantajı, her element için ayrı bir oyuk katot lambası kullanımını gerektirmesidir. Bu nedenle çok elementli oyuk katot lambaları geliştirilmesi düşünülmüştür. Bu lambalarda katot, incelenecek elementleri içeren alaşımlardan, metalik bileşenlerden veya toz haline getirilmiş metal karışımlarından yapılır. Çok elementli lambalarda ortaya çıkan en önemli sorun, özellikle üçten fazla element içeren lambalarda, lambanın emisyon şiddetinin azalması ve bunun sonucu olarak gözlenebilme sininin büyümesidir [5].



Şekil 2.2. Oyuk katot lambası

Atomik Absorpsiyon spektroskopisinde analizin başarısı, atomlaştırmanın etkinliğine bağlı olduğundan, düzeneğin en önemli bileşeni atomlaştırıcıdır. Spektroskopik yöntemlerin çoğunda kullanılan aletin üstünlüğü, doğrudan monokromatörün ayırma gücüne bağlı olduğu halde; atomik Absorpsiyon spektroskopisinde bu, o kadar önemli değildir. Çünkü AAS' de analite özgü dalga boyunda ışın (bu çoğu zaman en şiddetli rezonans hattındadır) kullanıldığından monokromatörün görevi, oyuk katot lambasının yaydığı, incelenen elementin rezonans hattını dağınık ışıktan ve diğer dalga boylarından ayırmaktır. Bu da yüksek ayırıcılık gerektirmez. Çok basit bir monokromatör, emisyon spektrumu en karmaşık elementler için bile bu ayırmayı sağlayabilir.

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde ışık sinyalinin elektrik sinyaline dönüştürülmesi için, fotoçoğaltıcı tüpler kullanılır. Ultraviyole ve görünür bölgenin tümünde yeterli duyarlılığa sahip bir foto çoğaltıcı bulmak zordur. Bu nedenle ultraviyole bölge ile görünür bölgenin kısa dalga boylarında Cs ve Sb, görünür bölgenin daha uzun dalga boylarında ise Se katotlu tüpler kullanılır.

2.2.1. Atomlaştırıcılar

Atomlaştırıcının temel fonksiyonu, örnekteki analite ait molekül veya iyonlardan tayin edilecek elementin temel haldeki atomlarını oluşturmaktır. Bu, tüm atomik spektroskopik tekniklerde en güç ve en kritik işlemdir. Çünkü tayinin duyarlığı atomlaştırıcının etkinliğine bağlıdır. AAS'de üzerinde en çok çalışılan ve en yaygın kullanılan atomlaşma tekniği örneğin çözelti halinde aleve püskürtülmesidir. Bunun yanı sıra özellikle ultraeser konsantrasyonlarda metallerin tayini için "yarı alev" teknikleri kadar, elektrotermal teknikler, hidrür oluşturma, soğuk buhar tekniği de çok önemli atomlaştırma teknikleri arasındadır [4].

Atomlaştırıcılar genel olarak;

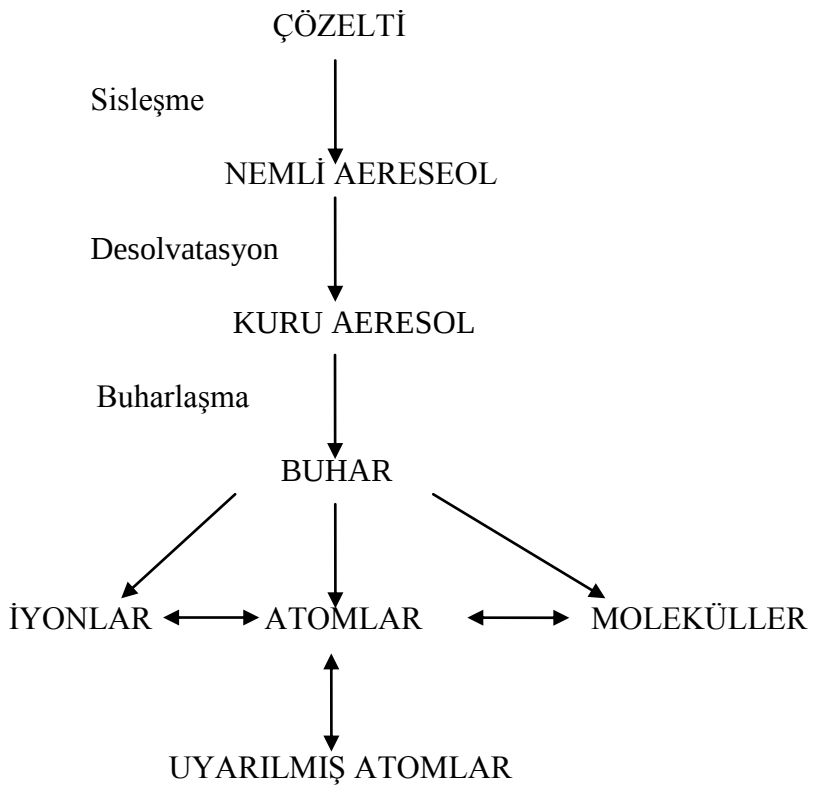
- Alevli atomlaştırıcılar,
- Elektrotermal atomlaştırıcılar,
- Hidrür oluşturmalı atomlaştırıcılar,
- Akkor boşalımlı atomlaştırma,
- Soğuk buhar atomlaştırma

olmak üzere beşe ayrılır.

2.2.1.1 Alevli Atomlaştırıcılar

Alevde, örneğin atomlaştırılmasında ilk işlem, çözelti halinde örneğin aleve püskürtülmesidir. Örnek çözeltisi aleve püskürtüldüğünde çözücünün buharlaşması ile çözelti damlacıkları kurur. Buharlaşma hızı damlacıkların boyutuna ve çözücü cinsine

bağlıdır. Oluşan katı tanecikler, alev sıcaklığının etkisi ile çeşitli değişikliklere uğrayabilirler. Organik maddeler yanar, inorganik bileşenler ayrışırlar, birbirleriyle veya alev gazları ile tepkimeye girerler. Çözücünün buharlaşması ile oluşan gaz halindeki moleküller atomlarına ayrışmaya başlar. Bu bir denge tepkimesidir ve buna paralel olarak yürüyen birçok tepkime de söz konusu olduğundan alevdeki olaylar genellikle çok karmaşıktır. Atomlaştırıcı olarak alevin seçilmesi halinde, sisteme çözelti halinde verilen örneğin atomik buhar haline gelinceye kadar geçirdiği değişimler Şekil 2.3'de gösterilmiştir:



Şekil 2. 3. Alevde atomlaşma basamakları ve alevdeki diğer olaylar

Bir alevde, incelenen atomlardan başka CO_2, CO, C, H_2O, O_2, O, H_2, H, OH, NO, N_2 gibi çeşitli yanma ürünleri de vardır. Alevde sıcaklığa bağlı denge tepkimeleri ile atomlar, radikaller, iyonlar vb. oluşurlar.

AAS'de kullanılacak bir alev, optik olarak geçirgen olmalıdır. Yani alevin kendisi herhangi bir absorpsiyon yapmamalı ve eğer mümkünse atomlaşma nicel olmalıdır. Tam olmayan atomlaşma, yalnızca daha az atom oluşmasına yol açmaz, aynı zamanda katı ve sıvı taneciklerin oluşmasına yol açarak alevde ve dolayısıyla ışık yolunda ışık saçılmasına sebep olur. Ayrıca ayrışmamış moleküller, geniş bir spektral aralıkta absorpsiyon yaptıklarından spesifik olmayan ışık kayıplarına neden olurlar. Her iki oluşum da analiz sonucuna olumsuz etki eder.

2.2.1.2 Elektrotermal Atomlaştırıcılar

Atomik absorpsiyon spektrometresinde ucuzluğu ve kullanım kolaylığı sebebiyle atomlaştırıcı olarak alev yaygın kullanılır. Ancak, daha iyi bir duyarlık ve gözlenebilme sınırı elde etme gereği, örneklerin daha ekonomik olarak kullanılabilmesi ve alev tekniğinin temel sınırlamaları aleve karşı çeşitli elektrotermal atomlaştırıcıların geliştirilmesine yol açmıştır. Elektrotermal atomlaştırma için grafit fırınlar, karbon çubuk ve filamanlar, örnek kayıkçıkları ve metal filamanlar kullanılmaktadır.

Elektrotermal atomlaştırıcılar aleve göre aşağıdaki üstünlüklere sahiptir [6];

1. Elektrotermal atomlaştırıcılarda küçük örnek hacimleri kullanılır (5-50 mL).
2. Alevde sisleştirilmesi zor olan viskoz sıvılarla kolaylıkla çalışılabilir.
3. Vakum UV bölgede tayini gereken analizler, oksijenin şiddetli absorpsiyonundan dolayı alevde tayin edilemez. Buna karşılık elektrotermal atomlaştırıcılarda inert gaz atmosferi sebebiyle tayin gerçekleştirilir.
4. Elektrotermal atomlaştırıcılarda zemin değer sinyalinin düşük olması S/N oranını artırarak, daha iyi gözlenebilme sınırı değerlerine ulaşılır.

5. Atomik buharın kimyasal ve ısısal çevresi daha iyi denetlenerek atomlaşma verimleri artar.

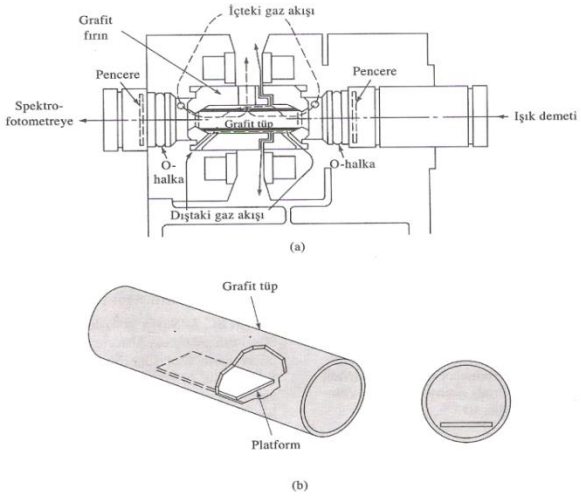
6. Özellikle ısısal olarak kararlı oksitler oluşturan elementlerin elektrotermal atomlaştırıcılarda buharlaşma ve atomlaşma verimleri aleve göre genellikle daha yüksektir.

7. Yukarıdaki karakteristikler ve atomik buharın, analitik hacim yani absorpsiyon ortamında kalma süresinin artması nedeniyle duyarlıkta 10^4 - 10^5 mertebesinde artma olur.

8. Sınırlı da olsa katı örneklerin doğrudan analizi mümkündür.

9. Alev ve elektrotermal tekniklerde analiz hızı yakındır.

Elektrotermal atomlaştırıcılar arasında en çok grafit fırın kullanılır. Grafit fırın, bir tür grafit tüp olup, 5-10 cm x 3 mm boyutundadır. İlk kez L'vov tarafından önerilen ve bu nedenle L'vov grafit fırını adı verilen bu düzenekte (Şekil 2.4) örnek çözeltisinin fırına yerleştirilmesinden sonra fırın elektriksel dirençle ısıtılarak atomlaşma sağlanır. Tüm düzenek, argon gazı atmosferinde tutularak grafitin yüksek sıcaklıklarda yanmasının önüne geçilir [4].



Şekil 2.4. a) Bir grafit fırının kesiti b) L'vov platform ve grafit fırındaki durumu

Atomik absorpsiyon spektrometrelerinde en çok kullanılan elektrotermal atomlaştırıcı türü, bulucusunun adından dolayı Massmann grafit fırını olarak adlandırılır. Bu atomlaştırıcı, uçlarına uygulanan düşük gerilimde (10 V) yüksek akımla (500 A) ısıtılır ve bu tür ısıtma, atomlaştırıcının istenilen sıcaklığa getirilmesini ve çalışılan elementin atomlaşması için gerekli sıcaklığın ayarlanabilmesini sağlar. Massmann tipi grafit fırınlarda da, sistemin içinden ve dışından sürekli azot veya argon gazı geçirilerek oksijenin etkisi engellenir. Grafit fırına örnek çözeltisi, küçük bir delikten enjekte edilir ve uygulanan sıcaklık programları ile örneğin atomlaşması sağlanır.

Sabit sıcaklıkta atomlaşma için önerilen bir başka yöntem de platform tekniğidir [4]. Bu teknikte, fırın içerisine yine grafitten yapılmış bir platform yerleştirilir ve örnek çözeltisi bu platformun üzerine enjekte edilir. Platformun ısınması, grafit fırının duvarlarından yayılan ısıma ile gerçekleştiğinden, platform sıcaklığı, grafit fırının duvar sıcaklığına oranla daha yavaş bir şekilde artar ve analiz elementinin atomlaşması, fırının hemen hemen sabit kaldığı bir sıcaklığa kadar geciktirilmiş olur. Atomlaşmanın başladığı sıcaklıkta analiz elementinin atomlaşmasına etki eden matriks etkileri böylece ortadan kaldırılmış olur.

2.2.2. Grafit Fırınında Isısal İşlemler ve Sıcaklık Programı

Analitin fiziksel ve kimyasal karakteristikleri onun fırındaki davranışını belirler. Analitin kimyasal çevresi olarak tanımlanan matriks (ortam) de önemlidir. Bu yüzden atomlaşma şartları ortama göre belirlenmelidir. Bu şartlar sıcaklık-zaman ilişkisi ile tayin edilir. Grafit fırında bu işlemler aşağıda açıklanan basamakları kapsar [4].

Kurutma Basamağı: Bu basamakta örneğin çözücüsü buharlaştırılır. Kurutma, kontrollü olmalıdır. Çözücünün buharlaşmasının yavaş ve düzgün olması sağlanmalıdır. Çözücünün hızlı kaynaması, örneğin köpürmesine ve sıçramasına sebep olur. Bazı örnek tanecikleri gaz akısı ile tüpün dışına taşınabilir. Gerekli ısıtma zamanı örnek türüne göre

değişir. Sudan farklı çözücüler ile kurutma sıcaklığı ve gerekli zamanın farklı olması, çözücülerin kaynama noktası ve yüzey gerilimlerinin farklı olmasından dolayıdır.

Isısal Önişlem Basamağı: Bu basamakta analit, girişime sebep olan matriks bileşenlerinden ayrılır. Biyolojik örnekler karbona parçalanır ve çok miktarda is ve duman oluşur. İnorganik bileşenler damıtılır, süblimleşir veya parçalanır. Şayet bu işlem analitin atomlaşması ile ayni zamanda olursa, doğru absorpsiyon sinyalinin ölçülmesi mümkün olmaz.

Analizin başarısı ısısal ön işlem şartlarının doğru seçilmesine bağlıdır. Gereğinden yüksek ısısal ön işlem sıcaklığı veya gereğinden uzun zaman kullanılması atomlaşma basamağından önce, önemli miktarda analit kayıplarına neden olur. Bu özellikle Hg, As, Se, Cd, Zn ve Pb gibi uçucu elementlerin tayininde önemlidir. Eğer analit ısısal olarak kararlı bileşikleri şeklinde mevcutsa atomlaşma basamağından önce matriksin tam olarak uzaklaşması mümkündür. Isısal on işlem sıcaklığı genellikle 470 - 770 K arasındadır.

Sıcaklık matrikse ve analitin buharlaşma sıcaklığına bağlıdır. Şayet matriks birkaç bileşen içerirse, iki veya daha fazla ısısal ön işlem basamağı kullanılabilir.

Atomlaşma Basamağı: Analitin bulunduğu çözeltiden grafit fırında atom oluşumu, örneğin bileşimi ve analitin davranışına bağlıdır. Şayet atomlaşma moleküller üzerinden gerçekleşiyorsa atomlaşma, bileşiklerin ısısal ayrışması veya grafit yüzeyde metal oksitlerin indirgenmesiyle olabilir. Şayet atomlaşma metal üzerinden gerçekleşirse atomlaşma, desorpsiyon veya buharlaşma ile yürür.

Analitin atomlaşması, buhar basıncı 10-15 Pa civarında olduğu zaman 0.1 s içinde meydana gelir. Atomlaşma büyük ölçüde daha düşük buhar basınçlarında (sıcaklıkta) başlar, fakat atomlaşma zamanı uzundur. Bundan dolayı atomlaşma basamağına ulaşmak için geçen süre çok önemlidir. Düşük ısıtma hızı ile atomlaşma yavaş olur ve örneğin önemli bir kısmı gerçek atomlaşma zamanına ulaşmadan önce buharlaştırılır. Buharlaşma, çok hızlı ısıtma hızı ile sadece 0.1 s içinde olacaktır. Bu, atom bulutlarının maksimum yoğunluğu, atomlaşma zamanı grafit fırında atomların kalma zamanından daha kısa olduğu zaman elde edilebildiğinden dolayı çok önemlidir. Bununla birlikte grafit fırındaki atomlaşma zamanı alevdekinden bin kez daha yavaştır. Aynı zamanda bu, refrakter

maddelerin ayrılması için çok fazla zaman gerektiğinden dolayı grafit fırındaki kimyasal girişimlerden nispeten kurtulmak için de bir yoldur.

Temizleme Basamağı: Bu basamakta sıcaklık, atomlaşma sıcaklığından daha yüksek bir sıcaklığa yükseltilerek, yeni bir analiz için fırının hazırlanması sağlanır. Bu işlem ile fırında kalabilecek analit veya diğer matriks bileşenleri tamamen fırından uzaklaştırılır. Temizleme basamağını fırının soğuması izler.

Yukarıda verilen bilgilerden anlaşılacağı gibi, atomlaşma verimi, özellikle ön işlem ve atomlaşma basamaklarının iyi optimize edilmesine bağlıdır. Bu sebeple herhangi bir örnekte bir analitin tayini öncesinde bu basamakların optimize edilmesi için ısısal ön işlem/atomlaşma sıcaklık eğrilerinin türetilmesi gerekir. Isısal ön işlem/atomlaşma eğrilerinden atomlaşma mekanizması hakkında sonuç çıkarmak da mümkündür.

2.2.3 Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi

2.2.3.1. Yöntemin Esası ve Prensibi

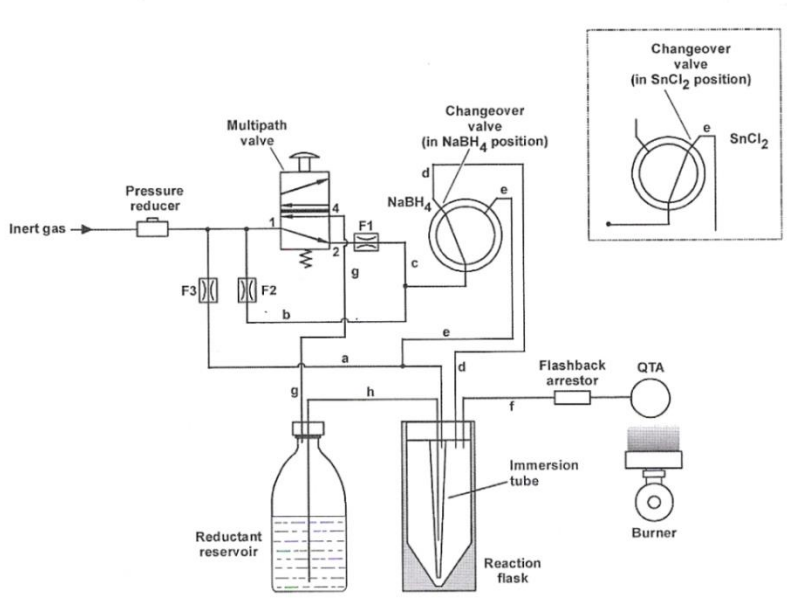
Hidrür Sistemli atomik absorpsiyon spektrometresi çok düşük miktarlardaki civa, arsenik ve selenyum elementlerinin belirlenmesinde oldukça hassas bir yöntemdir. Hidrür buharı oluşturma yöntemi ile bu elementler hidrat formlarına dönüştürülür. Sodyumborhidrür reaktifi ($NaBH_4$) asit çözeltisi içerisinde As ve Se ile birleştiğinde bu elementler uçucu hidratlarına dönüşür. Hidrat buharları yanma başlığı üzerine yerleştirilmiş özel kuartz cam hücre içerine gönderilir. Monokromatörden gelen bir ışık demeti grafit tüp içerisine yönlendirilir ve atomlarına ayrılmış olan element tarafından absorbe edilen ışık miktarı dedektör tarafından ölçülür. Her element için karakteristik olan dalga boyunda absorbe edilen enerjinin miktarı numune içerisindeki elementin konsantrasyonu ile orantılıdır. Hidrür oluşturma yöntemi As, Se ve Hg elementlerinin tayini için hızlı ve bir yöntemdir. Hg elementinin belirlenmesinde alev kullanılmaz bu tekniğe soğuk buhar tekniği denir. Her üç element için kullanılacak olan asit ve yükseltgeyici konsantrasyonu farklıdır. Asit olarak HCl kullanılır. % 1 KI içerisinde

hazırlanmış olan sodyumborhidrürün indirgenme basamağında daha iyi sonuçlar alınmıştır. Sadece Hg tayini sırasında KI kuvvetli bir girişim etkisi yaptığından dolayı kullanılmaz [7].

Hidrür sistemli atomik absorpsiyon spektrometresi (Şekil 2.5) yönteminde azot oksit-asetilen alevi kullanılmaz. As ve Se toksik elementler olduklarından dolayı analiz sırasında deriye temasları önlenmeli, standartların taşınması ve saklanmasına dikkat edilmelidir. Hg analizi sırasında KI kullanılmaz ve daha önceki analizlerde kullanılmış ise sistemden uzaklaştırıldığından emin olana kadar temizleme işleminin gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Peristaltik pompanın sabit bir akış sağladığından emin olmak için sık sık akış hızı kontrol edilmelidir.

Günümüzde HGAAS yönteminde 4 tip atomlaştırıcı kullanılmaktadır:

- İnert gaz- H_2 difüzyon alevi,
- Kuvars tüp atomlaştırıcılar,
- Grafit tüp atomlaştırıcılar,
- Metal atomlaştırıcılar.



Şekil 2.5. Hidrür oluşturma sistemi (Perkin Elmer Handbook, Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrometry, 2000).

2.3. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler ve Önlenmesi

Diğer bağıl yöntemlerde olduğu gibi, AAS'de kantitatif analizler standart çözeltilerle örnek absorbansları karşılaştırılarak yapılır. Örnek çözeltisinin standart çözeltilere göre farklı bileşimleri girişimlere yol açar. Girişimler sebeplerine bağlı olarak kimyasal, fiziksel, iyonlaşma, zemin ve spektral girişimler olarak sınıflandırılabilir [8].

Kimyasal girişim, analit elementinin uçucu veya alevde zor atomlaşan, termal olarak kararlı oksit, fosfat ve sülfat gibi bileşikler oluşturmasıyla ortaya çıkar. Bu tür girişimler alev sıcaklığının yükseltilmesi ile önlenebilir. Fakat yüksek sıcaklık aynı zamanda iyonlaşmanın artmasına ve dolayısıyla verimin azalmasına neden olur. Kimyasal girişimleri önlemenin en iyi yolu, girişime sebep olan element veya iyonla kararlı bileşik oluşturacak serbestleştirici veya koruyucu reaktif ilave edilmesidir. Ayrıca matriks benzetme ve standart ekleme yöntemleri de kullanılabilir.

Fiziksel girişimler, örnek çözeltisinin yüzey gerilimi, uçuculuk, yoğunluk ve viskozite gibi özelliklerinden dolayı meydana gelir. Çözeltilerin sisleşme verimi, çözeltinin yüzey gerilimi, viskozitesi ve yoğunluğuna bağlı olup atomlaşma verimi de bunlardan etkilenir. Bu tür girişim örneğin seyreltilmesi, standart ekleme veya matriks benzetme işlemleriyle önlenebilir.

İyonlaşma girişimi, uygun olmayan yüksek sıcaklıklı alevde ayrışan atomların büyük bir kısmının iyonlaşması sonucu oluşur. Bir elementin atomu ile iyonu farklı dalga boylarında absorpsiyon yapar. İyonlaşma ile temel enerji düzeyindeki atom sayısının azalması nedeniyle duyarlılık azalır. İyonlaşma girişimi, örnek ve kalibrasyon çözeltilerindeki iyonlaşmayı bastırmak için analite göre daha kolay iyonlaşan K, Cs ve Sr gibi elementler ilave edilir.

Spektral girişim, analit elementi hattının başka bir element hattıyla çakışması veya moleküler türlerin adsorpsiyonuyla ortaya çıkar. Spektral girişim, analitin farklı bir dalga boylu Absorpsiyon hattının kullanılması veya daha dar slit aralığının seçilmesi ile giderilebilir.

Zemin girişimi, ortamda bulunan molekül ve radikallerin spesifik olmayan ışık kayıplarına yol açması ve atomik buhardaki küçük parçacıkların ışığı saçması sonucu oluşur. Bu türden metal oksitler, hidrojen molekülleri, OH radikalleri ve parçalanmış çözücü moleküllerinin bir kısmı olarak belirtilebilir. Bu tür etkiler, absorbansta artışa neden olduğundan dolayı, tayinlerin doğruluğunu bozar. Zemin girişimlerinin düzeltilmesi için çift hat, sürekli ışık kaynağı, Zeeman ve Smith-Hieftje yöntemleri kullanılmaktadır [4]. Bu yöntemlerin tamamında toplam absorbans ve zemin absorbansı ayrı ayrı ölçülür, bunlar arasındaki fark düzeltilmiş analit absorbansını verir.

2.3.1. Zemin Düzeltme Teknikleri

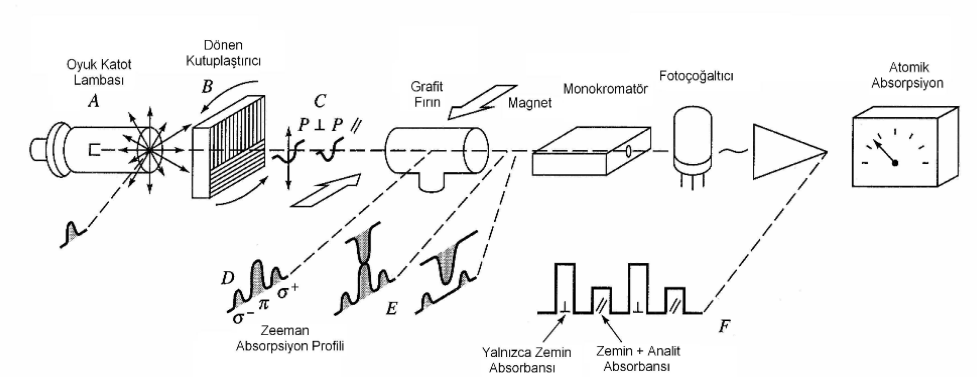
Zemin düzeltme teknikleri vasıtasıyla analite ait olmayan ışın kayıpları ve bu ışın kayıpları dışında analite ait absorbanslar toplamı ayrı ayrı ölçülür. Burada zemin absorbansı geniş bir dalga boyu aralığında etkilidir. Zamana, sıcaklığa, dalga boyuna ve örnek ortamına bağlı olarak değişir. AAS'de eşzamanlı zemin düzeltme en doğru zemin düzeltme işlemidir. Başlıca zemin düzeltme teknikleri aşağıda açıklanmıştır:

Çift hat yönteminde zemin absorpsiyonu genelde dalga boyu ile kademeli olarak değişen, fakat analitin atomik hattına çok yakın olan absorpsiyonun olmadığı bir emisyon hattının kullanılmasıyla bağımsız olarak ölçülür. Atomik hatta ölçülen absorpsiyondan (analit + zemin), analitin absorpsiyon yapmadığı hatta ölçülen absorpsiyonun (zemin) çıkartılmasıyla net atomik absorpsiyon hesaplanır. Bunun yanında absorpsiyon yapmayan hatlar her zaman kolaylıkla elde edilemeyebilir. Eğer dalga boyu zemin hesaplamaları için rezonans hattına son derece yakın değilse, zemin düzeltmede hatalar ortaya çıkar.

Sürekli ışın kaynağı, bugün kullanılan en yaygın zemin düzeltme tekniklerinden birisidir. Bu teknikte, spektrometreye oyuk katot lambasına ek olarak döteryum lambası gibi geniş bir dalga boyu aralığında ışıma yapabilen bir ışın kaynağı yerleştirilir. Döteryum ark ve oyuk katot lambasının yaydığı ışın, bir dilici yardımıyla atomlaştırıcıya art arda ulaştırılır. Oyuk katot lambasının yaydığı ışın, atomlaştırıcıda bulunan analiz elementinin atomları ve zemin girişimine neden olan türler tarafından absorplanır. Sürekli ışın kaynağının yaydığı ışının analiz elementinin atomları tarafından absorplanan kısmı,

lambanın yaydığı ışığın şiddetine oranla ihmal edilebilecek kadar azdır. Böylece sürekli ışın kaynağının yaydığı ışımanın sadece zemin girişimine neden olan moleküller ve diğer türler tarafından absorplandığı kabul edilir. Aradaki fark analit sinyalidir.

Zeeman yönteminde**,** kuvvetli manyetik alanın kutupları arasına ya ışın kaynağı ya da atomlaştırıcı yerleştirilir. İlgili atomlar tarafından absorplanan veya yayılan hat üç bileşene ayrılır (Şekil 2,6). Bunlardan birincisiπ bileşeni olup manyetik alanın bulunmadığı zamanki analit hatları ile aynı dalga boyundadır. Diğer bileşenler iseπ hattının iki yanında simetrik σ hatlarıdır. π ve σ bileşenleri arasındaki fark~ 0,01 nm'dir. π bileşeni manyetik alana paralel düzlemde polarize iken, σ bileşeni dikey düzlemde polarizedir. Yöntemde π ve σ bileşenlerini ayırmak için, bir döner polarizör, örnek ve ışın kaynağı arasına yerleştirilir. Polarizörün görevi, OKL ışınını belli bir frekansta bir defa π bileşeni bir defa σ bileşenleri düzlemi ile aynı düzlemde polarize yapmaktır. Bir ışının absorpsiyonu için gerekli şartlardan birisi ışının polarizasyon düzlemiyle absorpsiyon düzleminin aynı olmasıdır. π bileşeninin polarizasyon düzleminde ışık gönderildiğinde analit ve zemin toplamı ölçülür. σ bileşenlerinin düzleminde gönderilirse sadece zemin ölçülür. Aradaki fark düzeltilmiş analit absorbansıdır.



Şekil 2.6. Magnetik alanda hatların yarılması

Smith-Hieftje yöntemi de Zeeman yöntemine benzer. Ancak teknik olarak farklıdır. Bu yöntemde, lambanın belli frekansta normal çalışma akımından daha yüksek bir akımda çalışması sağlanır. Oyuk katot lambası (OKL) normal çalışma akımından daha yüksek bir akım şiddetinde çalıştırılırsa, artan uyarılmış atom sayısına göre uyarılmamış atom sayısında da artış olur. Ayrıca artan akım şiddeti ile emisyon hatlarının genişliğinde de artış olur. Uyarılmamış atom sayısındaki artış "self absorpsiyona" neden olur. Böylece analit atomlarının yaydığı ışın şiddetinde bir zayıflama ortaya çıkar. Akım şiddeti daha da arttırılırsa self absorpsiyon daha kuvvetli olmaya başlar ve self reversal olayına yol açar ve lambanın emisyon piki hattı ikiye yarılır. Bu nedenle lamba belirli frekansta normal ve yüksek akım şiddetinde çalıştırılırsa, önce analit ve zemin absorbansları toplamı, sonra sadece zemin absorbansı ölçülür. İkisi arasındaki fark düzeltilmiş analit absorbansıdır [9].

2.3.2. Hidrür Oluşturma Yönteminde Girişimler ve Önlenmesi

AAS yöntemlerinde girişimlerin sınıflandırılması spektral ve spektral olmayan girişimler şeklinde yapılır. Spektral girişimler analit haricindeki türlerin ışığı absorplaması veya ışığın saçılması sonucu gerçekleşmektedir. Spektral olmayan girişimler ise matriks bileşenlerinin analit sinyalini etkilemesiyle gerçekleşir. Analitin matriksten ayrılması sonucu HG-AAS yönteminde spektral girişimlere çok az rastlanırken çizgi girişimleriyle hiç karşılaşılmaz. Analit dışındaki diğer türlerin belli miktarda atomlaştırıcıya taşınması moleküler absorpsiyona ve zemin sinyaline neden olabilmektedir. Bu durum genellikle diğer hidrür oluşturan elementlerin atomlaştırıcıya taşınmasıyla gözlenmektedir. Spektral olmayan girişimler ya hidrür oluşumu sırasında sıvı fazda ya da gaz fazında analit ile etkileşerek gerçekleşmektedir.

Spektral olmayan girişimler hidrürün oluşumu ve hidrürün çözeltiden taşınması sırasında sıvı fazda (sıvı faz girişimi) veya gaz fazında (gaz faz girişimi) olabilir. Sıvı faz girişimleri hidrürün sıvı fazdan salınım hızındaki değişimlerden ve/veya hidrür salınım veriminin azalmasından kaynaklanır. Bu tip girişimlere numune çözeltisinde

bulunan ortam bileşenleri neden olur. Gaz fazı girişimleri uçucu türlerden, çoğunlukla diğer hidrür oluşturan elementlerden veya hidrür reaktöründeki aerosolden kaynaklanır. Bu tip girişimler reaktörün yüzeyinde, bağlantı tüplerinde veya atomlaştırıcıda meydana gelir [10,11].

BÖLÜM 3

ESER ELEMENTLER

3.1. Eser Elementler ve Önemi

Çoğu element analiz örneklerinde öylesine küçük miktarlarda bulunur ki tayini mümkün olsa bile, mevcut tekniklerle kantitatif olarak analizi mümkün değildir. Böyle çok değişik konsantrasyonları ifade etmek ve çok zor tayin edilebilen konsantrasyonları açıklayabilmek amacıyla 'eser' tanımı kullanılır. Böyle elementlere de 'eser element' denir. Son zamanlarda çok düşük konsantrasyonlar, analitik tekniklerin ilerlemesi ve yeni tekniklerin geliştirilmesiyle doğruluk ve kesinlikle tayin edilmesine rağmen bugün hala 'eser element' olarak ifade edilmektedir. Genel olarak, konsantrasyon 100 μg/g'ın altında olduğu zaman eser element olarak kabul edilir. Aşırı derecede düşük konsantrasyonlar da, 10 ng/g altındakiler, 'ultra eser' olarak adlandırılırlar. Bu düşük konsantrasyonlarına rağmen eser elementler pek çok alanda önemli rol oynarlar.

Eser elementlerin canlı organizmaların sağlıklı olmasında önemi büyüktür. Bu anlamda 'temel' ve 'temel olmayan' elementler olarak ayrılırlar. Bir element, canlı organizmada bir eksiklik sendromuna neden olup (fizyolojik ve yapısal bozukluk) ve bu bozukluk ilaçla tedavi edilebiliyorsa 'temel element' olarak tanımlanır. Bir element canlı organizmada bulunması gereken seviyeden daha az ise organizmada fizyolojik ve yapısal bozukluklara neden olabilir. Bu eksiklikten kaynaklanan semptomlar, ölümcül klinik semptomlardan kaynaklanan biyolojik fonksiyonlardaki azalmalardan farklıdır.

Diğer yandan, bir elementin çok yüksek konsantrasyonda olması da problem yaratabilir. Bundan dolayı bu tip elementlerin yiyeceklerle vücuda alınması belirli limitlerle sınırlandırılmıştır.

Eser elementlerin enzim sistemleriyle yakın ilişkileri asıl biyolojik fonksiyonları olarak düşünülmektedir. Çoğu metalo-enzimler, enzim molekülünün metal ile bir araya gelmesi sonucu oluşur ve molekülün kararlılık ve/veya aktivitesine katkıda bulunur.

Eser elementler, protein ve nükleik asitlerin kararlılık ve sentezinde indirgenme / yükseltgenme süreçlerinde de rol oynarlar.

Temel ve temel olmayan eser elementlerin biyolojik örneklerde tayininin, fizyolojimizin açıklanması, hastalığın teşhisi ve tedavi için uygun yöntemin seçimi açısından önemli olduğu açıktır. Doğal olarak, elementlerin tayini için, çalışılan örnekteki konsantrasyon, konsantrasyonun değişkenliği, sonuçların kullanılabilirliği ve analiz örneklerinin sayısı açısından doğrulama karakteristikleri (tayin limiti, doğruluk, kesinlik, vs.) verilen bir analitik metot gereklidir [12].

3.2. Eser Elementler ve Çevre

Son yıllarda, doğal çevreye olan ilgi, kirlenmesi üzerine odaklanmıştır. Hava, içme suyu, deniz suyu, toprak kirlenmelerinin azalması önemli ve karmaşık bir iştir. Bu yüzden analitik kimyanın farklı bilim dallarından uzmanlarla işbirliği gerektirir. Ağır metallerin yarattığı çevre kirliliği, tehlikesi çok iyi bilinen bir gerçektir. Fosil yakıtların yanması, evsel atıkların yakılması, endüstriyel atık sular ve hava kirliliği, taşınma, kanalizasyonların tarım arazilerine akıtılması ve her çeşit atıklardan kaynaklanan metal kirlenmeleri araştırılması gereken elementel analizler gerektirir.

Bir ağır metalden kaynaklanan ilk çevre problemi (Hg) 1952 yılında Japonya'da Minamata Limanı yakınında balıkçılık yapılan bölgede ortaya çıktı. O ana kadar bilinmeyen bu hastalık (Minamata hastalığı) hızla, salgın bir hastalık gibi yayıldı ve çalışmalar bu hastalığın organociva bileşiklerinden kaynaklandığını gösterdi. Doğum öncesi dönemde bu tip zehirlenmeye maruz kalan bebeklerde beyin etkilenmekte bunun

sonucunda kol ve bacak hareket kaslarında problemler meydana gelmektedir. Doğum sonrası maruz kalındığında da beynin etkilendiği ve örneğin duyu organlarının fonksiyonlarının bozulduğu görülmüştür [12].

Bulgular önce kediler ve martılarda sonra da insanlarda görüldü. Daha sonraki yıllarda ölümlere neden olacak oranlarda vaka sayısı arttı. Yoğun araştırmalar, bölge halkının temel besin kaynağının balık ve bazı kabuklu deniz hayvanları olduğunu ve bunların da yüksek konsantrasyonda alkilciva bileşikleri içerdiğini gösterdi. Bu bileşiklerin, yerel bir şirketin plastik üretimi sırasında katalizör olarak çok fazla civa kullanması ve atık sularını körfeze boşaltması sonucu, denizdeki canlı organizmalarda biriktiği sonucuna ulaşıldı. Civa zehirlenmesine benzer durumlar, tarımsal bölgelerde civa içeren fungusitlerin (tarım ilaçlarının) kullanımının neden olduğu başka ülkelerde de görülmüştür.

Çevre örneklerinde metalik elementlerin tayinleri sürekli yapılmakta ve bu analizlere her gün yenileri eklenmektedir. Genel olarak çevre analiz örnekleri şunlardır:

- Su: endüstriyel atık sular, nehir suları, deniz ve okyanus suyu, yağmur suyu, içme suyu vs.
- Atmosferden (açık hava ve iş yerleri gibi) alınan aerosol (toz) örnekleri, kuru tortular, elektrik santrallerinden uçuşan tozlar, küller vs.
- Toprak, kanalizasyon çamuru vs.

Bu analizler, analiz örneklerinin doğal kompleks olması ve çok düşük metal konsantrasyonları içermesi nedeniyle zordur. Metal analizleri belli temellere oturtulduktan sonra rutin olarak yapılabilir, örneğin atık suların yasal standartlara uyup uymadığı, nehir, içme sularının kalitesinin standartlar içinde olup olmadığı bu rutin analizlerle sürekli kontrol altında tutulabilir. Yine çevre araştırma programları çerçevesinde okyanusların kirliliği araştırılabilir. Çevre analiz sonuçlarını yorumlamadan önce de bu analizlerle ilgili kaynakları, çevresel etkileri ve analitik verilerin hepsini belirtmek gerekir.

Makro, mikro ve eser elementlerin analizleri ideal olarak seçici, spesifik, doğru ve uygulanabilir, ilgi uyandırabilen, dikkat çekici, otomasyona elverişli ve kolay

olmalıdır. Çoğu analitik teknik bunların sadece bir kısmını içerir ve açıktır ki analitik problemlere bağlı olarak analitik metodun performans karakteristikleri gereklidir. Örneğin endüstriyel bir atık su analizinde çoğu element için tayin sınırı 0.1 mg/L uygunken, bazı elementler için okyanus suyunda bu sınırın ng/L düzeyinin de altında olması gerekebilir [12].

3.3. Eser Element ve Konsantrasyon Aralığı

İlk eser element analizinin 1879'da Gutzeit tarafından kalitatif Marsh testi esas alınarak yapılan arsenik tayini olduğu belirtilmektedir. Spesifik ve kolay uygulanabilen bu metodun tayin sınırı % 10^{-5}'in altındadır [13].

1955 yılında New York'ta yapılan ilk eser element sempozyumuyla birlikte eser element konsantrasyon aralığı ve tanımı verilmeye başlanmıştır. Teknolojinin gelişmesiyle eser element konsantrasyon aralığı da değişmiştir.

1940'a kadar %10^{-1}–10^{-2} eser konsantrasyonu olarak bilinirken, bu aralık 1950 yılında Rodden tarafından %10^{-3}–10^{-5} ve 1965'te Alimarin tarafından %10^{-6}–10^{-8} olarak verilmiştir. Bu alanda ilk sistematik yaklaşım Kaiser tarafından 1973 yılında yapılmış olup, ppm (parts per million), ppb (parts per billion) tanımları verilmiştir. Minczewski tarafından konsantrasyon aralıkları aşağıdaki gibi tanımlanmıştır [14, 15].

Eser	%10^{-1}-10^{-3}
Mikroeser	%10^{-4}-10^{-6}
Ultra mikro eser	%10^{-7}-10^{-9}
Submikroeser	%10^{-10}-10^{-12}

Yaygın olarak eser element konsantrasyon aralığı 10^{-2}-10^{-6}'dır ve %10^{-6} altındaki konsantrasyonlar da ultra eser olarak bilinmektedir [13].

Son zamanlarda geliştirilen tekniklerle eser bileşenler de ayrıca alt gruplara ayrılmıştır.

Bunlar şöyledir:

a) Eser bileşenler, konsantrasyonları 100–10000 ppm veya gramda 100–10000 mg olanlar,
b) Mikro–eser bileşenler, konsantrasyonları 10^{-7}-10^{-4} ppm veya gramda 0.1-100 pg (pikogram) olanlar,
c) Nano eser bileşenler, konsantrasyonu 10^{-10}-10^{-7}ppm veya gramda 0.1-100 fg (femtogram) olanlar,

Ayrıca örnek miktarı 0.1-1mg kadar ise ve bu numunede eser bileşenin konsantrasyonu % 0.01 seviyesindeyse, buna sub-eser analiz, mikro eser analiz denir [16].

3.4. Biyolojik Örneklerde Eser Elementler

Eser elementler atmosferik ve endüstriyel kirlilik nedeniyle toprakta birikerek ekosistemi etkiyebilir. Bu yüzden toprakta ve bitki numunelerinde eser elementlerin araştırılması çevre kirliliğinde özellikle de besin gereksinimleri konusunda önemli bir noktadır.

Eser elementlerin biyolojik maddelerdeki analizleri, üzerinde önemle durulması gereken bir konudur.

Biyolojik maddeler,

1) Bitki ve hayvan dokularını,
2) En yaygın türdeki bitki ve hayvan ürünlerini içermektedir. Hayvan ve bitki organizmalarındaki element konsantrasyonları çevre ve bulundukları doğal ortam başta olmak üzere pek çok faktörden etkilenmektedir.

Bu faktörler bitkiler için,

1) Toprağın yapısı,
2) Gübreler,
3) Ürün koruyucular,
4) Herbisit ve Pestisitler,
5) Karayolu veya endüstriyel tesislere olan yakınlık

şeklinde sıralanırken, hayvanlar ve hayvansal ürünler için,

1) Beslenme,
2) Hayvansal yemler,
3) Çevredir.

Bir çevresel analiz süresince incelenen biyolojik maddelerden, özellikle bitki ve hayvanlardan, trafik arterleri, endüstriyel bölgeler, nehirler gibi bazı bölgelerin incelenmesinde biyoindikatör gibi faydalanılabilir [5].

3.5. Eser Element Analizlerinde Örnekleme ve Örnek Hazırlama

Örnekleme, tüm analizlerde olduğu gibi biyolojik maddelerin analizlerinin doğruluğunda da en önemli adımdır. Doğru olmayan örnekler üzerinde yapılan duyarlı analitik ölçümler sadece zaman kaybıdır. Örneğin, örnek alınmasındaki hata ±10 ppt(binde) ise ve tayinde kullanılan yöntem de ±10 ppb (milyarda) ise elde edilen sonuçların duyarlığı ±10 ppt'den fazla değildir. Örneğin seçilmesi, kirlilikler, örnek miktarı, örnekleme zamanı, bazı ön işlemler bu adımda önem kazanmaktadır. Örnekler alındıktan sonra homojenize edilmeli ve uygun koşullarda saklanmalıdır.

Eser element analizlerinde kontaminasyon son derece önemlidir. Numunenin kontaminasyonu (tayin elementince kirlenmesi) veya tayin elementinin kaybı ihtimali nedeniyle, örneklere analiz öncesi uygulanacak her türlü işlem özenle yapılmalıdır. Çoğu örnekte, analiz edilecek metal eser seviyede bulunduğundan küçük miktarlardaki kontaminasyon bile bu eser bileşenlerin konsantrasyonunu önemli ölçüde değiştirir.

Aynı şekilde adsorpsiyon, çökme gibi yollarla birkaç mikrogram element kaybı bile çok ciddi yanlışlıklara neden olur.

Bütün kaplar, titizlikle temizlenmiş olsalar bile, potansiyel kontaminasyon kaynağıdırlar. Laboratuar kaplarının yapımında cam, kuartz, platin, polietilen, polipropilen ve teflon kullanılmaktadır. Kap yapım malzemesinin seçimi son derece önemlidir. Robertson eser analizlerde kullanılan bazı kimyasal reaktiflerde ve analizlerde kullanılan kaplardaki eser safsızlıklarla ilgili bazı çalışmalar yapmıştır. Robertson eser analizler için bu materyallerin azalan kullanışlılık sırasını şu şekilde vermiştir [17]:

Teflon>polipropilen>polietilen>kuartz>platin>cam

Bu tür kontaminasyonlar, kap içinde birkaç gün tutulan destile suyun analizi ile anlaşılabilir. pH tayininde pH-metre kullanılıyorsa, örneğe daldırılacak hidrojen elektrot çok iyi temizlenmeli ve örnek içinde mümkün olduğu kadar kısa süre tutulup pH ölçümleri ve ayarlamalar hızla yapılmalıdır. Örnek ve standartlara pH kağıtları ve indikatörler katılmamalıdır. Bunları kullanmak gerekiyorsa, bir miktar örnek çekilmeli ve test edildikten sonra atılmalıdır.

Kayıpların en önemli sebeplerinden biri tayin elementlerinin örnek çözeltilerinin kullanılan kapların çeperlerine adsorpsiyonudur [18]. Bu durum yüksek konsantrasyonlarda bile ortaya çıkar, ancak eser seviyede çok daha önemlidir. Çoğu metalin nötral çökeltisi kararlı değildir ve hidroliz olur. Asidik çözeltilerde silisik asit çöker. Seyreltik çözeltilerdeki çökeltiler genellikle teşhis edilemez ve kabın çeperlerine yapışır. Çok seyreltik çözeltiler asitlendirilseler bile uzun süre kararlı kalamazlar. Bu durum referans çözeltilerin kullanımında dikkat edilmesi gereken bir konudur. Örneğin cam kaplarda saklanan nötral kurşun çözeltisinde bir saat içinde %50 kayıp olabilmektedir [19].

Kalsiyum ve magnezyum için de benzer etkiler sunulmuştur. Kayıplar, seyreltik örnekleri hidroklorik asit veya nitrik asitle asitlendirerek, en azından bir kaç saat için, kontrol edilebilir. Stok standartlar yüksek konsantrasyonda (100mg/L, gibi) olacak şekilde hazırlanmalıdır. Çalışma standartları, özellikle 1mg/L'den daha seyreltik, günlük hazırlanmalıdır [20].

Adsorpsiyon, adsorbe eden yüzey alanı ile orantılı olduğundan, bu yüzeyin mümkün oldugunca küçük tutulması gerekir. Süzgeç kağıtları, çok büyük bir yüzey alana sahip olmaları nedeniyle, eser elementlerin adsorpsiyon kayıplarına ilaveten kontaminasyona da neden olabilir [21].

Eser element analizlerinde tüm reaktifler, su ve asitler dahil, tayin elementince kontrol edilmelidir. Analitik saflıktaki bazı reaktifler dahi önemli miktarda yabancı madde içerir. Bu reaktifler numuneye ilave edildiğinde, önemli miktarda tayin elementi de ortama girebilir. Analar nitrik asit, özellikle uzun süre saklandığında krom içerir.

Eser elementlerin ekstraksiyonu yapılacaksa, şelatlayıcılar eser element bakımından kontrol edilmelidir. Şelat yapıcı reaktiflerin metallere karşı afinitesi yüksek olup, bunları temizlemek zor olabilir.

Yukarıdaki elementler dışında laboratuar ortamı ve çevredeki toz diğer potansiyel kontaminasyon sebeplerindendir. Analiz elementinin konsantrasyonu azaldıkça sistematik hatalar hızla artar. Özellikle µg/L seviyesinde ve daha düşük konsantrasyonlarda sistematik hata çok önemlidir.

Eğer eser analizlere ortamın etkisi yoksa ve eser elementlerin ortamdaki konsantrasyonu kullanılacak yönteme göre yeterince yüksekse, böyle ortamlar uygun analiz ortamlarıdır.

3.6. Eser Element Analizlerinde Çözünürleştirme Teknikleri

Katı örneklerin çözünürleştirilmesi pek çok analitiksel metodun önemli bir kısmıdır. Elektrotermal atomizasyon gibi bazı analitiksel metotlar direkt katı örneklere uygulanabilir ve ölçümden önce örneklerin çözünürleştirilmesi gerekmez. Oysa çoğu analitiksel metot (AAS, ICP, AES vs.) ki bunlar hayli yüksek duyarlıktaki metotlardır numunenin çözelti formunu gerektirir. Elementin zenginleştirilmesi ve kimyasal ayırmalar da ölçüm kalitesini arttırmak için gereklidir.

İdeal olarak eser element analizlerinde, örnek tamamen çözünmelidir. Çoğu inorganik madde, çözünürleştirme işlemlerinde bazı elementler uçucu hale gelseler de, asit veya asit karışımlarında çözünürleştirilirler. Kuartz, silika gibi pek çok mineral ve maden cevheri asitlerle çözünmezler, eritilerek çözeltiye alınırlar. Eritme işleminin reaktif ve eritme kaplarından kaynaklanan yüksek kör değerlerinden dolayı eser element analizlerinde kullanışlılığı fazla değildir.

3.6.1. Eser Elementlerde Mikrodalga Çözünürleştirmeler

Asit çözünürleştirme örnek 100-500 psi basınç ve 50-180°C sıcaklıkta nitrik asit veya hidroklorik asitle çözünürleştirilir. Çözünürleştirme işlemleri ile örnekler daha basit yapılara ayrılırlar. Bu çözünürleştirme tekniği atomik absorpsiyon spektrofotometrede veya indüktifeşleşmiş plazmada eser metal analizi için sıklıkla kullanılır. Mikrodalga çözünürleştirme özel yapılmış kaplarda asitlendirilmiş örnek belirli bir basınç ve sıcaklıkta kontrollü olarak çözünürleştirilir. Kapalı veya açık sistem çözünürleştirme yöntemleri uygulanabilmektedir. Yüksek basınçlı işlemler biyolojik ve organik örneklere uygulanmakta, daha düşük basınçlı işlemler ise yağ analizlerinde, çevresel analizlerde ve katalizör analizlerinde kullanılmaktadır [22].

3.6.1.1. Tarihsel Gelişim

1975'de mikrodalgalar hızlı ısıtma kaynağı olarak açık sistem-yaş çözünürleştirme işlemleri için kullanıldı. Erlenmayer içindeki asitlendirilmiş örneklerin biyolojik matriksleri 5-10 dakikadan 1-2 saatte kadar mikrodalgalarla bozunuyordu. Bu işlem yeni örnek hazırlama tekniklerinin araştırılmasını ve geliştirilmesini sağladı. İlk araştırmacılar cam ve teflon kapları kullanarak mikrodalga fırında örnekleri asidin kaynama noktasına kadar ısıtarak çözünürleştirme işlemini gerçekleştiriyorlardı.

1980'de araştırmacılar tepkimenin hızını arttırmak ve çözünürleştirme zamanını kısaltmak için özel olarak tasarlanmış kapalı kapları kullanarak reaksiyon sıcaklığını asidin atmosferik kaynama noktasının üzerine çıkardılar. Kapalı sistem mikrodalga

kapları teflon ve polikarbonattan yapılmıştı ve özel olarak mikrodalga fırın için geliştirilmemişti. Kapalı sistem mikrodalga sisteminde reaksiyonun hızı ve çözünürleştirme süresini ayarlamak için sıcaklık ve basınç gösterimine dalga boyu parametresi de eklendi.

1985'de ilk mikrodalga fırın kullanıma sunuldu. İlk olarak güvenlik özellikleri eklenerek ev kullanımı için geliştirildi. Daha sonra asit ve elektriksel etkilere karşı izolasyon ve havalandırma sistemi eklendi. Mikrodalga fırınların kullanılmaya başlanmasıyla birçok şirket mikrodalganın homojen yayınımı ve kontrolü için, en önemlisi de güvenliliği için, araştırmalarını sürdürdü.

1986'da tamamen laboratuar kullanımı için tasarlanmış mikrodalga sistem tanıtıldı. Daha önceki fırınlarda kullanılan mikrodalga boşluktan farklı olarak tek bir kap direkt mikrodalgaya maruz bırakılıyordu. Kaplar kuartz veya teflondan yapılmıştı. Kaplar açık olduğunda bazı uçucu elementler kaybolabiliyordu. Bazı araştırmacılar sıcaklık ve basıncı mikrodalga odası içinde kontrol etmek amacıyla modifikasyon çalışmaları yaptılar. Basınç ve sıcaklığın kontrolü çözünürleştirme işleminin de kontrolünü sağladı ve bu yenilikler mikrodalga çözünürleştirmenin örnek hazırlama için kullanımını geliştirdi.

Ticari amaçlı olarak 1989'da basınç kontrollü, 1992'de sıcaklık kontrollü mikrodalga fırınlara örnek hazırlamada kullanım izni verildi. Mikrodalga kapalı sistem kapları için ilk olarak teflondan ve 7 atm gibi düşük basınçlara dayanan kaplar üretildi. Bu basınç sınırı kapların kullanılma miktarı ile azalabiliyordu. Mikrodalga fırında sonraki gelişme ceketli kaplardı. Teflondan yapılan bu kaplar polietermit kaplıydı ve 60-110 atm basınca kadar dayanabiliyorlardı [23].

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre, İndüktif Eşleşmiş Plazma, İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrofotometre ve diğer yöntemlerle yapılacak analizlerde mikrodalga fırınlarda hazırlanan örneklerle hızlı, doğruluğu ve tekrarlanabilirliği yüksek sonuçlar alınabilmektedir. Yeni sistemlerde basınca dayanıklı 36 kap aynı anda kullanılabilmekte, 300-600 W arası güç uygulanabilmekte, sıcaklık 300°C'ye kadar, basınç ise 1500 psi'ye kadar ulaşabilmektedir.

3.6.2. Çözünürleştirmede Kullanılan Asitler

Nitrik Asit: 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 yükseltilerek arttırılabilir. Nitrik asit altın ve platini yükseltgeyemezken, bazı metallerde de pasifleşirler. Bu metaller asit karışımları ile yükseltgenebilir.

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 arttırılabilir. Genellikle nitrik asit kullanılır.

Hidroflorik Asit: HF silikatları çözebilen birkaç asitten biri olduğu için daha çok inorganik örnekleri çözmede kullanılır. Çözücü gücünü arttırmak için nitrik asit gibi başka asitlerle karıştırılır.

Sülfrik Asit: Seyreltik sülfürik asidin yükseltgeme gücü olmasa da derişik halde bazı bileşikleri çözebilmektedir. Kaynama noktası 339°C olan % 98,7'lik sülfürik asit teflon kapların yüzeyinde korozyona neden olduğu için daha çok kuartz kaplarla çalışma tercih edilir. Sülfürik asit de diğer asitlerle beraber kullanılır. Daha çok perklorik asit ve hidrojen peroksit tercih edilir.

Perklorik Asit: Seyreltik perklorik asidin sıcak veya soğukta yükseltgeme gücü yoktur. % 60-72'lik perklorik asit ise sadece sıcakta yükseltgeyicidir. Organik maddeleri ve bazı alaşımları çözebilir. Bazı organik matrikslerle hızlı tepkime verir hatta patlayıcı olabilir. Bu nedenle genelde nitrik asitle karıştırılarak kullanılır ve organik maddelerin kontrollü çözünürleştirilmeleri sağlanır. Karışımdaki nitrik asit düşük sıcaklıkta yükseltgeme yapabilir. Sıcaklık çok artarsa perklorik asit nitrik asidin çözünürleştirme gücünü azaltabilir. Ayrıca bazı metallerin susuz perklorat tuzları patlayıcıdır. Perklorik asidin organik maddeleri kapalı sistemde çözünürleştirmede patlama riski vardır.

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. Perklorik asit kullanımındaki gibi mikrodalga kapalı bozundurma işlemlerinde patlama riski vardır.

3.7. Eser Element Analizlerinde Çözünürleştirme Metotlarında Sistematik Hatalar

Analiz sonuçlarındaki anormal yüksek değerler, havadaki tozlar, reaktif blankları ve kap malzemelerinden kaynaklanan kontaminasyonların sonucu olabilir. Hata çalışmalarında, blank değerleri sonuçlardan çıkarılarak düzeltme yapılabilir. Yüksek blank değerlerinin nedenleri, tekrarlanabilirlik etkileri ve analizin tayin sınırıdır.

Si, Al, Fe, Ca, Na, K, Mg, C, Ti, Cl ve S elementleri havadaki tozlarda genel olarak vardır. V, Zn, Ni, Cr, Cu, Br ve F elementleri ise popülasyonun yüksek olduğu bölgelerde bile diğerlerine göre daha az bulunur ve yaklaşık konsantrasyonları 0.1µg/m^3'tür. Laboratuarlarda çalışma ortamının niteliğine göre bunlar ve diğer elementler atmosferde bulunabilirler. Havadan gelecek kontaminasyonlar, kapalı sistemler kullanılarak azaltılabilir ya da tamamen yok edilebilir. Çalışılan odanın, laboratuvarın atmosferinin toz ve asılı parçacıklardan tamamen arındırılmış ve muhafaza edilmiş olması gerekebilir. Bu amaçla 'temiz odalar' denilen çalışılan alanda özel koruyucu elbiselerin (tozdan arındırılmış) kullanıldığı, laminar temiz hava akımının sağlandığı laboratuarlar yapılmıştır. Burada, hava HEPA (high efficiency particulate air) filtreler kullanılarak toz parçacıklarından tamamen temizlenmektedir. Bu odaların veya bankoların kalitesi ortamda bulunan parçacık sayısıyla belirtilir. Örneğin tipik 'sınıf 100' veya 'sınıf 10' ifadelerinin anlamı havanın 0.28 m^3lük alanında 100 veya 10'dan daha az parçacık bulunduğudur [12].

Çözünürleştirmede, reaktif kör değerleri yüksek saflıktaki reaktiflerden minimum miktarlar kullanılarak azaltılabilir. Kullanılan su ultra saf olmalıdır.

Kap malzemesinin çözünürleştirme sırasında örnek madde ile reaksiyona girmesi de başka bir sistematik hata kaynağıdır. Araştırmalar çerçevesinde kullanılan çeşitli kap malzemeleri karşılaştırılmış ve tüm çalışmalar için 'en iyi' olarak nitelendirilebilecek kadar inert olmadıkları görülmüştür. Cam genellikle çok düşük eser element analizleri için kullanılmaz. PTFE belirli çalışmalar için oldukça uygundur. Kuartz ve polietilen, elementleri en az adsorbe eden elementlerdir, bu yüzden çok kullanılırlar.

3.8. Selenyum

3.8.1. Selenyumun özellikleri

Selenyum ilk olarak 1817 yılında Jons Jacob Berzelius tarafından keşfedilmiştir. Berzelius, bakır piritlerini ateşle kızdırdığında kırmızı tozlar oluştuğunu görmüş ve bunun yeni bir element olduğunu tanımlamıştır. Bu elemente Yunanca "ay" anlamına gelen "selene" adı verilmiştir. Selenyum, magma ve volkanik gazların bileşiminde bazı nadir bulunan minerallerle (örneğin Cu_2Se Berzeliannite, PbSe Lerbaite, Hg Tiemanite gibi) bakır piritlerinde ve kükürt filizlerinde safsızlık olarak bulunur [24].

Periyodik çizelgenin VIA grubunda yer alan selenyumun atom kütlesi 78,96 g/mol, atom numarası 34, oda koşullarında gri renkli katı, erime sıcaklığı 221 ºC, kaynama sıcaklığı 685 ºC, yoğunluğu 4,819 g/cm^3 ve molar hacmi 16,42 mL/mol'dür. Selenyum, -2, 0, +4, +6 yükseltgenme basamaklarında olabilmektedir [25, 26, 27]. P blok elementi olan selenyum yarı metalik özellik göstermektedir.

Selenyumun yeryüzündeki oranı yaklaşık kütlece % 7.10^{-5} olup, bu miktar kadmiyum ve antimonun bulunuş oranlarına yakındır [27]. Selenyumun kullanım alanlarından en önemlileri şunlardır:

- Elektrik iletkenliği ışık ile değiştiğinden fotosellerde,
- Fotoiletken özelliği nedeniyle fotokopi makinelerinde,
- Seramikte ve renkli cam üretiminde renk vermek ve renksizleştirme için,
- Çelik üretiminde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır [27, 28].

3.8.2. Selenyumun Biyolojik Önemi ve Vücuttaki İşlevleri

Biyolojik maddelerde selenyum tayinin önemi hem gerekli hem de toksik element olmasından kaynaklanmaktadır. 1957 yılından beri, bazı memeli türleri için selenyumun gerekli (elzem) eser element olduğu bilinmektedir [29, 30, 31]. Selenyumun eksikliği ile toksik etki seviyeleri arasında dar bir sinir vardır [32, 33]. Selenyumun önemi, glutation peroksidaz (GP) enziminin yapısında bulunması ve bu enzimin etkinliği için gerekli bir element olmasından kaynaklanmaktadır. GP, doymamış yağ asitlerinin yükseltgenmesi sonucu oluşan peroksitleri suya dönüştürerek, hücre yapısını bozan ve hücre zarına zarar veren serbest radikalleri yok eder. Bu özelliği ile kuvvetli antioksidan olup, çoklu doymamış yağ asitlerinin yükseltgen etkisiyle parçalanmasını önleyerek, hidroperoksit ve lipoperoksitleri etkisizleştirmektedir [34, 35, 36].

Selenyum, toprak, bitki ve hayvanlar için oldukça önemli olan bir eser elementtir. Selenyum, spermatozoanın özel bir proteininin yapısında bulunur ve purin ve pirimidin bazlarına bağlanabildiği için RNA'da işlevi vardır. Selenyum ayrıca, prostaglandin sentezinde, elzem yağ asitleri metabolizmasında rol oynar ve bağışıklık mekanizmasında önemlidir [34].

Selenyumun bir diğer özelliği de toksik ağır metallerin etkisini yok etmesidir. Deniz ürünlerinde civa ve civanın metil esteri selenyumla birlikte bulunur. Her ne kadar mekanizması tam olarak bilinmese de kadmiyum ve civanın toksik etkisini önlediği saptanmıştır [32, 35, 31].

Yirmi birinci amino asit olarak bilinen selenosistin, enzimlerin işlevlerine sahip bir selenoprotein kompleksidir. Selenyumun bir diğer özelliği, oldukça uçucu olması nedeniyle ısıl uygulamalardan etkilenmesidir. Sistin ve sistein amino asitlerinde sülfürün yerini aldığı için proteinin değerini arttıran selenyum, özellikle tahılların ve baklagillerin pişirilmesi ve işlenmesi sırasında kayba uğramaktadır. Selenyum ile zenginleştirilmiş sütler üzerine yapılan bir araştırmada 210 ºC'da 25 dakika uygulanan ısıl işlemin selenyum içeriğini %1-11 arasında azalttığı görülmüştür [29, 37].

Selenyumun E vitamini ile birlikte üstlendiği önemli görevlerden biri de antioksidan etki göstermesidir. Yeterli olmamaları durumunda glutatyonperoksidaz enziminin de yetersizliği ile serbest radikallerin zararlı etkileri önlenememekte, hücrelerin yapı bütünlüğü bozulmakta ve metabolik işlevlerde eksiklik olmaktadır [27]. Selenyumun en yaygın kullanımı kanser ve kalp hastalıklardan korunma amaçlıdır [38, 39]. Bağışıklık sistemini güçlendirmek ve deri sağlığını arttırmak amacıyla da kullanılabilir [31, 40]. Keshan Hastalığı olarak tanımlanan bir kalp damar hastalığı üzerinde oldukça etkilidir [32, 36]. Cinsel güce olan etkisi ve tiroid bezinin az salgı yaptığı durumlarda T3 hormonu oluşumunda rol oynaması nedeniyle kullanılır [39].

3.8.3. Selenyum Kaynakları

Gıda içerisinde bulunan selenyum miktarı, bitkilerin veya hayvanların geliştirildiği toprağın selenyum içeriğine bağlıdır. Avrupa'da toprak selenyum bakımından fakirdir. Selenyum seviyesi en düşük ülkeler İspanya, Yunanistan ve Doğu Avrupa ülkeleridir. Çin ve Rusya'nın bazı bölgelerinde de topraktaki selenyumun seviyesi çok düşüktür. Selenyum eksikliği çoğu kez bu bölgelerde rapor edilir, çünkü bu bölgelerdeki bir çok besin yöresel olarak yetiştirilir ve tüketilir.

3.8.4. Selenyum Alımı

Alınması gereken günlük selenyum miktarı, diyetteki selenyumun kimyasal yapısı ve faydalanılabilir yapısına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Deney hayvanları üzerinde yapılan araştırmalar, selenyumun selenit ve selenometionin olarak alınması halinde sindirim sisteminde daha fazla (%79-97) emildiğini göstermiştir.

Bitkiler, hayvanlar ve insanlar için gerekli bir element olan selenyumun dört doğal şekli vardır. Bunlar; elementel selenyum, selenür (-2), selenit (+4) ve selenat (+6)'tir. Selenyumun selenit ve selenat yapıları su içerisinde, organik yapıları (selenometioninve selenosistein) ise hayvansal ürünler ve tahıllarda yaygın olarak bulunur [41].

Genel olarak Avrupa Birliği'nde tavsiye edilen ve günlük alınması gereken selenyum miktarı 55 µg/gün'dür [42]. Farklı yaşlarda bulunan kişilerin günlük selenyum ihtiyaçları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Farklı yaşlarda bulunan kişilerin günlük selenyum ihtiyaçları

Yaş	**Selenyum**
1-6 yaş arası çocuklarda	20 µg/gün
7-10 yaş arası çocuklarda	30 µg/gün
11-14 yaş arası erkeklerde	40 µg/gün
15-18 yaş arası erkeklerde	50 µg/gün
19-51 yaş ve üstü arası erkeklerde	70 µg/gün
11-14 yaş arası kadınlarda	45 µg/gün
15-18 yaş arası kadınlarda	50 µg/gün
19-51 yaş ve üstü arası kadınlarda	55 µg/gün

3.8.5. Selenyum Eksikliği ve Buna Bağlı Hastalıklar

Son yıllarda yapılan araştırmalar, insan vücudunda çok önemli işlevlere sahip ve bazı hastalıkların önlenmesinde etkili olan selenyumun mutlaka yeterince alınması gerektiğini göstermektedir. Selenyum eksikliğine bağlı olarak bireylerde kretenizm yanında algılama ve konuşma bozukluğu, anormal yürüyüş, el becerisinde azalma, denge bozuklukları da görülebilmektedir. Selenyum eksikliğinde görülen diğer önemli hastalıklar epilepsi (Sara) ve Down sendromudur [43]. Çin'de yaygın olarak görülen bir kalp kası hastalığı olan keshan hastalığı, selenyum eksikliği ile ortaya çıkmaktadır. Selenyum eksikliğine bağlı olarak görülen bir diğer hastalık da, genellikle 5-13 yaş grubu çocuklarda görülen Kashin-Beck hastalığıdır [35, 41].

Selenyum eksikliği belirtileri, tırnaklarda beyazlaşma, deri ve saçlarda renk kaybı, kas ağrıları ve kas zafiyetidir [43].

Selenyumun; üreme ve sperma hareketliliği için gerekli olduğu, çocuk düşürme riskini azalttığı kandaki immunoglobullinleri arttırarak bağışıklık sistemini kuvvetlendirdiği, çağımızın vebası olarak bilinen AIDS'i, yaşlanmaya bağlı olarak ortaya çıkan kataraktı ve bazı virüslerin (grip) toksisitesini önlediği bildirilmektedir [43].

Selenyumun ayrıca bir çok kanser tipini, kan pıhtılaşmasını, hipertansiyonu, kalp hastalıklarını, romatizmal ağrıları, guatrı, astımı, şeker hastalığını ve eklem kireçlenmelerini önlediği saptanmıştır [44, 41, 31]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, deri, akciğer ve prostat kanserleri İle kronik hastalıkların önlenmesinde, mutajenik değişimlere ve yaşlanmalara karşı selenyumun antioksidan özellikleri araştırılmaktadır [35, 45].

3.8.6. Selenyumun Zehirliliği

Selenyum her ne kadar insan beslenmesinde gerekli kabul edilse de, miligram seviyelerindeki yüksek dozları toksik etkiye sahiptir. ABD'de yapılan bir araştırmada haftada 30 mg'dan fazla selenyum tüketen insanlarda zehirlenme, yorgunluk, nefesin sarımsak kokması, bulantı, kusma, ishal, saç dökülmesi ve tırnaklarda şekil bozukluğu gibi belirtilerin ortaya çıktığı saptanmıştır [35].

Selenyumun çoğu kimyasal bileşiği toksik değildir. Toksiste, selenyumun kimyasal yapısı ve alınan miktarı yanında yaş, fiziksel yapı gibi diğer faktörler ile de ilişkilidir. Ağız yolu ile doğrudan alınan asidik selenyum (selenöz asit), sersemlik hissi verir, tansiyonu düşürür, solunumu yavaşlatır ve sonuçta ölüme neden olur. Selenyum sülfit, hayvanlar için kanserojen, dimetilselenit ise insanlar için toksik etkiye sahiptir.

Son zamanlarda selenyum zehirlenmesinin, glutatyon ile selenotrisülfitlerin karşılıklı etkileşmesi sonucu toksiksüperoksit ve hidrojen peroksite dönüşmesi ile oluşabileceği belirtilmektedir [41,46].

3.8.6.1. Selenyumun Gravimetrik Tayini

Selenyumun gravimetrik tayinlerinde inorganik indirgen maddeler selenyumun indirgenmesinde kullanılırlar. Bu indirgeyici maddeler başlıca kükürt dioksit, hidrazin,

hidroksilamin, sodyum hipofosfit ve kalay (II) klorürdür.

İndirgeyici olarak SO_2 kullanıldığında, derişik HCl (8,8 M) ortamında selenit ve selenat, selenyuma indirgenerek çökmektedir. Selenyum Fe^{2+}, Sn^{2+}, Cr^{2+} ve V^{2+} gibi reaktiflerle de indirgenerek tayin edilebilmektedir. Aynı zamanda, organik indirgeyiciler de selenyumun nicel tayininde kullanılmaktadır. 3,5 M HCl ortamında (40ºC) selenit, 1-amidino-2-tiyoüre tarafından elementel selenyuma indirgenerek tayin edilebilmektedir [47].

$$H_2SeO_3 + 2C_2H_6N_4S \rightarrow Se^0 + 2C_2H_4N_4S + 3H_2O$$

Selenyum elektrogravimetrik olarak da Cu-Pt elektrot çifti kullanılarak tayin edilebilmektedir. Bu yöntem H_2SeO_3 ve Cu^{2+}'nin bakır metali tarafından Cu_2Se'ne indirgenmesine dayanır. Bu bileşiğin tartılmasıyla selenyum tayini yapılabilmekte ve ticari SeO_2'deki selenyum tayini böyle gerçekleştirilmektedir [48]. Gravimetrik yöntem yüksek derişimdeki selenyum tayini için uygundur.

3.8.6.2. Selenyumun Titrimetrik Tayini

Birçok titrasyon yöntemi yükseltgenme-indirgenme tepkimesine dayanmaktadır. $S_2O_3^{2-}$, I^-, Fe^{2+}, Cr^{2+}, Tl^{3+} tuzları selenyum titrasyonunda indirgen olarak kullanılmaktadır [12]. Se(IV)'ün yükseltgenmesi için ise $KMnO_4$ ve K_2CrO_7 gibiyükseltgenler kullanılmaktadır. Selenyumun yükseltgenme-indirgenme titrasyonu 4 grupta sınıflandırılabilir.

1) Se (IV)'ün elementel selenyuma indirgenmesi

2) Elementel selenyumun Se (IV)'e yükseltgenmesi

3) Se (IV)'ün Se (VI)'ya yükseltgenmesi

4) Se (VI)'nin Se (IV)'e indirgenmesi

Tüyosülfatla selenyumun titrimetrik tayininde selenoz asit zayıf asidik ortamda indirgenmekte, tiyosülfatın aşırısı iyot ile geri titre edilmektedir [49].

$$H_2SeO_3 + 4Na_2S_2O_3 + 4HCl \rightarrow Na_2[Se(S_2O_3)_2] + 4NaCl + 3H_2O$$

$$2S_2O_3^{2-} + I_2 \rightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$$

Selenyumun iyodometrik tayini selenitin ve selenatin iyodür ile indirgenmesinden sonra açığa çıkan iyodun tiyosülfat ile titre edilmesine dayanır. Se(IV) veya Se(VI) potasyum iyodür tarafından elementel selenyuma indirgenir ve açığa çıkan iyot tüyosülfat ile titre edilir [49].

$$SeO_3^{2-} + 4I^- + 6H^+ \rightarrow Se^0 + 2I_2 + 3H_2O$$

Selenyumun permanganat ile yükseltgenmesiyle yapılan tayinde elementel selenyum veya Se(IV) aşırı $KMnO_4$ ile muamele edilir ve artan permanganat Fe^{2+} ile geri titre edilir. Ancak burada selenitin yükseltgenme tepkimesi oldukça yavaş olduğundan çözeltinin su banyosunda ısıtılması gerekir. Bu işlem $KMnO_4$'in termal bozunması sonucu MnO_2'in çökmesi ile sonuçlanacağından ortama Na_2HPO_4 ilave edilerek çökelme önlenir [49].

$$2MnO_4^- + 5SeO_3^{2-} + 6H^+ \rightarrow 5SeO_4^{2-} + 2Mn^{2+} + 3H_2O$$

$$8H^+ + MnO_4^- + 5Fe^{2+} \rightarrow Mn^{2+} + 5Fe^{3+} + 4H_2O$$

3.8.6.3. Selenyumun Elektrokimyasal Tayini

Elektroanalitik çalışmalar analiz edilecek maddenin elektrokimyasal özelliklerinden faydalanılarak yapılır. Bunlardan birincisinde, analiz edilecek türün derişimi ile çözeltideki elektriksel değişkenler arasındaki bağıntıdan yararlanılır. Örneğin, elektro aktif türün derişimi ile akımın, potansiyelin, direncin, elektriksel yükün değişiminden nicel tayinler yapılabilir. İkincisinde, tayin edilecek olan türün

titrasyonu sonucunda dönüm noktasındaki elektriksel değişimlerden yararlanılarak tayin yapılabilir. Üçüncüsünde ise uygulanan elektrik akımı, analiz edilecek olan türün elektrot yüzeyinde birikmesini sağlar ve gravimetrik olarak tayin yapılır.

Selenyumun polarografik yöntemlerle tayini için bir çok araştırma yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar selenyumun asidik ortamda bazik ortama göre daha duyarlı polarografik dalgalar veya pikler verdiğini göstermektedir. Asidik çözeltilerde Se(IV) iki basamakta indirgenmektedir. Bunlardan birincisi selenitin elementel selenyuma indirgenmesi, ikincisi ise selenyumun selenüre indirgenmesidir [50].

$$4H^{+} + H_2SeO_3 + 4e^{-} + Hg \rightarrow Hg(Se) + 3H_2O$$

$$Hg(Se) + 2H^{+} + 2e^{-} \rightarrow H_2Se + Hg$$

Se(IV)'ün H_2SO_4, HCl veya $HClO_4$ ortamında damlayan civa elektrodu üzerindeki indirgenme yarı dalga potansiyelleri, ortamın asitliği arttıkça pozitif potansiyellere kaymakta, başka bir deyişle indirgenme kolaylaşmaktadır.

Selenyumun puls-polarografik tayininin selenosülfat şeklinde yapılmasıyla 5.10^{-8} M'a kadar selenyum tayini mümkün olmuştur. Se(IV)'ün tayini 3,3-diaminobenzidin ile verdiği piazselenol polarografik dalgası kullanılarak da yapılmıştır. Burada, kompleks benzen ile özütlenmiş ve özütte polarografik tayin yapılmıştır [51].

Hasdemir ve Somer, polarografik yöntemle anot çamurunda Se tayini yapmışlardır. Bu amaçla bazı destek elektrolit çözeltileri denenerek anot çamurunda bulunan bazı elementlerin selenyum tayinine girişim etkisinden dolayı dolaylı bir tayin yöntemi önermişlerdir. $HClO_4$çözeltisinde (pH=2-3) Cu ve Se'un polarografik dalgaları örtüştüğünden, bu dalganın toplam difüzyon akımı ölçülmüş, Cu tayini amonyak tamponunda (pH=8-9) yapılarak difüzyon akımı toplam difüzyon akımından çıkarılmış ve selenyum dolaylı yoldan tayin edilmiştir [52].

Selenyumun voltametrik tekniklerle de bir çok tayini yapılmıştır. Bunlardan en önemlisi çok düşük miktarlarda madde tayinine İmkan veren ve durgun elektrot üzerinde maddenin elektrolizlenerek biriktirilip potansiyel taramasa ile çözeltiye

sıyrılması sırasındaki indirgenme (katodik sıyırma voltametrisi, CSV) veya yükseltgenme (anodik sıyırma voltametrisi, ASV) akımlarından yapılan tayinlerdir. Her iki yöntemin de duyarlılığı selenyum için 1 µg/L'den daha düşüktür.

Sıyırma voltametrisi tekniği ile Se tayininde bazı elementlerin girişim etkilerinden dolayı doğrudan tayin yapılamamaktadır. Özellikle ortamda Cu ve Se birlikte bulunduğunda intermetalik bileşik oluşumundan dolayı dolaylı tayin yöntemlerine başvurulmaktadır [53].

Aydın ve Somer, çözeltide bakır olduğu halde selenyumun doğrudan tayinini anodik sıyırma voltametrisi ile grafit-waxciva filmi elektrodu üzerinde gerçekleştirmişlerdir. Ortamdaki Cu ve Se'un intermetalik bir bileşik oluşturduğu ve bu intermetalik Cu-Se pikinden selenyum tayininin yapılabileceği gösterilmiştir [54].

3.8.6.4. Selenyumun Spektroskopik Tayini

Selenyumun spektrofotometrik tayininde kullanılan tepkimelerin başlıcaları şunlardır:

1. Piazselenol veya o-diaminlerle selenyum bileşiklerinin oluşturulması tepkimesi

2. Kükürt içeren organik reaktiflerle selenyum komplekslerinin oluşturulması tepkimesi

3. Organik bileşiklerin Se(İV) tarafından diazonyum tuzlarına yükseltgenme tepkimeleri

4. Fenil bağlanmış semikarbazidlerin ve tiyokarbazidlerin selenür komplekslerinin oluşumuna dayanan tepkimeler.

Selenyumun aromatik diaminlerle verdiği tepkimeler oldukça seçici ve hassastır. Bu tepkime ilk defa 1889 yılında Hinsberg tarafından açıklanmıştır. 3,3'-diamino benzidin selenoz asitle sarı renkte kararlı bir kompleks oluşturmaktadır. Bu kompleks nötral veya bazik çözeltide toluen veya benzen ile özütlenebilmektedir. Sulu çözeltide bu kompleks 340 nm ve 420 nm'de absorpsiyon pikleri vermektedir. o-fenilendiamin ile selenyumun verdiği komplekslerin hepsi görünür bölgede absorpsiyon pikleri vermekte ve nicel olarak tayin edilebilmektedirler [55].

Selenitin iyodürle tepkimesi sonucu açığa çıkan iyodun kloroform fazına alınıp spektrofotometrik olarak tayini ile dolaylı yoldan selenyum tayini yapılabilmektedir [56].

$SeO_3^{2-} + 4I^- + 6H^+ \rightarrow Se + 2I_2 + 3H_2O$

Farklı gıdalardaki selenyumun atomik absorpsiyon ve atomik floresans spektroskopisi ile tayini mümkündür. Mandic ve arkadaşları, balık, tavuk eti, kırmızı et gibi protein bakımından zengin gıdalardaki selenyumu HGAAS tekniği ile tayin etmişlerdir. $HClO_4$, H_2SO_4 ve HNO_3asit karışımı kullanılarak numuneler açık sistemde çözülmüştür. Deneylerde, indirgeyici çözelti olarak % 3 (m/v) $NaBH_4$çözeltisi, taşıyıcı çözelti olarak ta 1,7 M HCl çözeltisi kullanılmıştır [36].

Naveiro, Gonzalez, Barrera ve arkadaşlari, HGAAS tekniği ile inek sütünde selenyum tayini yapmışlardır. Sütlerin santrifüjlenmesi ile kazein ayrılmış ve mikrodalga fırın çözme yöntemi kullanılarak çözme işlemi yapılmıştır. HGAAS'de deneyler, argon gazının 125 mL/min olduğu akış hızında, 4 M HCl çözeltisi, % 0,2 (m/v) $NaBH_4$ çözeltisi kullanılarak yapılmıştır [38].

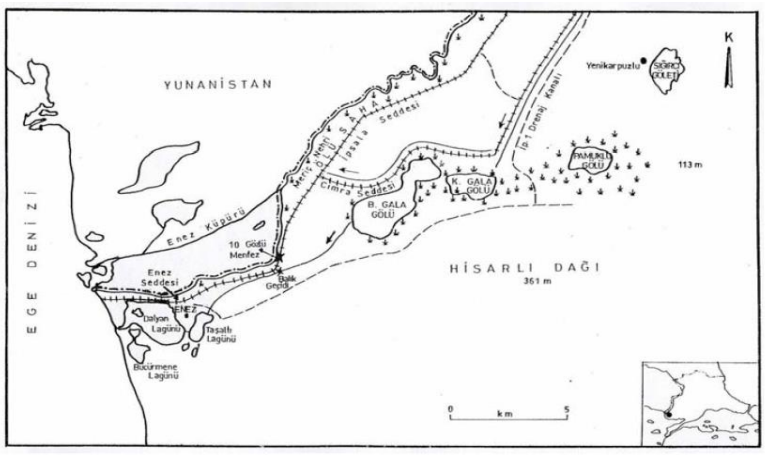
Diğer bir çalışmada, Smrkolj ve arkadaşları, Slovakya'da yetiştirilen ve üretilen çeşitli gıdalarda selenyum tayinini HGAFS tekniği ile yapmışlardır. Numuneler, HNO_3, H_2SO_4 asitleri ve H_2O_2, $Mg(NO_3)_2$ çözeltileri ile mikrodalga fırın kullanılarak çözülmüştür [57].

BÖLÜM 4

MATERYAL VE METOT

4.1. Gala Gölü ve Coğrafi Konumu

Gala Gölü Meriç ırmağının Ege denizine döküldüğü Edirne ili İpsala-Enez ilçeleri arasında yer alan alüvyon set gölüdür. Büyük Gala ve Küçük Gala olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Alanı 5.6 km^2 ve denizden yüksekliği 2 m dir. Gölün derinliği 0.4-2.2 m arasında değişmektedir (Şekil 1). Gölün etrafı geniş sazlık (*Phragmites australis* ve *Typha spp.)* alanlarla çevrilidir. *Typha spp.* sık bir örtü oluştururken, *Nymphaea spp.* ve *Ceratophyllum spp.* ise kıyı şeridinde dağınık bir yerleşim göstermektedirler. Göl çevresinde yoğun çeltik tarımı yapılmakta ve Türkiye'nin çeltik üretiminin %24'ü bu bölgeden sağlanmaktadır. Bu tarım alanlarından göle geri gelen sular su kalitesini olumsuz etkilemektedir [58].



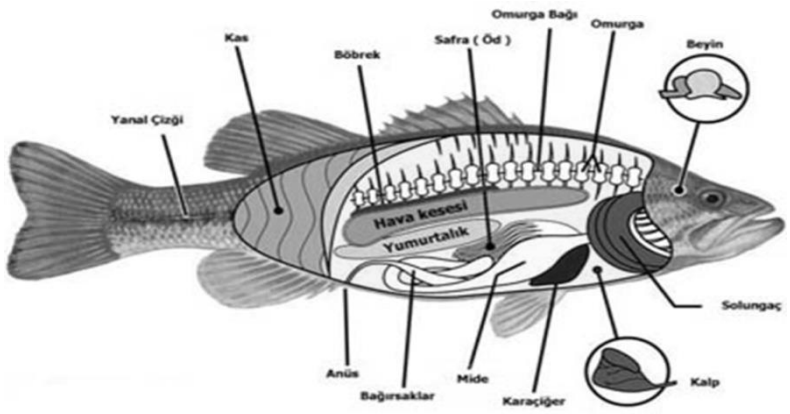
Şekil 4.1. Gala Gölü Milli Parkının konumu

4.2. Balık Örneklerinin Toplanması

Analizi yapılacak olan balık numuneleri Gala Gölü Balık Kooperatifinden taze olarak alındı. Daha sonra balık numuneleri analize hazırlanmak üzere laboratuvar ortamına getirildi.

4.3. Numunelerin Analize Hazırlanması

Balık numunelerinin analizi yapılmadan önce uygun bir cetvel yardımıyla boy uzunlukları ve hassas bir terazi yardımıyla ağırlık ölçümleri yapıldı. Daha sonra belirlenen organlardan (bağırsak, solungaç, kas, deri) yaklaşık 1 g alınıp mikrodalga çözünürleştirme işlemi için hazırlandı.



Şekil 4.2. Balık Anatomisi

4.4. Numunelerin Çözünürleştirmesi

Balıkların çeşitli organlarından (bağırsak, solungaç, kas, deri) alınan 1'er gram numune üzerine 2 mL H_2O_2 ve 6 mL HNO_3 ilave edildi. Daha sonra mikrodalga tüplerine konuldu ve çeşitli basamaklar uygulanarak çözünürleştirme işlemine tabi tutuldu. Numunelerin asit ile parçalanıp analize hazırlanması için CEM MARSXpress 5 mikrodalga çözme sistemi (Şekil 4.3) kullanıldı.

.

Her çözünürleştirme işleminden sonra teflon mikrodalga fırın kapları uygun mikrodalga yıkama programıyla yıkanarak temizlendi ve bir sonraki çözünürleştirme işlemi için kullanıma uygun hale getirildi. Örneklerin çözünürleştirilmesinde kullanılan mikrodalga yakma programı ve yıkama metot parametreleri Tablo 4.1 ve Tablo 4.2 verilmektedir.

Tablo 4.1.Örneklerin çözünürleştirilmesinde kullanılan mikrodalga yakma programı

Basamak	**Güç**	**Zaman (dk)**
1	400 W	2
2	400 W	2
3	400 W	6
4	800 W	8

Tablo 4.2. Yıkama metot parametreleri

Basamak	**Güç**	**Zaman (dk)**
1	400 W	2
2	800 W	5
3	1600 W	5
4	800 W	5

4.5. GFAAS'de Çalışma Koşulları ve Metot Geliştirme

Çözünürleştirilen örnekler Perkin Elmer Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (GFAAS) ile analizlendi. Se analizinde kullanılan cihaz koşulları Tablo 4.3'de verilmiştir.

Analizlere başlamadan önce balık dokularındaki Se içeriğini belirlemek amacıyla örneklere uygun metot belirlenmeye çalışıldı ve belirli sıcaklık aralıklarında tarama yapıldı.

Numunelerimiz için belirlenen optimum külleme ve atomlaşma sıcaklıkları sırasıyla 1300ºC ve 1900ºC olarak bulundu (Tablo 4.4). Optimum sıcaklıklar belirlendikten sonra tüm numuneler analiz edilmiştir.

Tablo 4.3. GFAAS'de çalışma koşulları

	Se
Işık Kaynağı	EDL
Dalga Boyu	196 nm
Slit Genişliği	2 nm
Atomlaştırıcı	THGA
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Zemin Düzeltmesi	Zeeman zemin düzeltme
Kimyasal Modifier	Pd/Mg

Tablo 4.4. Se örnekleri analizinde uygulanan sıcaklık programı

Basamak	Sıcaklık (°C)	Ramp (s)	Hold (s)	Gaz Akışı (mL/dak)
1	110	1	30	250
2	130	15	30	250
3	1300	10	20	250
4	1900	0	5	0
5	2450	1	3	250

Mikrodalga fırın yüksek güçte mikrodalga enerjisi ile çeşitli örneklerin uygun asit karışımları içinde çözülmesini sağlayan ve özellikle AAS analizleri için geliştirilmiş bir sistemdir. Mikrodalga ile parçalanmalarda işlem çok kısa (~20 dakika) sürdüğü için hız önemli bir avantajdır. Bunun yanı sıra kapalı kap içinde ve yüksek basınçta

çalışılabildiği için buharlaşma kayıpları önlenir ve bu nedenle az miktarda reaktifle çalışılabilir. Böylece reaktiflerden gelebilecek kirlenmeler en aza indirgenir.

Çözünürleştirilen numuneler süzülerek ultra destile su ile 20 mL'ye tamamlandı ve analize kadar saklanmak üzere HDPE saklama kaplarına alındı ve soğutucu dolaplarda -85 ºC muhafaza edildi.



Şekil 4.3. Mikrodalga çözünürleştirme sistemi

4.6. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre ile Analiz

Element ölçümleri Perkin Elmer marka AAnalyst 800 model atomik absorpsiyon spektrofotometre (Şekil 4.4) ile yapıldı. GFAAS tekniğinde; cihaz 8 lamba hazneli, grafit fırın kısmında Zeeman zemin düzeltme sistemine sahip ve tamamen bilgisayar kontrollü olarak çalışmaktadır. Atomlaştırıcı THGA (Transversely Heated Graphite Atomizer) grafit tüp bilgisayar kontrollü olarak maksimum sıcaklık profili sağlayacak şekilde dizayn edilmiştir. Bu amaçla THGA çapraz ısıtma sistemi ile homojen olarak ısıtılmaktadır. HGAAS tekniğinde ise MHS-15 (Mercury Hydride System) uçucu bileşiklerin analizi amacıyla AAnalyst 800'e kombine edilmiştir.



Şekil 4.4. Atomik absorpsiyon spektrofotometre (Perkin Elmer AAnalyst 800 model).

4.7. Ultrasaf Su Sistemi

Tüm denemelerde ELGA marka ultra saf su cihazından sağlanan su kullanılmıştır. Cihazın iletkenlik değeri 18.2 MΩ-cm'dir.

4.8. Analitik Terazi

Numunelerin tartımlarında Libror EB-330H Shimadzu model analitik terazi kullanılmıştır.

4.9. Numunelerin Analizinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Derişik $HN0_3$ (Merck),
- Derişik H_20_2 (Merck),
- $Mg(NO_3)_2.2H_2O$ (%17'lik HNO_3 içinde; Fluka)
- $Pd(NO_3)_2.2H_2O$ (%15'lik HNO_3 içinde; Fluka)
- $NaBH_4$ (Merck),
- KI (Merck)
- L-(+)-Askorbik asit, %99 + (Alfa Aesar)
- NaOH (Merck)
- HCl, %37 (Merck)
- HF, %48 (Merck) kullanılmıştır.

4.10. Tez Çalışmasında İncelenen Balık Türü Bulgar Tekkesi (*Carassius gibelio*)

Trakya ve Doğu Karadeniz' in yumuşak zeminli bol bitkili akarsularında yayılış gösterir. Büyümesi daha hızlı olup 3 - 4 yaşında 15 - 20 cm. ye erişir. Daha büyüklerine de rastlanır. Mayıs - Haziran arası 160 - 380 000 yumurta döker. Bazı hallerde bu yumurtaları Sazan ve diğer havuz balıklarının da döllediği görülür. Eti yenir ve akvaryumlarda süs balığı olarak da yaşatılır.

Bulgar Tekkesi balığı (gümüşi havuz balığı) başlıca Rusya, Avrupa, Kore ve Kuzeydoğu Çin'de yayılım gösterir. Bu balığın doğal yayılım alanı hala tartışma konusudur ve yalnızca Kuzey Avrupa için doğal olabilir. Orta ve Doğu Avrupa'da ve Balkanlarda da geniş bir yayılıma sahiptir. Gümüşi havuz balığı 1988 de ilk olarak Trakya bölgesinde Gala Gölü'nden rapor edilmiştir. Daha sonra bu balık Marmara Bölgesi'nin genelinde ve Anadolu'dan da bildirilmiştir. Gümüşi havuz balığı istilacı bir balık türüdür ve doğal balık toplulukları için zararlı bir balık türü olarak bilinir. Bu balık, durgun, yavaş akışlı sularda kolaylıkla baskın balık türü olabilir ve bütün ekosistemdeki nütrient akışını değiştirebilir. Gümüşi havuz balığı ayrıca diğer bazı doğal balık türleri (örneğin kızılkanat, *Scardinius erythrophthalmus* ve eğrez *Vimba vimba*) için kuvvetli bir rekabetçi olabilir [59].



Şekil 4.5. Bulgar Tekkesi Balığı (*Carassius gibelio*)

BÖLÜM 5

SONUÇLAR

5.1. Numunelerin Hazırlanması

Carassius gibelio (Bulgar tekkesi) balığı için yapılan ortalama boy uzunluğu (12 balık) 26,2 cm olarak ölçüldü. *Carassius gibelio* (Bulgar tekkesi) balığı için ağırlık ölçümleri Tablo 5.1'de verilmektedir.

Tablo 5.4. *Carassius gibelio* (Bulgar tekkesi) için ağırlık ölçümleri

Numune No	Balık Ağırlığı (g)
1	445,27
2	296,05
3	378,30
4	356,47
5	397,76
6	376,35
7	369,59
8	380,81
9	349,93
10	372,11
11	313,80
12	331,74

5.2. GFAAS Analiz Sonuçları

Bu çalışmada, balık organ numunelerinde HGAAS tekniğinin selenyum tayininde genel olarak kullanılan GFAAS ile kıyaslanması amaçlanmıştır.

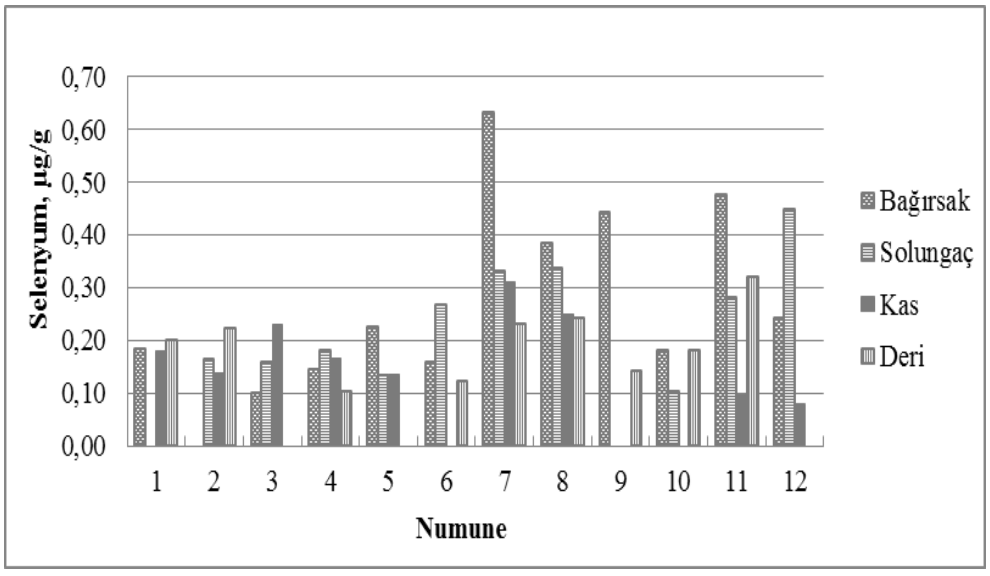
GFAAS ile yapılan ilk çalışmada, mikrodalga yöntemiyle yüksek basınç ve yüksek sıcaklıkta örneklerin tamamen parçalanması sağlandığı için matriks etkisi büyük oranda yok edilmiştir. Fakat ölçümlerin doğruluk ve tekrarlanabilirliğini arttırmak amacı ile üretici firma tavsiyesi ve matriks düzenleyicilerle ilgili araştırmaları da göz önünde bulundurarak $Pd(NO_3)_2$+$Mg(NO_3)_2$ karışımı matriks düzenleyici olarak kullanıldı.

1 mL Pd+0.1 mL Mg çözeltilerinden alınıp 10 mL'ye tamamlandı, hazırlanan bu matriks düzenleyiciden toplam 5 µL tüm standart ve örneklere ilave edildi.

GFAAS ile ölçümler sırasında absorbans okumaları her bir örnek çözeltisi için iki okuma şeklinde gerçekleştirilmiştir. Bütün ölçümlerin bağıl standart sapmaları (RSD) % 8'in altındadır.

Tablo 5.2. GFAAS yöntemiyle balık örneklerindeki Se içeriklerinin organlara göre dağılımı

Selenyum, µg/g (GFAAS)				
Numune No	**Bağırsak**	**Solungaç**	**Kas**	**Deri**
1	0,183	0,000	0,181	0,200
2	0,000	0,166	0,139	0,224
3	0,102	0,159	0,230	0,000
4	0,144	0,182	0,167	0,103
5	0,225	0,133	0,135	0,000
6	0,160	0,269	0,000	0,124
7	0,632	0,333	0,310	0,233
8	0,384	0,339	0,250	0,242
9	0,445	0,000	0,000	0,142
10	0,182	0,105	0,000	0,181
11	0,478	0,283	0,096	0,321
12	0,243	0,448	0,080	0,000
Ortalama ± SS	0,265±0,182	0,201±0,137	0,132±0,102	0,147±0,106



Şekil 5.8. GFAAS yöntemiyle bulunan Se içeriklerinin organlara göre dağılımı

5.3. HGAAS Analiz Sonuçları

Hidrür oluşturmalı AAS tekniğinde analiz parametreleri; hidroklorik asit derişimi, sodyum bor hidrür derişimi ve taşıyıcı gaz akış hızıdır.

HGAAS sisteminde, hidroklorik asit, taşıyıcı çözelti olarak kullanılmaktadır. Çözelti halindeki numunenin tepkime tüpüne taşınmasını sağlar ve burada numune, hidroklorik asit ve sodyum bor hidrür ile karışarak bir tepkime meydana gelir.

Sodyum bor hidrür ($NaBH_4$), hidrür oluşturan bir maddedir. Burada $NaBH_4$, Se(IV) ile tepkimeye girerek selenyum hidrür (H_2Se) oluşmasını sağlar.

$$3BH_4^- + 3H^+ + 4H_2SeO_3 \rightarrow 3H_3BO_3 + 4H_2Se\uparrow + 3H_2O$$

HGAAS'de taşıyıcı gaz olarak ortamda bulunan diğer maddelerle tepkimeye girmeyen bir gaz kullanılmaktadır. Bu yöntem için genellikle argon veya azot gazı tercih edilir. Bu çalışmada argon gazı kullanılmıştır. Argon gazı, tepkime tüpünde hidrürüne dönüştürülen Se^{4+}'nın atomlaştırıcıya taşınmasını sağlamaktadır.

Seyreltici: 0.15 mol/L (%1.5 h/h) HCl
15 mL HCl balon jojeye alındı ve ultra saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

İndirgen: 0,25 mol/L (%1 a/h) NaOH içinde hazırlanmış 0,80 mol/L (%3 a/h) $NaBH_4$
10 g NaOH ve 30 g $NaBH_4$ tartılarak balon jojeye alındı ve ultra saf su ile çözülerek 1000 mL'ye tamamlandı.

Ön İndirgenme: Altı değerlikli selenyum ölçülebilir bir sinyal oluşturmaz Se^{+6}'nın Se^{+4}'e indirgenmesi gerekir. Bu amaçla örneklere 5-6 mol/L HCl olacak şekilde derişik HCl ilave edildi. Hazırlanan çözeltiler 15-30 dakika su banyosunda ısıtılarak indirgenme gerçekleştirildi.

Kalibrasyon Çözeltileri:
Ara Stok: %1.5 HCl ile hazırlanmış 1 ppm = 1000 ppb Se

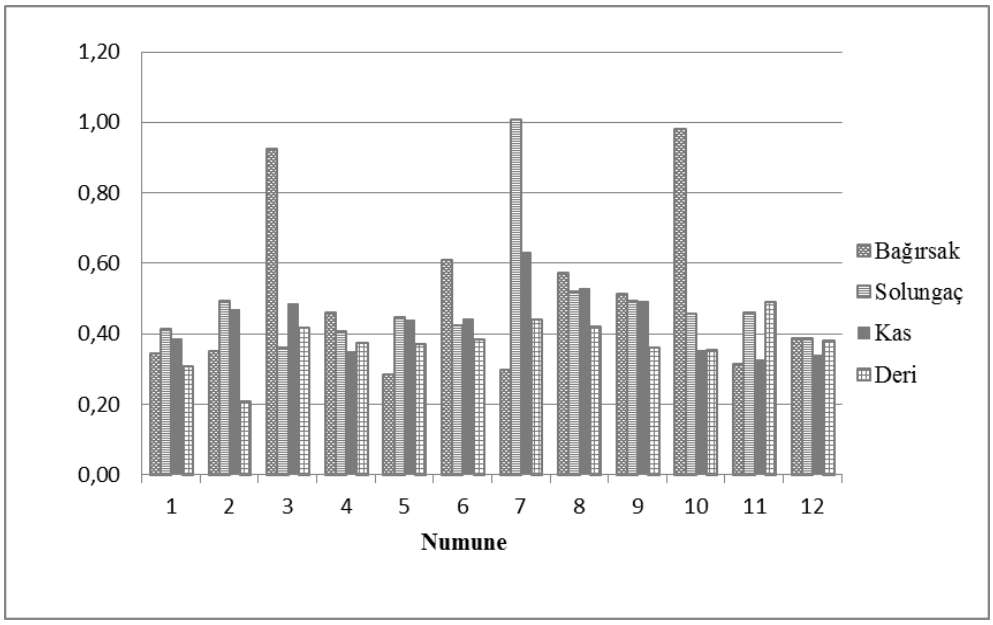
Standart 1: 2.5 ppb / Standart 2: 5 ppb / Standart 3: 10 ppb (%1.5 HCl içinde)

Standart ve Örnek Hacimleri: 10 mL

QTA Isıtma: QTA zayıf hava-asetilen alevinde ısıtılır.
Reaksiyon Öncesi Temizleme Zamanı: yaklaşık 50 saniye
Reaksiyon Sonrası Temizleme Zamanı: yaklaşık 30 saniye

Tablo 5.3. HGAAS yöntemiyle balık örneklerindeki Se içeriklerinin organlara göre dağılımı

Selenyum, µg/g (HGAAS)				
Numune No	**Bağırsak**	**Solungaç**	**Kas**	**Deri**
1	0,344	0,414	0,387	0,306
2	0,351	0,494	0,470	0,207
3	0,925	0,359	0,487	0,418
4	0,460	0,406	0,348	0,374
5	0,285	0,448	0,439	0,371
6	0,608	0,422	0,443	0,385
7	0,297	1,007	0,632	0,440
8	0,574	0,519	0,530	0,419
9	0,512	0,495	0,493	0,362
10	0,983	0,457	0,353	0,353
11	0,315	0,459	0,325	0,492
12	0,388	0,389	0,338	0,379
Ortalama ± SS	0,504±0,236	0,489±0,170	0,437±0,092	0,376±0,071



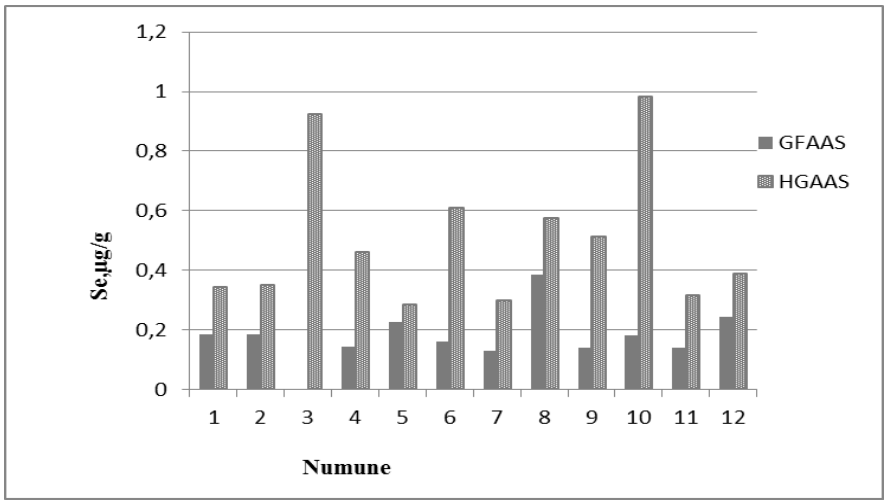
Şekil 5.9. HGAAS yöntemiyle bulunan Se içeriklerinin organlara göre dağılımı

5.4. Balık Numunelerindeki Se Konsantrasyonlarının GFAAS ve HGAAS Sonuçları Açısından Karşılaştırılması

Analizlerde en önemli parametre çözünürleştirmenin tam anlamıyla gerçekleştirilmesidir. Bundan dolayı balık numunelerinin analizinde mikrodalga çözünürleştirme yöntemi uygulanarak GFAAS ve HGAAS yöntemleri ile analizler gerçekleştirildi. Amacımız Se açısından optimum koşulları belirlenen GFAAS yöntemini balık numunelerine uyguladıktan sonra, analiz süresi açısından daha kısa ve analiz elementinin uçucu hidrürü şeklinde atomlaştırıcaya matriksten ayrılarak ulaşması gibi önemli avantajları olan HGAAS yönteminin tercih edilebilirliğini incelemekti. Her organ için ayrı ayrı istatistiksel değerler hesaplanarak grafiğe geçirildi.

Tablo 5.4. Bağırsak için iki yöntemin bulunan Se içerikleri (µg/g)

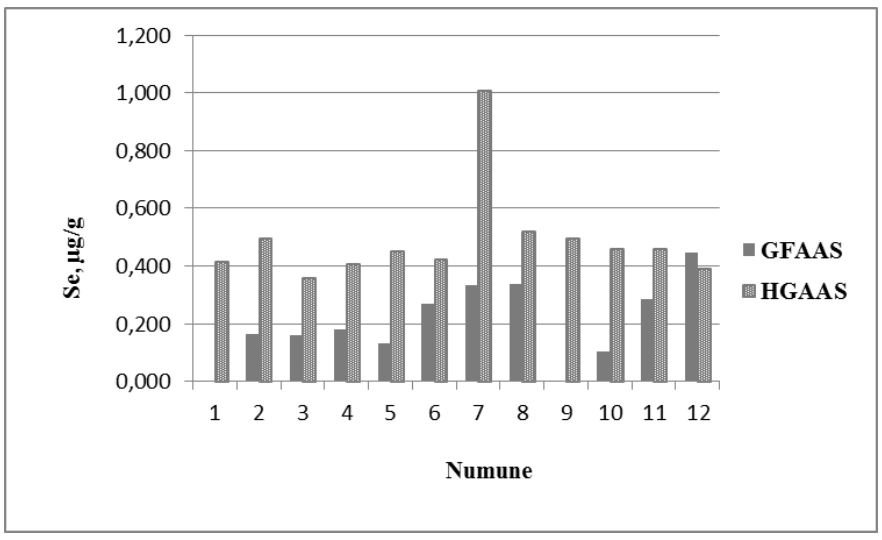
Numune No	GFAAS (µg/g)	HGAAS (µg/g)
1	0.183	0.344
2	0.183	0.351
3	0.000	0.925
4	0.144	0.460
5	0.225	0.285
6	0.160	0.608
7	0.130	0.297
8	0.384	0.574
9	0.141	0.512
10	0.182	0.983
11	0.140	0.315
12	0.243	0.388
Ortalama ± SS	0,265±0,182	0.504±0.236



Şekil 5.10. Bağırsak için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 5.5. Solungaç için iki yöntemin bulunan Se içerikleri (µg/g)

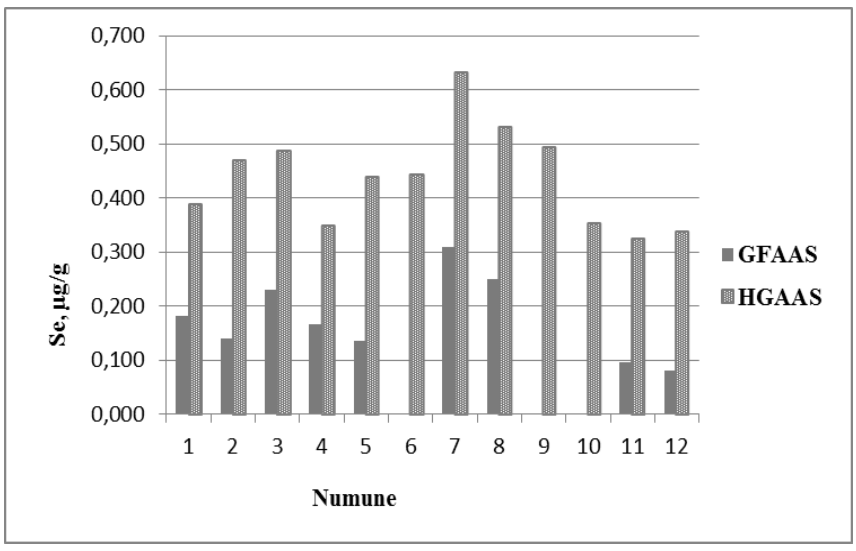
Numune No	GFAAS (µg/g)	HGAAS (µg/g)
1	0.000	0.414
2	0.166	0.494
3	0.159	0.359
4	0.182	0.406
5	0.133	0.448
6	0.269	0.422
7	0.333	1.007
8	0.339	0.519
9	0.000	0.495
10	0.105	0.457
11	0.283	0.459
12	0.448	0.389
Ortalama ± SS	0.201±0.137	0.489±0.170



Şekil 5.11. Solungaç için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 5.6. Kas için iki yöntemin bulunan Se içerikleri (µg/g)

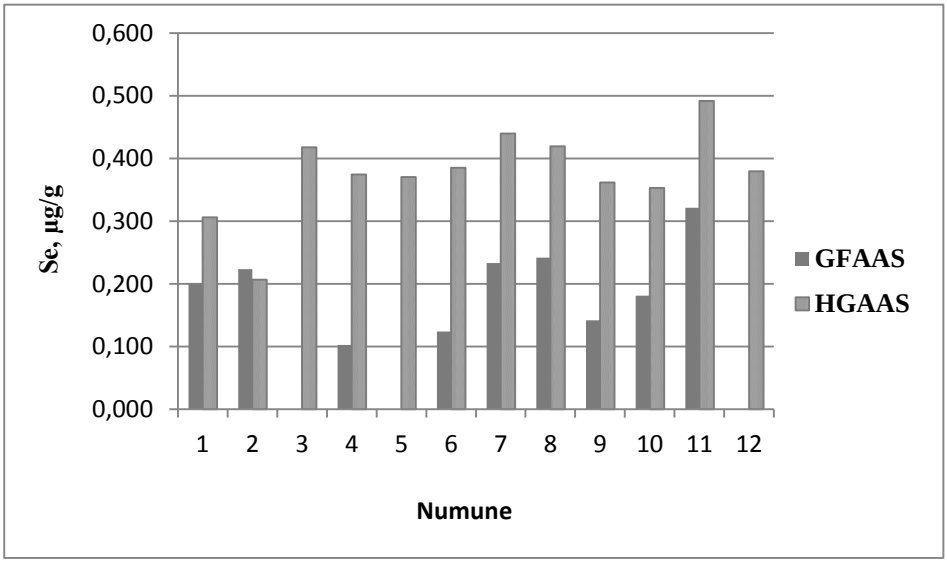
Numune No	GFAAS (µg/g)	HGAAS (µg/g)
1	0.181	0,387
2	0.139	0.470
3	0.230	0.487
4	0.167	0.348
5	0.135	0.439
6	0.000	0.443
7	0.310	0.632
8	0.250	0.530
9	0.000	0.493
10	0.000	0.353
11	0.096	0.325
12	0.080	0.338
Ortalama ± SS	0,132±0,102	0.437±0.092



Şekil 5.12. Kas için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 5.7. Deri için iki yöntemin bulunan Se içerikleri (µg/g)

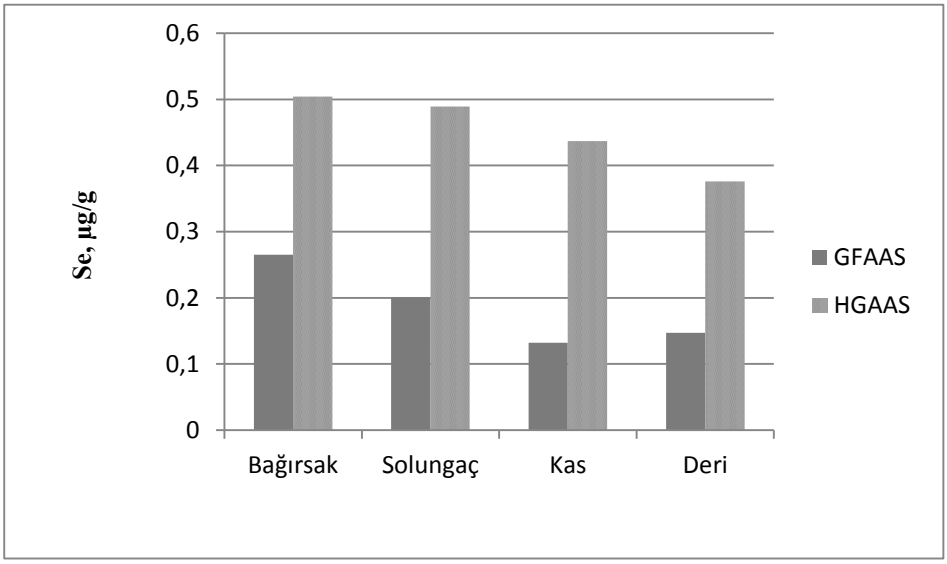
Numune No	GFAAS	HGAAS
1	0.200	0.306
2	0.224	0.207
3	0.000	0.418
4	0.103	0.374
5	0.000	0.371
6	0.124	0.385
7	0.233	0.440
8	0.242	0.419
9	0.142	0.362
10	0.181	0.353
11	0.321	0.492
12	0.000	0.379
Ortalama ± SS	0.147±0.106	0.376±0.071



Şekil 5.13. Deri için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 5.8. İki yöntemin ortalamalarının karşılaştırılması

Numune	GFAAS (µg/g)	HGAAS (µg/g)
Bağırsak	0.265±0.182	0.504±0.236
Solungaç	0.201±0.137	0.489±0.170
Kas	0.132±0.102	0.437±0.092
Deri	0.147±0.106	0.376±0.071



Şekil 5.14. İki yöntemin ortalamalarının karşılaştırılması

Balık dokularındaki Se içerikleri incelendiğinde organlardaki birikimin farklı olduğu görülmektedir. Bu birikim doku baz alınarak sıralandığında aşağıdaki gibidir:
GFAAS yöntemi için sonuçların sıralaması;

Bağırsak > Solungaç > Deri > Kas

HGAAS yöntemi için sonuçların sıralaması;

Bağırsak > Solungaç > Kas > Deri

Çalışmamızda girişimleri önlemek amacıyla Standart Katma Metodu kullanıldı. İki yöntemin sonuçlarının karşılaştırılması amacıyla istatistiksel analiz yapıldı. Bu amaçla ortalamaların karşılaştırılması yapılarak iki yöntem sonuçlarının birbirinden farklı olup olmadığı değerlendirildi [60].

$| Xort_1 - Xort_2 | \leq t\, s\, [(1/N_1) + (1/N_2)]^{1/2}$ ise iki yöntem arasında anlamlı bir fark yoktur.

$Xort_1$: GFAAS ortalaması

$Xort_2$: HGAAS ortalaması

t: İstatistiksel faktör

s: Standart sapma

N_1: GFAAS ölçüm sayısı

N_2: HGAAS ölçüm sayısı

Burada:

$s = [(N_1 - 1)\,(s_1)^2 + (N_2 - 1)\,(s_2)^2 / (N_1 + N_2 - 2)]$ ½

t = 2.00 ($N_1 + N_2$ için %95 güvenirlik düzeyinde)

değerleri deneysel verilerden ve istatistik tablolardan hesaplanmaktadır.

Bağırsak için bu iki yöntemin karşılaştırılması yukarıdaki formül kullanılarak aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

$| 0.265 - 0.504 | \leq 2.00\, s\, [(1/12) + (1/12)]^{1/2}$

$\mathbf{s} = [(12 - 1)\,(0.182)^2 + (12 - 1)\,(0.236)^2 / (12 + 12 - 2)]$ ½

s = 0.21

$0.239 \leq (0.21)\,(2.00)\,(0.408)$

$0.239 \leq 0.916$

Tablo 5.9. GFAAS ve HGAAS ölçüm sonuçlarının istatistiksel karşılaştırılması

Numune	**Selenyum**
Bağırsak	0.239 < 0.916
Solungaç	0.289 < 0.398
Kas	0.305 > 0.079
Deri	0.244 > 0.073

Yapılan hesaplamalar sonucunda iki yöntem arasında kas ve deri örneklerinde istatiksel bir fark olduğu, bağırsak ve solungaç numunelerinde istatistiksel fark olmadığı görülmektedir.

Gala Gölü, gerek yılan balığı, turna, sudak, sazan ve diğer balıkların üretim ve av alanı olarak, gerekse kuş av alanı olarak önemli bir gelir kaynağıdır. Edirne ilinin pirinç üretimi ise Türkiye üretiminin % 24'üdür. Çeltik tarım alanlarının sulama suları Gala Gölü'ne akıtılmaktadır. Bu tarım alanlarından göle geri gelen sular su kalitesini olumsuz etkilemektedir. Sulama suyu ile birlikte kullanılan kimyasal gübreler ve pestisitler de Gala Gölü'ne akıtılmaktadır.

Selenyum, glutation peroksidaz ve iyodatironin deiyodinaz'ların bir bileşenidir ve insan için gerekli bir elementtir. Selenyum, dokularda genellikle selenosistein ve selenometiyonin olmak üzere iki formda bulunur. Selenometiyonin, vücut içinde sentezlenemez ve beslenme yolu ile alınır Selenosistein; selenyumun, prokaryotik ve ökaryotik yasamda yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarına katılan enzimlerin aktif bölümünü oluşturan, biyolojik olarak etkin formudur. Birçok deneysel çalışma bir amino asit olan selenosisteinin protein sentezinde ribozoma aracılık eden bir yapı olduğunu ortaya koymuştur. Selenyum, organizmayı oksidan basıncından korur ve tiroid hormonlarının metabolizmasında ve sentezinde görev alır. Uzun süreli selenyum eksikliğinde tüm vücut dokularında glutation peroksidaz aktivitesinde düşüş gözlenir. Glutatiyon peroksidaz aktivitesinin kaybolmasıyla birlikte serbest radikallerin birikiminden ileri gelen hücre membranlarının hasarı gözlenir. Selenyum içeren amino asitlerden selenometiyonin bitkisel kaynaklardan, selenosistein ise hayvansal kaynaklardan elde edilir. Gıdalardaki selenyum içeriği çeşitlilik göstermekle beraber, protein içeriğine ve yetiştirildiği toprağın selenyum bakımından zenginliğine bağlıdır.

Sucul ortamda anorganik kirlenmenin en önemli kaynağı ağır metaller ve toksik elementlerdir. Bu elementler erozyonla taşınan kaya parçaları, rüzgar, volkanik aktivite, orman yangınları vb. ile sulara taşınır. Bu doğal kaynakların yanı sıra çok daha fazlası tehlikeli endüstriyel, kentsel ve tarımsal atıklardan gelir. Ağır metallerin sucul ortamdaki konsantrasyonlarının artışının balıklar üzerindeki en önemli etkisi, çeşitli doku ve organlarda birikmesidir ve canlı bünyesine alınan toksik elementlerin biyobirikimi her organ ve dokuda farklıdır.

Genel olarak gıdalardaki selenyum içeriği, et ve deniz ürünlerinde 0,4 – 1,5 μg/g'dır [61]. Bizim çalışmamızda da balık dokularındaki selenyum içerikleri bu aralıkta çıkmıştır.

Analizler ve çalışma prosedürleri göz önüne alındığında analiz elementinin hidrürü oluşturularak matriksten ayrılarak analizlenmesi HGAAS yöntemini GFAAS yöntemine göre daha üstün kılmaktadır. Ayrıca her iki yöntem ile edilen ortalamaların standart sapmaları değerlendirildiğinde HGAAS ile elde edilen standart sapmalar GFAAS ile elde edilenlere göre daha küçüktür.

Çalışmanın sonuçları şu şekilde özetlenebilir:

1. Örneklerin çözünürleştirilmesinde kapalı sistem mikrodalga fırın sisteminin kullanılması hem GFAAS hem de HGAAS çalışmalarında yararlı olmuştur. Bu şekilde çözünürleştirme tam gerçekleştirilmiş, sistem kapalı olduğu için buharlaşma kayıpları yok edilmiştir.

2. HGAAS ve GFAAS ile bulunan sonuçların bağırsak ve solungaç için uyumlu, kas ve deri için uyumlu olmadığı görülmüştür.

3. Se elementinin uçucu hidrürleri halinde matriksten ayrılarak atomlaştırıcya ulaşması önemli bir avantajdır. Bu şekilde matriks girişimleri önemli derecede bertaraf edilmiştir.

4. Analiz süresinin GFAAS'ye göre daha kısa ve maliyetin daha düşük olması gibi özellikler HGAAS'nin çevre örneklerinde Se gibi uçucu elementlerle çalışılırken önemli bir fark yaratmaktadır.

5. Bu çalışma Gala Gölü'nde Bulgar Tekkesi (*Carassius gibelio*) balığındaki selenyum konsantrasyonlarının belirlenmesi konusunda daha önce herhangi bir çalışma yapılmadığı için orijinaldir.

KAYNAKLAR

[1] Ginneken, L. V., Chowdhury, M. J., Blust, R., ***Bioavailability of cadmium and zinc to the common carp, Cyprinus carpio, in complexing environments: A test for the validity of the free ion activitymodel***, Environmental Toxicology and Chemistry, 18, 2295-2304, 1999.

[2] Lall, S. P., ***The Minerals. In: J. E. Halver, (ed), Fish Nutrition,*** Academic Press Inc. Sandiago, USA, 219-256, 1989.

[3] Kır İ., Özan S.T., Tuncay Y., E.U., ***Kovada Gölü'nün Su ve Sedimentindeki Bazı Ağır Metallerin Mevsimsel Değişimi,*** Journal of Fisheries &Aquatic Sciences, 24, 155-158, Ege University Press, 2007.

[4] Lajunen, L.H.J., ***Spectrochemical Analysis by Atomik Absorption and Emission***, The Royal Society of Chemistry, p.1, 55, 72-116, British, 1992.

[5] Welz, B., ***Atomic Absorption Spectrometry***, p. 14-15, Verlag Chemie, Weinheim , 1985.

[6] Ebdon, L., 1982., ***An Introduction to Atomic Absorption Spectroscopy,*** Paston Press, 66, 107-109, Norwich,

[7] ***Standart Methods for the Exam Water and Wastewater***, 20th Edition, 1998.

[8] Strobel, H.A. and Heineman, W.R., ***Chemical Instrumentation, A Systematic Approach***, p.486-487, John Wiley and Sons, New York, 1989.

[9] Yıldız A., Genç Ö.,ve Bektaş S., ***Enstrümental Analiz Yöntemleri***, Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 1997.

[10] J. Dedina, W. Frech, E. Lundberg ve A. Cedergren, ***Atomisation of selenium hydride in the graphite furnace,*** J. Anal. At. Spectrom**.**, 4, 143-148, 1998.

[11] D. L. Tsalev, A. D'ulivo, L. Lampugnani, M. Di Marco ve R. Zamboni, ***Thermally stabilized iridium on an integrated, carbide-coated platform as a permanent modifier for hydride-forming elements in electrothermal atomic absorption spectrometry Part 2 Hydride generation and collection, and behaviour of some organoelement species***, J. Anal. At. Spectrom., 11, 979-988, 1996.

[12] Vandecasteele, C. and Block, C.B., ***Modern Methods for Trace Element Determination,*** John Wiley and Sons, Chichester, 1-7, 1997.

[13] Minczewski, J., Chwastowska, J. and Dybezynski, R., ***Separation and Preconcentration Methods in Inorganic Trace Analysis***, Ellis Horwood Limited, Chichester, 1982**.**

[14] Yoe, J.H. and Koch, H.J., ***Trace Analysis,*** Wiley, New York, 1957.

[15] Rodden, C.J., ***Analytical Chemistry of the Manhattan Project,*** Mc-Graw Hill, New York, 1950.

[16] Gündüz, T., ***İnstrümental Analiz,*** 9-10, 2002.

[17] Robertson, D.E., ***The adsorption of trace elements in sea water on various container surfaces***, Anal. Chem, 40, 1067, 1968.

[18] Sandel, E.B., Onishi, H., ***Photometric Determination of Traces-of Metals-General Aspects,*** Wiley, New York, 1978.

[19] Issaq, H.J. and Zielinski, W.L., ***Loss of Lead from Aqueous Solutions***. ***During Storage***, Anal. Chem, 46, 1328-1329, 1974.

[20] Majer, J.R. and Khalil, S.E.A., 1981, ***Adsorption of calcium and magnesium ions on surfaces,*** Anal. Chim. Acta, 126, 175-183.

[21] Robertson, D.E., ***Contaminasyon Problems in Trace Elements Analysis and Ultrapurification,*** New York, 207, 1972.

[22] Skoog, D.A.,&West, D.M.,&Holler, F.J., ***Fundamentals of Analytical Chemsitry***, Sounders Collage Publishing, Philadelphia, New York, 1996.

[23] Kingston, H.M., ***Overview of Microwave Assisted Sample Preparation,*** Duquesne University, Pittsburgh, 1998.

[24] İnam, R., "***Selenyumun adsorptif sıyırma voltametrisi ve diferansiyel puls polarografisi ile tayini için yöntem geliştirilmesi"***, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1-32, 1997.

[25] Anke, M., İhnat, M., Stoeppler, M., ***"Elements and their Compounds in the Environment"***, Wiley-VCH**,** 3:1365-1406, 2004.

[26] Zhang, Y., Frankenberger, W.T., "***Speciation of selenium in plant water extracts by ion exchange chromatography-hydride generation atomic absorption spectrometry"***, Sci. Total Environ**.**, 269: 39-47, 2001.

[27] Lim, T.T., Goh, K.H**.,** ***"Selenium extractability from a contaminated fine soil fraction: İmplication on soil clenup", Chemosphere,*** 58: 91-101, 2005.

[28] Cassella, R.J., Sant'Ana, O.D., Rangel, A.T., Carvalho, M.F.B., Santelli, R.E., ***"Selenium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry in petroleum refinery aqueous streams containing volatile organic compounds",*** Microchem. J**.**, 71:21-28 (2002).

[29] Schwarz, K., Foltz, C.M., "***Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration"***, J. Am. Chem. Soc., 79: 3292-3293 (1957).

[30] Batariova, A., Cerna, M., Spevackova, V., Cejchanova, M., Benes, B., Smid, J.,

"Whole blood selenium content in healthy adults in the Czech Republic", Sci. Total Environ., 338: 183-188 (2005).

[31] Rayman, M.P., "***The importance of selenium to human health",*** Lancet, 356: 233-241 (2000).

[32] O'Brien, G., Jolley, D., Morrison, J., ***"Evoluation of chemical contaminant and toxicology studies, part 2-case studies of Selenium and Arsenic",*** S.Pac. J. Nat.Sci., 21: 6-14 (2003).

[33] Diab, N., "***Determination of Selenium in Biological Fluids and Tissues in Healthy and Diseased Children by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry",*** M. Sc. Thesis, Middle East Technical University, Ankara, 1- 16 (1990).

[34] Çetin, M., Deniz, G., Polat, Ü., Yalçın, A., ***"Bireylerlerde İnorganik ve Organik Selenyum lavesinin Biyokimyasal Kan Parametreleri Üzerine Etkisi",*** Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med., 21: 59-63 (2002).

[35] Şimşek, A., Sarı F., Artık, N., ***"Selenyumun insan beslenmesi ve sağlığı açısından önemi",*** Anadolu University J. of Science and Technology, 2: 245- 251 (2004).

[36] Klapec, T., Mandic, M.L., Grgic J., Primorac, Lj., Perl, A., Krstanovic, V., ***"Selenium in selected foods grown or purchased in eastern Croatia"***, Food Chem., 85: 445-452 (2004).

[37] Kınık, Ö., Kavas, G., ***"Selenyum ve Süt Mamüllerinin İnsan Sağlığındaki Önemi",***Gıda, 27(1): 49-57 (2002).

[38] Muniz-Naveiro, O., Dominguez-Gonzalez, R., Bermejo-Barrera, A., Cocho, J.A., Fraga J.M., Bermejo-Barrera, P., ***"Determination of total selenium and selenium distribution in the milk phases in commercial cow's milk by HG- AAS",*** Anal. and

Bioanal. Chem., 381(6): 1145-1151 (2005).

[39] Rayman, M.P., ***"The argument for increasing selenium intake",*** Proc. Nutr. Soc., 61: 203-215 (2002).

[40] Sun, H.W., Ha, J., Zhang, D.Q., Yang, L.L., Sun, J.M., ***"Determination of Trace Selenium in Urine by Derivative Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry",*** Anal. Sci., 18: 603-605 (2002).

[41] Barceloux, D.G., ***"Selenium"***, J. Toxicol. Clinical Toxicol., 37(2): 145-172 (1999).

[42] Ursel, A., ***"Natural Care - Vitamins & Minerals Handbook", Dorling Kindersley***, London 324 (2001).

[43] Aydın, K., "***Bir Endemik Guatr Bölgesindeki İlkokul Çocuklarında İyot ve Selenyum Düzeylerinin Tiroid volümü, Tiroid Fonksiyonları, Fizik ve Zeka Gelişimi Üzerine Etkisi***", Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Anabilim Dalı, Kayseri, 87 (1997).

[44] Reilly, C., ***"Selenium: A new entrant into the functional food arena"***, Trends Food Sci. Techn., 9: 114-118 (1998).

[45] Alaejos, M.S., Romero, F.J.D., Romero, C.D***., "Selenium and Cancer: Some Nutritional Aspects",*** Nutrition, 184: 183-189 (2000).

[46] Tinggi, U***., "Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: A review",*** Toxico. Lett., 137: 103-110 (2003).

[47] Tanaka, K., Nazarenko, İ.İ., Ermakov, A.N., ***"Analytical Chemistry of Selenium and Tellurium",*** John&Willey İnc., New York, 58 (1972).

[48] Trifonov, A.S., İordanov, B., Nazarenko, İ.İ., Ermakov, A.N***., "Analytical***

Chemistry of Selenium and Tellurium", John&Willey İnc., New York, 61 (1972).

[49] Barabas S., Cooper W.C., ***"Volumetric Determination of Selenium",*** Anal Chem, 28: 129 (1956).

[50] Speranskaya, E.F., ***"Polarographic waves of Se(IV) and Te(IV)",*** Z. Anal. Khim., 17: 347 (1962).

[51] Le Peintre, C., Nazarenko, İ.İ., Ermakov, A.N**.,** ***"Analytical Chemistry of Selenium and Tellurium",*** John&Wiley Inc., New York, 135 (1972).

[52] Hasdemir, E., Somer, G**.,** ***"Polarographic determination of selenium in the presence of copper ion",*** Analyst, 115: 297-299 (1990).

[53] Adeloju, S.B., Bond, A.M., ***"Determination of selenium, copper, lead and cadmium in biological materials by differantial pulse stripping voltammetry",*** Anal. Chim. Acta., 148: 59-69 (1983).

[54] Aydın, H., Somer, G., ***"Anodic stripping voltammetry of selenium in the presence of copper ion",*** Anal. Sci., 5: 89-93 (1989).

[55] Hinsberg, O., Nazarenko, İ.İ., Ermakov, A.N., ***"Analytical Chemistry of Selenium and Tellurium***", John&Willey İnc., New York, 77 (1972).

[56] Somer, G., Ekmekçi, G., ***"Spectrophotometric determination of selenium in the presence of copper and tellurium",*** Anal. Sci., 13(2): 205-208 (1997).

[57] Smrkolj, P., Pograjc, L., Hlastan-Ribic, C., Stibilj, V., ***"Selenium content in selected Slovenian foodstuff and estimated daily intakes of selenium",*** Food Chem., 90: 691-697 (2005).

[58] Güher H., Kırgız, T., "***Gala Gölü Milli Parkı'nda makrofitler ile mikrocrustacea***

(cladocera, copepoda) ilişkisi üzerine bir araştırma**",**Trakya Univ J Sci, *8(2),* 109-114, 2007.

[59] Tarkan, A.S., Gaygusuz,, Ö., Gürsoy Ç., Acıpınar, H., Bilge, G., "***Marmara Bölgesi'nde yeni bir istilacı tür carassius gibelio (Bloch, 1782): başarılı mı, başarısız mı?",*** I. Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu, Antalya, 2006.

[60] Skoog, D.A., West, M. D. Holler F. J. ve Crouch, S. R., Analitik Kimya Temel İlkeler, 8. Baskı, Ankara, Bilim Yayıncılık, 2004.

[61] Trace elements in human nutrition and health, World Health Organization, Geneva 1996.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Tekirdağ'da doğdu. İlk ve orta öğretimini sırasıyla Ö.M.M.Tetikol İlköğretim Okulu'nda ve Tekirdağ Anadolu Lisesi'nde tamamladı. Lisans eğitimini 2004-2009 yılları arasında On Dokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü'nde tamamladı. 2010 yılında Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.